



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de Biologie



THESE

Présentée pour l'obtention du grade de DOCTORAT 3ème Cycle

En : Sciences Alimentaires

Spécialité : Transformation et valorisation en agroalimentaire

Par : AISSAOUI Abdallah

Sujet

Analyse du risque de champignons mycotoxinogènes lié à la consommation
du pain dans la région d'ouest algérien.

Soutenu le 24/11/2025, devant le jury composé de :

Président : AZZI Rachid	Professeur	Univ. Tlemcen
Directeur de thèse : ZIANE Mohammed	Professeur	Univ. Ain Temouchent
Examineur : DIB Soulef	Professeur	Univ. Oran 1
Examineur : CHERIF Nadjib	MCA	Univ. Ain Temouchent
Examineur : DIB Hanane	MCA	Univ. Tlemcen
Examineur : BELYAGOUBI Larbi	Professeur	Univ. Tlemcen

Année universitaire 2024/2025

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*Aux personnes qui me sont les plus chères : **mon père et ma mère**, pour leur patience et leur soutien indéfectible tout au long de ce parcours,*

*À mes très chers **frères et sœurs**, pour leurs encouragements,*

*À toute la famille **AISSAOUI et SEBA**,*

*À tous mes chers **amis**, avec lesquels j'ai partagé de beaux moments et dont je garde d'excellents souvenirs,*

*À tous mes **enseignants** tout au long de mon cursus,*

À tous ceux qui me connaissent.

Aissaoui Abdallah

Remerciements

Tout d'abord, je remercie Allah, l'Omniscient, « qui a enseigné à l'homme ce qu'il ne savait pas », le Tout-Puissant, qui nous a donné la force, la santé le courage et la volonté pour mener à bien ce travail.

*Je tiens à exprimer mes remerciements sincères au **Pr. ZIANE Mohammed**, directeur de cette thèse, pour son encadrement de qualité, sa patience, sa disponibilité et sa grande compétence. Ses conseils avisés, sa bienveillance et ses encouragements constants ont grandement contribué à enrichir ma réflexion et à d'achever ce travail. Son suivi rigoureux et ses orientations pertinentes ont été essentiels tout au long de ce parcours.*

*Je remercie également la doyenne de la faculté S.N.V/S.T.U **Pr. Mokhtari Soulimane Nassima Amel**, pour le soutien constant qu'elle m'a apporté depuis le début de ce travail.*

*Je tiens à exprimer notre profonde considération au **Pr. AZZI Rachid**, président du jury.*

*J'ai eu l'honneur et le plaisir de compter parmi les membres du jury : **Pr. DIB Soulef**, **Dr. CHERIF Nadjib**, **Dr. DIB Hanane** et **Pr. BELYAGOUBI Larbi**, qui ont accepté d'examiner ce travail avec attention.*

J'adresse également mes remerciements à toute l'équipe pédagogique du département de biologie, ainsi qu'aux intervenants professionnels, pour la qualité de leur enseignement et leur contribution à la partie théorique de ma formation.

Un grand merci à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

الملخص

تُعد الحبوب عنصرًا أساسيًا في النمط الغذائي لدى السكان الجزائريين، ولا سيما القمح اللين، نظرًا للطلب المرتفع على الخبز. وعلى الرغم من انخفاض النشاط المائي لدقيق الخبز، فإن بعض أنواع الفطريات قادرة على النمو في هذه الظروف. ويُعد بعضها قادرًا على إنتاج السموم الفطرية مما قد يؤثر على جودة المنتج، وبالتالي يشكل خطرًا على صحة المستهلك. يهدف هذا العمل إلى: (1) تحديد وتقييم الفلورا الفطرية الموجودة في دقيق الخبز، (2) إبراز القدرة على إنتاج السموم الفطرية لدى العزلات الفطرية، إضافة إلى قدرتها على النمو، (3) وتقييم تركيز الأفلاتوكسين في الدقيق عند استهلاك الخبز الملوّث بالسموم الفطرية. تم جمع ما مجموعه (241) عينة من مواقع مختلفة في غرب الجزائر. تم البحث عن الفطريات على وسط ديكلوران بنسبة 18% من الغليسول (DG18). وأظهرت نتائج العدّ نسبة تلوث إجمالية بلغت 97,93 %، مع تراكيز تراوحت بين 1 و15 لوغاريتم وحدة تشكيل مستعمرة/غرام. كشف تحديد أجناس الفطريات عن وجود أحد عشر جنسًا، غلب عليها: *Aspergillus sp.*، *Mucorales sp.*، *Cladosporium sp.*، *Penicillium sp.* . وينسب متوسطة: *Trichoderma sp.*، *Trichothecium sp.*، *Mucor sp.*، *Exophiala sp.*، *Auerobasidium sp.* منخفضة: *Trichosporon sp.*، *Purpureocillium sp.* . قد أظهر جنس *Aspergillus sp.* و *Penicillium sp.* فقط إنتاجًا للسموم الفطرية، أمكن الكشف عنه بصريًا على وسط CEA، وتم تأكيد هذا الإنتاج بواسطة تقنية الكروماتوغرافيا على طبقة رقيقة (CCM) انطلاقًا من مزارع نُميت على وسط YES. أظهر ضبط حركيات النمو على وسط PDA، وجود تباين يعتمد على العزلات الفطرية. كما كشفت قيم زمن الكمون ($\lambda_{25^\circ\text{C}}$) ومعدل النمو ($\mu_{25^\circ\text{C}}$) مجالات تراوحت بين 0.036 و2 يوم، وبين 0.22 و4.112 يوم⁻¹ على التوالي. وأظهرت نتائج المحاكاة أنه خلال فترة التحضير والتخزين في المخازن، لوحظ نمو ملحوظ تجاوز العتبة المحددة لكل جنس (4 log UFC/g) ، مصحوبًا بتراكيز حرجة من السموم الفطرية، وتطورًا ملحوظًا ($p < 0.001$). فيما يخص إنتاج السموم الفطرية، أظهرت نتائج المحاكاة قيمًا متوسطة من الأفلاتوكسين تبلغ 14.89 ميكروغرام/كغ. وبناءً على ذلك، فإن تقدير المخاطر يُظهر وجود خطر صحي مرتفع، يستدعي اتخاذ إجراءات تصحيحية. تُعد هذه النتائج ذات أهمية صناعية كبيرة، من شأنها الإسهام في تحسين جودة المنتج والحد من المخاطر المرتبطة بالاستهلاك.

الكلمات المفتاحية: دقيق، *Aspergillus* ، *Penicillium*، السموم الفطرية، الجزائر

Résumé

Les céréales constituent un élément essentiel du régime alimentaire de la population algérienne, notamment le blé tendre, en raison de la forte demande en pain. En dépit de la faible activité de l'eau de la farine boulangère, certaines moisissures sont capables de se développer dans ces conditions. Certaines sont mycotoxinogènes et peuvent ainsi altérer la qualité du produit, et par conséquent, compromettre la santé du consommateur. L'objectif de ce travail était : (1) de déterminer et d'évaluer la flore fongique présente dans les farines boulangères ; (2) de mettre en évidence leur pouvoir mycotoxinogène, ainsi que leur capacité de croissance ; et (3) d'évaluer la concentration d'aflatoxine dans la farine au moment de la consommation du pain contaminé par des mycotoxines. Au total, 241 échantillons ont été collectés dans différents sites de l'ouest algérien. La recherche des moisissures a été réalisée sur milieu Dichloran à 18% de glycérol (DG18). Les résultats de dénombrement ont montré un taux de contamination global de 97,93 %, avec des concentrations (UFC/g) comprises entre 1 et 15 log UFC/g. L'identification des genres fongiques a révélé la présence de onze (11) genres de moisissures, avec une dominance de *Penicillium sp.* Suivie de *Cladosporium sp.*, *Mucorales sp.* et *Aspergillus sp.* en fréquence moyenne : *Aureobasidium sp.*, *Exophiala sp.*, *Mucor sp.*, *Trichothecium sp.*, *Trichoderma sp.* en fréquence faible : *Purpureocillium sp.*, *Trichosporon sp.* Seuls les genres *Penicillium sp.* et *Aspergillus sp.* ont présenté une production de mycotoxines détectable visuellement sur milieu CEA. Cette production a été confirmée par la méthode de la chromatographie sur couche mince (CCM) à partir de cultures réalisées sur milieu YES. L'ajustement des cinétiques de croissance, sur milieu PDA, montre une variabilité dépendant de l'isolat de moisissure. Les temps de latence ($\lambda_{25^{\circ}\text{C}}$) et le taux de croissance ($\mu_{25^{\circ}\text{C}}$) montrent une moyenne de 0,036 à 2 jours et 0,22 à 4,112 jours⁻¹ respectivement. La simulation montre que pendant la période de préparation et de stockage en boulangerie, une croissance remarquable dépassant le seuil (4 log UFC/g) pour chaque genre, avec des concentrations en mycotoxines critiques, et d'une évolution statistiquement significative ($p < 0,001$). Quant à la production de mycotoxine, les résultats de la simulation montrent des valeurs moyennes d'aflatoxine (14,89 µg/kg). A cet effet, l'estimation du risque montre un risque sanitaire élevé, nécessite des actions correctives. Ces résultats sont d'une grande importance industrielle pour améliorer la qualité du produit, et réduire les risques liés la consommation.

Mots-clés : Farine, *Penicillium*, *Aspergillus*, Mycotoxines, Algérie

Abstract

Cereals constitute an essential component of the Algerian population diet, particularly soft wheat, due to the high demand for bread. Despite the lowest water activity in bakery flour, certain molds are able to grow under such conditions. Some of these molds are mycotoxinogenic and may therefore alter product quality and, consequently, compromise consumer health. The objectives of this study were: (1) to determine and evaluate the fungal flora present in bakery flours; (2) to highlight their mycotoxigenic potential, as well as their growth capacity; and (3) to assess the aflatoxin concentration in flour at the time of consumption of bread contaminated with mycotoxins. A total of 241 samples were collected from different locations in western Algeria. Mold isolation was carried out on Dichloran medium with 18% glycerol (DG18). Mold counts showed an overall contamination rate of 97.93%, with a concentration (cfu/g) ranging from 1 to 15 log cfu/g. Fungal identification revealed the presence of eleven mold genera. With a dominance of: *Penicillium sp.*, *Cladosporium sp.*, *Mucorales sp.*, and *Aspergillus sp.* At a medium frequency: *Aurobasidium sp.*, *Exophiala sp.*, *Mucor sp.*, *Trichothecium sp.*, and *Trichoderma sp.* At a low frequency: *Purpureocillium sp.* and *Trichosporon sp.* Only the genera *Penicillium sp.* and *Aspergillus sp.* exhibited visually detectable mycotoxin production on CEA medium. This production was confirmed by thin-layer chromatography (TLC) using cultures grown on YES medium. The adjustment of growth kinetics on PDA medium showed isolate-dependent variability. Latency times ($\lambda_{25^{\circ}\text{C}}$) and growth rates ($\mu_{25^{\circ}\text{C}}$) ranged from 0.036 to 2 days and from 0.22 to 4.112 day⁻¹, respectively. Simulation results indicated that during the preparation and storage period in bakeries, significant mold growth exceeding the threshold (4 log cfu/g) was observed for all genera, accompanied by critical mycotoxin concentrations, and a significant evolution ($p < 0.001$). Regarding mycotoxin production, simulation results showed mean aflatoxin levels of 14.89 $\mu\text{g/kg}$. Consequently, risk assessment indicated a high sanitary risk, requiring corrective actions. These findings are of great industrial importance for improving product quality and reducing risks associated with consumption.

Keywords: Flour, *Penicillium*, *Aspergillus*, Mycotoxins, Algeria

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition du pain selon le journal officiel algérien	6
Tableau 2 : Différents types de la farine en fonction du taux de cendres	7
Tableau 3 : Valeurs nutritionnelles pour 100 g de pain	20
Tableau 4: Conditions nécessaires à la prolifération de certaines espèces de moisissures	27
Tableau 5: Effet de la température sur la synthèse de la zéaralénone et déoxynivalénol chez <i>Fusarium graminearum</i>	39
Tableau 6: Méthodologie, variable et distributions utilisés pour l'estimation de concentration de moisissure, de production de mycotoxines et d'évaluation du risque.	57
Tableau 7: Prévalence et concentration fongique des échantillons analysée.....	60
Tableau 8: Les observations macroscopiques et microscopiques des moisissures et description.	62
Tableau 9: Concentration et prévalences des différents genres de moisissure.	66
Tableau 10 : Paramètres de croissances pour chaque genre de moisissures.....	70
Tableau 11 : Concentrations d'aflatoxine de différentes régions.	71
Tableau 12 : Exposition et évaluation des risques d'aflatoxine.....	72

Liste des figures

Figure 1: Représentation simplifiée d'un processus de panification	13
Figure 2: Schéma représente les phénomènes se produisant dans la croûte et la mie de pain lors de la cuisson	16
Figure 3: Organisation d'un hyphe et son formation d'un mycélium	24
Figure 4 : La Structure de l'hyphe (A : hyphe siphonné, B : hyphe septé).....	25
Figure 5 : Schéma de la morphologie d'un <i>Penicillium</i>	29
Figure 6: Schéma de la morphologie d' <i>Aspergillus</i>	30
Figure 7: Schéma de l'effet combiné de la température et de l' a_w sur le développement des genres : <i>Fusarium</i> , <i>Penicillium</i> et <i>Aspergillus</i>	32
Figure 8: l'Effet combiné de l' a_w et du pH sur développement des microorganismes	34
Figure 9: Voies de la synthèse des mycotoxines	37
Figure 10 : Schéma représenté les composantes d'une analyse des risques	44
Figure 11: Localisation géographique des sites de prélèvement des échantillons.	50
Figure 12: La méthode de détection des mycotoxines par chromatographie sur couche mince (CCM).	54
Figure 13 : Prévalence des échantillons contaminés selon le genre de moisissure.....	66
Figure 14: Détection sous UV de mycotoxines produit par <i>Aspergillus</i> sur milieu CEA.....	67
Figure 15: Tâches liées aux mycotoxines révélées par CCM.	68
Figure 16 : La Cinétique de croissance du genre <i>Aspergillus</i>	69

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

a_w : activité d'eau.

BMDL: Benchmark dose lower limit.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

CEA: Coconut Extract Agar.

EDI: Estimated daily intake.

EFSA: European Food Safety Authority.

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

MOE: Margin of exposure.

OMS : Organisation mondiale de la Santé.

PDA: Potato Dextrose Agar.

pH : potentiel hydrogène.

ppm : partie par million.

UFC/g : Unité Formant Colonie par gramme.

UV : Ultraviolet.

YES : Yeast Extract Sucrose.

Table des matières

Dédicaces

Remerciements

المخلص

Résumé

Abstract

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Table des matières

Introduction générale : 1

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le pain

I.1. Introduction : 5

I.2. Définition du pain 5

I.3. Matières premières 6

I.3.1. La farine 6

I.3.2. L'eau : 9

I.3.3. Le levain et La levure : 9

I.3.4. Le sel : 10

I.3.5. Les ingrédients complémentaires ou facultatifs : 11

I.4. La panification : 12

I.4.1. Les Etapes de panification : 13

I.4.1.1. Le Pétrissage : 13

I.4.1.2. Le pointage : 14

I.4.1.3. Le formage : 14

I.4.1.4. L'apprêt : 14

I.4.1.5. La scarification : 14

I.4.1.6. La Cuisson : 15

I.5. La Qualité Du Pain : 16

I.5.1. La Qualité Sanitaire : 16

I.5.2. La Qualité Technologique : 18

I.5.3. La Qualité Nutritionnelle : 19

Chapitre II : Généralités sur les champignons mycotoxinogènes et les mycotoxines

II.1. Généralités sur les champignons mycotoxinogènes: 22

II.1.1. Introduction : 22

II.1.2. La Définition des champignons : 22

II.1.3.	La Classification des champignons :	23
II.1.4.	Identification des champignons :	23
II.1.5.	Morphologie des champignons :	23
II.1.6.	Champignons mycotoxinogènes :	25
II.1.7.	Flore fongique de la farine :	25
II.1.8.	Les Principaux genres :	28
II.1.8.1.	Le genre <i>Penicillium</i> :	28
II.1.8.2.	Le genre <i>Aspergillus</i> :	29
II.1.9.	Les Conditions du développement des champignons :	31
II.1.9.1.	Les facteurs physiques :	31
II.1.9.1.1	L'activité de l'eau :	31
II.1.9.1.2	La température :	32
II.1.9.1.3	Le temps :	33
II.1.9.1.4	La lumière :	33
II.1.9.1.5	La Composition gazeuse :	33
II.1.9.2.	Les facteurs chimiques :	34
II.1.9.2.1.	Le pH :	34
II.1.9.2.2.	Composition du substrat :	35
II.1.9.3.	Les facteurs biologiques :	35
II.1.9.3.1.	Les interactions microbiennes :	35
II.1.9.3.2.	La présence d'insectes :	35
II.2.	Généralités sur les mycotoxines :	35
II.2.1.	Introduction :	35
II.2.2.	Définition :	36
II.2.3.	Classifications :	36
II.2.4.	La synthèse des mycotoxines :	37
II.2.5.	Les facteurs influençant la synthèse des mycotoxines :	38
II.2.5.1.	Les facteurs intrinsèques :	38
II.2.5.2.	Les facteurs extrinsèques :	38
II.2.5.2.1.	La température :	39
II.2.5.2.2.	Activité de l'eau :	39
II.2.5.2.3.	Le pH :	40
II.2.5.2.4.	La composition gazeuse :	40
II.2.5.2.5.	Composition du substrat :	40
II.2.5.2.6.	Les interactions microbiennes :	40
II.3.	Les Problèmes liés aux champignons dans l'industrie agroalimentaire :	41
Chapitre III : Évaluation du risque liée à la présence de mycotoxines		

III.1.	Introduction :	43
III.2.	Définition :	43
III.3.	Approche d'évaluation des risques :	44
III.4.	Les types d'évaluation des risques :	45
III.4.1.	Évaluation qualitative du risque :	45
III.4.2.	Évaluation quantitative du risque :	45
III.4.3.	Évaluations semi-quantitatives du risque :	45
III.5.	Le risque lié à la présence de mycotoxines :	46

Deuxième partie : Données expérimentales

I. MATERIEL ET METHODES :

I.1.	Echantillonnage :	50
I.2.	Analyses mycologiques :	51
I.2.1.	Préparation des échantillons :	51
I.2.2.	Recherche et dénombrement des moisissures :	51
I.2.3.	Purification de moisissures :	52
I.2.4.	Identification des moisissures :	52
I.3.	Etude mycotoxicologique :	53
I.3.1.	Détection visuelle de la production de mycotoxine :	53
I.3.2.	Détection de mycotoxine par la CCM :	53
I.4.	La Caractérisation des moisissures isolées :	54
I.4.1.	Caractérisation de la croissance des moisissures :	54
I.4.2.	L'Influence du facteur de stockage sur la croissance des moisissures :	55
I.5.	Production de mycotoxine dans la farine :	55
I.6.	Estimation du risque :	56

II. RESULTATS ET DISCUSSION :

II.1.	Analyses mycologiques :	60
II.1.1.	Dénombrement des moisissures :	60
II.1.2.	Identification des moisissures :	61
II.1.3.	Concentration et répartition des genres de moisissure :	66
II.2.	Révélation mycotoxicologique :	67
II.2.1.	Révélation des souches productrices de mycotoxines dans le milieu CEA :	67
II.2.2.	Révélation des souches productrices de mycotoxines par CCM :	67
II.3.	La Croissance de moisissures :	68
II.4.	Estimation de la production de mycotoxine dans la farine :	71
II.5.	Evaluation du risque :	72
	Conclusion générale et perspectives :	74
	Références bibliographiques :	77

Annexe

Introduction générale

Introduction générale :

Les céréales sont largement consommées dans le monde, possèdent une valeur nutritionnelle importante, et constituent la base de l'alimentation humaine. (Godon, 1982). En Algérie, parmi les céréales les plus consommées sous plusieurs formes le blé tendre, aussi c'est le premier produit importé. La farine est le principal produit fabriqué à partir de blé tendre, Il est principalement utilisé pour la préparation du pain. En Algérie, près de 49 millions de baguettes sont consommées chaque jour, ce qui fait du pays l'un des plus grands consommateurs de pain au monde (Belhocine, 2010).

Dans la plupart des cas, la production céréalière est assurée par une seule récolte pendant l'année ce qui nécessite un stockage, peuvent être parfois dans conditions mal-contrôlées, donc c'est un critère essentiel qui favorise la présence et le développement de nombreux champignons mycotoxinogènes peuvent être développer durant le stockage du blé tendre jusqu'à la fabrication du pain.

La farine de blé se caractérise par une activité de l'eau relativement faible (Feillet, 2000), avec aucune méthode n'est appliquée durant sa transformation pour l'élimination des microorganismes, à cause ses conditions des champignons mycotoxinogènes sont résisté aux activités d'eau faible et susceptibles d'être contaminer la farine.

Avec le changement climatique constaté ces dernières années, la contamination certainement est en amplification, En effets, plusieurs auteurs ont montré la présence de certaines espèces contaminant le blé notamment *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium citreoviride*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium martensii*, *Penicillium patulum*, *Penicillium pubertum* (Rezazadeh et al., 2013). Certains de ces espèces sont toxigène à savoir *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium expansum*, *Penicillium crustosum* (Afssa, 2006).

Ces champignons mycotoxinogènes sont capable de produire des métabolites secondaires toxiques appelée mycotoxines (Awuchi et al., 2021). Ces derniers créent un danger réel pour la santé de consommateur, Ainsi diminuent la qualité des produits alimentaires, cela entraine de grandes pertes économiques (Bhat et Vasanthi, 2003). Des produits sont refusés dans certain pays à cause de risque lié à la consommation, le refus prouvé par une analyse de risque selon les normes internationales (Delhalle et al., 2012). Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), près de 25% des céréales produites à travers le monde sont contaminées par les mycotoxines (Rice et Ross, 1994).

Introduction générale

L'exposition répétée à ces mycotoxines au cours de la consommation du pain même en faibles concentrations, susceptibles de causer des toxicités aiguës, ou à long terme engendrer des effets néfastes sur l'appareil cardiovasculaire, respiratoire et digestif, aussi sur le système nerveux et le système urinaire. Induiraient aussi des effets immunosuppresseurs, mutagènes génotoxiques, carcinogènes et tératogènes (**Bennet et Klich, 2003 ; Afssa, 2006**).

L'objectif de ce travail est d'étudier la contamination de la farine de blé tendre utilisée pour la panification dans l'Ouest d'Algérie par les champignons mycotoxinogènes, puis modéliser leur croissance durant les différentes étapes de la fabrication du pain. A cet effet, cette étude vise à rechercher, dénombrer et déterminer les champignons mycotoxinogènes et mise en évidence de sa production des mycotoxines, puis déterminer les paramètres de croissance de ces moisissures. Enfin, estimer la production de mycotoxines et le risque lié à la consommation de pain contaminé par ces mycotoxines.

Pour atteindre ces objectifs, nous avons divisé ce travail en deux parties. La première partie a été consacrée à une Synthèse bibliographique, Qui elle-même se compose de trois chapitres : le premier comprend une généralité sur le pain, la deuxième comporte également des généralités concernant les champignons mycotoxinogènes et les mycotoxines, tandis que le troisième présente succinctement l'évaluation du risque liée à la présence de mycotoxines.

La deuxième partie concerne les données expérimentales, comprenant : la méthodologie suivie durant notre étude, ainsi qu'une interprétation de l'ensemble des résultats obtenus, suivie d'une analyse et une discussion.

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le pain

I.1. Introduction :

Le pain est l'un des aliments les plus anciens découverts par l'homme, datant des premières civilisations, notamment celles des anciens Égyptiens. (Crucean, 2019). À cette époque, il était un élément essentiel de leur alimentation, qui est principalement basé sur le blé, une céréale qui reste aujourd'hui la base de l'alimentation mondiale. Sa fabrication a évolué parallèlement au développement de l'agriculture et des techniques de transformation.

Le pain est l'aliment le plus couramment consommé en Algérie au quotidien, et la consommation connaît une augmentation préoccupante. Selon les statistiques de L'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), et de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, en coopération avec la Fédération mondiale des boulangers, ont prouvé que les Algériens consomment environ 48 600 000 de pain chaque jour, ce qui permis à l'Algérie d'occuper les premiers rangs des pays consommateurs de pain, la fabrication du pain en Algérie dépend fortement du pain dit blanc à base de farine de blé tendre (Fedala et al., 2015).

I.2. Définition du pain

Le pain c'est un aliment fabriqué par une cuisson d'une pâte pétrie et fermentée. La panification comprend trois étapes principales, qui sont respectivement : le pétrissage de la farine, eau, levure, sel, à l'addition d'autres ingrédients, Subit une fermentation, et enfin la cuisson (Dobraszczyka et Morgensternb, 2003).

Le pain résulte conformément aux usagers loyaux et constant, de la cuisson dans un four répondant aux règles d'hygiène et de sécurité, d'une pâte pétrie obtenue à partir d'un mélange de la farine de blé tendre, d'eau potable, de sel, de levure ou levain et éventuellement d'adjuvant des substance autorisé (cf. Tableau 1) (Journal Officiel N°36, 1991).

Selon Feillet (2000), le pain est défini comme un produit résulte de transformations physiques, de réactions chimiques et d'activités biologiques extrêmement complexes, qui se produisent au sein d'un mélange de farine, d'eau, de sel et de levure, parfois accompagné d'autres ingrédients (comme le sucre, la graisse, la poudre de lait, l'œuf, les antioxydants), sous l'effet d'un apport d'énergie mécanique et thermique contrôlé.

Tableau 1 : Composition du pain selon le journal officiel algérien (**Journal Officiel N°36, 1991**).

Compositions	Pain de consommation courant	Pain courant amélioré
Farine panifiable	100 kg	100 kg
Sel	2 kg	2 kg
Levure	2 kg	2 kg
Eau	60 kg	60 kg
Matière grasse	/	2 kg
Sucre	/	1 kg

I.3. Matières premières

La matière première varie en fonction des différents types du pain, des caractéristiques de chaque matière et de la raison pour laquelle elle est ajoutée, étant donné qu'on distingue une matière première de base (farine, eau, sel et la levure) et une autres sont complémentaire (sucre, matière grasse, poudre de lait, œuf) ajoutés en plus afin d'améliorer la texture, le goût ou la conservation du pain.

I.3.1. La farine

La farine est l'un des ingrédients essentiels dans la production du pain, car elle détermine les propriétés spécifiques des produits boulangers (**Feillet, 2000**).

Selon le journal officiel algérien La farine de panification est le produit de la mouture de grain de céréales apte à la panification et préalablement nettoyé sans autre modification que la soustraction partielle ou totale des germes et des enveloppes. La dénomination « farine » ou « farine de panification » sans autre qualificatif, désigne la farine de blé tendre *Triticum aestivum* (**Journal Officiel N°36,1991**).

En fonction de leur taux de cendres les farines sont classées en 6 types (**cf. Tableau 2**) (**Godon, 1991**). Ce taux est essentiellement correspondu aux contenant de matière minérale provenant du son de blé, le numéro du type de la farine élevé signifie un taux de cendres important et plus ce taux diminué plus la couleur de la farine sera blanche, tandis que la farine de type 150, dite complète ou intégrale, conserve toutes les parties du grain de blé et est sera tiré riche en minéraux et vitamines (**Bossou, 2022**).

Tableau 2 : Différents types de la farine en fonction du taux de cendres (Godon, 1991).

Type des farines		Taux de cendres (%)
Farines blanches	T 45	< 0,5%
	T55	0,5 à 0,60%
	T65	0,62 à 0,75%
Farine brise	T80	0,75 à 0,90%
	T110	1 à 1,20%
Farines complètes	T150	> 1,40%

I.3.1.1. Compositions de la farine :

La farine de panification est principalement composée d'amidon (environ 70 à 75 %), d'eau (environ 14 %) et de protéines (environ 10 à 12 %). Elle contient également des polysaccharides non amylacés (environ 2-3 %) et des lipides (environ 2 %), qui jouent un rôle essentiel dans le processus de fabrication du pain et dans sa qualité (Goesaert *et al.*, 2005).

I.3.1.1.1. L'eau :

L'eau présente dans la farine avec une teneur de 15,5 %, est un élément essentiel de sa composition. Cette teneur est principalement influencée par les conditions climatiques, ainsi que par la durée du stockage et du transport. Il est exigé de maîtriser la teneur en eau afin d'assurer une bonne conservation de la farine, et pour prévenir ou empêcher l'invasion de certaines moisissures (Codex Alimentarius 1985).

I.3.1.1.2. L'Amidon :

Un taux de 80% des constituants de la farine sont des glucides, certains existent sous forme d'oligosaccharides (1%) ; les autres se présentent sous forme de polysaccharides, comprenant l'amidon (95% de l'ensemble des glucides), les arabinoxylanes et les arabinogalactanes (2,5% du total des glucides) (Atwell *et al.*, 2016).

L'amidon est un composé majeur présent dans la farine, elle se trouve dans l'endosperme du grain de blé se forme des granules et constitué deux types de polyosides : l'amylose (26-28%) et l'amylopectine (72-74%) (Bossou, 2022).

I.3.1.1.3. Le gluten

Parmi les protéines les plus importantes et les plus abondantes dans la farine on trouve le gluten, qui se caractérise par des propriétés physico-chimiques importantes et indispensable à la panification du a La capacité des liaisons sulfhydriles libres (S-H) présentes dans le gluten à créer, des liaisons disulfures (S-S) lors de l'oxydation pendant le pétrissage de la pâte. Le gluten est divisé en deux types fonctionnels : « les gliadines » Les gliadines sont des protéines monomériques qui s'assemblent grâce à des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes, elles participent à la viscosité des pâtes (représentent entre 30 et 40 % des protéines totales). « Les gluténines » qui forment une famille hétérogène de polymères provenant de la polymérisation de sous-unités de gluténines à haut et bas poids moléculaire, elles génèrent des agrégats t complexes et jouent un rôle important dans les propriétés d'extensibilité des pâtes (constituent entre 40 et 50 % des protéines totales) (Cauvain et Young, 2006; Feillet, 2000).

I.3.1.1.4. Les Lipides :

La farine renferme environ entre 2% et 2,5% de lipides, elles sont dispersées dans l'albumen et peuvent réagir avec les autres éléments présents dans la farine (interactions entre lipides et protéines) ce qui influence le volume du pain. Les acides gras, les glycérols, les glycolipides et les phospholipides constituent les majorités des lipides (Pareyt et al., 2011).

I.3.1.1.5. Les Minéraux :

Les matières minérales on les appelle aussi les cendres constituent de 0,45 à 0,60 % de la masse de la farine, composées essentiellement de phosphore, de potassium et de magnésium. Elles sont prévenantes par les sons de blé et permettent de définir les types de farine en fonction de leur concentration, notamment en relation a sa blancheur et son taux d'extraction (Bouhadi et al., 2020 ; Godon et al., 1998).

I.3.1.1.6. Les vitamines :

Les vitamines se trouvent également dans la farine principalement en faible quantités, concentrées dans les couches périphériques du grain et dans le germe. Les plus répandues sont les vitamines de groupe B et de la vitamine E (Fredot, 2009). Les vitamines ne sont pas résistantes à la chaleur et peuvent donc être partiellement détruites lors de la fabrication du pain, une partie aussi sera perdue dans les sons de blé lors de mouture (Cruz et al., 1988 ; Bock, 2000).

I.3.1.1.7. Les enzymes :

Les enzymes sont des substances complexes naturellement présentes en faibles quantités dans la farine, sont souvent de amylases, protéases, lipases, catalases, lipoxygénases et peroxydases. Ils sont participés à la fabrication de pain. Ils sont responsables des modifications liées à d'autres composés, tels que l'hydrolyse de l'amidon et des protéines, ainsi que la dégradation des sucres simples et des acides aminés (**Cheftel, 1977 ; ITCF, 1989**)

I.3.2. L'eau :

L'eau constitue avec la farine et l'air les principales composantes dans la fabrication de la pâte du pain, dépend de la température de l'eau la température de la pâte sera contrôlée. L'eau joue un rôle essentiel en tant qu'un agent plastifiant. Au cours de la formation de la pâte, elle permet l'hydratation des protéines et de l'amidon contenues dans la farine, et sert comme solvant pour les autres ingrédients tels que le sel et le sucre. En tant que molécule réactive, elle est impliquée dans les réactions chimiques qui se déroulent au sein de la pâte (**Feillet, 2000 ; Moore, 2015**).

L'eau favorise aussi la gélification de l'amidon au cours de la cuisson, elle intervient dans la détermination de l'état conformationnel des biopolymères qui influencent l'interaction entre les différents composants et contribuent à la structure de la pâte (**Eliasson et Larsson, 1993**).

On appelle « eau de coulage » l'eau utilisée dans le processus de fabrication du pain. Il faut être potable, dépourvue de calcaire et ne contenir que de faibles quantités de chlore, car une concentration excessive en chlore inhiberait la fermentation. Cette eau sert à l'hydratation du gluten et de l'amidon et elle est essentielle à la cohésion de la pâte (**Fredot, 2009**).

I.3.3. Le levain et La levure :

I.3.3.1. Le levain :

Un levain est une préparation d'une pâte à base de la farine de blé et d'eau, après soumission à une fermentation naturelle acidifiante. Cette fermentation est assurée par des microorganismes sauvages (levures et bactéries) présentes dans l'environnement. Le levain agit comme un agent naturel de fermentation, dont l'activité fermentescible (principalement lactique) est essentielle afin de favoriser le développement et la levée du pain (**Dellaye et al., 1994**).

I.3.3.2. La levure :

La levure de boulangerie est un microorganisme unicellulaire, souvent la levure *Saccharomyces cerevisiae* ajoutée un comme agent levant pour préparation du pain. Elle se trouve soit sous forme fraîche en crème (liquide), soit sous forme sèche en comprimée et poudre active instantanée, en boulangerie la levure est incorporée en quantités de 2 % du poids de la farine. La fermentation se déclenche en anaérobiose, où les cellules de levure sont actives et dégradent le glucose issu dans l'amidon et produisent du dioxyde de carbone et de l'éthanol, Ces gaz générés contribuent à faire lever la pâte pendant la phase de fermentation et au début de la cuisson, durant la phase de cuisson les levures continuent de fermenter jusqu'à ce qu'elles soient inactivées par la chaleur. L'expansion de la pâte au four (pousse au four) est due à l'évaporation du CO₂, de l'alcool et e la vapeur d'eau contenu dans la pâte liquide exerce une pression à l'intérieur de la pâte, Ce qui entraîne une augmentation de son volume. Des substances mineures sont ainsi générées au cours de la fermentation, contribuant à l'amélioration de l'arôme, les levures subissent une destruction lorsque la température de la pâte excède les 50°C (Feillet, 2000).

L'utilisation de la levure elle est plus simple que le levain est très facile à manipuler, car il est fabriqué industriellement et garantit une performance plus rapide et plus homogène (Fredot, 2009).

I.3.4. Le sel :

Le sel ou chlorure de sodium (NaCl), est un minéral formé d'ions sodium (Na⁺) et de chlorure (Cl⁻) reliés par une liaison ionique. Il est couramment utilisé et à la fabrication de la pâte à pain depuis la fin du XVIIe siècle (Crucean, 2019 ; Brabant *et al.*, 2007). Il est ajouté au début du pétrissage, Il diminuer l'activité des oxydases, avec un taux d'incorporation recommandé de 2 g pour 100 g de farine (Hutkins, 2006).

Bien que le sel ne soit pas indispensable, il contribue à améliorer les propriétés organoleptiques de la pâte, aide à contrôler la fermentation (en la ralentissant), participe à une coloration parfaite du pain et retarder la dessiccation (Fredot, 2009).

I.3.5. Les ingrédients complémentaires ou facultatifs :

I.3.5.1. Le sucre :

Le sucre participe à plusieurs effets dans des diverses phases en panification, il agit sur plasticité de la pâte au cours de pétrissage, il joue un rôle important sur l'activité de la levure à la fermentation, et enfin, lors de la cuisson où il intervient sur la coloration, la consistance et le volume de pain (**Zhou et al., 2002**).

Le sucre est souvent ajouté dans la pâte à pain afin d'améliorer le goût, pour le brunissement (la coloration de la croûte) et favoriser la fermentation de la levure. L'incorporation de sucres diminue l'activité de l'eau ; ce qui a pour conséquence, d'un côté, d'inhiber la création du réseau de gluten pendant le pétrissage, et de l'autre d'allonger la durée de conservation du produit fini lors du stockage (**Cauvain et Young, 2000 ; Moore, 2015**).

I.3.5.2. La matière grasse :

Les lipides qu'ils soient sous forme de graisses ou d'huiles, peuvent être utilisés pour la production du pain et sont désignés sous le terme de « raccourcissants ». Bien qu'ils ne soient pas indispensables à la préparation du pain, leur incorporation peut faciliter la manipulation de la pâte, améliorer la texture de la mie et enrichir le goût du produit fini (**Pareyt et al., 2011 ; Stauffer, 1996**).

La présence de matières grasses dans la pâte de pain facilite le façonnage, développe le volume du pain, diminue la dureté de la croûte et produit une mie fine, elle limite également le processus de rassissement du pain (**Mondal et Datta, 2008 ; Rosentrater et Evers, 2018 ; Gujral et Singh, 1999**).

La quantité idéale de la matière grasse incorporée dans une formulation de pain se situe généralement entre 2 à 5% par rapport à la quantité de farine utilisée (**Pareyt et al., 2011**).

I.3.5.3. Les Améliorants :

Peuvent être incorporés des produits en boulangerie (additifs, adjuvants, auxiliaires technologiques, naturels, synthétiques). Afin de faciliter certains types de panification, ou pour compenser les carences de certaines farines (**Fredot, 2009**). Ils sont ajoutés pour rendre la pâte plus facile à manipuler, diminuer son temps de repos, prolonger la durée de conservation des produits boulangers, ainsi que pour optimiser d'autres aspects comme le volume, la couleur de la croûte, la blancheur, l'arôme et le goût (**Moayedallaie et al., 2010**).

I.3.5.4. Autres :

Divers ingrédients secondaires sont fréquemment employés dans la production du pain, comme la poudre de lait, les œufs, l'acide ascorbique, les enzymes et les émulsifiants. Ces composants visent habituellement à optimiser les qualités sensorielles, la texture, la couleur, le volume et la durée de vie du pain (**Cauvain et Young, 2006**).

I.4. La panification :

La panification est un processus dynamique en continu, qui implique des transformations physico-chimiques, microbiologiques et biochimiques, résultant de l'action mécanique, thermique, et de la présence de l'activité des bactéries lactiques et des levures, ainsi que l'action d'enzymes endogènes (**Rossel, 2011**).

La panification se déroule à travers une série d'opérations unitaires successives (**cf. Figure 1**), consiste à mélanger les ingrédients dans des quantités appropriées et à élaborer la pâte lors du pétrissage, à diviser et mise en forme des pâtons pendant le façonnage, suivi de la fermentation, et enfin la cuisson. Les distinctions entre les techniques de panification sont principalement dues au mélange des ingrédients et au pétrissage, Les méthodes de division et de façonnage ont un impact sur la qualité du produit, tandis que les processus de fermentation et de cuisson sont communs par l'ensemble des procédés de panification (**Cauvain, 2015 ; Rossel, 2011**).

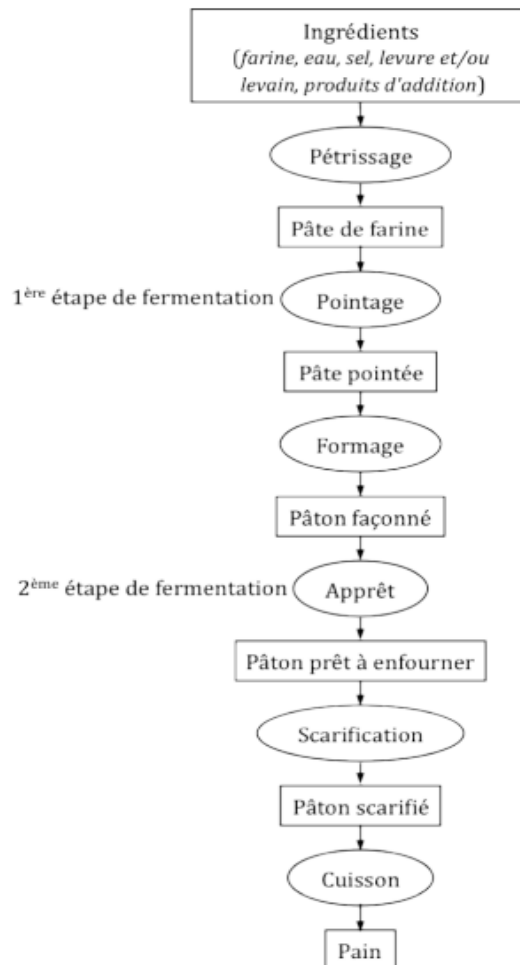


Figure 1: Représentation simplifiée d'un processus de panification (Roussel, et al., 2010).

I.4.1. Les Etapes de panification :

I.4.1.1. Le Pétrissage :

C'est la première étape et la plus indispensable dans la panification, elle permet d'obtenir une pâte homogène, lisse, souple et viscoélastique (Millar, 2006). Ce processus se divise en deux phases : la phase de mélange initial des ingrédients appelée « frasage », permet de solubiliser et d'hydrater ces ingrédients, et les phases liquides et solides (matière sèche) sont uniformisées. Au cours de la deuxième phase : la pâte va prendre de la force et de la cohésion, La réactivité de la farine provient de la capacité des molécules qui la constituent : notamment les protéines du gluten, mais aussi les pentosanes, les lipides et dans une moindre mesure l'amidon à créer de nouvelles liaisons en présence d'eau et à en rompre d'anciennes (Feillet, 2000).

I.4.1.2. Le pointage :

Cette opération consiste à laisser la pâte en masse pendant quelques minutes pour réaliser une première fermentation, la durée de pointage peut varier de quelques minutes à une heure et demie (Touyarou, 2011). La pâte va être laissée à reposer dans un pétrin à une température de 20-25°C pour favoriser l'activité de la levure ou du levain qui effectuent leurs fermentations respectives en exploitant en utilisant les sucres résiduels présents dans la farine. Lors de pointage la majorité des arômes est créée principalement grâce à l'acide propionique et également d'autres acides. Ces derniers ne s'agissent pas comme des exhausteurs des arômes, mais ils contribuent également à ralentir le rancissement (Fredot, 2009).

I.4.1.3. Le formage :

Le formage consiste à diviser la pâte en pâtons de poids identique, interrompant la première fermentation. Cette phase est indispensable pour garantir un pain uniforme destiné à la vente. Cette action mécanique, assez brutale et rapide, conduit à une diminution de la flexibilité de la pâte et même à une détérioration de la structure créée lors des étapes précédentes, pour cette raison que le processus de divisage est généralement suivi d'un boulage, qui permet de restaurer cette structure (Luc et Valerie, 2012).

I.4.1.4. L'apprêt :

C'est La seconde étape de fermentation qui se situe entre la période du formage et celui de la cuisson, elle est essentielle pour le développement de la pâte. Au cours de cette phase de, les pains sont maintenus dans une étuve sans aucun traitement mécanique appliqué, à une température stable entre 24 et 25 °C avec un niveau élevé d'humidité. Il est important de prévenir le dessèchement en surface des pâtons (croûtage) pendant cette étape, car cela pourrait gêner leur développement optimal (Macauley et Ramadjita, 2015). C'est durant cette phase que les levures assurent complètement leur fonction comme un agent de levée, en métabolisant les sucres libérés par l'amidon et les amylases, produisant aussi du dioxyde de carbone et de l'alcool. Après ce repos, les pains se développent pour atteindre un volume considéré comme idéal (environ trois fois leur taille initiale lors du formage) (Deneuve, 2008).

I.4.1.5. La scarification :

Des légères incisions sont pratiquées sur la surface des pâtons à l'aide d'une lame, afin de créer des tracés destinés à prévenir les ruptures inesthétiques de la croûte lors de l'étape de

cuisson. Elles permettent également d'obtenir de belles arêtes, qui sont des éléments essentiels à l'esthétique du pain (**Fredot, 2009**).

I.4.1.6. La Cuisson :

C'est la dernière étape clé du processus de fabrication du pain. Au cours de cuisson plusieurs transformations physiques, chimiques et biologiques interviennent, comme la vaporisation de l'eau, la création d'une structure poreuse, l'élargissement du volume, la dénaturation des protéines, la gélatinisation de l'amidon et la formation de croûte. C'est Le facteur de la température qui joue un rôle déterminant dans l'activation de ces différents changements physico-chimiques lors de la cuisson du pain (**Mondal et Datta, 2008**).

La formation de la mie et de la croûte se fait progressivement pendant la cuisson (**cf. figure 2**), qui se déroule dans un four où l'atmosphère est chargée de vapeur d'eau, à une température d'environ 250°C pendant une durée de 20 à 30 minutes. Ce processus entraîne certaines transformations : augmentation soudaine de la quantité de pain grâce à une production rapide de CO₂ et saturation gazeuse de la pâte, en parallèle un film précurseur de la croûte se forme à la surface. Ces deux modifications cessent lorsque la température interne atteint environ 60°C, moment où l'alcool produit commence à s'évaporer (**Doumandji et al., 2003 ; Alais et al., 2005**).

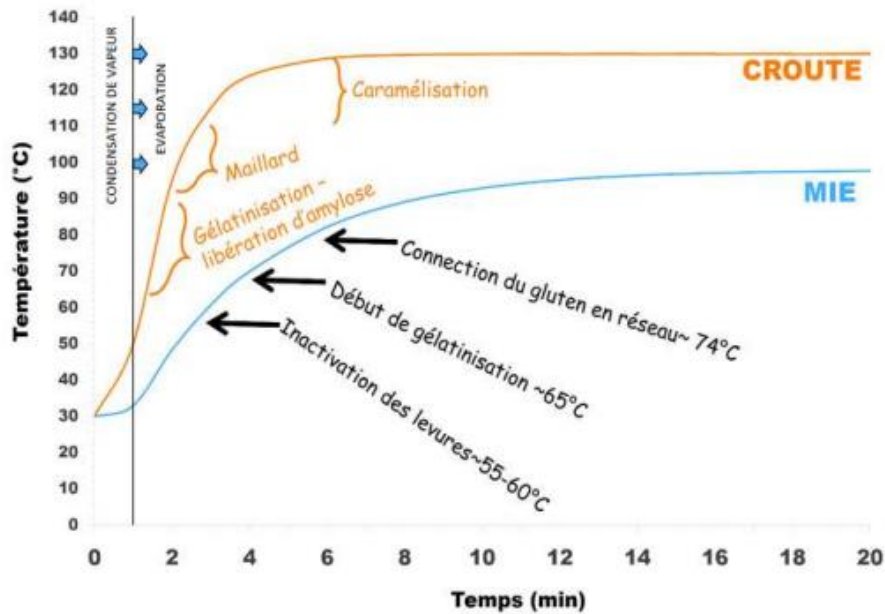


Figure 2: Schéma représente les phénomènes se produisant dans la croûte et la mie de pain lors de la cuisson (Le-Bail *et al.*, 2009).

I.5. La Qualité Du Pain :

I.5.1. La Qualité Sanitaire :

La qualité sanitaire du pain repose sur l'absence des microorganismes indésirables et des composés chimiques nocifs, ce qui contribue à améliorer sa valeur nutritionnelle (Sablani *et al.*, 2002). Les conditions sanitaires dans les boulangeries, ainsi que les conditions de travail pour les boulangers et les intervenants de la chaîne de distribution du pain, ne sont pas idéales. Cela expose par conséquent le pain à une contamination par des microorganismes et agents pathogènes (Olusegun *et al.*, 2015). Quand les personnes chargées de la préparation des aliments ne respectent pas une hygiène personnelle adéquate, elles peuvent servir de vecteur pour la transmission des agents pathogène, notamment par le biais des mains, de la bouche et de la peau, entre autres (HPA, 2009).

I.5.1.1. L'altération bactérienne :

L'altération du pain par les bactéries, due à une production d'acides et/ou d'enzymes par les bactéries qui contaminant le pain, se traduit à la suite par un changement de la couleur, d'apparence, le goût et son odeur. On parle d'altération ou de pourrissement lorsqu'il y a un changement altèrent la qualité du pain à tel point qu'il devient non consommable (Inoue *et al.*, 1992).

Il existe deux types d'altérations bactériennes des pains bien connus : la maladie du pain rouge, due à la prolifération de *Serratia marcescens* aussi connue sous le nom de *Prodigiosus*, et le pain filant ou visqueux, causé par *Bacillus subtilis* et *Bacillus mesentericus*, dont les spores peuvent résister pendant plusieurs heures à une température de 100 °C , Ces bactéries peuvent contaminer le pain à partir des matières premières, des équipements ou même de la levure utilisée (Bossou, 2022).

I.5.1.2. L'altération fongique :

Le développement fongique dans la farine destinée à la fabrication du pain et les produits de boulangerie, peut provoquer une contamination primaire par les mycotoxines (Salimata et al., 2020). Même si le processus de cuisson élimine généralement les moisissures, une mauvaise manipulation peut permettre leur persistance, et donc la production de mycotoxines dans les produits boulangers, notamment, en raison de la présence de spores dans la poussière de boulangerie (Weidenbörner et al., 2000).

L'altération fongique du pain est apparue essentiellement à l'arrivée du pain conditionné et prétranché. Bien que la cuisson détruise la majorité des spores de moisissures, la croûte du pain peut être rapidement recontaminée après cuisson par des spores présentes en suspension dans l'air, ou sur les machines de tranchage, les surfaces de contact, les emballages ou même les mains des opérateurs. Ces spores ont la capacité de germer et de détériore ensuite le produit pendant son stockage, surtout si l'environnement est chaud et humide, ou si le pain est emballé encore chaud, ce qui favorise la condensation à l'intérieur de l'emballage. Les moisissures sont ainsi la cause la plus fréquente de l'altération du pain, se manifestant par des tâches duveteuses et feutrées, de couleurs variables (Zuliani et Garry 2004). Les genres *Penicillium* et *Aspergillus* sont les plus fréquemment liés à la contamination fongique du pain. Cependant, on estime qu'environ de 15 espèces distinctes de moisissures, peuvent être proliférer sur ce genre de produit (Chaurand et al., 2005).

I.5.1.3. L'altération chimique :

L'altération chimique du pain est principalement liée à la présence de résidus de pesticides, dont l'utilisation s'est largement répandue dans le secteur agricole au cours des dernières années, une part importante de ces résidus provient du traitement des blés. Toutefois, lorsque ces produits phytosanitaires (insecticides, herbicides, fongicides) appliqués aux sols, aux semences et aux plantes, sont utilisés conformément aux bonnes pratiques agricoles, les concentrations détectées dans le pain demeurent négligeables (Jean Buré, 1979). Par ailleurs,

la concentration des résidus de pesticides se trouve en grande quantité au niveau des couches extérieures du grain de blé. Par conséquent, les farines complètes ou semi-complètes sont plus susceptibles d'être contaminées que les farines blanches, et donc le pain blanc. Cependant, une partie de ces résidus est dégradée au cours du processus de panification (**Fardet et al., 2006**).

I.5.2. La Qualité Technologique :

I.5.2.1. L'aspect extérieur du pain :

Un pain de bonne qualité présente une apparence externe bien formée, avec une croûte dorée et légèrement brillante, et des lignes régulières dues à un bon façonnage. On considère qu'une couleur est anormale si la croûte reste pâle, se prend une teinte rougeâtre ou plus rarement développe un aspect terreux (**Lopez et al., 2002**). Les pains à une couleur pâle, aussi désignés comme (difficiles à colorer), sont préparés avec une farine provenant à partir de blé pauvre en sucres et en enzymes diastases du fait d'un taux d'extraction insuffisant (**Tounian, 2012**).

Ce type de problème peut arriver à un boulanger qui introduit son pain dans un four à une température trop basse, notamment, si sa préparation est excessivement fermentée, contient une quantité excessive de levain, ou si la teneur en sel est insuffisante. Cependant, ces situations restent assez exceptionnelles, Par contre, les pains qui deviennent rouges développent leur coloration très rapidement. Cette situation peut être due au boulanger si l'eau utilisée pour le pétrissage est trop chaude, ou si la pâte est mise au four après une période de pointage insuffisante (**Jean, 1979**).

I.5.2.2. Le développement et le volume :

Un bon développement au four et un volume bien rempli sont des signes d'une panification réussie, c'est-à-dire d'une fermentation maîtrisée et d'une pâte bien travaillée. Les pains qui sont lourds ou mal développés peuvent avoir un aspect n'est pas désagréable, mais présentent un volume réduit par rapport à la norme (**Leenhardt et al., 2005**). On les appelle pains lourds, car ils donnent une impression de lourdeur. Ce problème est principalement dû à la qualité de la farine, utilisation de blés à gluten à chaînes courtes, taux d'extraction trop bas, farine mal équilibrée, ou encore farine ancienne ou étuvée (**Dellaye et al., 1994**).

I.5.2.3. L'aspect de la mie :

La mie d'un bon pain présente couleur claire, avec une texture fine et bien alvéolée, une couleur grise de la mie est un critère de qualité important (**Leenhardt et al., 2005**). Elle peut résulter de blés défectueux (boutés, charbonnés, altérés, trop vieux ou exotiques), d'un nettoyage inadéquat ou d'une mouture mal effectuée. Aussi, l'utilisation d'un levain trop vieux et acide ou une eau trop chaude, peuvent être la cause. Par ailleurs, une texture serrée peut être perçue comme un défaut, mais elle doit toujours rester souple et légère. Donc, la mie ne sera considérée comme imparfaite que si les parois qui séparent les alvéoles sont épaisses et si sa texture donne une impression de rudesse au toucher. Ce problème peut survenir si la farine provient d'un blé à gluten court ou légèrement détérioré, ou encore lorsque la proportion de farine de basse qualité est trop importante dans la farine destinée à la panification (**Tounian, 2012**). Cela peut aussi être dû au boulanger, surtout si la pâte est trop ferme, si l'eau utilisée est trop chaude, ou si la fermentation n'est pas correctement contrôlée. Une mie collante se traduit par une adhérence au couteau lors de la découpe, qui résulte de la présence des grains de blé germés pendant le processus de mouture de la farine, ou par l'ajout de farine de seigle à la farine panifiable (**Chaurand et al., 2005**).

I.5.3. La Qualité Nutritionnelle :

Le pain est un aliment énergétique, riche en glucides qui représentent environ 55 % de sa composition, se présente principalement sous forme d'amidon, un sucre complexe absorbé lentement. Cela favorise un bon équilibre énergétique. Sa valeur calorique augmente avec un taux d'extraction faible. A cet effet, le pain complet est moins énergétique. Il est également source de protéines, bien que de valeur biologique inférieure, car il manque de certains acides aminés essentiels. Le pain a une faible teneur en lipides, même si les céréales sont naturellement riches en acide linoléique, un acide gras essentiel (**Curtet, 1998**).

Le teneur en minéraux varie en fonction du taux d'extraction de la farine, lorsqu'il est faible, la farine manque d'éléments minéraux, car ces éléments sont principalement concentrés dans les couches superficielles du grain de blé. Cette teneur en minéraux est également influencée par le type de sol, les conditions climatiques et la variété du blé. Les vitamines présentes dans le blé sont principalement celles du groupe B, telles que : la thiamine, la riboflavine et la niacine. Il s'agit des coenzymes, qui jouent un rôle dans le métabolisme des glucides. La quantité qu'ils contiennent dans le pain varie considérablement en fonction du niveau d'extraction des farines. La teneur en fibres alimentaires est nettement plus élevée dans

le pain complet que dans le pain blanc, car elles sont principalement issues des parois des végétaux, est préservées dans les farines moins raffinées (cf. **Tableau 3**) (**Curtet, 1998**).

Tableau 3 : Valeurs nutritionnelles pour 100 g de pain (**Guignard, 1993**).

Constituants	Pain blanc	Pain complet
Valeur calorique	255 kcal 1067 kJ	230 kcal 962 kJ
Eau	35 g	36 g
Protéines	7g	8g
Lipides	0,8 g	1,2 g
Glucides	55 g	50 g
Cellulose	0,3 g	1,5 g
Vitamines :		
• B 1 (Thiamine)	0,06 mg	0,30 mg
• B2 (Riboflavine)	0,06 mg	0,15 mg
• pp (Niacine)	0,50 mg	3,00 mg
• C (Acide ascorbique)	0	0
• E (alpha-tocophérol)	0,20 mg	1,30 mg
Minéraux :		
• Na (Sodium)	500 mg	650 mg
• K (Potassium)	100 mg	224 mg
• Ca (Calcium)	20 mg	50 mg
• Mg (Magnésium)	30 mg	90 mg
• Fe (Fer)	1 mg	2,20 mg
• P (Phosphore)	90mg	200mg
• S (Soufre)	100mg	120 mg
• Cu (Cuivre)	0,12 mg	0,40 mg

Chapitre II : Généralités sur les champignons mycotoxinogènes et les mycotoxines

II.1. Généralités sur les champignons mycotoxinogènes:

II.1.1. Introduction :

Les champignons ou « mycètes » sont des organismes uni- ou pluri-cellulaires, comprenant à la fois des espèces macroscopiques (macromycètes) et des espèces microscopiques (micromycètes), qui peuvent avoir une forme filamenteuse ou bien levuriforme. Elles se présentent partout dans la nature, Leur rôle principal est la biodégradation et le recyclage des matières organiques. Ce sont des microorganismes hétérotrophes qui ont besoin d'une source de carbone et d'azote pour leur croissance, Dans le système de classification du monde vivant, les mycètes représentent un règne séparé de celui des plantes et des animaux (**Chabasse et al., 2002**). Sont également connus sous le nom « Fungi », il s'agit d'organismes eucaryotes dépourvus de chlorophylle, Ce qui en fait l'un des êtres hétérotrophes (**Kendrick, 2000**).

II.1.2. La Définition des champignons :

Les champignons se caractérisent par une particularité morphologique, car leur réseau mycélien très développé se relie étroitement à leur substrat nutritif, Leur mode de reproduction est aussi présent une caractéristique remarquable. Les champignons produisent un nombre important de spores par de deux types de reproduction (sexuée ou asexuée), ce qui leur assure une capacité efficace de diffusion ou de contamination. Certains des micromycètes sont parfois être visibles, lorsqu'ils créent de véritables agglomérats de filaments mycéliens et d'organes fructifères, On désigne cela sous le terme de moisissures (**Chabasse et al., 2002**).

Les champignons microscopiques sont appelés couramment « moisissures », Ce sont des organismes pluricellulaires, leur végétative appelée « thalle », est constitué de longs filaments ramifiés et fréquemment cloisonnés, Quand leur croissance est avancée suffisamment, Induit à une accumulation des hyphes qui forme un mycélium visible à l'œil nu, et se présente sous la forme d'un feutrage sur la surface colonisée (**Nicklin et al., 2000**).

Les moisissures peuvent être produit une variété des métabolites secondaires, certains sont très bénéfiques pour l'homme et présentent un intérêt considérable dans divers domaines. Cependant, malgré ces avantages, la moisissure est également un facteur de détérioration important. Peut entraîner plusieurs problèmes lorsqu'ils sont développés sur les aliments, notamment la modification de l'aspect des produits alimentaires, l'altération des qualités organoleptiques et la réduction soit qualitative ou bien quantitative de leur valeur nutritionnelle.

Cela peut provoquer également une diminution des rendements agricoles, ainsi des pertes économiques dues au rejet des produits contaminés. Toutefois, l'impact le plus nocif de l'altération des denrées alimentaires réside dans la production de substances toxiques appelées les mycotoxines (Pitt et al., 2000).

II.1.3. La Classification des champignons :

Le règne des champignons est constitué de plusieurs divisions, qui sont même subdivisées en classes. Ces classes comprennent des ordres, eux-mêmes organisés en familles. L'identification du champignon basé principalement sur des caractéristiques morphologiques. Parfois, un micromycète peut se présenter sous diverses formes (sexuée, ou téléomorphe, et asexuée, ou anamorphe). On désigne « les synanamorphes » lorsque coexistent plusieurs formes asexuées, Si l'espèce fongique se trouve sous forme sexuée et asexuée dans une même culture, on parle alors « d'holomorphe ». On distingue quatre divisions en fonction des modes de reproduction sexuée : les Mastigomycotina, les Zygomycotina, les Ascomycotina et les Basidiomycotina, Quand la reproduction sexuée est inconnue, on désigne cela sous le nom « Deuteromycotina » (Chabasse et al., 2002).

II.1.4. Identification des champignons :

L'identification des champignons repose sur l'analyse sur des critères macroscopiques (tels que l'aspect et la couleur des colonies) et microscopiques (comme l'observation des filaments végétatifs, des organes de fructification et des spores). Des éléments complémentaires comme les critères culturaux, tels que la température, la vitesse de croissance et milieux favorables peuvent également être utilisés pour l'identification (Cahagnier et Richard-Molard, 1998). En plus des critères morphologiques, il existe actuellement des critères moléculaires nouvelle qui permettent une identification précise des espèces, Les loci les plus couramment analysés sont les segments d'ADN codant pour les différentes fractions des ARN ribosomiaux (Boudih, 2011).

II.1.5. Morphologie des champignons :

La structure des champignons est fondée sur leur appareil végétatif appelé thalle, qui est constitué d'hyphes ou de cellules allongées, Il est formé de filaments ou hyphes tubulaires et fins de 2 à 15 µm de diamètre, qui pouvant être plus ou moins ramifiés. Ces hyphes comprennent les organites classiques d'une cellule, tels que le noyau, les mitochondries, le

cytoplasme et les vésicules. L'ensemble des hyphes forme un réseau appelé mycélium (cf. **Figure 3**) (**Boudih, 2011**).

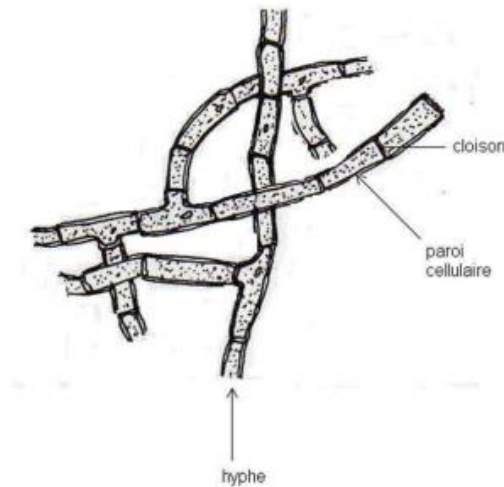


Figure 3: Organisation d'un hyphe et son formation d'un mycélium (**Boudih, 2011**).

Les hyphes sont souvent séparés par des cloisons, et contenant un seul noyau, on les appelle des hyphes cloisonnés ou « septés ». Tandis que chez d'autres, les cellules ne sont pas séparées par une cloison transversale, On parle alors d'un hyphe coenocytique ou « siphonné » (cf. **Figure 4**). Les champignons possèdent une paroi cellulaire représentant entre 20 et 30 % du poids sec du mycélium. Elle est principalement constituée de microfibrilles de glucanes et de chitine (un polysaccharide très résistant). Dans le cas de certains chytridiomycètes, cette paroi est remplacée par de la cellulose. Ces deux polysaccharides assurent une protection aux champignons contre les agressions de milieu extérieur. Elle est souvent recouverte de mannoprotéines, constituant une matrice qui entoure la paroi. Il est également possible que des glycoprotéines soient présentes et facilitent l'adhérence (**Lecellier, 2013**).

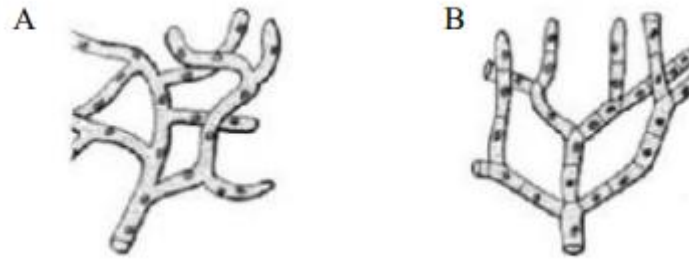


Figure 4 : La Structure de l'hyphe (A : hyphe siphonné, B : hyphe septé) (Lecellier, 2013).

II.1.6. Champignons mycotoxinogènes :

On peut distinguer deux catégories des champignons toxigènes (produisant des toxines), à savoir, une première catégorie regroupe des champignons qui envahissent leur substrat, et produisent leur mycotoxine sur les plantes au niveau du champ, Cela correspond aux « toxines de champ ». L'autre catégorie rassemble ceux qui produisent leur toxine après la récolte, on les qualifiera comme « toxines de stockage ». Des champignons présents dans le sol ou sur les débris végétaux, peuvent aussi disperser leurs spores sur les plantes ou les grains, puis se multiplier lors du stockage si les conditions sont favorables (Afssa, 2009).

Les champignons toxigènes peuvent se développer presque dans tous les climats et sur tous les supports solides ou liquides, À condition qu'elles trouvent des éléments nutritifs et une humidité suffisante (une activité d'eau a_w supérieure à 0,6), C'est pourquoi une grande variété des substrats alimentaires est susceptible d'être contaminée. On peut classer les aliments concernés en deux groupes majeurs : les aliments et produits d'origine végétale, et par transfert, ceux d'origine animale. Les produits et aliments d'origine végétale incluent les céréales et leurs produits dérivés, les fruits, le café, le cacao, les épices, les jus et produits de fermentation. Les produits et aliments d'origine animale : tels que, le lait, les abats, et ces dérivés. En raison, de la capacité de contenir des résidus des mycotoxines (ou des métabolites de mycotoxines) présentes dans les aliments consommés par les animaux d'élevage (Afssa, 2009).

II.1.7. Flore fongique de la farine :

Les céréales et leurs dérivées, sont les aliments les plus souvent contaminés par les champignons. La contamination fongique représente l'une des facteurs majeurs de la

détérioration dans le stockage. Les champignons peuvent ainsi de réduire la capacité de germination des grains et diminuer leur valeur nutritive (**Lacey et al., 1991**).

La présence de ces champignons dans cette denrée alimentaire, est influencée par Le facteur climatique. Des études sur la flore fongique des céréales montrent une corrélation entre la composition de cette flore et les conditions climatiques, que ce soit dans les champs ou lors du stockage. Les genres *Penicillium* et *Aspergillus* sont les plus fréquemment trouvées dans les céréales des pays chauds, tandis que le genre *Fusarium* se développe généralement dans des climats moins chauds et plus humides. Les pays méditerranéens, caractérisés par un climat chaud et humide, offrent des conditions favorables à l'invasion des produits agricoles par les moisissures. D'autres facteurs peuvent influencer sur l'envahissement d'une denrée alimentaire par les champignons, tels que la différence d'un substrat à un autre, qui est dû aux variations des caractéristiques physico-chimiques entre les produits alimentaires. Cela explique, pourquoi un aliment particulier peut être contaminé par certaines moisissures, tandis que d'autres ne l'affectent pas. Parfois, cette contamination est suite par une sécrétion des mycotoxines (**Lahouar, 2016**).

Les céréales constituent l'un des composants alimentaires les plus essentiels, Ce qui se transforme ensuite en farine, une matière première à partir desquelles divers aliments finis sont fabriqués, tels que, Les produits de la boulangerie, notamment le pain. Ces matières alimentaires peuvent être contaminées, soit par les spores présentes dès le départ dans les céréales, soit ultérieurement lors de stockage. Les moisissures qui sont généralement responsables de cette contamination appartiennent surtout aux genres de : *Penicillium*, *Aspergillus* et *Fusarium* (**Tabuc, 2007**).

Les céréales sont exposées à plus de 150 espèces de moisissures, sont identifiées comme contaminants extérieurs. Les spores fongiques de ces espèces sont naturellement en contact avec les grains de céréales avant, pendant et après la récolte, ainsi que lors du transport et du stockage des graines. De nombreux facteurs physico-chimiques influencent la croissance des moisissures (**cf. Tableau 4**), y compris : la nature du substrat, l'activité d'eau (a_w), la température, la présence d'oxygène et le pH (**Jouany et al., 2002**).

On distingue trois catégories de moisissures, sont capable de contaminés les grains : la flore des champs, de stockage et la flore intermédiaire. Les champignons de champs nécessitent une humidité élevée de (20 à 25 %) pour leur développement, tandis que, les champignons de

stockage peuvent se développer sur des substrats ayant une humidité de (10 à 18 %), (**Magan et Lacey, 1988 ; Molinie et al., 2005**).

Tableau 4: Conditions nécessaires à la prolifération de certaines espèces de moisissures (**Tahani et Elamrani, 2008**).

Espèce	Température (°C)		Humidité (a _w)
	Intervalle	Optimum	
<i>Aspergillus flavus</i>	10 à 43	30	0,82-0,99
<i>Aspergillus parasiticus</i>	-	30	0,83
<i>Aspergillus ochraceus</i>	8 à 37	25-31	0,79
<i>Aspergillus niger</i>	11 à 48	17-42	0,90-1
<i>Fusarium solani</i>	-	27-31	0,87-0,90
<i>Fusarium graminearum</i>	-	24 à 26	0,9-0,99
<i>Fusarium sporotrichoides</i>	0,2 à 35	22,7 à 27	0,88-0,99
<i>Fusarium moniliforme</i>	2,5 à 37	22,5 à 27,5	0,87-0,99
<i>Penicillium verrucosum</i>	0 à 31	-	0,80
<i>Penicillium chrysogenum</i>	5 à 37	23	0,78-0,81
<i>Penicillium frequentans</i>	5 à 37	23	0,80

I.1.1.1. Flore des champs :

Plusieurs micro-organismes présents dans le champ sont contaminés Les grains de blé, tandis que, Les moisissures constituent le principal contaminant dans l'ensemble de la microflore. Les spores des moisissures qui envahissent les grains, sont développer sur le champ, ou bien elles attendent jusqu'au moment du battage (**Deàk, 2008 ; Dendy et al., 2000**).

Ce type de moisissure, est caractérisé par une adaptation aux changements rapides des conditions dans le champ. Cependant, elle nécessite une activité d'eau (a_w) relativement élevés, pour un développement optimal (**Adams et al., 2008**). Ces moisissures mortes lentement lors de stockage, ou résistent pendant une longue durée en fonction des conditions précises. La survie est prolongée à une température basse, et une humidité faible (**Roberts, 2005**). La flore des champs est fréquemment composée de genre : *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum* et *Helminthosporium*. On trouve aussi d'autres genres moins fréquents, tels que : *Chaetomium*, *Curvularia*, *Rhizopus* et *Stemphylium* (**Sauer et al., 1982 ; Zillinsky, 1983**).

I.1.1.2. Flore intermédiaire :

C'est une catégorie des moisissures au comportement plus diversifié, Constituant des germes capables de développer à une de façon limitée au début du stockage dans des conditions spécifiques, notamment sur des grains insuffisamment secs. Les genres les plus fréquemment rencontrés sont : *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Mucor* et *Absidia* (Godon et Loisel, 1997).

I.1.1.3. Flore de stockage :

Ce type de moisissures susceptibles de contaminer les produits alimentaires durant la période de stockage. Elles se présentent sous forme de mycélium dormant sous le péricarpe, ou de spores en dormance sur la surface des grains. Ainsi, pouvant trouver des moisissures associées superficiellement aux grains stockés. Les principaux genres sont : *Penicillium* et *Aspergillus*, Grâce à leur capacité à se développer sur différents substrats et dans de températures et d'humidité variable (Mathew et al., 2011).

Chaque un des espèces de moisissures de stockage, a ses propres conditions de croissance. Tandis que, les facteurs de L'environnement peut imposer une sélection qui modifiant ainsi la composition de la communauté, et favorisant la dominance de certaines espèces productrices de mycotoxines (Christensen et al., 1969 ; Magan et al., 2003).

II.1.8. Les Principaux genres :

II.1.8.1. Le genre *Penicillium* :

Ce genre des champignons filamenteux, faisant partie du phylum des *Ascomycètes*. Il comprend environ 227 espèces, sont classées principalement en fonction des caractéristiques du thalle, des pénicilles et des spores. Les *Penicillium* sont des champignons ubiquistes et polyphages, sont fréquemment présents dans l'environnant. Cependant, leur habitat naturel étant le sol, ils sont capables de dégrader divers substrats, où ils peuvent contaminer de nombreux les denrées alimentaires, tels que, les céréales, les arachides et les produits laitiers. Ainsi, ils dégradent les matières organiques en décomposition, y compris le compost (Pitt, 1988).

Le genre *Penicillium* est saprobe, mais il peut devenir parasite en présence d'humidité, notamment lors du stockage. Leur développement se fait à des températures modérées, généralement comprises entre 20 et 27°C, mais Ils nécessitent ainsi, une activité hydrique élevée. Ces champignons sont des contaminants fréquents des régions tempérées (Pitt, 1988).

Certains des espèces du genre *Penicillium*, ont la capacité de produire des mycotoxines. En particulier, la patuline, la citrinine, l'acide pénicillique et la roquefortine C (Pitt, 1988). En revanche, d'autres espèces sont utiles, notamment dans l'industrie pour la fabrication de fromages et de salaisons, ainsi que pour la production de divers métabolites d'intérêt, comme l'amélioration des qualités organoleptiques ou l'obtention d'antibiotiques (Botton et al., 1990).

La morphologie de genre *Penicillium*, se caractérise par une organisation en forme de pinneau. Leur thalle est composé de filaments mycéliens cloisonnés « septés » et hyalins, porte des conidiophores qui peuvent être simples ou ramifiés, simples ou ramifiés, et se terminent par un pénicille (cf. Figure 5). Les phialides qui sont des cellules conidogènes, sont disposées en verticilles à l'extrémité des conidophores. Elles sont insérées directement, ou par l'intermédiaire d'une ou plusieurs rangées de métules. Les phialides produisent des conidies, qui sont des spores unicellulaires (Botton et al., 1990).

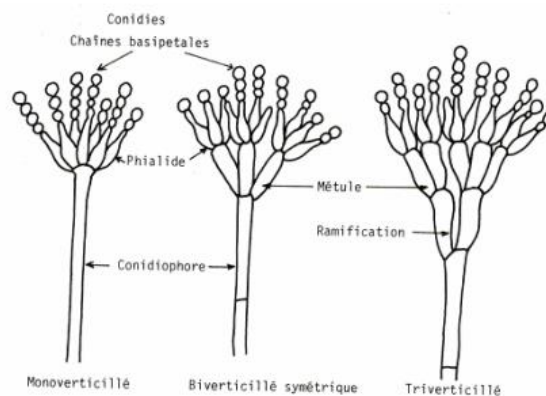


Figure 5 : Schéma de la morphologie d'un *Penicillium* (Tabuc, 2007).

II.1.8.2. Le genre *Aspergillus* :

C'est un genre qui fait partie de la classe des *Ascomycètes*. Il comprend environ 185 espèces, classées en 28 groupes, possédant des caractéristiques morphologiques, génétiques et physiologiques proches. La majorité des *Aspergillus* sont saprobes, mais ils peuvent devenir des parasites. Ils envahissent les plantes atteintes des blessures, des piqûres d'insectes ou infestés par d'autres champignons. Ils sont également présents à la surface des graines. Lorsque, des mauvaises conditions de stockage (Botton et al., 1990 ; Roquebert, 1998 ; Hocking, 2006).

Les *Aspergillus* se caractérisent par en forme de thalle peut être hyalin ou coloré, possède un mycélium cloisonné «septés», qui port de nombreux conidiophores dressés, se terminant par une vésicule sur laquelle sont disposées les cellules conidiogènes, également appelées phialides (cf. **Figure 6**). Ces derniers, sont directement insérés dans la vésicule ou bien ou portées par de petites structures, qui sont insérés aussi sur la vésicule appelées « métules ou stérigmates » (**Raper et Fennell, 1965**).

La plupart des *Aspergillus* se développent à des températures comprises entre 22 et 25°C. Tandis que, certaines espèces thermophilese développent à des températures allant de 37 à 40°C (**Morin, 1994**). Cela confirme leur présence dans une vaste répartition géographique, même si elles sont plus fréquemment associées aux régions à climat chaud (**Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002**).

Plusieurs espèces d'*Aspergillus* se retrouvent dans l'environnement, notamment dans la poussière et l'air. Ils se développent sur les substances organiques en décomposition, présentes dans le sol et le compost, ainsi que sur les denrées alimentaires surtout les céréales (**Morin, 1994**).

Certaines espèces d'*Aspergillus* sont également connues par leur capacité à produire des mycotoxines, lesquelles sont capables de provoquer de pathologies humaines et animales (**Morin, 1994**). Par contre, d'autres espèces d'*Aspergillus* sont utilisées dans l'industrie agro-alimentaire et la biotechnologie, surtout pour la production d'enzymes et d'acides organiques (**Botton et al., 1990**).

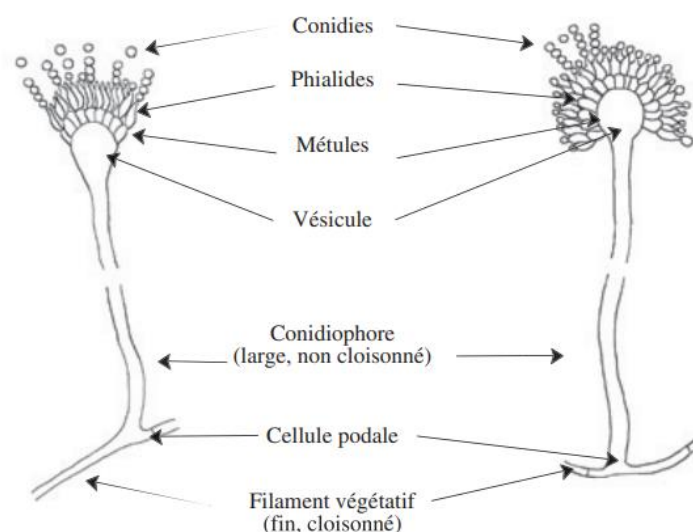


Figure 6: Schéma de la morphologie d'*Aspergillus* (**Chabasse et al., 2002**).

II.1.9. Les Conditions du développement des champignons :

Les champignons sont appartenus à la classe des microorganismes hétérotrophes, ils ne peuvent se développer que dans un environnement riche en éléments nutritifs indispensables à leur croissance. La structure rigide de leur paroi la cellulaire empêche l'absorbations directe des substances nutritives complexes présentes dans son environnement par phagocytose (**Lahouar, 2016**).

Pour cette raison, les champignons produisent une grande variété d'enzymes capables de décomposer les substances complexes présentes dans leur environnement en molécules simples, afin de faciliter leur absorption ultérieurement (**Dragacci et al., 2011**).

Plusieurs conditions sont influencées sur le développement des champignons, y compris des facteurs, qui peuvent être soit intrinsèques :(liés aux caractéristiques propres de la souche lui-même), soit extrinsèques :(comme les propriétés physiques, chimiques ou biologiques de l'écosystème) (**Pitt et Hocking, 1997**).

II.1.9.1. Les facteurs physiques :

II.1.9.1.1 L'activité de l'eau :

L'activité de l'eau (a_w) C'est la quantité d'eau libre qui n'est pas liée (aux sels, sucres ou protéines) qui est présente une fois que le substrat a été colonisé par les champignons, est assurer le bon déroulement de leurs réactions métaboliques, ce qui est essentiel pour leur développement dans un substrat spécifique. L'activité de l'eau (a_w) représente le rapport entre la pression de vapeur de l'eau contenue dans un substrat (P) et celle de l'eau pure (P_0) (**Formule 1**), mesurées à la même température et à la même pression (**Pitt et Hocking, 1997**).

$$a_w = \frac{P}{P_0}$$

Avec : **P** : substrat, **P₀** : l'eau pure.

La plupart des champignons se développent idéalement à des niveaux d'activité de l'eau (a_w) proches de 0,85. C'est pourquoi beaucoup de produits alimentaires dont l'activité hydrique est trop faible pour permettre la croissance bactérienne, peuvent néanmoins être colonisés par des champignons. Le genre *Fusarium* ne peut se développer qu'à des activités de l'eau (a_w) supérieures à 0,9, Par contre, Certains des genres notamment *d'Aspergillus* et *Penicillium*, sont qualifiés de xérophiles signifiant qu'ils peuvent se développer dans des conditions d'humidité extrêmement basse, avec des a_w proches de 0,70 (**cf. Figure 7**). Ces champignons peuvent donc

se développer dans des aliments pauvres en eau, comme les céréales stockées. De ce fait, le contrôle de l'activité de l'eau est très essentiel pour garantir la sécurité sanitaire des aliments (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz , 2002).

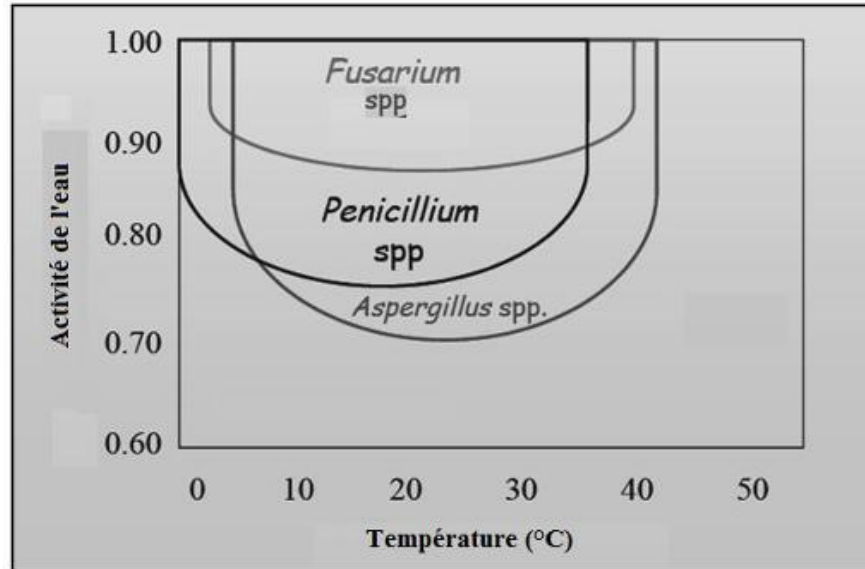


Figure 7: Schéma de l'effet combiné de la température et de l' a_w sur le développement des genres : *Fusarium*, *Penicillium* et *Aspergillus* (Magan et al., 2015).

II.1.9.1.2 La température :

La température constitue un facteur déterminant dans le développement des champignons, en particulier en ce qui concerne la cinétique de croissance, lors d'une élévation excessive de la température peut induire une dénaturation des enzymes, soit provoquer une inhibition des réactions enzymatiques essentielles. À l'inverse, une diminution de la température entraîne un ralentissement des activités enzymatiques, réduisant par conséquent sa vitesse de croissance (Lahouar, 2016).

Les champignons sont des microorganismes mésophiles, présentant une température optimale de croissance située entre 25 et 35 °C. Lorsque les conditions thermiques s'éloignent de cette zone optimale, le développement des hyphes se fait plus lentement, Les spores de ne sont pas aptes à germer en dessous de 5°C, cependant, elles ont la capacité de résister aux températures froides jusqu'à -20°C (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

La croissance des champignons varie selon les genres et par rapport aux conditions thermiques. À titre d'exemple, les espèces appartenant au du genre *Fusarium* se développent habituellement dans les climats tempérés, avec une température optimale située entre 26 et

28 °C. En revanche, les *Aspergillus* prolifèrent mieux sous des climats chauds, *Aspergillus ochraceus* par exemple présente une croissance optimale entre 25 et 30 °C (Ramos et al., 1998). Certaines espèces, comme celles du genre *Penicillium*, sont psychrophiles ou psychrotolérantes et capables de se développer à de basses températures, avec un intervalle allant de 4 à 31 °C et un optimum autour de 12 °C (Lahouar, 2016).

II.1.9.1.3 Le temps :

L'évolution du développement des champignons est fortement influencée par le facteur temps, car leur croissance ne se déroule pas immédiatement après la contamination, mais suit une progression déterminée par les conditions de l'environnement. Le processus de croissance a lieu lorsqu'il y a disponibilité des conditions favorables, Cela se fait par plusieurs phases.

La vitesse de développement varie significativement en fonction des genres des champignons, présente généralement un développement plus rapide à des températures optimales. Le temps d'exposition d'un aliment à des conditions favorables a un impact direct sur le niveau de contamination par des champignons et le type d'espèces prédominantes. Il est donc essentiel de surveiller cette évolution en fonction du temps afin d'établir les limites de conservation des produits et ajuster les méthodes de stockage selon le danger.

II.1.9.1.4 La lumière :

La lumière joue également un rôle dans le développement des champignons, elle facilite la maturation des conidies et favorise la germination des spores. En général, les champignons présentent une faible sensibilité à la lumière. Cependant, il existe des espèces qui ne tolèrent pas la lumière et se développent dans des endroits obscurs tels que les grottes. À Par contre, d'autres se développent sur les pentes de montagne constamment ensoleillées ou dans des zones désertiques (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

II.1.9.1.5 La Composition gazeuse :

La majorité des champignons sont des micro-organismes strictement aérobies, nécessitant d'oxygène pour se développer de manière normale. Néanmoins, certaines espèces sont capables de se développer même en présence de concentrations faibles d'oxygène (jusqu'à 2,1 %, soit dix fois plus moins que dans l'atmosphère). Par exemple, le genre d'*Aspergillus* développé dans des conditions très pauvres en O₂, contrairement à *Fusarium* qui sont dépendants de l'oxygène, Certaines espèces, comme *Byssochlamys*, sont capables de se développer en anaérobiose (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

Le développement des champignons est également influencé par la concentration en CO₂, et cela a un effet sur l'intensité respiratoire. L'augmentation du niveau de CO₂ dans l'environnement inhibe la croissance des champignons. Le développement d'*Aspergillus ochraceus* est complètement inhibé par une teneur de 80% de CO₂ (Pfohl-Leskowicz, 2001). Ainsi, le développement de *Penicillium verrucosum* peut tolérer des niveaux de CO₂ pouvant aller jusqu'à 25% avec aucune modification significative. Cependant, dès que la concentration de CO₂ dépassant 25%, la croissance du champignon est diminuée de 40% et presque 75% dans une atmosphère à 50% de CO₂ (Cairns-Fuller et al., 2005).

II.1.9.2. Les facteurs chimiques :

II.1.9.2.1. Le pH :

Chaque groupe de microorganismes possède un pH (l'activité des ions hydrogène) idéal pour sa prolifération, avec un intervalle de pH déterminée dans laquelle il se développe. Le pH a principalement un impact sur la vitesse des réactions enzymatiques, contrôlant par conséquent l'évolution des micro-organismes. La majorité des champignons préfèrent un milieu légèrement acide, leur développement étant généralement optimal entre 5 et 6. Ils ont une tolérance importante au pH (cf. figure 8) (Pitt et Hocking, 1997).

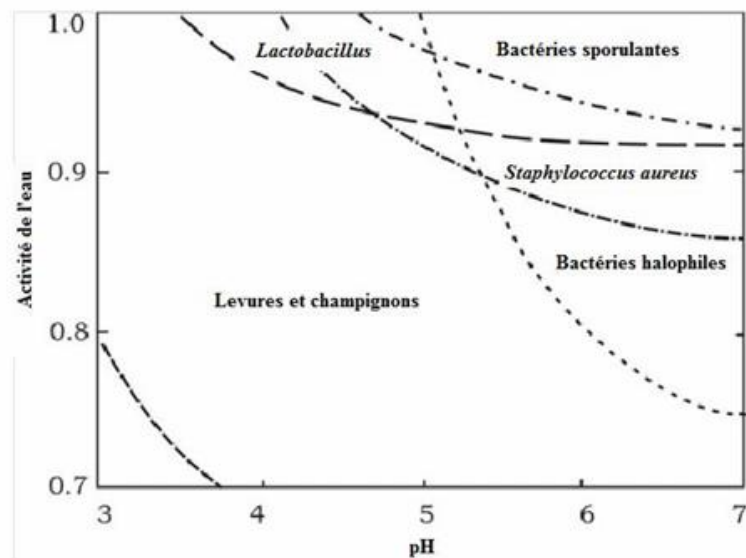


Figure 8: l'Effet combiné de l'a_w et du pH sur le développement des microorganismes (Pitt et Hocking, 1997).

II.1.9.2.2. Composition du substrat :

La composition de substrat a un impact important sur le développement des champignons. Dans le cas des céréales, les moisissures ont habituellement à se concentrer sur le germe du grain, une partie extrêmement sensible à la contamination (**Lahouar, 2016**).

II.1.9.3. Les facteurs biologiques :

II.1.9.3.1. Les interactions microbiennes :

Dans le monde vivant, il est courant de constater une concurrence pour les nutriments et l'espace. Les interactions entre différentes espèces sont déterminées par la présence de plusieurs types de microorganismes dans le même environnement. La production de mycotoxines et leur concentration dans l'environnement peut également exercer un effet inhibiteur sur le développement de certaines espèces microbiennes. De plus, une croissance apicale rapide peut rapidement saturer le milieu, inhibant ainsi le développement des espèces qui croissent à un rythme plus lent (**Pfohl-Leszkowicz, 2001**).

II.1.9.3.2. La présence d'insectes :

Les insectes jouent un rôle principal dans la transmission des spores des champignons. Favorisent la contamination des aliments également sur le champ et lors du stockage. En altérant les parois des grains, ils facilitent l'invasion de graines fissurées par des champignons créant par conséquent un environnement favorable à la production de mycotoxines (**Pfohl-Leszkowicz, 2001**).

Les acariens, en se présentant sur les grains moisiss, transmettent les spores des champignons sur leur corps ainsi que dans leur tube digestif. De façon similaire, la contamination du maïs par les aflatoxines est souvent due à l'intervention des chenilles et des coléoptères (**Hubert et al., 2007**).

II.2. Généralités sur les mycotoxines :

II.2.1. Introduction :

Les champignons toxigènes produisent plusieurs métabolites secondaires lorsqu'ils se développent dans ou sur les denrées alimentaires, ces métabolites secondaires sont hautement toxiques et appelés « mycotoxines ». Les mycotoxines persistent tout au long de la chaîne alimentaire grâce à leur résilience face aux traitements physiques et chimiques (**Lahouar, 2016**).

Les mycotoxines appartiennent aux métabolites secondaires, qui ne semblent pas avoir de fonction évidente dans le métabolisme du micro-organisme. Il s'agit probablement de mécanisme de défense pour les champignons face aux parasites, ou de rivaliser avec d'autres micro-organismes compétiteurs dans un environnement commun (**Lahouar, 2016**).

II.2.2. Définition :

Le terme "mycotoxine" provient du mot grec « mycos », signifiant "champignon", et du mot latin « toxicum », signifiant "poison" (**Bhat et al., 2010**). Les mycotoxines sont des métabolites secondaires toxiques sécrétées par les moisissures en particulier les champignons mycotoxinogènes, qui sont susceptibles de contaminer plusieurs produits alimentaires avant, pendant et/ou après la récolte, dans stockage, et aux stades des chaînes de production alimentaires, et qui sont principalement nocive pour la sante humain et animal (**Elsaadani, 2019**). La plupart des espèces fongiques, sont connues pour sa production des mycotoxines appartiennent aux genres : *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, et *Alternaria*, en raison de leur caractère ubiquitaire (**Sidhu, 2002**).

La présence de ces mycotoxines dans les aliments observée lorsqu'un ensemble de facteurs environnementaux favorables sur le champ, ainsi que des procédés de récolte, de stockage et de transformation mal maîtrisés sont associés (**FAO, 2004**).

L'exposition aux mycotoxines se fait principalement par, l'introduction des mycotoxines dans l'organisme, via l'ingestion d'aliments contaminés. Elles peuvent être ingérées directement à travers des denrées végétales contaminées (voie primaire), ou indirectement par des denrées animales provenant d'animaux exposés (voie secondaire ou toxicité de relais). D'autres voies d'exposition incluent, comme l'inhalation de spores présentes dans les poussières, ainsi que le contact cutané avec les mycotoxines (**Miller, 1992 ; Jarvis et Miller, 2005**).

II.2.3. Classifications :

Selon leur origine biologique et leur structure, les mycotoxines peuvent être classées en polycétoacides, cyclopeptides, terpènes et métabolites azotés. Par ailleurs, elles peuvent également être classées en fonction de leurs principaux effets toxiques. Parmi les groupes de mycotoxines considérées comme importantes du point de vue agro-alimentaire et sanitaire, on trouve plusieurs catégories en fonction de leurs effets sur la santé humaine et animale ainsi que de leur impact sur la qualité des produits agricoles notamment : les aflatoxines, les ochratoxines

et l'ochratoxine, la patuline, les fumonisines, la zéaralénone et les trichothécènes et surtout le déoxynivalénol (Afssa, 2009).

II.2.4. La synthèse des mycotoxines :

Contrairement au métabolisme primaire, les métabolites secondaires ne sont pas essentiels au métabolisme de base des moisissures. Cependant, aboutit à la composition d'une grande diversité de molécules, y compris les mycotoxines (Tabuc, 2007). Ces derniers sont produits durant la phase stationnaire à partir des précurseurs issus du métabolisme primaire, tels que l'Acétyl-CoA, les acides aminés, les phénols, ainsi des composés terpéniques (Steyn, 1998).

Les voies de la synthèse des mycotoxines sont très complexes et longues, les réactions sont catalysées par des enzymes ayant une spécificité différente de celles du métabolisme primaire. La nature des métabolites secondaires est très variée et hétérogène, dépend des caractéristiques spécifiques de la souche ainsi que des conditions environnementales (Steyn, 1980). Ces produits sont fréquemment classés par des familles de substances chimiquement voisines, comme (les aflatoxines, les trichothécènes, ... etc.). Elles proviennent de trois principales origines biosynthétiques (cf. Figure 9) : la voie des polyacétates, celle des terpènes et celle des acides aminés (Tabuc, 2007).

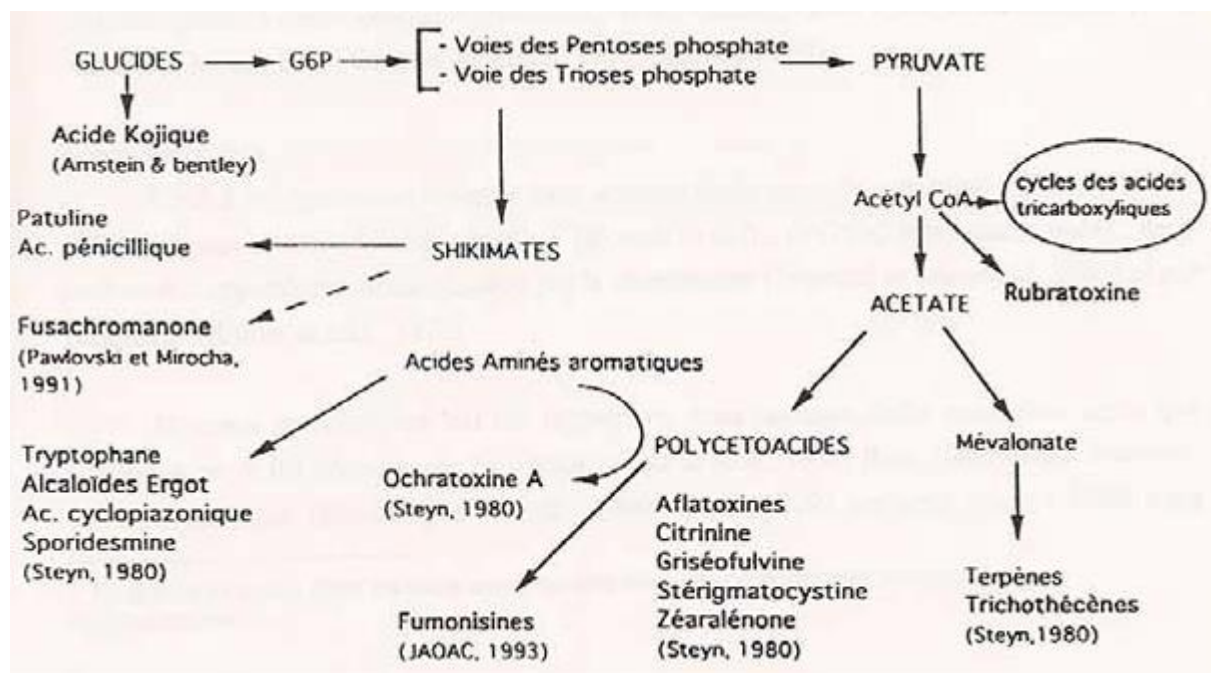


Figure 9: Voies de la synthèse des mycotoxines (Tabuc, 2007).

II.2.5. Les facteurs influençant la synthèse des mycotoxines :

Il existe une relation directe entre La production de mycotoxines et le développement des champignons, car les conditions influençant la croissance impactent également la synthèse des mycotoxines. Cependant, les conditions favorisant la production de mycotoxines sont généralement plus limitées et s'avèrent très similaires à celles des conditions idéales pour la croissance du champignon. Le type et la quantité des mycotoxines dépendent non seulement de ces conditions, mais aussi de la stabilité des toxines dans l'aliment et des caractéristiques intrinsèques des souches productrices. La mycotoxicogénèse est désignée l'ensemble des facteurs impliqués dans la synthèse et la libération des mycotoxines, et donc d'une interaction entre les facteurs environnementaux et génétiques de la souche (Olsen *et al.*, 2003 ; Blumenthal, 2004).

II.2.5.1. Les facteurs intrinsèques :

Un aliment contaminé par des moisissures n'est pas absolument présenté des mycotoxines, car les champignons ne sont pas tous toxigènes. Aucune relation directe n'a été établie entre une espèce fongique spécifique et une mycotoxine donnée. En fait, plusieurs espèces de champignons appartenant à divers genres peuvent produire une même toxine. En effet, une molécule donnée peut être synthétisée par plusieurs espèces de champignons appartenant de différents genres. Même parmi les champignons connus pour être toxigènes. Certaines peuvent générer un grand nombre de mycotoxines en grande quantité, tandis que d'autres en produisent moins ou même être non toxigènes (Castegnaro et Pfohl-Leskowicz, 2002). La capacité d'un champignon à produire des mycotoxines et la quantité de ces toxines dépendent de la souche ((polymorphisme génétique)) et du stade de développement du champignon (Blumenthal, 2004). Les espèces des genres *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Alternaria* sont principalement responsables de la production de mycotoxines. La dissémination des mycotoxines est liée au potentiel infectieux des champignons (intensité de sporulation et la longévité des spores) (Lahouar, 2016).

II.2.5.2. Les facteurs extrinsèques :

La production de mycotoxines est influencée par divers facteurs extrinsèques ou environnementaux, qu'ils soient d'origine : physique, chimique, physico-chimique ou biologique (Mitchell *et al.*, 2004). Cependant, ces facteurs interagissent généralement entre eux, et leurs effets combinés sont souvent plus importants que celui de chaque facteur pris en compte individuellement (Lacey, 1986 ; Lahouar, 2016).

Les deux facteurs physiques ayant un impact significatif sur la croissance et la production de mycotoxines sont la température et l'humidité (Mitchell *et al.*, 2004). Les types de mycotoxines présents dans les céréales et autres produits d'origine végétale, son dépendent aux conditions climatiques qui favorisent le développement de certaines espèces de moisissures toxigènes et la production de mycotoxines. Ainsi, les mycotoxines détectées dans les céréales cultivées en régions à climat froid sont différentes de celles observées dans les zones tropicales ou chaudes. Il convient également de noter que la production de certaines mycotoxines ne dépend pas uniquement de la croissance des moisissures productrices des mycotoxines, Les conditions nécessaires pour le développement des champignons sont généralement moins strictes que celles qui sont indispensables pour la production de mycotoxines (Riba, 2008).

II.2.5.2.1. La température :

Généralement, la température optimale pour la production de mycotoxines est à proximité de la température optimale de croissance, mais elle est souvent légèrement inférieure. Par exemple, les aflatoxines produites par : *Aspergillus flavus* , ou la patuline produite par *Penicillium granulatum* (Pfohl-Leskowicz, 2001).

Aussi, la température susceptible d'influencer la proportion des mycotoxines produites par une même souche. *Fusarium graminearum* produit préférentiellement de la zéaralénone à 25 °C, tandis que produit majoritairement le déoxynivaléol 'à 28 °C (cf. **Tableau 5**) (Pfohl-Leskowicz, 2001).

En raison des changements climatiques survenus au cours des dernières années, l'apparition d'aflatoxines pourrait devenir plus fréquente dans des zones où elles étaient précédemment auparavant rares (Miraglia *et al.*, 2009).

Tableau 5: Effet de la température sur la synthèse de la zéaralénone et déoxynivaléol chez *Fusarium graminearum* (Pfohl-Leskowicz, 2001).

Températures	Concentrations (ppm)	
	Zéaralénone	Déoxynivaléol
19,5	57,7 ± 7	6,1 ± 0,6
25	120 ± 13	149 ± 14
28	98 ±34	365 ± 15

II.2.5.2.2. Activité de l'eau :

La majorité des champignons se développent à une activité de l'eau (a_w) d'environ 0,8. Par ailleurs, l'activité de l'eau nécessaire requise pour la production de mycotoxines, est plus

élevée que celle nécessaire à la simple croissance (**Pfohl-Leszcowicz, 2001**). Par exemple, *Penicillium verrucosum* se développe à une activité de l'eau (a_w) de 0,80, mais la production d'ochratoxine A ne devient possible qu'à partir d'une (a_w) égale ou supérieure à 0,85 (**Cairns-Fuller et al., 2005**).

II.2.5.2.3. Le pH :

La majorité des champignons ont la capacité de se développer dans une vaste gamme de pH, allant de 2,5 à 9,5, avec un optimum situé entre 4,5 et 6,5. La production de mycotoxines a habituellement lieu près de ces valeurs optimales de croissance (**Weidenbörner, 1998**). **Keller et al., (1997)** ont montré que la production maximale de fumonisine B1 atteint sa limite maximum à un pH comprise entre 3,7 et 4,2.

II.2.5.2.4. La composition gazeuse

En général, les variations de la composition de l'air affectent davantage la production de mycotoxines, plus que la croissance des champignons. La diminution de la pression partielle d'oxygène à moins de 1% et l'augmentation des niveaux de CO₂ empêchent la production de mycotoxines (**Keller et al., 1997 ; Cairns-Fuller et al., 2005**). En revanche, *Fusarium roseum* est capable de synthétiser de la zéaralénone même en atmosphère confinée. où le développement des champignons reste limité, la réexposition à l'air libre ou une ventilation déclenche rapidement une production intense de mycotoxines (**Lahouar, 2016**).

II.2.5.2.5. Composition du substrat :

La production de mycotoxines peut être influencée par la composition qualitative et quantitative des nutriments, en particulier les glucides comme une source de carbone principal pour les champignons. La production de mycotoxines peut également être influencée par la présence de certaines molécules dans le substrat. Par exemple, l'acide phytique réduit la production d'aflatoxine par *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus flavus*, tandis que la proline favorise cette synthèse. De même, *Aspergillus ochraceus* synthétise l'ochratoxine A en réponse à la stimulation par la proline et l'acide glutamique (**Pfohl-Leszcowicz, 2001**).

II.2.5.2.6. Les interactions microbiennes :

L'existence de plusieurs espèces de microorganismes dans un même environnement conduit à une réduction de la production de mycotoxines par chaque espèce productrice. La présence de une souche d'*Aspergillus parasiticus* avec une souche d'*Aspergillus flavus* en même temps dans une culture, due à une diminution de quantité d'aflatoxine B1 produite, et ce, même si la

souche d'*Aspergillus parasiticus* n'est pas toxinogène (Pfohl-Leszkowicz, 2001). Ainsi, La production d'aflatoxines par *Aspergillus flavus* est inhibée en présence d'*Aspergillus niger* (Horn et Wicklow, 1983).

II.3. Les Problèmes liés aux champignons dans l'industrie agroalimentaire :

Dans l'industrie agroalimentaire, la contamination des produits alimentaires par les champignons pathogènes ou simplement altérantes, constitue un risque majeur en contaminant les denrées alimentaires. Leur impact se manifeste à deux niveaux : sur la qualité marchande des produits et sur leur qualité sanitaire. D'une part, la prolifération des champignons altère et modifie les caractéristiques physicochimiques des produits alimentaires, diminuant de ce fait leur qualité marchande. Ces altérations se traduisent par des modifications défavorables des caractéristiques organoleptiques et diététiques, telles que : l'aspect, la texture, l'odeur et la saveur, ce qui provoque des pertes économiques pour l'industrie agroalimentaire.

D'autre part, certains champignons pathogènes affectent la qualité sanitaire des denrées. En diminuant leur innocuité, elles représentent un risque pour la santé du consommateur. Ce risque est principalement lié à la production de métabolites secondaires toxiques, notamment les mycotoxines, dont la présence constitue un enjeu sanitaire majeur pour la santé humaine et animale. Plusieurs types de mycotoxines peuvent être produits par une seule espèce, alors qu'une même mycotoxine peut être synthétisée par diverses espèces de champignons.

Les mycotoxines peuvent être d'origine endogène, soit peut les retrouver dans les spores ou le thalle, soit de manière exogène, et se retrouvent alors dans le substrat sur lequel se développe les champignons (Lecellier, 2013).

Chapitre III : Évaluation du risque liée à la présence de mycotoxines

III.1. Introduction :

La sécurité alimentaire est actuellement un grand problème à l'échelle mondiale, de sorte que les maladies d'origine alimentaire sont fréquentes et représentent une menace dans les pays développés que dans les pays en développement. Chaque année, plus de deux millions d'enfants décèdent par les maladies diarrhéiques ou par leurs conséquences, notamment l'affaiblissement physique. Même si, la diarrhée soit le symptôme le plus fréquent des maladies d'origine alimentaire, il y a d'autres effets graves peuvent survenir, tels que l'insuffisance rénale, des troubles neurologiques et cérébraux, ainsi que la mort. C'est pour cette raison que L'analyse des risques vise à fournir les outils nécessaires pour une évaluation stricte et scientifique des dangers alimentaires, ainsi que pour déterminer les mesures préventives susceptibles de réduire ces risques (Schlundt, 2002).

Selon le **Codex Alimentarius**, « un danger alimentaire » représente un agent biologique (un micro-organisme), chimique ou physique, qui peut être présent dans un produit alimentaire et entraîner un effet néfaste sur la santé de consommateur. Et le concept « risque » correspond à la probabilité d'un effet néfaste sur la santé, et de sa gravité, en raison de la présence d'un ou plusieurs dangers dans un aliment (Cornu, 2006).

III.2. Définition :

L'évaluation des risques est une démarche scientifique innovante, appliquée dans le domaine de la sécurité alimentaire. Servant à détecter, examiner et évaluer les risques liés à un danger, pour un objectif d'estimation de la gravité et la probabilité du risque, ainsi que ses éventuelles conséquences. Afin de mettre en place des stratégies pour prévenir, minimiser ou gérer ces risques.

L'analyse des risques comprend non seulement l'étape d'évaluation des risques, mais aussi les phases de gestion des risques et de communication sur les risques (cf. **Figure 10**). Tandis que, L'évaluation des risques, est une discipline nouvelle constitue la phase scientifique de l'analyse des risques, qui est elle-même divisée en quatre parties incluent : l'identification des dangers, l'évaluation de l'exposition, la caractérisation des dangers et la caractérisation des risques (Cornu, 2006).

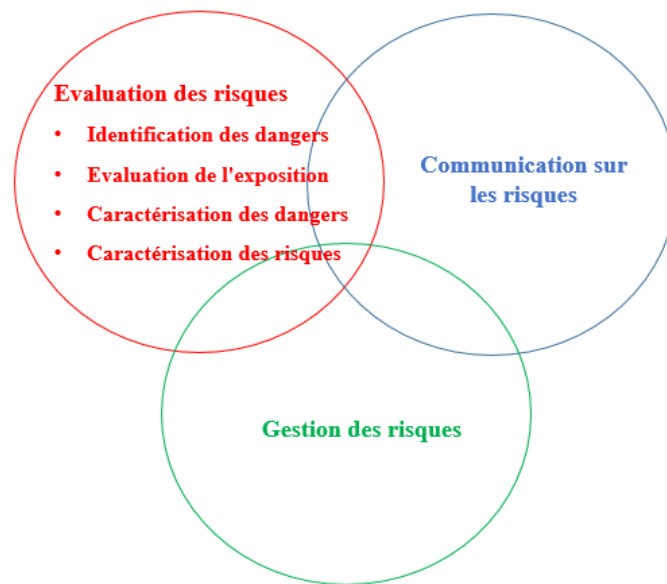


Figure 10 : Schéma représenté les composantes d'une analyse des risques (OMS, FAO, 2009).

III.3. Approche d'évaluation des risques :

La phase initiale de l'analyse des risques c'est **l'identification des dangers**, consiste à identifier les micro-organismes ou les toxines associées aux aliments. Elle repose principalement sur un processus qualitatif. Les informations concernant les dangers peuvent être provenant de documents scientifiques, de bases de données (industries alimentaires, agences gouvernementales, organisations internationales), avec une sollicitation d'avis d'experts. Les données pertinentes incluent des informations dans divers domaines tels que : l'examen clinique, les études et suivi épidémiologiques, les expériences sur les animaux en laboratoire, l'enquête sur les caractéristiques des micro-organismes, l'interaction entre les micro-organismes et leur environnement, ainsi que, des études sur des micro-organismes et des situations analogues.

L'évaluation de l'exposition permet de déterminer le niveau de la présence des agents pathogènes, ou des toxines microbiologiques, ainsi que la probabilité qu'ils soient présents dans les aliments au moment de leur consommation. L'évaluation de l'exposition doit donc illustrer la chaîne alimentaire, depuis une étape initiale sélectionnée par le modélisateur jusqu'à la consommation.

La caractérisation des dangers permet de donner une description, qu'elle soit qualitative ou quantitative, de la gravité et de la durée des effets néfastes pouvant résulter de l'ingestion d'un micro-organisme ou de ses toxines présentes dans un aliment. Si les données

sont accessibles, il nécessitait d'effectuer une évaluation de la relation dose-réponse. Cette relation montre la probabilité d'infection, ou de la maladie, en fonction de la dose ingérée.

La phase finale, c'est **la caractérisation des risques** qui implique l'intégration des résultats des trois phases antérieures pour réaliser une estimation (qualitative ou quantitative) de la probabilité et de la gravité des effets néfastes possibles d'apparaître dans une population déterminée (Cornu, 2006).

III.4. Les types d'évaluation des risques :

III.4.1. Évaluation qualitative du risque :

L'évaluation qualitative des risques est un traitement descriptif ou catégorique des informations, Elle repose sur des appréciations subjectives pour estimer la gravité et la probabilité du risque. Notamment, lorsque les informations disponibles n'offrent pas la possibilité d'obtenir une estimation numérique (OMS, FAO, 2008).

III.4.2. Évaluation quantitative du risque :

L'évaluation quantitative est une estimation par des analyses mathématiques des données numériques, Même si la plupart des modèles utilisent des associations d'énoncés mathématiques et logiques, il est nécessaire de développer des modèles mathématiques pour illustrer toutes les relations entre les éléments influençant, qui peuvent être exprimés mathématiquement et en utilisant des tests logiques et des affirmations conditionnels (OMS, FAO, 2008).

III.4.3. Évaluations semi-quantitatives du risque :

L'évaluation semi-quantitative des risques représentent un niveau intermédiaire entre l'évaluation descriptive d'une analyse qualitative, et l'évaluation numérique d'une analyse quantitative, en attribuant une note pour évaluer les risques. C'est une procédure plus systématique et stricte pour évaluer et comparer les risques et les stratégies de gestion des risques que l'évaluation qualitative des risques. Permettant ainsi, d'éviter certaines ambiguïtés liées à ce type d'évaluation. Elle ne nécessite pas les mêmes compétences mathématiques qu'une évaluation quantitative, ni une grande quantité de données, qu'elle peut être mise en œuvre pour des risques et des stratégies pour lesquels les données précises sont insuffisantes.

Enfin, L'évaluation des risques exige la collecte d'un maximum d'informations disponibles sur les risques et leur analyse. Par ailleurs, l'évaluation des risques dans le domaine de sécurité alimentaire nécessite des connaissances approfondies dans divers disciplines

scientifiques. Dans le cadre d'une première évaluation d'une problématique de sécurité alimentaire, une analyse qualitative peut être effectuée comme une première analyse pour déterminer si le risque est suffisamment significatif pour justifier une étude plus approfondie. Cependant, dans certaines situations, les évaluations qualitatives peuvent servir d'appui à la prise de décision par le gestionnaire des risques. Lorsqu'une analyse plus approfondie est requise, l'évaluation quantitative est généralement privilégiée, si les données, le temps et les ressources sont disponibles pour l'effectuer (OMS, FAO, 2008).

III.5. Le risque lié à la présence de mycotoxines :

Les mycotoxines représentent un problème actuel majeur pour la qualité, et la sécurité des aliments. Le risque de mycotoxines est souvent d'origine naturelle, et dépend de plusieurs facteurs, ce qui rend sa survenue difficile à maîtriser. Le risque est important, car la contamination par les champignons est difficile à contrôler et peut être variée du fait de l'éventuelle présence de diverses mycotoxines dans un même produit ou une même ration alimentaire.

Ces contaminants naturels peuvent avoir une toxicité aiguë ou chronique pour les organismes qui consomment des aliments contaminés. Certaines mycotoxines présentent une toxicité aiguë très marquée (exposition unique à une dose forte), par ailleurs les effets chroniques (exposition répétée à de faibles voire très faibles doses) sont les plus préoccupants car aux habitudes alimentaires et de la persistance de ces toxines. Ces effets toxiques sont de divers natures, Certaines toxines ont une action hépatotoxique, tandis que d'autres présentent des propriétés oestrogéniques, néphrotoxiques ou neurotoxiques, ainsi que d'autres mycotoxines, sont reconnues ou suspectées d'avoir des propriétés cancérigènes.

Un autre risque de mycotoxines est indirect pour le consommateur, résultant de la présence éventuelle de résidus dans les produits d'origine animale provenant d'animaux d'élevage nourris avec une alimentation contaminée par des mycotoxines. Ces résidus peuvent être correspondent à la toxine elle-même et/ou de métabolites bioformés, qui conservent les propriétés toxiques du composé d'origine.

Les mycotoxines sont généralement thermostables, et ne sont pas éliminées par les méthodes courantes de cuisson et de stérilisation. Grâce à leur possibilité à se fixer sur les protéines plasmatiques et à leur caractère lipophile, ces substances toxiques ont la capacité de persister dans l'organisme lors d'expositions répétées et rapprochées.

En outre, il faut considérer que certaines moisissures peuvent produire divers types de mycotoxines. Au contraire, une même mycotoxine peut être produite par différentes genres et espèces de moisissures. Ainsi, plusieurs toxines appartenant à la même famille structurale ou ayant des structures variées, peuvent être présentes dans un même aliment.

D'autant plus, un mélange contenant différents composants alimentaires, ce qui conduit à ce que l'on appelle la multicontamination. Cette circonstance naturelle suscite des interrogations concernant les interactions toxiques possibles, pouvant entraîner des effets antagonistes, additifs ou synergétiques (**Afssa, 2009**).

Deuxième partie : Données expérimentales

MATERIEL ET METHODES

I. MATERIEL ET METHODES :

Le travail présenté a été réalisé au laboratoire pédagogique microbiologie et biochimie, de la faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et l'univers, université d'ABOUBEKR BELKAID Tlemcen.

I.1. Echantillonnage :

Au cours de ce travail, la contamination fongique de 241 échantillons de la farine, utilisée pour la panification dans les boulangeries des régions de (Tlemcen, Ain Temouchent et Sidi Belabbes), était étudiée (cf. **Figure 11**). Les boulangeries étaient sélectionnées selon la méthode aréolaire, qui repose sur le choix aléatoire des zones de prélèvement à partir de la carte des régions à étudier. Ensuite, Chaque zone a été visitée au cours de la période allant du mois d'octobre 2021 jusqu'au mois de mars 2022, pour prélever 50g de la farine dans des pots stériles à partir de pétrin rempli uniquement de la farine. Les échantillons ont été attribués un code identifiant précisant leur lieu et leur date de prélèvement, puis ont été transportés au laboratoire dans les conditions de son stockage et de son utilisation (température ambiante) dans un délai plus court possible, afin d'être soumis à des analyses mycologique .

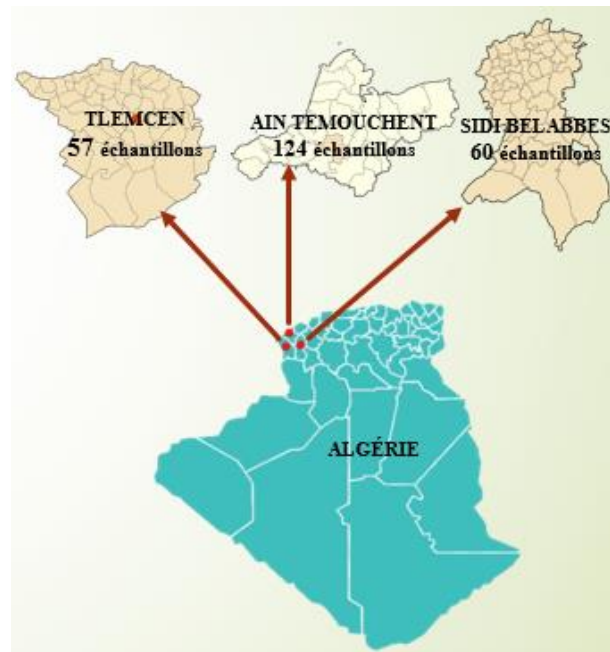


Figure 11: Localisation géographique des sites de prélèvement des échantillons.

I.2. Analyses mycologiques :

I.2.1. Préparation des échantillons :

Une masse de 1g de la farine de chaque échantillon a été mélangé avec 9mL de l'eau physiologique stérile. Ce mélange représente la dilution initiale 10^{-1} . Une série de dilutions décimales a ensuite été réalisée à partir de cette dilution. Une homogénéisation à l'aide d'un vortex, était effectuée entre chaque étape de dilution.

I.2.2. Recherche et dénombrement des moisissures :

Le dénombrement des moisissures est effectué selon la norme algérienne de **Journal officiel n°52/2015**. Un ensemencement en surface était réalisé suivant la méthode horizontale pour le dénombrement des levures et moisissures par comptage des colonies dans les produits dont l'activité d'eau est inférieure ou égale 0,95 (a_w) de l'arrêté du 19 Chaoual 1436 correspondant au 4 aout 2015. Un volume de 100 μ L de chaque dilution était déposé puis étalé à la surface de milieu Gélose Dichloran à 18% de glycérol (DG 18) coulé dans des boites de Pétri, additionné d'une solution d'éléments trace ($ZnSO_4$, $CuSO_4$), et d'un antibiotique oxytétracycline (50 mg/L) afin d'empêcher le développement des bactéries. Les boites sont ensuite incubées dans l'étuve à $25^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ pendant cinq à sept jours. Après la période d'incubation le nombre de colonie était calculé à l'aide de la **Formule 2** suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{V(n1 + 0,1 n2) d}$$

Où :

Σc : Somme des colonies de moisissures sur l'ensemble des boîtes retenues, (dont le nombre compris entre 15-150 colonies);

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

n1: Nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

n2: Nombre de boîtes retenues à la seconde dilution ;

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

I.2.3. Purification de moisissures :

Chaque colonie des moisissures développées sur le milieu précédent (Gélose Dichloran), était prélevée puis repiquée individuellement à l'aide d'une anse de platine stérile au centre de boîte de Pétri contenant un milieu PDA. Les cultures étaient maintenues à l'incubation pendant cinq jours à 25°C.

I.2.4. Identification des moisissures :

L'identification des espèces de moisissures a été effectuée par l'observation macroscopique et microscopique des colonies après la culture des souches sur milieu PDA. L'identification basée sur l'observation macroscopique était avérée difficile à cause de variabilité des aspects macroscopique de colonies ; tandis que l'identification était affermie par une observation microscopique plus précise, en complément de l'observation macroscopique.

I.2.4.1. Identification par observation macroscopique :

L'identification macroscopique des moisissures repose sur des critères morphologiques visibles par l'œil nu, basée sur des critères morphologiques suivants : la couleur, la taille et texture des colonies, la couleur du reverse, présence d'un pigment (**Chabasse et al., 2002**).

I.2.4.2. Identification par observation microscopique :

L'observation microscopique des moisissures a été réalisée par la technique de scotch basée essentiellement sur l'aspect morphologique. La procédure consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction de la colonie puis la coller sur une lame contenu une goutte de liquide de montage (bleu de coton). L'examen microscopique est effectué à l'aide d'un microscope optique au grossissement $\times 10$, $\times 40$ et $\times 100$, pour visualiser les caractéristiques des structures.

Les critères principaux d'identification sont : l'aspect de thalle: (cloisonnés ou non, diamètre, ramification), la couleur de hyphe, la forme des spores (sphériques, ovale), la disposition et des spores (chaînes, grappes, isolées), l'origines des spores (endogène ou exogène), l'aspect des spores (Amerospore, Didymospore, Phragmospore, Dictyospore, Scolecospore), La présence de chlamydospores, les types de conidies (blastospores , phialides), le mode de groupement des conidies (masse , grappes, chaînes) **Chabasse et al., 2002**. En suit les espèces sont identifiées grâce au guide taxonomique de **Pitt et Hocking (1997)** et de **Chabasse et al., (2002)**.

I.3. Etude mycotoxicologique :

I.3.1. Détection visuelle de la production de mycotoxine :

Pour pouvoir rechercher la capacité des souches isolées de la farine à produire des mycotoxines, en utilisant une méthode décrite par **Lemke et al. (1989)**. Les souches sont ensemencées au centre de la surface d'une boîte de Petri contenant le milieu CEA. Ensuite, les boîtes sont incubées pendant 3 à 7 jours dans l'étuve à 25°C.

Afin de détecter la production de mycotoxines sur le milieu CEA, les boîtes sont mises sous la projection des lumières UV, la production des mycotoxines exprimé par une fluorescence verte visible à 365 nm.

I.3.2. Détection de mycotoxine par la CCM :

Des souches de moisissures isolées de la farine ont été ensemencées par un fragment de colonie dans des flacons contenant 50mL de bouillon YES (Yeast Extract Sucrose), puis ajouté de 1ml d'une solution des vitamines Tri B (B1, B6, B12) pour chaque flacon, Ensuite Les cultures étaient incubées à 25°C pendant 14 jours.

Après la durée incubation, les cultures sur milieu YES liquide ont été filtré à l'aide d'un papier filtre type Wattman N° 01.

Le filtrat obtenu a été mélangé avec 100mL de chloroforme est agité pendant 10min, puis le mélange décanté grâce à une ampoule à décantation. L'opération a été répétée en ajoutant successivement 50mL et 30mL de chloroforme à la phase aqueuse récupérée, ensuite la phase chloroformique a été concentrée par évaporation sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif. Après le séchage, l'extrait a été remis dans un flacon en verre renfermé par un parafilme afin d'analyser par chromatographie sur couche mince, ce qui accède à une séparation efficace des mycotoxines. La procédure de la méthode est comme suivante :

- Dans une plaque de gel silice activée précédemment à 120°C pendant 30 min, deux traits ont été tracés à environ 1,5 cm du haut et en bas sans appuyer et sans laisser des empreintes.
- Ensuite, grâce à une micropipette un spot de 10 µL et de 20µL de chaque extrait a été déposé sur la ligne de dépôt.
- On dépose la plaque verticalement dans une cuve chromatographique, et trempée dans un mélange de solvant de toluène, éther diéthylique et l'acide formique de volume (5ml, 4ml, 1ml) respectivement.

- Le solvant migre jusqu'à ce qu'il atteigne la ligne limite du bord supérieur. Après migration la plaque est examinée sous une lampe à UV à une longueur d'onde de 365nm. Enfin, l'existence des mycotoxines dans les échantillons caractérisés par une fluorescence sous formes de taches colorées. Le protocole illustré dans la **Figure 12**. Cette technique a été largement utilisée pour détecter les mycotoxines produites par les champignons, comme décrit par **Betina (1985)**.

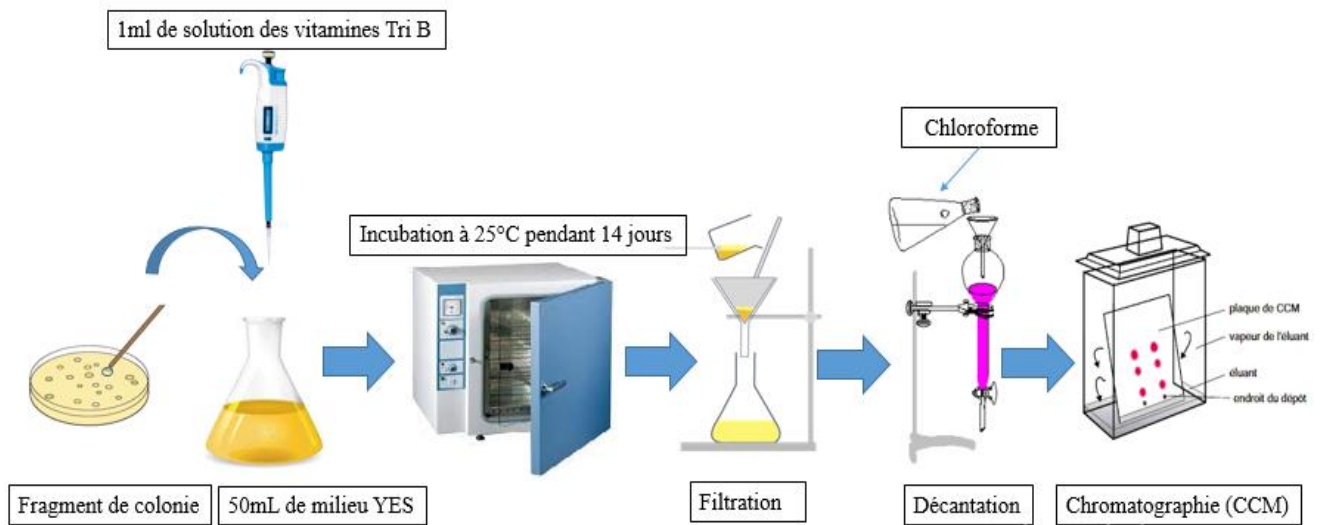


Figure 12: La méthode de détection des mycotoxines par chromatographie sur couche mince (CCM).

I.4. La Caractérisation des moisissures isolées :

I.4.1. Caractérisation de la croissance des moisissures :

Chaque isolat de moisissure a été ensemencé en un point précis au centre de la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA (Potato Dextrose Agar), durant l'inoculation les cultures ont été suivies de manière régulière et observées chaque jour pour détecter toute croissance observable. Dès le début de la croissance, les diamètres des colonies ont été mesurés avec une règle graduée et une loupe binoculaire (**Cordova, 1998**). La croissance a été suivie quotidiennement pendant une semaine.

En adoptant une approche de modélisation en deux phases typique, consiste à utiliser le modèle primaire en fonction de la température pour estimer les paramètres de croissance de chaque isolat de moisissure : le temps de latence ($\lambda_{T^{\circ}C}$) et le taux de croissance des champignons ($\mu_{T^{\circ}C}$).

Une régression non linéaire pour chaque cinétique, a été utilisée afin d'estimer le taux de croissance maximal ($\mu_{T^{\circ}C \text{ max en jour}^{-1}}$) et le temps de latence (λ) et le rayon maximal de la colonie (**Rmax, mm**). L'ajustement des données expérimentales au modèle primaire de **Baranyi et al., (1993)** (équations 1 et 2) :

$$y = y_0 + \mu_{\max} A - \ln \left(1 + \frac{[\exp(\mu_{\max} A) - 1]}{\exp(y_{\max} - y_0)} \right) \quad (1)$$

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

Avec :

R0 : est le rayon de la colonie au temps 0,

Rmax : est le rayon maximal de la colonie dans les boîtes de Pétri,

A : est une variable intégrale allant de 0 à t en fonction de la courbure du tracé,

λ : (jours) est le temps de latence,

t : (jours) est le temps.

I.4.2. L'Influence du facteur de stockage sur la croissance des moisissures :

Afin d'évaluer l'impact des conditions de stockages (temps et température) de la farine sur la croissance de moisissure, une estimation a été effectuée, pour les deux mois le plus froid et le plus chaud (Janvier et Aout) de l'année 2022. Les données de la température étaient collectées de la météo en prévision quotidienne. En effet, l'ensemble des boulangeries sont stockent la farine à la température ambiante. Tandis que le temps de stockage a été également collecté de différentes boulangeries de ces régions (**cf. Tableau 8**).

I.5. Production de mycotoxine dans la farine :

LA production de mycotoxines par les *Aspergillus sp* était modélisée par (**l'équation 3**) de **Schabo et al. (2020)**.

$$\text{Equation (3) } \text{sqrt}(AFB) = -4.799002 + 0.371135 T + 0.100009 t$$

La qualité de l'ajustement de ce modèle était $R^2=0,84$ avec $RSME = 1.25$.

La simulation de Monte Carlo a été réalisé pour simuler les différents modules (Cf. Tableau 6) à l'aide du logiciel **@risk version 5**.

I.6. Estimation du risque :

L'évaluation des risques liés à la présence d'aflatoxines dans le pain, a été réalisée selon l'approche suivante : les données sur la présence des aflatoxines ont été utilisées pour estimer concentration d'aflatoxine ($\mu\text{g}/\text{kg}$), puis les concentrations d'aflatoxines dans le pain ont été combinées avec des données de consommation. Cela permet de calculer une exposition moyenne, appelée ingestion quotidienne estimée (**EDI**), est exprimée en microgrammes d'aflatoxine par kilogramme de poids corporel et par jour (**Formule 3**) :

$$EDI = \frac{C \times Q}{P}$$

Où :

EDI = Ingestion quotidienne estimée,

C = concentration d'aflatoxine ($\mu\text{g}/\text{kg}$),

Q = Quantité de pain consommée ($\text{Kg}/\text{personne}/\text{jour}$),

P = Poids corporel moyenne : (kg).

Pour évaluer le risque, ont utilisé une méthode basée sur la marge d'exposition (**MOE**), qui consiste à comparer la dose de référence (**BMDL**) à l'exposition réelle estimée (**Formule 4**) :

$$MOE = \frac{BMDL}{EDI}$$

MOE = Marge d'exposition

BMDL = Limite inférieure de la dose de référence ($\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids corporel/jour)

On utilise la $BMDL_{10}$ (limite inférieure de l'intervalle de confiance de la dose de référence à 10 %), qui représente une estimation de la dose minimale avec une certitude de 95 % qu'elle ne provoquera pas plus de 10 % d'incidence du cancer. Elle est recommandée pour le calcul de la marge d'exposition (MOE) par (EFSA, OMS, etc.) **Alemu Degefe et Geleta (2024)**.

Il a été rapporté que lorsque la MOE est inférieure à 10 000, les aflatoxines représentent un risque potentiel pour la santé publique.

Tableau 6: Méthodologie, variable et distributions utilisés pour l'estimation de concentration de moisissure, de production de mycotoxines et d'évaluation du risque.

Variable	Symbole	Distribution	
Contamination initiale de la farine boulangère			
Concentration de moisissures (UFC)/échantillons	C_0	$\text{RiskDunifom}(N_1 ; N_n)$	Dans cette étude
Nombre des échantillons contaminé	-	\underline{n}	Dans cette étude
Nombre des échantillons non contaminé	-	\underline{c}	Dans cette étude
Prévalence de moisissures	P	$\text{RiskBeta}(n+1 ; c+1)$	Dans cette étude
Distribution de la concentration de moisissures	D_0	$C_0 \times P$	Dans cette étude
Croissance de moisissure durant le stockage chez la boulangerie			
Température de challenge test (°C)	$T^{\circ}\text{C}$	20	Dans cette étude
Temps de latence (jour) à 20°C	$\lambda_{20^{\circ}\text{C}}$	Equation 1	Dans cette étude
Taux de croissance (jour ⁻¹) à 20°C	$\mu_{20^{\circ}\text{C}}$	Equation 1	Dans cette étude
Température cardinale minimale	T_{\min}	$\text{RiskDunifom}(-9,1 ; \dots ; -35,4) : 29 \text{ valeurs}$	Nguyen Van Long et al., (2021)
Température cardinale maximale	T_{\max}	$\text{RiskDunifom}(29 ; \dots ; 30,3) : 29 \text{ valeurs}$	
Température cardinale optimale	T_{opt}	$\text{RiskDunifom}(23 ; \dots ; 28,5) : 29 \text{ valeurs}$	
Distribution gamma température	$\gamma_{T^{\circ}\text{C}}$	$\gamma_{T^{\circ}\text{C}} = \frac{(T - T_{\min})^2 (T - T_{\max})}{(T_{\text{opr}} - T_{\min}) [(T_{\text{opr}} - T_{\min}) (T - T_{\text{opr}}) - (T_{\text{opr}} - T_{\max}) (T_{\text{opr}} + T_{\min} - 2T)]}$	Ziane et al. (2019)
Taux de croissance optimum	μ_{opt}	$\mu_{20^{\circ}\text{C}} / \gamma_{20^{\circ}\text{C}}$	Ziane et al. (2014)
Température moyenne de stockage (°C)	$T^{\circ}\text{C}$	Janvier : 13,6 Aout : 27,5	météos
Temps de latence à la température de stockage	$\lambda_{T^{\circ}\text{C}}$	$\mu_{20^{\circ}\text{C}} \times (\lambda_{20^{\circ}\text{C}} / \mu_{T^{\circ}\text{C}})$	Ziane et al. (2019)
Taux de croissance à $T^{\circ}\text{C}$	$\mu_{T^{\circ}\text{C}}$	$\gamma_{T^{\circ}\text{C}} \times \mu_{\text{opt}}(\text{farine})$	Ziane et al. (2019)
Temps de stockage (jour)	t	$\text{RiskPert}(10 ; 12 ; 15)$	Dans cette étude
Concentration finale de moisissure dans la farine			
Proportion de moisissures mycotoxinogène	P_{myco}	$\text{RiskUniform}(0 ; 1)$	Dans cette étude

Concentration de moisissures mycotoxinogène	[Mycoflore]	$P_{\text{myco}} \times D_0 \times \exp(\mu_{T^{\circ}C} \times t)$	Dans cette étude
Production de mycotoxines	[Mycotoxine] pain	$\text{sqr}t(\text{AFB}) = -4.799002 + 0.371135 T + 0.100009 t$	Schabo et <i>al.</i> , (2020)
Estimation du risque			
Quantité de pain consommée	Moyenne (g/personne/jour)	160g	Brahim et <i>al.</i> , (2017)
Ingestion quotidienne estimée	$\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids corporel/jour	$\text{EDI} = (C \times Q)/P$	Alemu Degefe et Geleta, (2024)
Marge d'exposition	$\geq 10\ 000$	$\text{MOE} = \text{BMDL} / \text{EDI}$	Alemu Degefe et Geleta, (2024)

RESULTATS ET DISCUSSION

II. RESULTATS ET DISCUSSION :

II.1. Analyses mycologiques :

Les analyses mycologiques effectuées sur l'ensemble des échantillons de la farine prélevés de différentes boulangeries des régions d'Ain Témouchent, Tlemcen et Sidi Belabbes, ont révélés la présence des levures et des moisissures sur le milieu Dichloran. Ces résultats montrent une dominance des moisissures qui atteint un taux de contamination global de 97,93 %. La région d'Ain Témouchent a été la plus contaminée (100%), suivie par la région de Tlemcen et de Sidi Belabbes avec des taux de contamination de 98,25% et 93,33% respectivement.

Les études de **Halt et Klapec (2004)** et **Al-Defiery et Merjan (2015)** ont révélé des niveaux de contamination moyens à élevés, tandis que l'étude de **Graves et Hesseltine (1966)** a révélé une contamination modérée. En revanche, les études de **Rezazadeh et al., (2013)** et **Sami et al., (2020)** ont enregistré une contamination plus faible, ce qui est probablement dû à un meilleur contrôle des conditions de stockage, ou à la différence des conditions climatiques.

II.1.1. Dénombrement des moisissures :

Les résultats de dénombrement obtenus par cette étude sont représentés sur le **Tableau 7**. Ils indiquent une charge moyenne totale en moisissures de 5,71 UFC/g. Cette concentration excède le seuil « M = 4 log » régi par la réglementation algérienne de journal officiel N° 39/2017, l'arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires.

Tableau 7: Prévalence et concentration fongique des échantillons analysée.

Régions	Nombre des échantillons	Prévalence (%)	Concentration fongique : log (UFC/g)			
			Minimum	Maximum	Moyenne	Médiane
Ain Témouchent	124	100	1	12,89	3,35	2,30
Tlemcen	57	98,25	0	15,22	9,32	9,45
Sidi Belabbes	60	93,33	0	13,35	7,16	7,53
Total	241	97,93	0	15,22	5,71	5,20

Les résultats obtenus montrent une variation de concentration entre les régions. En effet, une concentration enlevée était reportée pour la région de Tlemcen (9,32 log UFC/g) suivi par la région de Sidi Belabbes (7,16 log UFC/g) puis la région de Ain Témouchent (3,35 log

UFC/g). Cette variabilité est probablement due notamment à la marque et la qualité de la farine utilisée ainsi les conditions de préparation et de stockage tel que le milieu, l'humidité, le temps et la température...etc.

Les résultats de la contamination obtenus dans cette étude est plus élevée par rapport à la contamination (1.5 à 1.7 log UFC/g), (<2.3 log UFC/g) et (<2 log UFC/g) reportées par **Al-Defiery et Merjan (2015)**, **Tahani et al., (2008)**, **Zebiri (2020)** respectivement. Seulement les résultats d'échantillons de la région d'Ain témouchent sont conformes à la réglementation, et en accordance avec les résultats (0–4.2 log UFC/g) reportés par **Halt et Klapac (2004)**.

II.1.2. Identification des moisissures :

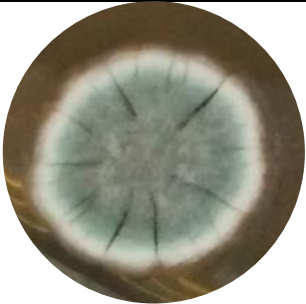


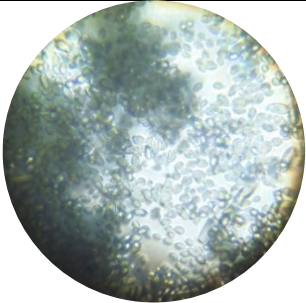

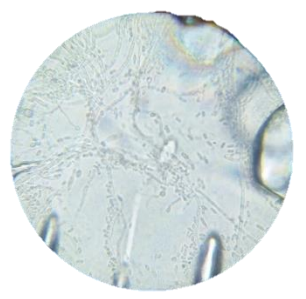
Les résultats d'examen macroscopiques des colonies se caractérisent par une variabilité d'aspect, dépende au genre de moisissure identifier par des caractères cultureux macroscopiques. En effet, à titre d'exemple des isolats identifiés comme *Penicillium* ont donné des colonies de couleur verte bleuâtre avec un contour blanc, duveteuses à poudreux, cotonneuse, velouté, avec des granuleuse marron.

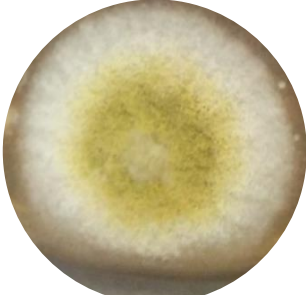
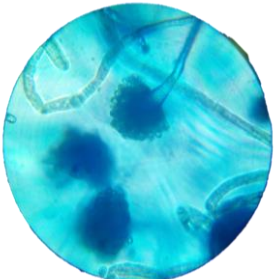

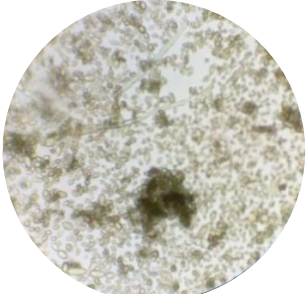

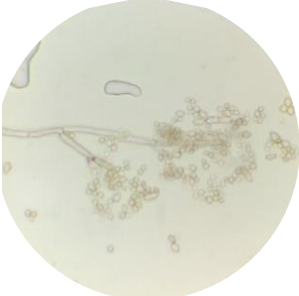
Les résultats d'examen microscopique de toutes les souches pures obtenues réalisée par une observation au grossissement $\times 40$ et $\times 100$, ont permis de révéler 11 genres différents de moisissure : *Penicillium*, *Cladosporium*, *Mucorales*, *Aspergillus*, *Auerobasidium*, *Exophiala*, *Mucor*, *Trichothecium*, *Trichoderma*, *Purpureocillium*, *Trichosporon*. L'identification repose essentiellement sur l'étude morphologique des mycéliums et des spores. Les observations macroscopiques et microscopiques et leur description sont illustrées sur le **Tableau 8**.


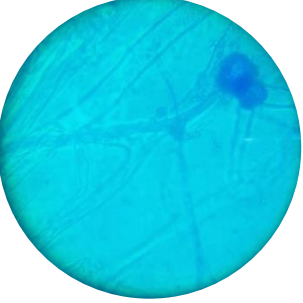

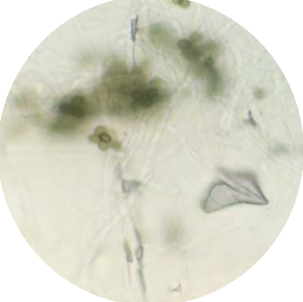
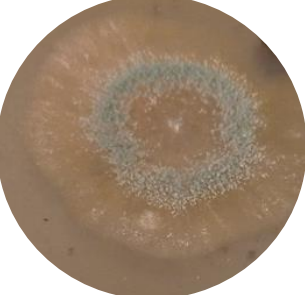
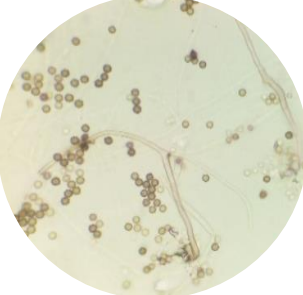
Parmi les genres identifiés dans cette étude comme *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* et *Mucor* sont aussi identifié par plusieurs chercheurs : (**Halt et Klapac 2004 ; Al-Defiery et Merjan, 2015 ; Rezazadeh et al., 2013**). Seulement *Aspergillus* et *Penicillium* ont identifié par **Tahani et al., (2008)**. Selon **Pelhate (1982) ; Berthier et Valla (1998)**, ces deux genres de *Penicillium* et *Aspergillus* sont considérés comme contaminant de stockage.

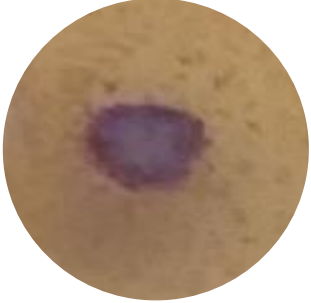
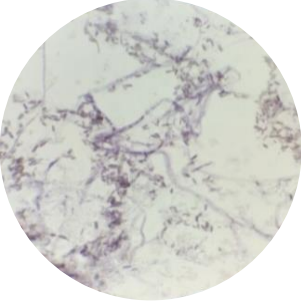

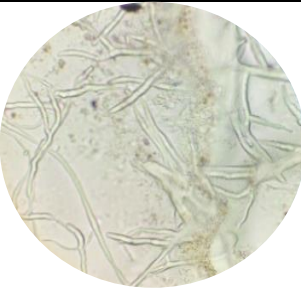
Dans cette étude la liste de genres identifiés n'est pas exhaustive. C'est-à-dire l'absence des genres non identifié ne nie pas leur présence. En effet, la présence et la prévalence est sensiblement lié aux nombres des échantillons testés, quantités et nombre de prélèvement, méthode d'échantillonnage et méthode et procédure d'analyse.

Tableau 8: Les observations macroscopiques et microscopiques des moisissures et description.

N°	Aspect macroscopique	Description	Aspect microscopique	Description	Genres
1		Texture : duveteux à poudreux, cotonneuse velouté, granuleuse marron. Couleur : verte bleuâtre, contour blanc. Croissance : moyen. Taille : moyen.		Hyphes : hyalines, septées, ramifiées. Conidiophores : dressés, simples ou ramifiés, formant des structures en « pinceau » (pénicille). Les branches portent des phialides d'où sortent des conidies en grappes ou chaînes. Conidies : sphériques.	<i>Penicillium</i>
2		Texture : velouté. Couleur : brun et vert olive à noir. Croissance : lente. Taille : petite.		Hyphes : septées, brun-olivâtres. Conidiophores : simples, portent les conidies à l'extrémité ou latéralement. Conidies : en forme de citron, ovale ou allongée, en chaînes.	<i>Cladosporium</i>
3		Texture : duveteux (duvet blanc au centre des jeunes colonies) à laineux Poudreuses et Granuleuses. Couleur : Blanche. Croissance : moyen. Taille : moyen.		Hyphes : septées, hyalines. Macroconidies : caractéristiques : fusiformes à elliptiques, disposées isolément ou en grappes.	<i>Mucorales</i>

4		<p>Texture : duveteuse à poudreuse. Couleur : blanche, puis jaune, puis vert-jaunâtre. Croissance : rapide. Taille : moyen.</p>		<p>Hyphes : hyalines, septées. Conidiophores : Dressés, longs, se terminant par une vésicule. Vésicule : globuleuse ou en forme de bouteille, portant les cellules de conidiation Phialides : Phialides formées directement sur la vésicule ou sur des métules. Conidies : Rondes, formant des chaînes.</p>	<i>Aspergillus</i>
5		<p>Texture : Veloutées. Couleur : Blanc, crème pâle, brun à maturité. Croissance : rapide. Taille : grande.</p>		<p>Hyphes : Septées, hyalines ou brun-olivâtre. Présence de chlamydospores. Conidies : ovoïde à ellipsoïdale. Production abondante de blastoconidies à partir de cellules conidiogènes indifférenciées.</p>	<i>Aureobasidium</i>
6		<p>Texture : Mucoïde devenant veloutée. Couleur : gris Brun foncé à noire. Croissance : lente à modérée. Taille : petite.</p>		<p>Hyphes : septées, parfois ramifiées, hyalines ou Brun clair. Conidiophores : simples ou peu différenciés Conidies : ovoïdes, forment en chaînes ou en grappes (amas), brunes clair à foncé.</p>	<i>Exophiala</i>

7		<p>Texture : laineuse très duveteuse. Couleur : blanc grisâtre ou brun clair en vieillissant. Croissance : très rapide. Taille : grande, souvent très volumineuse.</p>		<p>Hyphes : larges, non cloisonnées, hyalines. Sporangiophores : longs, simples, dressés ou légèrement arqués Sporanges : gros, sphériques, contenant de nombreuses spores Sporangiospores : petites, rondes à ovales.</p>	<i>mucor</i>
8		<p>Texture : Veloutée à poudreuse. Couleur : Rose pâle vers le beige à saumon. Croissance : Modéré A rapide. Taille : moyen.</p>		<p>Hyphes : cloisonnées, hyalines. Conidiophores : simples ou peu ramifiés. Conidies : obovoïde en forme de goutte, hyalines à légèrement olivâtre.</p>	<i>Trichothecium</i>
9		<p>Texture : laineux et zoné (cercles concentriques poudreuse). Couleur : blanc à vert . Croissance : rapide et extensive. Taille : moyen .</p>		<p>Hyphes : cloisonnées, hyalines Conidiophores : ramifiés, souvent en arbre. Phialides : courtes, en forme de flacon. Conidies : rondes et petites, hyalines à vertes, disposées en chaînes ou en amas.</p>	<i>Trichoderma</i>

10		<p>Texture : Poudreuse à sèche. Couleur : violets. Croissance : Modérée. Taille : petite.</p>		<p>Hyphes : cloisonnées, hyalines à légèrement violettes. Conidiophores : longs, ramifiés irrégulièrement. Phialides : forme de bouteille étroite, disposées en groupes. Conidies : petites, ellipsoïdes à fusiformes, en chaînes longues et divergentes. Couleur des conidies : hyalines à violettes en masse.</p>	<i>Purpureocillium</i>
11		<p>Texture : lisse, mucoïde à cérébriforme. Couleur : blanc à crème . Croissance : rapide à modérée. Taille : petite.</p>		<p>Hyphes : Hyalines, cloisonnées, fragmentées . Blastospores : ovales, bourgeonnantes. Artroconidies : rectangulaires à cylindriques, issues de la fragmentation des hyphes.</p>	<i>Trichosporon</i>

II.1.3. Concentration et répartition des genres de moisissure :

Les différents genres de moisissures isolées ont marquée des prévalences variables et des concentrations relativement proches (cf. **Tableau 9**), les valeurs les plus importantes sont observées chez *Penicillium* (69,29%), *Cladosporium* (56,85%), *Mucorales* (51,04%), et *Aspergillus* (34,85%), De plus, d'autres genres moins importantes étaient également présents à savoir *Auerobasidium* (24,07%), *Exophiala* (21,58%) et *Mucor* (17,43%), et aussi à des valeurs faibles: *Trichothecium* (9,13%), *Trichoderma* (8,71%), *Purpureocillium* (2,07%), *Trichosporon* (0,41%), (cf. **Figure 13**).

Tableau 9: Concentration et prévalences des différents genres de moisissure.

Genres	Concentrations (UFC/g)		
	Minimum	Maximum	Moyenne
<i>Exophiala</i>	1,00	3,20	2,14
<i>Mucorales</i>	1,00	3,79	2,61
<i>Aspergillus</i>	1,00	3,66	2,00
<i>Penicillium</i>	1,00	3,34	2,17
<i>Trichoderma</i>	1,60	2,48	2,06
<i>Mucor</i>	1,00	2,90	2,06
<i>Cladosporium</i>	1,00	3,28	2,40
<i>Aureobasidium</i>	1,30	3,26	2,06
<i>Trichothecium</i>	1,00	3,08	2,18
<i>Purpureocillium</i>	1,00	1,85	1,26
<i>Trichosporon</i>	2,00	2,00	2,00

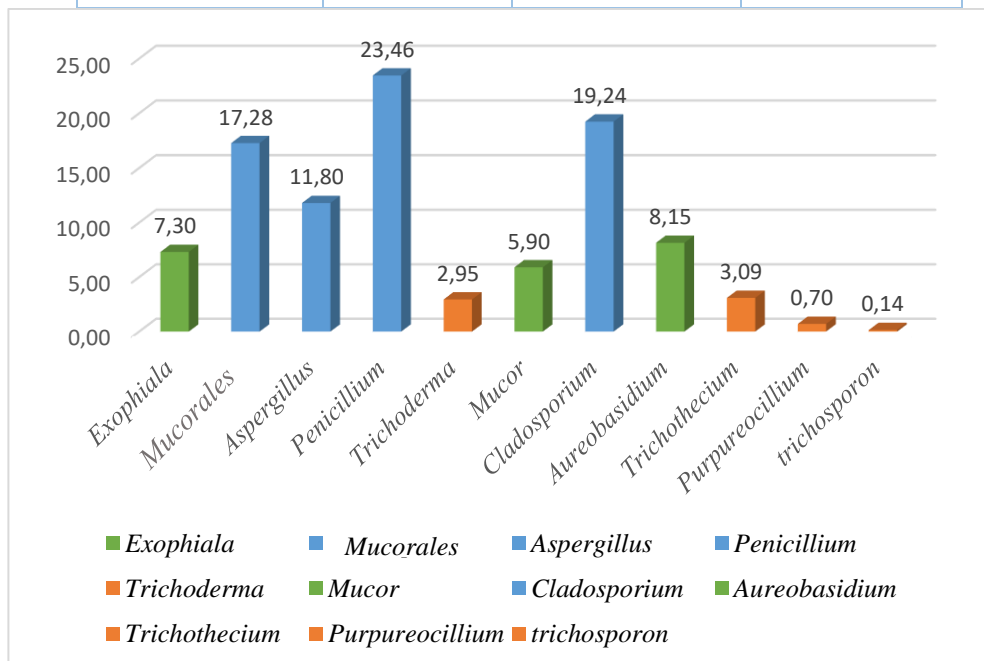


Figure 13 : Prévalences des échantillons contaminés selon le genre de moisissure.

II.2. Révélation mycotoxicologique :

II.2.1. Révélation des souches productrices de mycotoxines dans le milieu CEA :

Afin de détecter la présence des mycotoxines, des souches de moisissures ont été sélectionnées puis incubées à 25 °C pendant 12 jours sur milieu CEA. Après révélation sous la lumière UV à une longueur d'onde de 365 nm, seulement les genres d'*Aspergillus* et *Penicillium* ont donné une fluorescence de couleur vert autour de leurs colonies. Cette fluorescence indique que les isolats ont produits une substance fluorescente, est probablement la mycotoxine (cf. Figure 14).

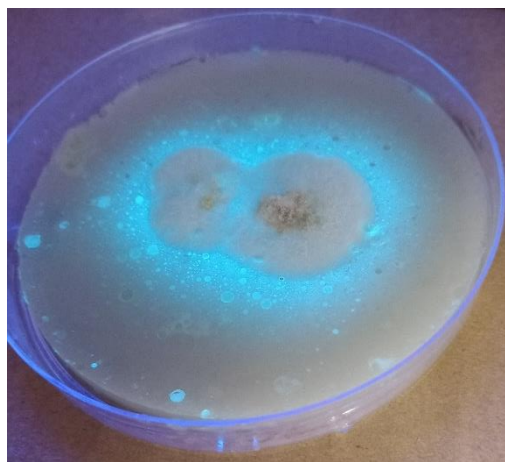


Figure 14: Détection sous UV de mycotoxines produit par *Aspergillus* sur milieu CEA.

Ce constat est en accord avec ce qui a été remarqué dans l'étude de (Lemek et al., 1989). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Lin et Dianase (1976), Atanda (2011), qui a également détecté des mycotoxines présentant une fluorescence bleue et une fluorescence bleu-vert sous lumière UV (365 nm) lors de la détection de la production de mycotoxines par les isolats de moisissures testés.

II.2.2. Révélation des souches productrices de mycotoxines par CCM :

La séparation chromatographique sur couche mince CCM permet de séparer les extraites des métabolites secondaires, qui sont produites par des moisissures au niveau de substrat de farine de blé réalisée par les solvants organiques, la révélation des extraites sous radiation des UV à une longueur d'onde égal de 365 nm a permis de détecter des taches de couleur bleu et vert (cf. Figure 15). Ces résultats confirment la présence des mycotoxines.

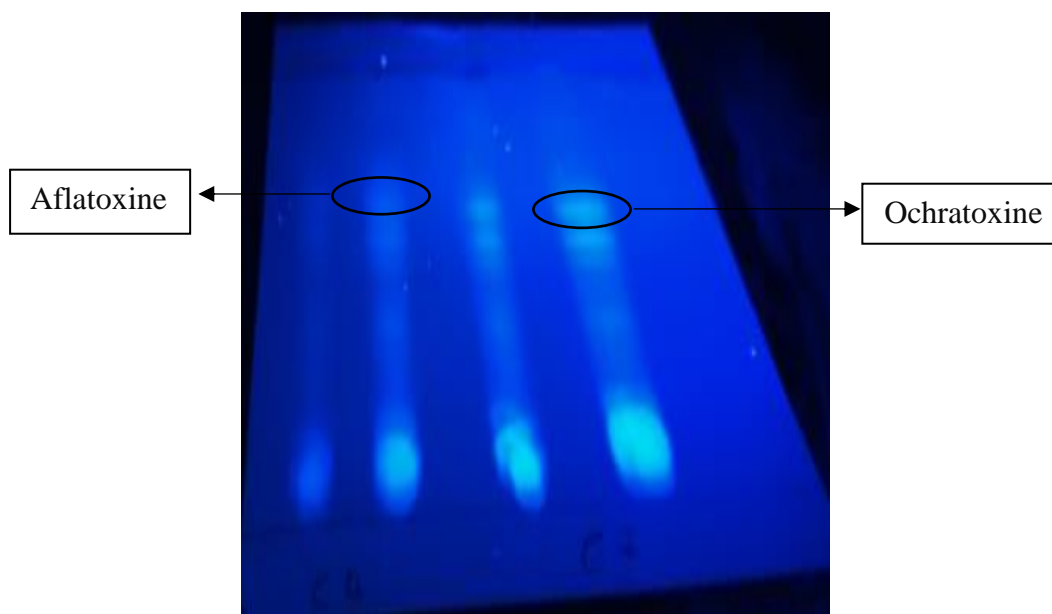


Figure 15: Tâches liées aux mycotoxines révélées par CCM.

Les tâches fluorescentes qui s'apparaît en bleu, est probablement due à la toxine (Aflatoxine), qui est produite principalement par Le genre *Aspergillus*. Le genre *Penicillium* produit probablement (l'ochratoxine), crée une fluorescence bleu-vert lorsqu'exposée à la lumière UV à une longueur d'onde de (365 nm).

Cette méthode est considérée parmi les premières procédures utilisées pour révéler les mycotoxines. Elle est rapide et simple à appliquer, et elle donne la possibilité de traiter plusieurs échantillons en même temps (**Huybrechts et al., 2013**).

Plusieurs chercheurs, y compris (**Omurtag et Yazicioglu, 2001, Matmoura et al., 2019**) ont appliqué la méthode de chromatographie sur couche mince (CCM), afin de détecter les mycotoxines dans les céréales.

II.3. La Croissance de moisissures :

L'application de la microbiologie prédictive pour quantifier la concentration en UF est difficile (**Gibson et Hocking, 1997**), car les champignons filamenteux ne sont pas unicellulaires. Ils forment un mycélium dont le poids, sauf au début de leur croissance, n'augmente pas de façon exponentielle. De plus, il est impossible de diviser le mycélium en cellules individuelles. Par conséquent, la méthode de quantification des unités formant colonie (UFC) ne peut être utilisée que pour dénombrer les spores (**Vindeløv et Arneborg, 2002**).

En général, les modèles cinétiques utilisés sont ceux basés sur la mesure du diamètre des colonies, une technique simple pour obtenir des données. La croissance des moisissures sur substrats solides dans des conditions optimales et en l'absence de facteurs limitants suit généralement un modèle composé d'un temps de latence ($\lambda T^{\circ}\text{C}$) et d'une phase de croissance linéaire (pour estimer $\mu T^{\circ}\text{C}$). Dans des conditions défavorables, une phase stationnaire peut apparaître lorsque les champignons cessent de croître (Gibson *et al.*, 1994 et Vo *et al.*, 2024).

La cinétique de croissance présentée dans la **Figure 16** a été ajustée à l'aide du modèle de Baranyi *et al.* (1993) tel que rapporté par Dantigny *et al.*, (2005). Il présente un bon ajustement, avec des valeurs de R2 comprises entre 0,90 et 1.

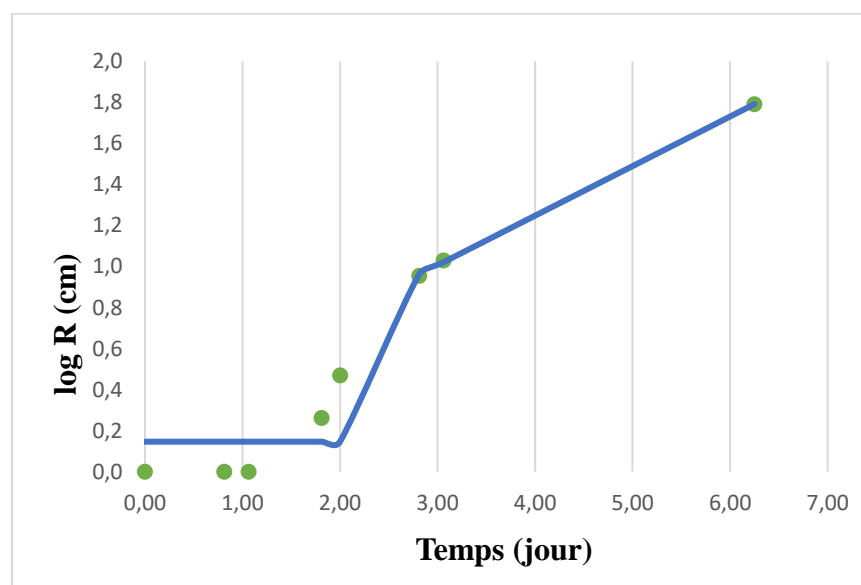


Figure 16: Cinétique de croissance du genre *Aspergillus sp n°2*.

Les isolats testés ont montré des capacités de croissance différentes, comme l'indiquent le temps de latence ($\lambda T^{\circ}\text{C}$: jour) et la vitesse de croissance ($\mu T^{\circ}\text{C}$: jour⁻¹). En effet, les temps de latence et $\mu T^{\circ}\text{C}$ varient respectivement entre 0,036 à 2 jours et 0,22 à 4,112 jours⁻¹. Les résultats montrent que les paramètres de croissance dépendent de la souche (cf. **Tableau 10**). En effet, une variabilité a été observée au sein d'un même genre. De plus, les moisissures mycotoxigènes (*Aspergillus sp.* et *Penicillium sp.*) présentaient des temps de latence ($\lambda T^{\circ}\text{C}$) et des taux de croissance ($\mu T^{\circ}\text{C}$) intermédiaires par rapport à ceux des autres isolats testés (cf. **Tableau 10**).

Tableau 10 : Paramètres de croissances pour chaque genre de moisissures.

Genres	D ₀ (cm)	D _{max} (cm)	lag (λ) (jour)	μ _{max} (jour ⁻¹)
<i>Penicillium sp</i>	0,17 ± 0,11	2,92 ± 0,84	0,079 ± 0,08	0,805 ± 0,92
<i>Aspergillus sp</i>	0,17 ± 0,13	28,80 ± 46,65	0,43 ± 0,64	0,397 ± 0,292
<i>Exophiala sp</i>	0,097 ± 0,064	2,300 ± 1,533	0,036 ± 0,0003	1,81 ± 2,21
<i>Chladosporium sp</i>	0,235 ± 0,162	2,091 ± 1,359	0,77 ± 0,74	0,85 ± 0,63
<i>Mucorales sp</i>	0,046	3,451	0,036	0,225
<i>Aureobasidium sp</i>	0,007 ± 0,007	1,725 ± 1,725	0,037 ± 0,0007	4,112 ± 3,887
<i>Trichothecium sp</i>	0	3,45	0,036	0,22
<i>Trichosporon sp</i>	0,14	3,45	0,036	0,22
<i>Trichoderma sp</i>	0,218 ± 0,031	3,45 ± 0	0,036 ± 0	0,22 ± 0
<i>Mucor sp</i>	0,000	4,000	2,00	0,225
<i>Purpureocillium sp</i>	0,1463 ± 0,0001	2,72 ± 0,72	1,22 ± 1,19	0,34 ± 0,12

La cinétique de croissance obéit à une cinétique de premier ordre caractéristique de la croissance microbienne, similaire à celle des bactéries, avec différentes phases de croissance : temps de latence ($\lambda_{T^{\circ}C}$), phase exponentielle ($\mu_{T^{\circ}C}$) et phase stationnaire.

Tout au long de la chaîne alimentaire, du champ à l'assiette du consommateur, les moisissures sont susceptibles de se développer et de produire des toxines, surtout si les conditions écologiques (humidité et température) sont favorables. La contamination des aliments ou des semences peut survenir avant ou pendant le stockage de la farine boulangère. La plupart des moisissures toxiques se développent dans les aliments à faible activité de l'eau en produisant des mycotoxines.

Les résultats ont montré une capacité à se développer dans la farine de blé. **Heenan et al., (1998)** ont signalé la croissance de certaines espèces d'*Aspergillus*, de *Penicillium* et de *Fusarium* dans des échantillons de farine de blé après trois mois de stockage. Parmi ces espèces, on trouve *A. ochraceus*, *P. viridicatum*, *P. cyclospium*, *P. verrucosum*, *A. niger*, *A. mellis* et *A. carbonarius* (**Heenan et al., 1998**). D'autres auteurs ont signalé la croissance de ces champignons dans du pain contaminé par des mycotoxines (**Ollinger et al., 2024**). La consommation quotidienne et fréquente de petites quantités de mycotoxines peut entraîner une accumulation dans le foie, provoquant de graves lésions et un cancer du foie (**Halt et al., 2004**).

II.4. Estimation de la production de mycotoxine dans la farine :

Les résultats de simulation ont montré une concentration d'aflatoxine dans le pain comprise entre 16,85 et 22,77 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Pour l'ensemble des régions étudiées. En termes de quantité annuelle, une forte concentration a été estimée pour la région de Ain Témouchent (23,03 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Par ailleurs, durant les mois de l'été (Juin à Septembre), la simulation montre une concentration plus élevée par rapport aux autres mois de l'année. Ces résultats montrent l'effet de la température sur la production de mycotoxine (cf. Figures 17).

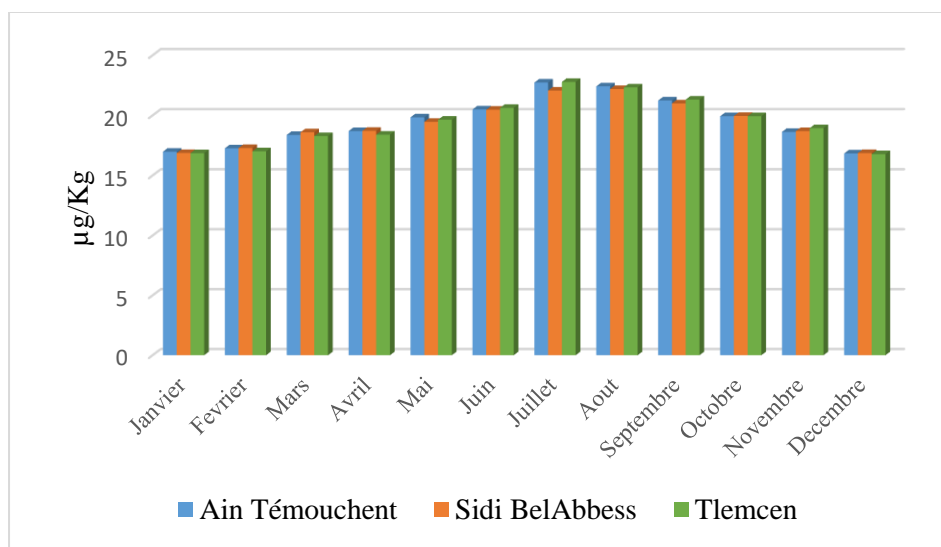


Figure 17 : Évolution des concentrations d'aflatoxine en fonction des températures mensuelles au cours de l'année.

L'estimation a révélé un niveau moyen d'aflatoxine totale : (14,89 $\mu\text{g}/\text{kg}$) dans le pain consommé est supérieur aux limites maximales tolérées (cf. Tableau 11). Cela suggère, probablement en raison de conditions mal contrôlées lors de la récolte, la production et le stockage, telles qu'une humidité ou une température inadéquate.

Tableau 11 : Concentrations d'aflatoxine de différentes régions.

Régions	Concentrations ($\mu\text{g}/\text{kg}$)			
	Minimum	Maximum	Médiane	Moyenne
Tlemcen	7,35	22,95	14,82	14,82
Sidi Belabbes	7,68	22,34	15,00	15,01
Ain Temouchent	7,24	23,03	14,83	14,84
Total	7,24	23,03	14,83	14,89

Ces concentrations sont apparues très élevées par rapport surtout à la réglementation. En effet, le règlement (CE) n°1881/2006 de la Commission européenne fixe le taux maximum d'aflatoxines à 4 µg/kg d'aflatoxines totales dans les produits destinés à l'alimentation humaine. Les produits dépassant ces taux ne peuvent pas être mis sur le marché dans l'UE. En 2008, le Codex Alimentarius (Codex Alimentarius) a défini un taux maximal d'aflatoxines totales de 10 µg/kg dans les amandes, noisettes et pistaches prêtes à la consommation, ce qui représente un taux supérieur à celui actuellement en vigueur dans l'UE (4 µg/kg d'aflatoxines totales).

II.5. Evaluation du risque :

Le risque lié à la présence de mycotoxines dans le pain est préoccupant pour la santé publique, notamment à cause du potentiel génotoxiques et cancérogènes de l'aflatoxine. Les valeurs de MOE liées à la consommation de pain est très inférieur à 10 000 (**Tableau 12**) est considéré comme un indicateur de risque sanitaire élevé, traduisant une probabilité accrue de toxicité pour les consommateurs. Ce résultat est en accord avec d'autres études, y compris, celle menée sur le piment rouge en Éthiopie qui montre un risque élevé (**Alemu Degefe et Geleta, 2024**), ainsi que l'étude sur les noix et fruits secs en Chine, où un risque modéré à élevé a également été observé (**Wang et al., 2018**). Les résultats de l'EFSA, (2020) indiquent un risque pour la santé humaine, particulièrement élevé dans les céréales et produits dérivés. Ces résultats confirment la nécessité d'une surveillance stricte des mycotoxines dans les aliments.

Tableau 12 : Exposition et évaluation des risques d'aflatoxine.

Concentrations (µg/kg)	EDI (µg/kg p.c. /J)	MOE ¹	MOE ²
14,82	0,0395	4,30	10,12
15,01	0,0400	4,25	10,00
14,84	0,0396	4,30	10,11

* MOE¹ : Marges d'exposition calculées par la limite inférieure de la dose de référence (0,17µg/kg p.c. /J) (EFSA 2007).

* MOE² : Marges d'exposition calculées par la limite inférieure de la dose de référence (0,4µg/kg p.c. /J) (EFSA 2020).

Une exposition fréquente aux aflatoxines, en particulier l'aflatoxine B1 via la consommation de pain contaminé pourrait avoir des conséquences néfastes sur la santé publique, Cette exposition est associée à une augmentation du risque de cancer du foie (carcinome hépatocellulaire) (EFSA 2020).

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives :

La contamination des produits alimentaires comme la farine destinée à la fabrication du pain, peut avoir lieu avant ou pendant le stockage de la matière première. Les moisissures sont les micro-organismes les plus susceptibles de se développer dans la farine en raison de sa faible activité en eau, certains sont toxigènes et peuvent produire des mycotoxines, donc fait l'objet de notre étude.

Dans ce contexte, ce travail a été réalisé pour dénombrer et déterminer la flore totale, recherché des moisissures toxigènes par la mise en évidence la capacité de ces isolats de produire des mycotoxines et d'évaluer leur croissance durant la durée de stockage chez le boulanger. Au cours de ce travail, nous avons étudié la contamination de 241 échantillons de la farine boulangère, sont prélevés de plusieurs points de vente de la région d'ouest algérien, Cette étude représente un taux de contamination important. Nous avons déterminé plusieurs genres de moisissures telles que (*Penicillium*, *Cladosporium*, *Mucorales* et *Aspergillus*). Seulement, les genres *Aspergillus* et *Penicillium* ont montré une production des mycotoxines sur milieu CEA, et l'analyse par la méthode CCM s'est révélée positive.

Les isolats obtenus ont montré leur capacité de croissance avec des paramètres variable. La simulation de Monte Carlo d'effet de conditions de stockage et préparation sur la mycoflore durant le stockage chez le boulanger montré une évolution significative ($P < 0.001$).

Les niveaux d'aflatoxines estimés dans le pain sont inacceptables d'un point de vue sanitaire et peuvent présenter un risque pour la santé des consommateurs. Afin de minimiser ce risque, certaines recommandations sont proposées :

- ✓ Réduire la consommation du pain, de la possibilité qu'elle contienne ces niveaux d'aflatoxine.
- ✓ Mettre en œuvre un contrôle strict de la qualité, en particulier les produits céréaliers comme le pain.
- ✓ Définir ou de réviser des limites réglementaires, en fonction des données scientifiques.
- ✓ Élaborer des plans et utiliser des procédés de prévention contre la propagation des champignons, et pour la minimisation des mycotoxines, au cours et après la récolte
- ✓ Sensibiliser et la formation des boulangers, à la nécessité de conserver leurs produits tel que, la farine dans de bonnes conditions.

Conclusion générale et perspectives

En fin, L'étude des divers facteurs qui affectent la croissance des champignons avec le temps permet de déterminer la durée maximale de conservation après laquelle l'aliment commence à se détériorer. Les résultats de cette étude peuvent varier en fonction des années ou les différentes conditions climatiques, Cela offre la possibilité d'ouvrir de nouvelles perspectives d'étude dans le cadre du prolongement de ce travail :

Une étude d'autres zones présentant différentes conditions et les comparer aux résultats obtenus dans cette étude, permettrait d'élargir la portée de l'analyse. Une identification moléculaire des souches isolées, pour déterminer leur origine et d'évaluer leur potentiel toxique. L'étude de l'impact d'autres facteurs sur le développement des champignons et leur pouvoir toxicologique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

Adams, M. R. et Moss, M. O. (2008). *Food microbiology*. (3e) Ed. RSC Publishing. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 463 p.

Afssa. (2006). *Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale*. Rapport synthétique, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, France. 79p.

Afssa. (2009). *Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale*. Rapport final, France, 308 p.

Alais C., Linden G., Miclo L. (2005). *Biochimie Alimentaire*, (6e) Ed. Dupli-Print, France, 133-143.

Al-Defiery, M. E. J., Merjan, A. F. (2015). Mycoflora of mold contamination in wheat flour and storage wheat flour. *Mesopotamia Environmental Journal*, 1(2) : 18-25.

Alemu Degefe, H. et Geleta, G. S. (2024). Exposure and Health Risk Assessment of Aflatoxins in Hot Red Pepper Marketed in North Shewa Zone, Oromia Region, Ethiopia. *Environmental Health Insights*, 18(1): 1–9.

Atanda, O., Ogunrinu, M., Olorunfemi, F. (2011). A neutral red desiccated coconut agar for rapid detection of aflatoxigenic fungi and visual determination of aflatoxins. *World Mycotoxin Journal*, 4(2):147-155.

Atwell, W. et Sean F. (2016). *Wheat flour*. (2e) Ed. Elsevier, Paris, 61 p.

Awuchi, C. G., Ondari, E. N., Ogbonna, C. U., Upadhyay, A. K., Baran, K., Okpala, C. O. R., Korzeniowska, M. et Guiné, R. P. (2021). Mycotoxins affecting animals, foods, humans, and plants: Types, occurrence, toxicities, action mechanisms, prevention, and detoxification strategies A revisit. *Foods*, 10(6), 1279.

Baranyi, J., Roberts, T.A., McClure, P. (1993). A nonautonomous differential equation to model bacterial growth. *Food Microbiology*, 10 (1) : 43-59.

Belhocine, S. (2010). *Les Algériens premiers consommateurs de pain dans le monde*. Le Midi Libre. Adresse URL : <https://www.djazairess.com/fr/lemidi/1008100105>

Bennett, J.W. et Klich, M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*. 16(3) : 497-516.

Références bibliographiques

- Berthier, J., et Valla, G. (1998).** *Moisissures-mycotoxines et aliments : du risque à la prévention.* Université Claude Bernard, Lyon, 05-20.
- Betina, V. (1985).** Thin-layer chromatography of mycotoxins. *Journal of Chromatography.* 334(3): 211-276
- Bhat, R. V. et Vasanthi, S. (2003).** Mycotoxin food safety risk in developing countries. *International Food Policy Research Institute, USA.*
- Bhat, R., Rai, R.V. and Karim, A. A. (2010).** Mycotoxins in Food and Feed: Present Status and Future Concerns. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(1): 57-81.
- 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.
- Bock, M. A. (2000).** *Minor constituents of cereals. Handbook of cereal science and technology.* (2e) Ed. revised and expanded, New York, 479-504.
- Bossou, T. K. (2022).** Caractéristiques de production et de sécurité sanitaire du pain - Une revue. *European Scientific Journal.* 18(8): 129–157.
- Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P. (1990).** *Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle.* Ed. Masson, Paris, 512 p.
- Boudih, S. (2011).** *Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers : évaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro.* Thèse de doctorat, Université Paris-Est, 185 p.
- Bouhadi, D., Ibri, K., Hariri, A., Benattouche, Z. et Belkhodja, H. (2020).** Effet de l'ajout de la farine de malt sur les caractéristiques fonctionnelles et technologiques de la farine de blé tendre. *Revue Nature et Technologie*, 12(02) : 54-62.
- Brabant C., Dario F., Kleijer G., Vincent V. (2007).** Influence de la variété sur le goût du pain. *Revue Suisse d'Agriculture*, 39(3) :101-108.
- Cahagnier B. et Richard-Molard D. (1998),** *Analyse mycologique in Moisissures des aliments peu hydratés.* Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris,140-158.

Références bibliographiques

- Cairns-Fuller, V., Aldred, D., Magan, N. (2005).** Water, temperature and gas composition interactions affect growth and ochratoxin A production by isolates of *Penicillium verrucosum* on wheat grain. *Journal of Applied Microbiology*, 99: 1215-1221.
- Castegnaro, M. et Pfohl-Leskowicz, A. (2002).** Les mycotoxines: contaminants omniprésents dans l'alimentaire animale et humaine, dans la sécurité alimentaire du consommateur, *Lavoisier, Tec et Doc*, 2 : 127-79.
- Cauvain, S. P. et Young, L. S. (2000).** *Bakery Food Manufacture and Quality : Water Control and Effects*. Ed. Blackwell Science, Oxford, UK, 280p
- Cauvain, S. P. et Young, L. S. (2006).** *The Chorleywood bread process*. Ed. Woodhead Publishing. Cambridge, 92 p.
- Cauvain, S. P., (2015).** *Bread: Breadmaking Processes. Encyclopedia of Food and Health*. (3^e) Ed. Elsevier Ltd ,408p.
- Chabasse, D., Bouchara, J.P., de Gentile, L., Brun, S., Cimon, B., Penn, P. (2002).** *Les moisissures à intérêt médical*. Cahier de formation N° 25. Bioforma 230 bd raspail 75014, Paris, 159 p.
- Chaurand M., Rémésy C., Fardet A., Leenhardt F., Bar-L'Helgouach C., Taupier-Letage B. Abecassis J. (2005).** Influence du type de mouture (cylindres vs meules) sur les teneurs en minéraux des différentes fractions du grain de blé en cultures conventionnelle et biologique. *Industries des Céréales*. (142) :3-11.
- Cheftel, J. C. 1977).** *Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments*. Ed. Technique et Documentation : Entreprise Moderne, Paris, 800 p.
- Christensen, C. M. et Kaufmann, H. H. (1969).** *Grain storage. The role of fungi in quality loss*. Ed. Minnesota archive, États-Unis, 153 p.
- Codex Alimentarius. (1985).** *Norme pour la farine de blé (Codex Stan 152-1985)*. FAO/OMS, Commission du Codex Alimentarius, Rome.
- Cordova, J. (1998).** *Isolement identification et physiologie des champignons thermophiles en vue de la production de lipases par fermentation en milieu solide Montpellier*. Thèse de doctorat, Université de Montpellier II, France, 248 p.

Références bibliographiques

- Cornu, M. (2006).** Modélisation d'incertitudes et de variabilités en microbiologie quantitative des aliments. Thèse de doctorat, Université Paris XII Val de Marne, France, 53 p.
- Crucean, D. (2019).** *Intérêt du chlorure de choline pour la réduction du sel dans le pain. Relations structure-propriétés et acceptabilité sociétale.* Thèse de doctorat, École nationale vétérinaire, Nantes, France. 369 p.
- Cruz J.F., Troude F., Griffon D., Hébert J.P., (1988).** *Conservation des grains en régions chaudes «Techniques rurales en Afrique».* (2e) Ed. CEEMAT, Paris, 545p.
- Curtet, R. (1998).** *Pain blanc, pain complet : fabrication et intérêt diététique.* Thèse de doctorat, Faculté De Pharmacie De Grenoble, Université Joseph Fourier, France, 130p
- Deàk Tibor. (2008).** *Handbook of food spoilage yeasts.* (2e) Ed. CRC Press, États-Unis, 325 p.
- Delhalle, L., Daube, G., Adolphe, Y., Crevecoeur, S., Clinquart, A. (2012).** Les modèles de microbiologie prévisionnelle pour la maîtrise de la sécurité des aliments (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 16(3) : 369-381.
- Dellaye C., Clement P., Rossi J. P. (1994).** *Appréciation du pouvoir fermentaire.* Ed. Maison Atfort, Lesaffre Bakery Division Marcq-en-Baroeul, 12p.
- Dendy, D.A.V et Dobraszczyk, B. J. (2000).** *Cereals and Cereal Products: Technol.Chemistry.* Springer, 370 p.
- Deneuve, D. (2008).** *Contribution à la mise en place de la démarche HACCP pour la fabrication de pain blanc précuit surgelé.* Thèse de doctorat, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVN, 170 p.
- Dobraszczyk, B. J. et Morgenstern, M. P. (2003).** Rheology and the breadmaking process. *Journal of Cereal Science*, 38(3), 229–245.
- Doumandji, A., Doumandji S. et Doumandji, M. B. (2003).** *Technologie de transformations des blés et problèmes dus aux insectes au stock « cours de technologie des céréales ».* office des publications universitaires, Alger, 126 p.
- Dragacci, S., Zakhia-Rozis, N., Gatlier, P. (2011).** *Danger dans l'assiette.* Carnets de Sciences. Ed. Quae, France, 184 p.

Références bibliographiques

- Eliasson, A. C. et Larsson, K. (1993).** *Cereals in breadmaking: a molecular colloidal approach*. Ed. Marcel Dekker, New York, 376p.
- Elsaadani, M. (2019).** *Détection des Ochratoxines A dans la production alimentaire par l'utilisation d'aptacapteur capacitif*. Thèse de doctorat, Université Montpellier, France, 179p
- Encyclopedia of Food Grains*. (2e) Ed. Academic Press, Oxford, 8–18.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2004).** Worldwide Regulations for Mycotoxins in Food and Feed in 2003. *FAO Food and Nutrition paper*, FAO, Rome, Italy, 81: 48 p.
- Fardet A., Leenhardt F., Lioger D., Scalbert A., Rémésy C. (2006).** Parameters controlling the glycaemic response to breads. *Nutrition Research Reviews* (19):1-9.
- Fedala N., Mekimene L., Mokhtari M., Haddam A.E.M. et Fedala N.S. (2015).** "Consommation du pain en Algérie : état des lieux". *Annales d'Endocrinologie*, 76 (40) : 559–571.
- Feillet, P. (2000).** *Le grain de blé : composition et utilisation*. Ed. Quae, France. 239 p.
- Fredot, E. (2009).** *Connaissance des aliments « Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique »*. (2e) Ed. Lavoisier, Paris, 210-215.
- Godon, B et Loisel, W. (1997).** *Guide pratique d'analyses dans les industries des céréales*. Ed. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, 819 p.
- Godon, B. (1982).** Valeur meunière et boulangère des blés tendres et de leurs farines. In J.-L. Multon., *Conservation et stockage des grains et produits dérivés : céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux*. Ed. Lavoisier, Paris, (pp. 1009 – 1028).
- Godon, B. (1991).** *Biotransformation des produits céréaliers*. Ed. Lavoisier, Paris, 411 p.
- Godon, B. et Willm, C. (1991).** *Les industries de première transformation des céréales*. *Collection Sciences Et Techniques*. Ed. Tech Et Doc – Lavoisier, Paris. 656p.
- Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W. S., Courtin, C. M., Gebruers, K., et Delcour, J. A. (2005).** Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends in food science et technology*, 16 (1-3) : 12-30.
- Graves, R. R. et Hesseltine, C. W. (1966).** Fungi in flour and refrigerated dough products. *Mycopathologia et mycologia applicata*, 29(3-4) : 277-290.

Références bibliographiques

- Guignard J.L. (1993)** *Botanique, collection abrégés*, (8e) Ed. Masson, Paris, 276 p.
- Gujral, H. S. et Singh, N. (1999)**. Effect of additives on dough development, gaseous release and bread making properties. *Food research international*, 32(10): 691-697.
- Halt, M. et Klapac, T. (2004)**. Fungal contamination of cookies and the raw materials for their production in Croatia. *Czech Journal of Food Sciences*, 22(3): 95–100.
- Health Protection Agency-HPA, (2009)**. Annual Report and Accounts, London 45p.
- Hocking, A.D. (2006)**. *Aspergillus and related teleomorphs*. Food Science, Ed. Woodhead Publishing, Australia, 451-487
- Horn, B. W., et Wicklow, D. T. (1983)**. Factors influencing the inhibition of aflatoxin production in corn by *Aspergillus niger*. *Canadian journal of Microbiology*, 29(9):1087-1091.
- Hubert, J., Stejskal, V., Munzbergová, Z., Kubátová, A., Vánová, M., Zd'árková, E. (2007)**. Mites and fungi in heavily infested stores in the Czech Republic. *Journal of Economic Entomology*, 97 (6): 2144-2153.
- Hutkins, Robert W. (2006)**. *Microbiology and technology of fermented foods*. 1 Ed. Blackwell publishing, USA, 475 p.
- Huybrechts, B., Tangni, E. K., Debongnie, P., Geys, J., & Callebaut, A. (2013)**. Méthodes analytiques de détermination des mycotoxines dans les produits agricoles: une revue. *Cahiers Agricultures*, 22(3): 202-215.
- Inoue Y, Bushuk W. (1992)**. Studies on frozendough. II. Flour quality requirements for bread production from frozen dough. *Cereal Chemistry*, (69) :423-428.
- ITCF. (1989)**. *Guide pratique - Stockage et conservation des grains à la ferme*. FAO, Paris, 60 p.
- Jarvis, B.B., Miller, J.D. (2005)**. Mycotoxins as harmful indoor air contaminants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 66: 67-372.
- Jean B., (1979)**. *Suivis du recueil des usages concernant les pains de France. Actes du colloque*. Ed. Centre national de coordination des études et recherches sur la nutrition et l'alimentation, France, Paris, 3-14.
- Jouany J. P. et Yiannikouris A. (2002)**. *Les mycotoxines dans les aliments des ruminants, leur devenir et leurs effets chez l'animal*. INRA Productions Animales, France, 3-16.

Références bibliographiques

Journal officiel N° 39. (2017). L'arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires. *Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire.*

Journal Officiel N°36. (1991). Décret exécutif n° 91-572 du 31 décembre 1991 relatif à la farine de panification et au pain. *Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire.*

Journal officiel n°52. (2015). L'arrêté du 19 Chaoual 1436 correspondant au 4 aout 2015 rendant obligatoire la méthode horizontale pour le dénombrement des levures et moisissures par comptage des colonies dans les produits dont l'activité d'eau est inférieure ou Egale à 0,95. *Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire.*

Keller, S. E., Sullivan, T. M., Chirtel, S. (1997). Factors affecting the growth of *Fusarium proliferatum* and the production of fumonisin B1: oxygen and pH. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 19(4), 305-309.

Kendrick B., (2000). *The fifth kingdom.* (3e) Ed. Focus Publishing / R. Pullins Company, Newburyport, États-Unis, 386 p

Lacey, J. (1986). Factors affecting mycotoxin production. In: *Mycotoxins and phycotoxins* (Ed, P.S. and Vlegaar, R.), 6th International IUPAC symposium on mycotoxins and phycotoxins, Pretoria, South Africa.

Lacey, J., Ramakrishna, N., Hamer, A., Magan, N. et Marfleet, I.C. (1991). Grain fungi. In: Arora, D.K., Mukerji, K.G., Marth, E.H. Ed. *Handbook of Applied Mycology, Foods and Feeds.* Marcel Dekker, New York, 121-127.

Lahouar, A. (2016). *Mycotoxines et champignons mycotoxinogènes dans les grains de sorgho commercialisé en Tunisie : Incidence et profils écophysiologicals.* Thèse de doctorat , Ecole Doctorale : Sciences Biologiques, Biotechnologie et Santé , Tunisie , 138 p.

Le-Bail, A., Boumali, K., Jury, V., Ben-Aissa, F., et Zuniga, R. (2009). Impact of the baking kinetics on staling rate and mechanical properties of bread crumb and degassed bread crumb. *Journal of Cereal Science*, 50(2) : 235–240.

Lecellier, A. (2013). *Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle.* Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, France, 194 p.

Références bibliographiques

- Leenhardt F., Levrat-Verny M. A., Chanliaud E., Remesy C., (2005).** Moderate Decrease of pH by Sourdough Fermentation Is Sufficient To Reduce Phytate Content of Whole Wheat Flour through Endogenous Phytase Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (53): 98-102.
- Lemke, P. A., Davis, N. D., Creech, G. W., (1989).** Direct visual detection of aflatoxin synthesis by minicolonies of *Aspergillus* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(7): 1808-1810.
- Lin, M. T. et Dianese, J. C. (1976).** A coconut-agar medium for rapid detection of aflatoxin production by *Aspergillus spp.* *Phytopathology*, 66(12): 1466-1469.
- Lopez H. W., Leenhardt F., Remesy C. (2002).** Minerals and phytic acid interactions : is it a real problem for human nutrition?. *International Journal of Food Science and Technology* , (37) :727 -739.
- Luc, S. et Valerie, M. (2012).** *Impact de la structure de l'aliment sur les propriétés nutritionnelles et l'acceptabilité du pain et des pâtes.* Innovations Agronomiques, INRAE, (19): 63-74.
- Macauley H, Ramadjita T. (2015).** *Les cultures céréalières : riz, maïs, millet, sorgho et blé.* Rapport : Plan d'action pour la transformation de l'agriculture africaine, 38p.
- Magan N., Lacey J. (1988).** Ecological determination of mould growth in stored grain. *International Journal of Food Microbiology.* Elsevier, 245- 256.
- Magan, N., Hope, R., Cairns, V., Aldred, D. (2003).** Post – harvest fungal ecology: Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. *European Journal of Plant Pathology*, 109 (7): 723-730.
- Magan, N., Medina, A., Rodriguez, A. (2015).** Mycotoxins, climate change and food security: do we know enough? *Fungal Biology Reviews*, 29 (2): 143–154.
- Mathew, S., Thomas, G., Tufail, A. (2011).** An Evaluation of the fungi isolated from sub-epidermal region of post-harvested stored wheat grains. *Nepal Journal of Biotechnology*, 1(1) : 9-13.
- Matmoura, A., Bouti, K., Bouras, N., Houmani, Z. (2019).** Recherche des populations d'*aspergillus* section flavi aflatoxinogenes dans les amandes commercialisées dans trois régions algériennes. *African Review of Science, Technology and Development*, 4(01): 1-13.

Références bibliographiques

- Millar S., (2006).** Role of the dough mixing process in bread production. In: HELDMAN D.R. (Ed.), *Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering*. Taylor et Francis Group, London, pp: 1-4.
- Miller, J.D. (1992).** Fungi as contaminants in indoor air. *Atmospheric Environment journal*, 26: 2163-2172.
- Miraglia, M., Marvin, H.J.P., Kleter, G.A., Battilani, P., Brera, C., Coni, E., Cubadda, F., Croci, L., De Santis, B., Dekkers, S., Filippi, L., Hutjes, R.W.A., Noordam, M.Y., Pisante, M., Piva, G., Prandini, A., Toti, L., van den Born, G.J., Vespermann, A. (2009).** Climate change and food safety: an emerging issue with special focus on Europe. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 1009-1021.
- Mitchell, D., Parra, R., Aldred, D., Magan N. (2004).** Water and temperature relations of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains from grapes in Europe. *Journal of Applied Microbiology*, 97: 439-445.
- Moayedallaie, S., Mirzaei, M. et Paterson, J. (2010).** Bread improvers: Comparison of a range of lipases with a traditional emulsifier. *Food chemistry*, 122(3):495-499.
- Molinie A., Faucet V., Castegnaro M and Pfohl-Leszkowicz 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(3): 391-400.
- Mondal, A. et Datta, A. K. (2008).** Bread baking—A review. *Journal of food engineering*, 86(4):465-474.
- Moore, T. R. Breads. In Wrigley, C., Corke, H., Seetharaman, K. et Faubion, J. 2015).**
- Morin, O. (1994).** *Aspergillus et aspergilloses: biologie*. Ed. Techniques Encycl. Med. Chir. (Elsevier, Paris), Maladies infectieuses, p 8-600.
- Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T and Killington R. (2000).** *L'essentiel en microbiologie*. Ed. Berti, Paris, 210-217.
- Olsen, M., Jonsson, N., Magan, N., Banks, J., Fanelli, C., Rizzo, A., Haikar, A., Dobson, A., Frisvad, J., Holmes, S., Olkku, J., Persson, S.J., Börjesson, T. (2003).** *Prevention of Ochratoxin A in Cereals. OTA PREV*. Final report. Quality of Life and Management of Living Resources.

Références bibliographiques

- Olusegun A., Olufemi O., Olusola A., Bolade K. (2015).** Safety of bread for human consumption in an urban community in Southwestern Nigeria. *African Journal of Food Science*. (9) :272-277.
- OMS, FAO. (2008).** *Caractérisation des risques liés aux dangers microbiologiques d'origine alimentaire*. Série Evaluation Des Risques Microbiologiques, Genève, Suisse, 133 p.
- OMS, FAO. (2009).** *Évaluation de l'exposition aux dangers microbiologiques dans les aliments*. Série Evaluation Des Risques Microbiologiques, Genève, Suisse, 109 p.
- Omurtag, G. Z. et Yazicioğlu, D. (2001).** Occurrence of T-2 toxin in processed cereals and pulses in Turkey determined by HPLC and TLC. *Food additives and contaminants*, 18(9): 844-849.
- Pareyt, B., Finnie, S. M., Putseys, J. A. et Delcour, J. A. (2011).** Lipids in bread making: Sources, interactions, and impact on bread quality. *Journal of Cereal Science*, 54(3) : 266-279.
- Pelhate, J. (1982).** *Ecologie de la microflore des grains et graines. Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés: céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux/coordonnateur*. Ed. JL Multon, Lavoisier Tec & Doc, Paris, 273-290.
- Pfohl-Leszkowicz, A. (2001).** *Définition et origines des mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque*. Ed. Tec & Doc, 3-14.
- Pitt J.I. (1988).** *Laboratory guide to common Penicillium specie*. Academia Press editor, London, 187 p.
- Pitt, J. I. et Hocking, A.D. (1997).** *Fungi and food spoilage*. (2) Ed. Blackie Academic and Professional, London, 593 p.
- Pitt, J.I., Basilio, J.C., Abarca, M.L., Lopez, C., (2000).** Mycotoxins and toxigenic fungi. *Medical Mycology*. 38 : 41-46
- Ramos, A. J., Labernia, N., Marín, S., Sanchis, V., Magan, N. (1998).** Effect of water activity and temperature on growth and ochratoxin production by three strains of *Aspergillus ochraceus* on a barley extract medium and on barley grains. *International Journal of Food Microbiology*, 44(1-2) : 133-140.
- Raper K., Fennell D.J. (1965).** *The genus Aspergillus*, Ed. Williams and Wilkins, Baltimore États-Unis, 686 p.

Références bibliographiques

- Rezazadeh, A., Pirzeh, L., Hosseini, M., Razavieh, S. V. (2013).** Evaluation of fungal contaminations and humidity percent of consumed flour in the bakeries of Tabriz city. *Journal of Paramedical Sciences*, 4(4): 83 –87.
- Riba, A. (2008).** Recherche sur les champignons producteurs d'aflatoxines et d'ochratoxine a dans la filiere ble en Algérie. Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, 190 p.
- Rice, L. G, et Ross, P. F. (1994).** Methods for detection and quantitation of fumonisins in corn, cereal products and animal excreta. *Journal of Food Protection*, 57(6):536-40.
- Roberts, T. A. (2005).** *Microorganisms in foods : Microbial ecology of food commodities*. 2 Ed. Springer. 776 p.
- 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.
- Rosentrater K.A. et Evers A.D. (2018),** "Chapter 8 - Bread-baking technology", in *Kent's Technology of Cereals*, 5 Ed. Woodhead Publishing, 565-622.
- Rossel, C. M. (2011).** The science of doughs and bread quality. In V. R. Preedy, R. R. Watson, et V. B. *Flour and breads and their fortification in health and disease prevention*. Ed. Patel, 3–14.
- Roussel, P., Chiron, H. H., Della Valle, G. G., & Ndiaye, A. A. (2010).** *Recueil de connaissances sur les descripteurs de qualité des pâtes et des pains ou variables d'état pour la panification française. Glossaire terminologique appliqué aux pains français*. INRA, France, 66 p.
- Sablani S. S., Baik O. et Marcotte M. (2002).** Neural networks for predicting thermal conductivity of bakery products. *Journal of Food Engineering*. (52):299-304.
- Salimata K., Mamadou S., Mahmoud A. C., Oumou S. M., Abdoulaye Z. K., Alassane M. M., Safiatou S., Madou C., Cheick T. O. S., Fatoumata M., Ousmane T. (2020).** Évaluation de la qualité microbiologique et chimique du pain et de la farine servant à faire le pain dans les boulangeries de Bamako. *Revue Malienne de Science et de Technologie*. 1(23), 4-11.

Références bibliographiques

- Sami, M., Abedi, R., Mohammadi, R., & Mirlohi, M. (2020).** Microbial and fungal contamination of wheat flour, dough, and bread samples collected from Isfahan, Iran. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 51(2):163-170.
- Sauer, D.B., Storey, C.L., Ecker, O et Fulk, D.W. (1982).** Fungi in U.S. Export wheat and corn. *Postharvest Pathology and Mycotoxins*. 72(11) :1449-1452.
- Schlundt, J. (2002).** L'évaluation du risque comme outil de gestion de risque : le cas des contaminants microbiens. *CIRAD- FAO*, Montpellier. France. 1-3.
- Sidhu, G.S. (2002).** Mycotoxin genetics and genes clusters. *European Journal of Plant Pathology*, 108: 705-711.
- Stauffer C. E. (1996).** Fats and oils. In : *Molecular Nutrition of Food Research*. Ed. Eagan Press, États-unis, 149p.
- Steyn P.S. (1980),** *The biosynthesis of mycotoxins: a study of secondary metabolism*. Academic Press, INC, Californie, 268 p.
- Steyn, P.S. (1998).** The biosynthesis of mycotoxins. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 149 (6) :469-478
- Tabuc, C. (2007).** *Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines*. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique De Toulouse Et De L'universite De Bucarest, France, 190 p.
- Tahani, N., et Elamrani, A. (2008).** Utilisation des Produits de boulangerie rassis comme aliments pour animaux: Risques et dangers. *Les technologies de laboratoire*, 3(10).
- Tahani, N., Serghini-Caid, H., Ouzouline, M., Elamrani, A. (2008).** Mycologie du blé tendre: qualité technologique du grain et conséquences sur les produits finis. *Reviews in Biology and Biotechnology*, 7(1) : 27-32.
- Tounian P. (2012).** Faut-il avoir peur des sucres chez l'enfant ? *Réalités pédiatriques* , (172) :4.
- Touyarou P. (2011).** *Formulation, caractérisation et validation d'un pain satiétogène*. Thèse de doctorat, Médecine humaine et pathologie. Université de Bourgogne, 157p.

Références bibliographiques

Wang, Y.-j., Nie, J.-y., Yan, Z., Li, Z.-x., Cheng, Y., Farooq, S. (2018). Multi-mycotoxin exposure and risk assessments for Chinese consumption of nuts and dried fruits. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(7): 1676–1690.

Weidenbörner M. (1998). *Lebensmittel-Mykologie*. Ed. B.Behr's Verlag GmbH und Co. Hambourg , allemand, 390 p.

Weidenbörner M., Wieczorek C., Appel S., Kunz B. (2000). Whole wheat and white wheat flour—the mycobiota and potential mycotoxins. *Food Microbiology*, (17) :103-107.

World Mycotoxin Journal, 4(2) : 147-155.

Zebiri, S. (2020). *Evaluation de la contamination du blé et de ses dérivés consommés en Algérie par les champignons ochratoxinogènes et par l'ochratoxine A*. Thèse de doctorat , ENS de Kouba, Alger.

Zhou Z., Robards K., Helliwell S., Blanchard C. (2002). Review Composition and functional properties of rice. *International Journal of Food Science and Technology*. (37):849-868.

Zillinsky, F.J., (1983). *Common diseases of small grain cereals*. A guide to identification. Cimmyt, 141p.

Zuliani V. et Garry P. (2004). Les germes pathogènes dans l'industrie agroalimentaire. *Salles propres*. (31) :12-16.

Annexe

Annexe

Milieux de culture utilisés :

1. Gélose dichloran a 18% (concentration en masse) de glycérol (DG 18) :

1.1.Composition de milieu:

Ingrédients	Quantité
Digestat enzymatique de caséine	5 g
D-Glucose (C ₆ H ₁₂ O ₆)	10 g
Phosphate monopotassique (KH ₂ PO ₄)	1 g
Sulfate de magnésium (MgSO ₄ H ₂ O)	0.5 g
Dichloran (2, 6-dichloro-4-nitro-aniline)	0.002 g
Glycérolanhydre	220 g
Gélose	12a 15 g
Chloramphénicol	0.1 g
Eau distillée ou déionisée	1000mL

1.2.Composition des substances additionnelles au milieu DG18 :

Substances	Quantité
Addition facultative d'antibiotique	
Oxytétracycline	5 ml pour 100 ml de milieu
Addition facultative d'éléments trace	
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	1 g
CuSO ₄ , 5H ₂ O	0.5 g
Eau distillée ou déionisée	100 ml

2. Gélose PDA (Potato Dextrose Agar) :

Ingrédients	Quantité
Pomme de terre	200 g
Dextrose	10 g
Agar	15g
Eau distillée	1000mL

3. Gélose CEA (Coconut Extract Agar):

Ingrédients	Quantité
Noix de coco déchiqueté	100 g
Agar	20 g
Eau distillée chaude	300 mL
Eau distillée	1000 mL

4. Bouillon YES (Yeast Extract Sucrose):

Ingrédients	Quantité
Sucrose	40g
Extrait de levure	20g
Eau distillée	1000mL

المخلص

تُعد الحبوب عنصرًا أساسيًا في النمط الغذائي لدى السكان الجزائريين، ولا سيما القمح اللين، نظرًا للطلب المرتفع على الخبز. وعلى الرغم من انخفاض النشاط المائي لدقيق الخبز، فإن بعض أنواع الفطريات قادرة على النمو في هذه الظروف. ويُعد بعضها قادرًا على إنتاج السموم الفطرية مما قد يؤثر على جودة المنتج، وبالتالي يشكل خطرًا على صحة المستهلك. يهدف هذا العمل إلى: (1) تحديد وتقييم الفلورا الفطرية الموجودة في دقيق الخبز، (2) إبراز القدرة على إنتاج السموم الفطرية لدى العزلات الفطرية، إضافة إلى قدرتها على النمو، (3) وتقييم تركيز الأفلاتوكسين في الدقيق عند استهلاك الخبز الملوّث بالسموم الفطرية. تم جمع ما مجموعه (241) عينة من مواقع مختلفة في غرب الجزائر. تم البحث عن الفطريات على وسط ديكلوران بنسبة 18% من الغليسرول (DG18). وأظهرت نتائج العدّ نسبة تلوث إجمالية بلغت 97,93 %، مع تراكيز تراوحت بين 1 و15 لوغاريتم وحدة تشكيل مستعمرة/غرام. كشف تحديد أجناس الفطريات عن وجود أحد عشر جنسًا، غلب عليها: *Penicillium sp.*، *Cladosporium sp.*، *Mucorales sp.*، *Aspergillus sp.*، وبنسب متوسطة: *Auerobasidium sp.*، *Exophiala sp.*، *Mucor sp.*، *Trichoderma sp.*، *Trichothecium sp.*، وبنسب منخفضة: *Purpureocillium sp.*، *Trichosporon sp.*. قد أظهر جنس *Penicillium sp.* و *Aspergillus sp.* فقط إنتاجًا للسموم الفطرية، أمكن الكشف عنه بصريًا على وسط CEA، وتم تأكيد هذا الإنتاج بواسطة تقنية الكروماتوغرافيا على طبقة رقيقة (CCM) انطلاقًا من مزارع نُميت على وسط YES. أظهر ضبط حركيات النمو على وسط PDA، وجود تباين يعتمد على العزلات الفطرية. كما كشفت قيم زمن الكمون ($\lambda_{25^\circ\text{C}}$) ومعدل النمو ($\mu_{25^\circ\text{C}}$) مجالات تراوحت بين 0.036 و2 يوم، وبين 0.22 و4.112 يوم⁻¹ على التوالي. وأظهرت نتائج المحاكاة أنه خلال فترة التحضير والتخزين في المخازن، لوحظ نمو ملحوظ تجاوز العتبة المحددة لكل جنس (4 log UFC/g) مصحوبًا بتراكيز حرجة من السموم الفطرية، وتطورًا ملحوظًا ($p < 0.001$). فيما يخص إنتاج السموم الفطرية، أظهرت نتائج المحاكاة قيمًا متوسطة من الأفلاتوكسين تبلغ 14.89 ميكروغرام/كغ. وبناءً على ذلك، فإن تقدير المخاطر يُظهر وجود خطر صحي مرتفع، يستدعي اتخاذ إجراءات تصحيحية. تُعد هذه النتائج ذات أهمية صناعية كبيرة، من شأنها الإسهام في تحسين جودة المنتج والحد من المخاطر المرتبطة بالاستهلاك.

الكلمات المفتاحية: دقيق، *Penicillium*، *Aspergillus*، السموم الفطرية، الجزائر

Résumé

Les céréales constituent un élément essentiel du régime alimentaire de la population algérienne, notamment le blé tendre, en raison de la forte demande en pain. En dépit de la faible activité de l'eau de la farine boulangère, certaines moisissures sont capables de se développer dans ces conditions. Certaines sont mycotoxinogènes et peuvent ainsi altérer la qualité du produit, et par conséquent, compromettre la santé du consommateur. L'objectif de ce travail était : (1) de déterminer et d'évaluer la flore fongique présente dans les farines boulangères ; (2) de mettre en évidence leur pouvoir mycotoxinogène, ainsi que leur capacité de croissance ; et (3) d'évaluer la concentration d'aflatoxine dans la farine au moment de la consommation du pain contaminé par des mycotoxines. Au total, 241 échantillons ont été collectés dans différents sites de l'ouest algérien. La recherche des moisissures a été réalisée sur milieu Dichloran à 18% de glycérine (DG18). Les résultats de dénombrement ont montré un taux de contamination global de 97,93 %, avec des concentrations (UFC/g) comprises entre 1 et 15 log UFC/g. L'identification des genres fongiques a révélé la présence de onze (11) genres de moisissures, avec une dominance de *Penicillium sp.* Suivie de *Cladosporium sp.*, *Mucorales sp.* et *Aspergillus sp.* en fréquence moyenne : *Aureobasidium sp.*, *Exophiala sp.*, *Mucor sp.*, *Trichothecium sp.*, *Trichoderma sp.* en fréquence faible : *Purpureocillium sp.*, *Trichosporon sp.* Seuls les genres *Penicillium sp.* et *Aspergillus sp.* ont présenté une production de mycotoxines détectable visuellement sur milieu CEA. Cette production a été confirmée par la méthode de la chromatographie sur couche mince (CCM) à partir de cultures réalisées sur milieu YES. L'ajustement des cinétiques de croissance, sur milieu PDA, montre une variabilité dépendant de l'isolat de moisissure. Les temps de latence ($\lambda_{25^\circ\text{C}}$) et le taux de croissance ($\mu_{25^\circ\text{C}}$) montrent une moyenne de 0,036 à 2 jours et 0,22 à 4,112 jours⁻¹ respectivement. La simulation montre que pendant la période de préparation et de stockage en boulangerie, une croissance remarquable dépassant le seuil (4 log UFC/g) pour chaque genre, avec des concentrations en mycotoxines critiques, et d'une évolution statistiquement significative ($p < 0,001$). Quant à la production de mycotoxine, les résultats de la simulation montrent des valeurs moyennes d'aflatoxine (14,89 µg/kg). A cet effet, l'estimation du risque montre un risque sanitaire élevé, nécessite des actions correctives. Ces résultats sont d'une grande importance industrielle pour améliorer la qualité du produit, et réduire les risques liés la consommation.

Mots-clés : Farine, *Penicillium*, *Aspergillus*, Mycotoxines, Algérie

Abstract

Cereals constitute an essential component of the Algerian population diet, particularly soft wheat, due to the high demand for bread. Despite the lowest water activity in bakery flour, certain molds are able to grow under such conditions. Some of these molds are mycotoxinogenic and may therefore alter product quality and, consequently, compromise consumer health. The objectives of this study were: (1) to determine and evaluate the fungal flora present in bakery flours; (2) to highlight their mycotoxinogenic potential, as well as their growth capacity; and (3) to assess the aflatoxin concentration in flour at the time of consumption of bread contaminated with mycotoxins. A total of 241 samples were collected from different locations in western Algeria. Mold isolation was carried out on Dichloran medium with 18% glycerol (DG18). Mold counts showed an overall contamination rate of 97.93%, with a concentration (cfu/g) ranging from 1 to 15 log cfu/g. Fungal identification revealed the presence of eleven mold genera. With a dominance of: *Penicillium sp.*, *Cladosporium sp.*, *Mucorales sp.*, and *Aspergillus sp.* At a medium frequency: *Auerobasidium sp.*, *Exophiala sp.*, *Mucor sp.*, *Trichothecium sp.*, and *Trichoderma sp.* At a low frequency: *Purpureocillium sp.* and *Trichosporon sp.* Only the genera *Penicillium sp.* and *Aspergillus sp.* exhibited visually detectable mycotoxin production on CEA medium. This production was confirmed by thin-layer chromatography (TLC) using cultures grown on YES medium. The adjustment of growth kinetics on PDA medium showed isolate-dependent variability. Latency times ($\lambda_{25^\circ\text{C}}$) and growth rates ($\mu_{25^\circ\text{C}}$) ranged from 0.036 to 2 days and from 0.22 to 4.112 day⁻¹, respectively. Simulation results indicated that during the preparation and storage period in bakeries, significant mold growth exceeding the threshold (4 log cfu/g) was observed for all genera, accompanied by critical mycotoxin concentrations, and a significant evolution ($p < 0.001$). Regarding mycotoxin production, simulation results showed mean aflatoxin levels of 14.89 µg/kg. Consequently, risk assessment indicated a high sanitary risk, requiring corrective actions. These findings are of great industrial importance for improving product quality and reducing risks associated with consumption.

Keywords: Flour, *Penicillium*, *Aspergillus*, Mycotoxins, Algeria