

République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Amar Thélidji Laghouat

جامعة عمار ثليجي بالأغواط

FACULTE DES SCIENCES

كلية العلوم

DEPARTEMENT: Biologie

قسم البيولوجيا



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine: Science de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie appliquée

THEME

Etude mycologique du café vert commercialisé

Dans la wilaya de Laghouat

Présenté par :

Mlle. Bouhamla Ibtissam, **Mlle.** Benbrika Sara et **Mlle.** Merghoub Amina

Devant le jury :

Président: Chaibi Rachid

MCA Université Amar Thlédji-Laghouat

Examineur : BENACEUR Farouk

MCA Université Amar Thlédji-Laghouat

Rapporteur: CHETATHA Mohamed

MAA Université Amar Thlédji-Laghouat

Soutenu publiquement le : 22 .09.2020



Dedicace

Nous dédicaçons ce modeste travail et notre gratitude :

**A celles qui nous ont arrosé de tendresses et d'espoirs, à la source d'amour
incessable à la mère des fragiles qui nous ont binies par leurs prièresnos mères .**

**à nos support dans la vie , qui nous appris ,nous supporté et nous dirigé vers
la gloirenous père**

à nos chères frères et soueurs

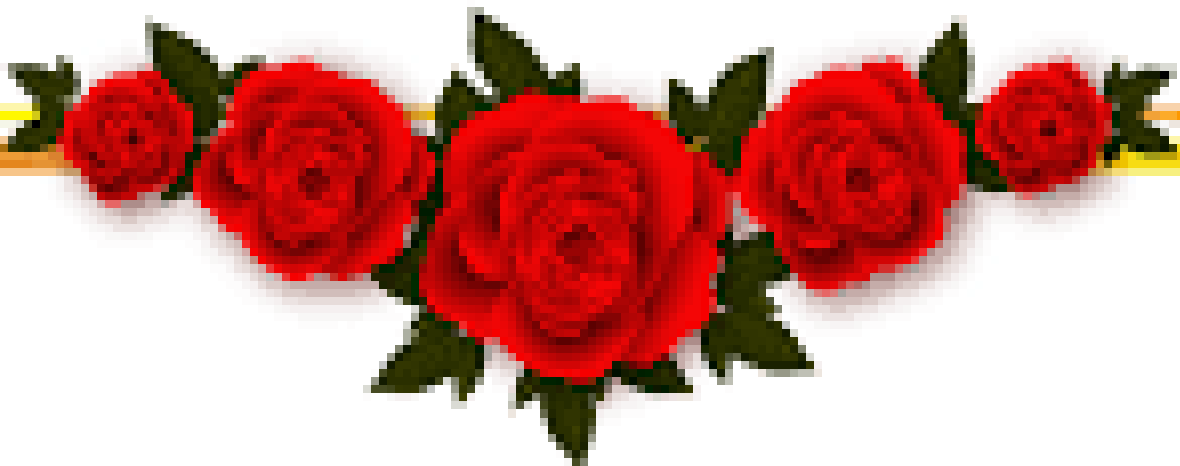
à toutes les personnes de nos grandes famille : Bouhamla.Benbrika.Merghoub.

Serifih

à mes meilleurs amies Fadhila ,Kheira , Hanane, Atallah.Ismail.

à tousles étudiants de biologies master promos 2019_2020

Ibtissam * Sara * Amina



Remerciement

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, dénués avoir donné la force, le courage, la patience et les moyens. Affin de. Pouvoir accomplir ce modeste travail.

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de biologie, faculté des sciences, Université Ammar Thelidji Laghouat

Nous tenons à remercier vivement tous ce qui de près ou loin ont participé à la réalisation de ce travail. Il s'agit particulièrement de

Mr.Chetatha Mohammed enseignant à l'Université Ammar Thelidji .Laghouat. Celui qui est l'encadreur de ce mémoire .Nous le remercier pour sa disponibilité, ses pertinents conseils, ses orientations et ses efforts ; ainsi pour son soutien moral et scientifique qui nous a permis de mener à terme ce projet.

Nous tenons remercie aussi au membre du jury, pour avoir accepté l'examinassions et l discussion de notre travail.



Résumé:

L'être humain est exposé à de nombreuses maladies dans sa vie, qui peuvent être dues à la consommation d'aliments contaminés par des moisissures qui produisent des mycotoxines. Le café est considéré comme l'un des produits agricoles les plus importants et la deuxième substance vendue sur le marché mondial après le pétrole. De plus, et surtout, c'est la deuxième boisson qu'une personne boit après l'eau, et parmi les céréales les plus susceptibles d'être contaminées par des moisissures filamenteuses, où le but de notre étude est de détecter la présence du genre de champignons pouvant exister chez six variétés du café vert commercialisé à Laghouat, Arabica (Brésilien et Ivoirien) et Canephora (Indonésien. Vietnamien I. Vietnamien II. Ivoirien). Lorsque le genre de champignons *Aspergillus* a été déterminé à l'aide des méthodes d'isolement suivantes: la méthode du papier buvard et la méthode d'Ulster, et après l'étude en laboratoire, les résultats ont montré que l'espèce *Aspergillus* était la plus courante, suivie de *Penicillium*, qui sont deux des moisissures les plus importantes produisant de l'ochratoxine A et de l'aflatoxine B.

Les espèces identifiées sont : *A.flavus*, *A.paraciticus*, *A.ochraceus*, *A.terreus*, *A.niger*.

Mot clés : Mycotoxicose, Ochratoxine A, Aflatoxine B₁, Café vert (Arabica et Robusta), *Aspergillus*.

ملخص

يتعرض الإنسان للعديد من الأمراض في حياته والتي يمكن أن تكون بسبب تناول أغذية ملوثة بالعفنيات المنتجة للسموم الفطرية. يعتبر البن من أبرز المنتجات الزراعية وثاني مادة تباع في السوق و التجارة العالمية بعد البترول، بالإضافة إلى ذلك والاهم انه ثاني مشروب يتناوله الإنسان بعد الماء ومن الحبوب الأكثر عرضة للتلوث بالعفنيات الخيطية، حيث الهدف من دراستنا هو الكشف عن تواجد جنس الفطريات التي يمكن أن تتواجد في ستة أنواع من البن الأخضر المتداولة في مدينة الاغواط. الارابيك(البرازيلية ورأس العاج) و الكانيفورا(الاندونيسية. الفيتنامية.I. الفيتنامية.II. رأس العاج). حيث تم تحديد جنس العفنيات من نوع *Aspergillus* باستخدام طرق العزل التالية: طريقة ورق النشاف و طريقة Ulster. من بعد الدراسة المخبرية أظهرت النتائج أن نوع *Aspergillus* هو الأكثر تواجدا ويليه *Penicillium*، هما من أهم العفنيات المنتجة للسموم الفطرية: الاوكراتوكسين A و الافلاتوكسين B. الانواع التي تم تحديدها هي:

Aspergillus flavus, *Aspergillus paraciticus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus terreus*,
Aspergillus niger.

الكلمات المفتاحية: التسمم الفطري, الاوكراتوكسين, A, الافلاتوكسين, B, البن الاخضر (الارابيك و كانيفورا). فطر الرشاشيات,

Abstract:

A persons exposed to many diseases in his life, which may be due to eating food contaminated with molds that produce mycotoxins. Coffee is considered one of the most prominent agricultural products and the second substance sold in the global trade market after petroleum. In addition, and most importantly, it is the second drink that a person drinks after water, and from the grains most susceptible to contamination with filament ousmolds, where the aim of our study is to detect the presence of the fungi genus that can exist in six species Of the green coffee traded

In Laghouat, Arabica (Brazilian and Ivorian) and Canephora (Indonesian, VietnameseI, VietnameseII, Ivorian). Where the genus of *Aspergillus* fungi was determine dusing the following isolation methods: The blotting paper method and the Ulster method, and after the

laboratory study, the results showed that the *Aspergillus* species was the most common, followed by *Penicillium*, which are two of the most important molds producing Ochratoxin A and Aflatoxin B.

.The species found are: *A.flavus*, *A.paraciticus*, *A.ochraceus*, *A.terreus*, *A.niger*.

Keywords: Mycotoxinos, Ochratoxine A, Aflatoxin B₁, Green coffee Arabica and Robusta, *Aspergillus*, *Penicillium*.

Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Sommaire	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1

Partie bibliographique

Chapitre I : Mycoflore toxigène

I-Mycoflore	3
I-1-Facteurs environnementaux qui influencent l'activité fongique dans un écosystème.....	3
I-1-1Facteurs intrinsèques.....	3
I-1-2-Facteurs extrinsèques.....	3
I-2-Le mode de vie d'un hyphe.....	5
I-3-Les moisissures.....	6
I-4-Reproduction des spores.....	10
I-4-1- La reproduction sexuée.....	10
I-4-2- La reproduction asexuée.....	10
I-5-Contamination de céréales.....	11
I-6-Effet des moisissures sur la santé humaine.....	11
II-Mycotoxine.....	13
II-1- Définition.....	13
II-2-Propriétés de mycotoxines.....	13
II-3-Les.mycotoxicoses.....	13

II-4-Les différents types de mycotoxines.....	14
II-4-1-L'ochratoxines.....	14
II-4-1-1-L'ochratoxine A.....	15
II-4-1-2-Structure chimique.....	15
II-4-1-3-Propriétés physico-chimique de l'ochratoxine A.....	16
II-4-1-4-Biosynthèse de l'ochratoxine.....	17
II-4-1-5-L'effet de l'Ochratoxine A sur la sante.....	18
II-4-2-Les aflatoxines.....	18
II-4-2-1-Structure.....	18
4-2-2-Propriétés physico-chimiques.....	21

Chapitre II : Le café.

I-Histoire du café.....	23
II-Généralité sur le café.....	23
III-Ecologie du café.....	24
IV-Classification du café et botanique.....	25
V-Systématique des caféiers.....	27
VI-Classification.....	27
VII-Constituants d'une cerise de café.....	28
VIII-Composition du café.....	29
IX-Traitement du café vert.....	32
X-Le marché de café.....	34
XI-Les principes pays exportateurs du café.....	34
XI-La production mondiale du café vert.....	35
XII-La consommation de café.....	36

Partie expérimentale

I-Matériel et méthodes

I-Choix de la région.....	38
II-Echantillonnage.....	38
III- Prélèvement.....	39
IV-Etude de la mycoflore.....	39
V- Purification des moisissures.....	41
VI-Identification des moisissures.....	41

II-Résultat :

I-Analyses mycologique.....	45
II-Identification du genre <i>Aspergillus</i> et genre <i>Penicillium</i>	50

Discussion.....	52
------------------------	-----------

Conclusion.....	55
------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations :

AFB₁: Aflatoxine B1.

AW: Activité water.

AFPA : *Aspergillus flavus-parasiticus* agar.

PDA : Potatoes Dextrose agar.

PH : Potentiel hydrogène.

UV: Ultrat violet.

db: Dry basis.

OTA: ochratoxine A.

OTB: ochratoxine B.

OTC: ochratoxine C.

ATP: Adenosine triphosphate.

A.E.E : Arabica Echantillon Essai.

AIII.E.E : Arabica Ivoirienne Echantillon Essai.

R III.E.E : Robusta Ivoirienne Echantillon Essai.

RI.E.E : Robusta Vietnamiennne 1 Echantillon Essai.

R I.E.E : Robusta Vietnamiennne2 Echantillon Essai.

RII.E.E : Robusta Indonésienne Echantillon Essai.

Liste des figures :

Figure 1.1: Schéma d'une unité modulaire hyphale.....	6
Figure 1.2: Caractères morphologiques des <i>Aspergillus</i>	7
Figure 1.3: Développement d' <i>Aspergillus Niger</i> suivi par microscopie électronique à balayage.....	8
Figure 1.4: Caractères morphologiques des <i>Penicillium</i> (a) Pinceau monoverticillé (b) biverticillé (c) biverticillé fourchu (furcatum) (d) triverticillé.....	9
Figure 1.5: Caractères morphologiques des <i>Fusarium</i>	10
Figure 1.6: Schéma récapitulatif des deux modes de reproduction chez les Ascomycètes.....	11
Figure 1.7: Structure chimique générale de l'Ochratoxine.....	15
Figure 1.8: Structure chimique de l'OTA.....	16
Figure 1.9: Schéma de synthèse de l'OTA.....	17
Figure1.10: Structure générale des Aflatoxines.....	19
Figure 2.1: Un exemple de caféier. A : (<i>Coffea Arabica</i>). B : le caféier <i>Canephora Robusta</i> , Cote- d'Ivoire.....	24
Figure 2.2: branche du café.....	25
Figure2.3: Fleurs de caféier.....	26
Figure 2.4: Les fruits de caféier.....	26
Figure 2.5: Coupe d'une cerise de café.....	28
Figure 2.6: Structure de la caféine.....	31
Figure 2.7 : La méthode sèche	32
Figure 2.8 : La méthode humide.....	33
Figure 2.9: Les principes exportateurs du café «sac de 60 Kg».....	34
Figure 2.10: régions géographiques (cercles colorés) les payes productrices de café vert.....	35
Figure 2.11: Les principaux producteurs de café «sac de 60 Kg».....	35
Figure 2.12 : Les principaux consommateurs du café «sac de 60 Kg».....	36
Figure 3.1: Méthode direct de buvard.....	40
Figure 3.2: Méthode direct d'Ulster.....	40
Figure 3.3: Technique de micro culture.....	42

Figure 3.4 : Méthode de touche centrale sur milieu AFPA.....	43
Figure4.1: Taux de contamination révélé pour chaque méthode d'isolement utilisée.....	45
Figure4.2: Taux de contamination de chaque variété de café.....	46
Figure 4.3: Abondance des espèces fongiques isolées de la variété Arabica Ivoirienne.....	46
Figure4.4: Abondance des espèces fongiques isolées de la variété Arabica Brésilienne.....	47
Figure4.5: Abondance des espèces fongiques isolées de la variété Robusta Ivoirienne.....	47
Figure4.6: Abondance des espèces fongiques isolées de la variété Robusta Vietnamiennne 1....	48
Figure 4.7: Abondance des espèces fongiques isolées de la variété Robusta Indonésienne.....	49
Figure 4.8: Abondance des espèces fongiques isolées de la variété Robusta Vietnamiennne2.....	49
Figure 4.9: Observation microscopique de genre <i>Aspergillus</i> par microscope optique (Gr x20).....	50
Figure 4.10: Observation microscopique de genre <i>Penicillium</i> par microscope optique (Gr x20).....	50
Figure 4.11: Espèce du genre <i>Aspergillus flavus</i> sur millieu AFPA.....	50

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Aw minimum et maximum des espèces <i>d'Aspergillus</i> et de <i>Penicillium</i>	4
Tableau 2: Températures de croissance de quelques espèces d' <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> et <i>Fusarium</i>	5
Tableau 3 : Toxines sécrétées par les principaux genres de moisissures.....	7
Tableau 4: Les principales Aflatoxines.....	20
Tableau 5 : La composition chimique moyenne des grains de café verts et Torréfiés.....	29
Tableau 6 : Les importations de café vert au cours de la décennie 1995-2004.....	38
Tableau 7 : Echantillons prélevé.....	39

Introduction

Introduction:

Depuis que l'Homme s'est sédentarisé et intéressé à la qualité des aliments et à l'agriculture, le nombre de pathologies liées à l'alimentation s'est multiplié.

Les premières épidémies de mycotoxicoses ont été décrites durant l'Antiquité et s'apparentaient à l'ergotisme, plus tard nommé «Feu de Saint Antoine» ou «Mal des Ardents». Il était à l'origine d'épidémies importantes qui sévissaient à travers le Vieux Continent au cours du Moyen Âge, faisant des centaines de milliers de victimes. **(Alban Gauthier ., 2016).**

Les moisissures sont responsables de la détérioration des aliments, production de mycotoxines et dans certains cas bioconversions souhaitables. Il est donc important de disposer de méthodes fiables et pratiques pour mesurer la croissance fongique. Cependant, la croissance des champignons n'est pas facile à quantifier car, contrairement aux bactéries et aux levures, les champignons ne se développent pas en tant que cellules individuelles, mais en tant que filaments hyphales qui ne peuvent pas être quantifiés par les techniques de dénombrement habituelles. Extraction difficile. De plus, les champignons se différencient en produisant des spores. **(Hocking, Samson and Thrane ., 2006).**

De nos jours, les mycotoxines sont présentes dans tout un ensemble de produits alimentaires. Leur contact peut donner lieu à des intoxications aiguës ou chroniques, ces dernières étant plus fréquentes. Cancérogénèse, immunotoxicité, néphrotoxicité, hépatotoxicité et neurotoxicité forment la palette des effets néfastes des toxines fongiques.

le café est l'une des principales denrée alimentaire d'origine agricole échangée sur les marchés internationaux, et le deuxième bien de consommation échangé dans le monde, derrière le pétrole et avant le charbon, la viande, le blé et même le sucre. **(Khalid., 2010).**

L'Algérie ne produit pas de café vert, mais en consomme car le café constitue la boisson populaire du pays **(anonyme b ., 2004).**

Ce travail a pour but de décrire et d'étudier la flore fongique dans le café vert ainsi que leur impact sur la santé humaine.

Donc, Les questions posées :

Est-ce que le café commercialisé en Algérie est contaminé par les moisissures ?

Est-ce que cette mycoflore est toxigène ?

On s'intéresse aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* qui peuvent être trouvées colonisant les grains stockés. Cette flore fongique responsable de la production des mycotoxines tel que l'ochratoxine A et l'aflatoxine B1 (**Dilip .Arora., 2004**).

Pour répondre à questions proposées nous avons divisé notre travail en 2 parties :

La première partie est incluse à une revue bibliographique divisée en deux chapitres, un sur mycoflore toxigène et l'autre sur le café.

La deuxième partie est incluse matériels et méthodes utilisées.

Chapitre I:

Mycoflore toxinoène

I-Mycoflore:

Le nombre d'espèces fongiques qui peuvent être trouvées colonisant les grains stockés est très large. Ceux-ci représentent un nombre élevé de genres et comprennent des espèces mésophiles, thermophiles, xérophiles et hydrophiles. Les plus caractéristiques de celles-ci sont les espèces appartenant au genre *Aspergillus* et *Penicillium*. De plus, il est possible de trouver des espèces d'*Eurotium*, de *Fusarium*, de *Rhizopus* et des *thermophiles* comme *Talaromyces thermophilus*, *Rhizomucor pusillus* et *Thermomyces lanuginosus*. Toutes ces espèces sont répandues dans leur présence à travers le monde et couvrent la quasi-totalité des conditions environnementales susceptibles de se retrouver dans les céréales stockées. (**Dilip K. Arora., 2004**).

I-1-Facteurs environnementaux qui influencent l'activité fongique dans un écosystème :

Les communautés fongiques et leurs populations peuvent être grandement affectées par un certain nombre de facteurs. (**Bennett., 2005**).

I-1-1Facteurs intrinsèques :

La diversité des espèces fongiques et caractère morphologique et génétique dans leur place écologique, elles contrôlent de la production de différentes quantités et types de mycotoxine (**Lacey. J ; 1986**).

Il y a deux groupe principaux pour classés les champignons toxigènes :

Les champignons de champs qui contaminent les produits agricoles avant et pendant la récolte (par exemple *Fusarium*).

Les champignons de stockage (par exemple *Pinicilium*). (**Christensen. C.M; 1974**).

I-1-2-Facteurs extrinsèques :

I-1-2-1-Activité en eau (Aw) :

La plupart des moisissures se développent bien pour des activités en eau voisines de 0,85. Les genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont généralement capables se développer à des Aw voisines de 0,7 à 25°C ; elles peuvent donc se développer dans les aliments pauvres en eau comme les céréales au cours de stockage.(**Castegnaro, Pfohl-Leszkowicz, 2002**). Par

comparaison, les *Fusarium* ne peuvent pas se développer que pour des A_w supérieurs à 0,9. (Castegnaro, Pfohl-Leszkowicz, 2002).

Champignons	A_w minimum	A_w maximum
<i>Aspergillus niger</i>	0,90	0,98
<i>Aspergillus japonicus</i>	0,98	0,98
<i>Aspergillus flavus</i>	0,84	0,99
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0,83	0,87
<i>Aspergillus parasiticus</i>	0,82	0,98
<i>Penicillium viridicatum</i>	0,83	0,86
<i>Penicillium cyclopium</i>	0,82	0,86

Tableau 1 : A_w minimum et maximum des espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium*. (Pitt J.I, Hocking A.D., 1985).

I-1-2-2-pH :

Les micromycètes peuvent se développer dans une large gamme de pH ; elles se développent normalement pour des pH compris entre 3 et 8, leur croissance étant normalement optimale entre 5 et 6. En raison de leur acidité ($pH < 6$). La croissance de champignon était maximale à un $pH=5,6$ (Keller et al., 1997).

I-1-2-3-Présence d'oxygène :

Les champignons sont des microorganismes aérobies ; ils ont besoin d'oxygène pour une croissance normale. Toutefois, leur développement est peu affecté par des teneurs de 10 fois plus faibles (2,1%) que celle de l'atmosphère. (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

I-1-2-4-Température :

Les moisissures sont généralement mésophiles : la croissance des hyphes est optimale à 20-25°C. En dehors de cet intervalle de température les hyphes se développent plus lentement. Les spores de moisissures mésophiles ne peuvent pas germer à une température inférieure à 5°C, mais elles peuvent résister longtemps aux basses températures allant jusqu'à -20°C. (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

Champignons	Tmin	Topt	Tmax
<i>Aspergillus flavus</i>	15	35	44
<i>Aspergillus clavatus</i>	10	25	37
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	8	24	28
<i>Penicillium purpurogenum</i>	12	28	35
<i>Fusarium tricinctum</i>	5	25	35

Tableau 2: Températures de croissance de quelques espèces d'*Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. (Pfohl-Leszkowicz A., 1999).

I-1-2-5-Interactions microbiennes :

La présence simultanée de plusieurs espèces de microorganismes dans le même milieu détermine des interactions entre les différentes espèces. La synthèse des substances toxiques (mycotoxines) et leur accumulation dans le milieu peut aussi avoir un effet inhibiteur sur le développement d'autres espèces (Pfohl-Leszkowicz, 2001).

I-2-Le mode de vie d'un hyphe :

Les champignons sont composés de structures microscopiques en forme de tube appelées hyphes (hyphes singuliers). L'hyphe a la forme d'un tube cylindrique de diamètre régulier avec une pointe effilée qui se ramifie en deux points, chaque branche ayant une pointe qui lui est propre. Un système rayonnant d'hyphes appelé mycélium est formé. À certains endroits, les hyphes deviennent interconnectés par des excroissances latérales courtes, amenant le mycélium entier dans une continuité protoplasmique. Le mycélium se propage et pénètre dans le substrat, sécrétant des enzymes digestives qui décomposent les constituants polymères du substrat et absorbant le carbone et l'azote solubilisés et les composés du phosphore, du potassium et du soufre pour sa croissance.

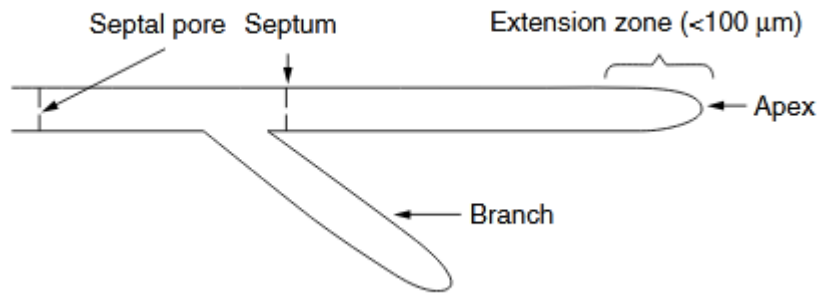


Figure 1.1 : schéma d'une unité modulaire hyphale. (RameshMaheshwari., 2005).

I-3-Les moisissures :

Le mot moisissure est un terme générique qui regroupe tous les champignons microscopiques d'aspect lévuriforme ou filamenteux (micromycètes). Ce sont des champignons ubiquistes à croissance filamenteuse. Par ailleurs, ils sont saprophytes (plus rarement parasites), c'est-à-dire qu'ils vivent aux dépens de matières organiques en décomposition en y implantant leur mycélium, qui émet alors des filaments porteurs de spores, les unités de dissémination. Ces spores sont issues d'un mécanisme de reproduction sexuée ou asexuée. (Bouchet P, Guignard J-L, Pouchus Y-V., 2005).

Les genres les plus importants sont : les *Aspergillus*, les *Penicillium* et les *Fusarium*. (Raper et Fennell., 1965).

Micromycètes	Toxines
<i>Aspergillus</i>	Aflatoxines, Ochratoxine A Stérigmatocystine
<i>Fusarium</i>	Trichothécènes, Zéaralénone Fumonisines, Fusarine Moniliformine
<i>Penicillium</i>	Citrinine, Patuline, Pénitrem A Acide cyclopiazonique Ochratoxine A
<i>Alternaria</i>	Acide ténuazonique Alternariol

Tableau 3 : Toxines sécrétées par les principaux genres de moisissures. (Pfohl-Leszkowicz A., 1999).

I-3-1-Le genre *Aspergillus* :

La première description d'*Aspergillus* remonte à 1729. Pier Antonio Michel (1679-1737) a décrit *Aspergillus* comme l'un des 1400 nouveaux genres de plantes. (Badillet et al., 1987 ; Morin, 1994).

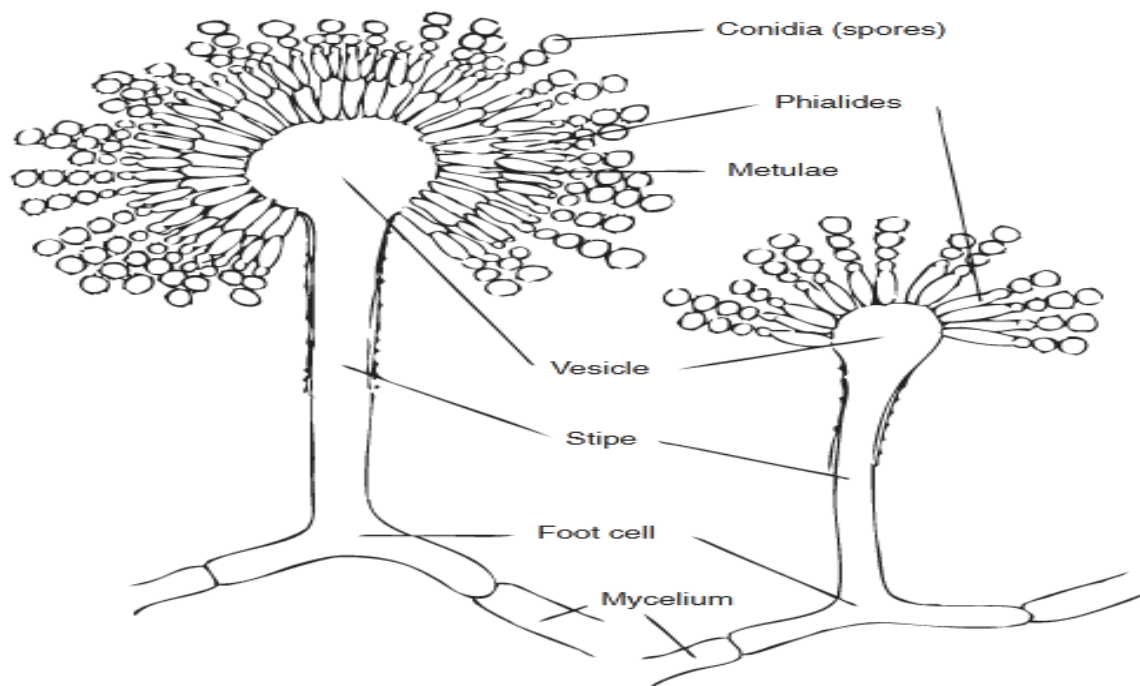


Figure 1.2: Caractères morphologiques des *Aspergillus*. (John F. Leslie et Antonio F. Logrieco., 2014).

Aspergillus est un genre anamorphe, qui comprend entre 260 et 837 espèces. Ces espèces sont classées dans environ dix genres téléomorphes différents. Les espèces d'*Aspergillus* sont parmi les champignons les plus abondants dans le monde. Ils ne sont pas très sélectifs vis-à-vis des conditions de croissance abiotiques. Par exemple, ils peuvent se développer sur une large plage de températures (6–55 °C) et à une humidité relativement faible. Cette revue décrit la compréhension actuelle du développement des *Aspergillus*. La germination des spores, la formation d'un mycélium végétatif différencié et la formation de spores asexuées et sexuelles sont discutées.

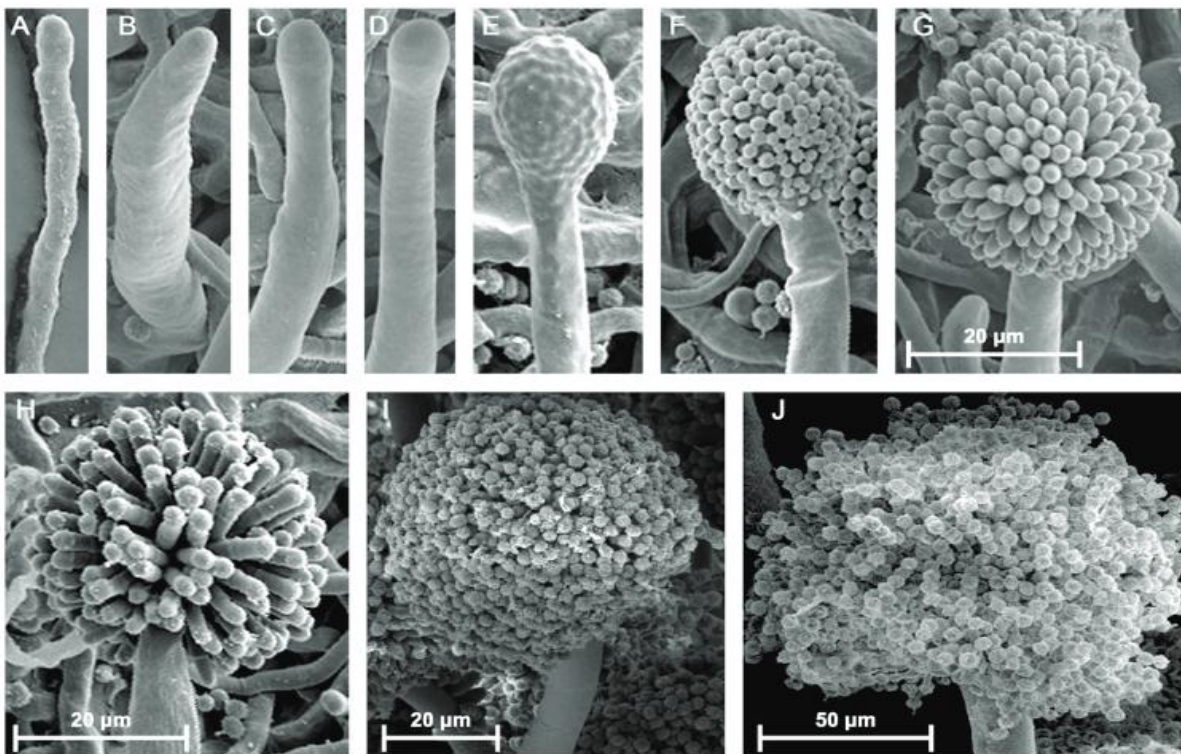


Figure 1.3 : Développement d'*Aspergillus Niger* suivi par microscopie électronique à balayage. (Jan Dijksterhuis et Han Wösten., 2013).

Le mycélium végétatif forme deux types d'hyphes aériens. Un type est similaire aux hyphes végétatifs (A), tandis que l'autre type est 2 à 3 fois plus épaisses (B). Les extrémités de ces derniers hyphes aériens peuvent gonfler pour former une vésicule (C, D). Des bourgeons se forment sur la vésicule (E) qui se transforment en métules (F, G). Des phialides se forment au sommet des métules (H), qui donnent naissance à des chaînes de conidies (I, J). La barre en G est également valable pour A – F. (JanDijksterhuis et Han Wösten., 2013).

I-3-2-Le genre *Penicillium* :

Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des *Ascomycètes*. Ils sont caractérisés par un filament dressé, le stipe, qui porte des cellules conidiogènes (phialides), formant des conidies en chaînes. Entre les phialides et les stipes peuvent s'intercaler des éléments intermédiaires qui rendent l'organisation du pinceau plus complexe.

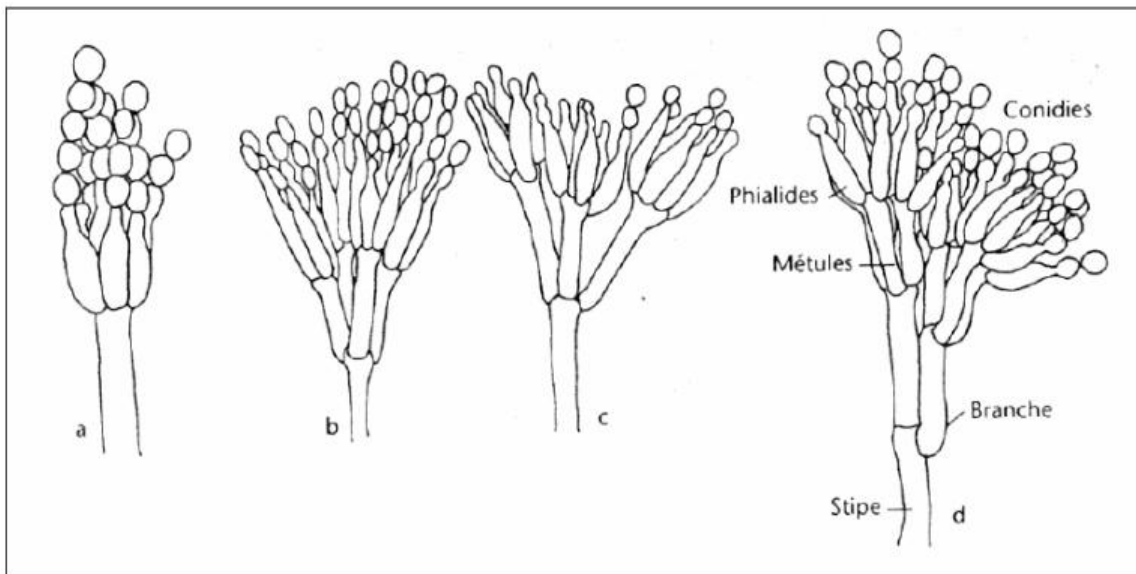


Figure 1.4 : Caractères morphologiques des *Penicillium* (a) Pinceau monoverticillé (b) biverticillé (c) biverticillé fourchu (furcatum) (d) triverticillé. (Botton et al., 1990).

I-4-3-Le genre *Fusarium* :

Ce genre comprend près de 40 espèces souvent largement répandues (Nelson et al., 1983). Certaines espèces (*Fusarium solani* et *Fusarium verticilloides*). Ils parasitent de nombreuses variétés de plantes, en particulier des céréales. Du thalle végétatif naissent des conidiophores, simples ou ramifiés, portant les cellules conidiogènes ou phialides. (Roquebert., 1998).

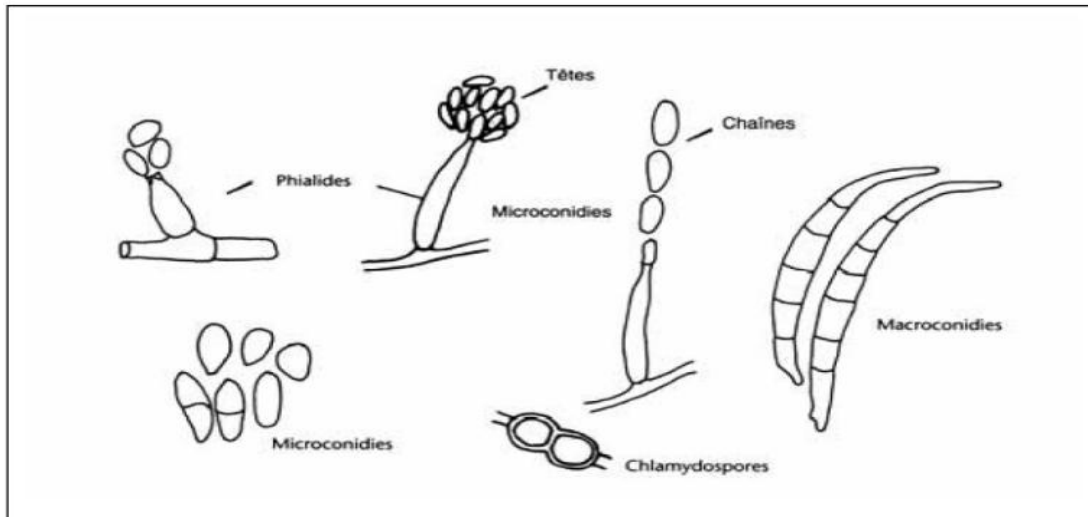


Figure 1.5: Caractères morphologiques des *Fusarium*. (Guarro et Gene, 1992).

I-4-Reproduction des spores :

Deux types de processus peuvent être à l'origine de la production des spores :

I-4-1-La reproduction sexuée:

Les gamètes mâles et femelles sont produits par des organes différenciés et spécialisés, appelés gamétocystes. Il y a par la suite fusion des gamètes, par caryogamie, permettant l'obtention d'une cellule œuf diploïde contenant un nombre pair de chromosomes. Ce zygote va se diviser par méiose et donner des spores haploïdes, ne possédant qu'un seul exemplaire de chromosomes. Elle concerne les champignons téléomorphes, ou formes parfaites. (Bouchet P, Guignard J-L, Pouchus Y-V., 2005).

I-4-2-La reproduction asexuée :

Le noyau des spores est issu directement du noyau du thalle par simple mitose. Les cellules obtenues sont identiques aux cellules-mères haploïdes. Par conséquent, tous les thalles engendrés sont des clones du thalle parent. Ce type de reproduction concerne les formes imparfaites, ou anamorphes.

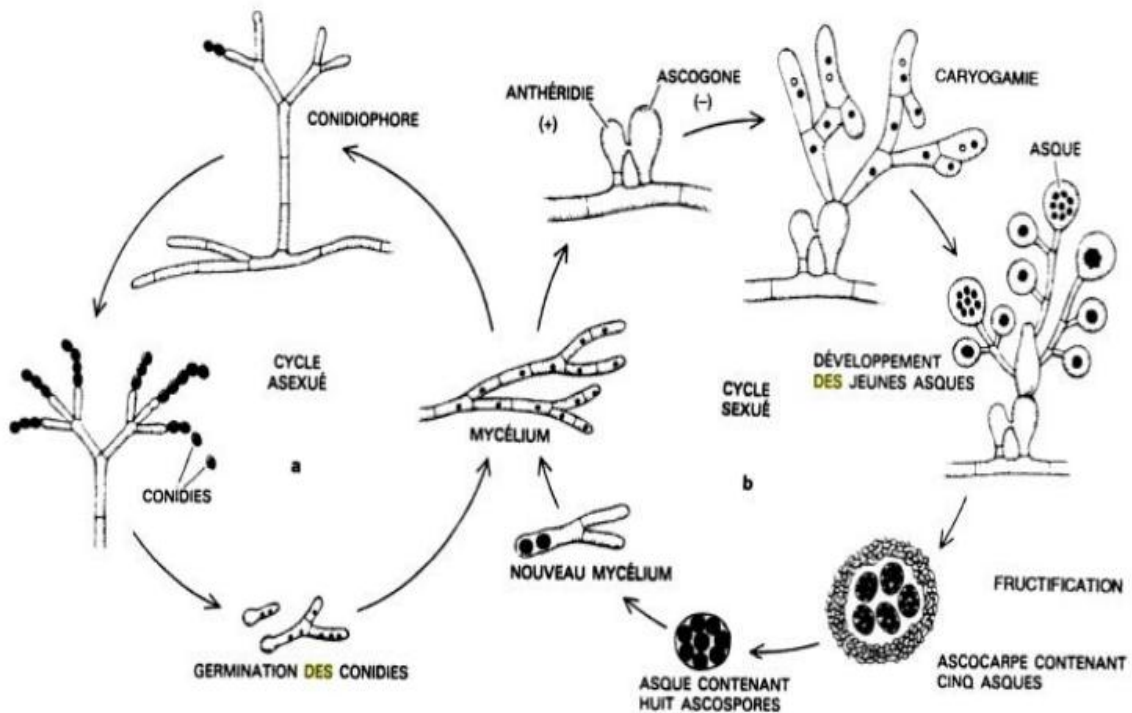


Figure 1.6: Schéma récapitulatif des deux modes de reproduction chez les Ascomycètes.

(Meyer A, Deiana J, Bernard A., 2004).

Ces champignons, possédant à la fois le mode de reproduction sexuée et asexuée, sont désignés sous le terme de holomorphes. (Campbell C.K, Johnson E.M, Philpot C.M. et al., 1996).

I-5-Contamination de céréales :

Les moisissures sont des microorganismes ubiquistes qui peuvent se développer sur une grande variété de substrats. Les espèces de moisissures les plus fréquentes retrouvées dans les aliments appartiennent aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Si de très nombreuses études sont disponibles concernant la contamination mycotoxique des céréales, les enquêtes sur la contamination fongique de ces matières premières sont plus rares. De manière schématique, elles mettent en évidence une relation entre la flore fongique et les conditions climatiques pendant le développement et/ou le stockage des grains. (Medina et al., 2006).

I-6-Effet des moisissures sur la santé humaine :

Les effets allergisants, toxiques et infectieux des moisissures sur la santé humaine. Les symptômes les plus couramment associés à une exposition fongique sont des maladies

respiratoires et des réactions allergiques. Les moisissures produisent des protéines allergisantes pouvant représenter un facteur d'activation, voire même d'aggravation de l'allergie. Les genres allergisants les plus fréquents sont *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium* et *Aspergillus*. Les réactions immuno-allergiques peuvent prendre la forme de rhinites, d'asthmes, voire de pneumopathies d'hypersensibilité. De nombreuses moisissures sont productrices de plus de 300 mycotoxines pouvant avoir des effets toxiques. (**G. Reboux et al., 2010**).

II-Mycotoxine :

II-1-Définition :

Le terme mycotoxine vient du mot grec (myco) qui signifie champignon et (toxine) qui signifie poison. (Yiannikouris et al. ,2002).

Les mycotoxines sont des substances toxiques issues du métabolisme secondaire de certaines espèces fongiques. Elles peuvent également être définies comme des métabolites produits après l'arrêt de la réduction des groupes cétoniques pendant la biosynthèse des acides gras chez les moisissures (Gimeno, 2000).

Douées de potentialités toxiques à l'égard de l'homme et des animaux. Plus de 300 métabolites secondaires ont été identifiés mais seule une trentaine possède de réelles propriétés toxiques préoccupantes. Ces toxines se retrouvent à l'état de contaminants naturels de nombreuses denrées d'origine végétale, notamment les céréales mais aussi les fruits, noix, amandes, grains, fourrages ainsi que les aliments composés et manufacturés issus de ces filières destinés à l'alimentation humaine et animale. Les mycotoxines sont produites par des moisissures appartenant notamment aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. (Afssa.2006).

II-2-Propriétés de mycotoxines :

- sont des molécules de faible poids moléculaire.
- un poids moléculaire compris entre 200 et 800 Da.
- Elles ont des effets toxiques sur l'organisme humain et animal (Eskola, 2002)
- Elles sont des substances toxiques issues du métabolisme secondaire de certaines espèces fongiques.

II-3-Les mycotoxicoses :

Les mycotoxicoses sont des intoxications provoquées par l'ingestion d'aliments sur le quelle des champignons microscopiques ont pu se développer et sécréter leurs métabolites secondaires toxiques (mycotoxines). Dans toute culture ou technique de conservation, Les conditions de prolifération mycélienne (Température, Humidité...etc.) sont à évaluer.

Les mycotoxicoses sont des maladies chroniques et aiguës causées par des mycotoxines, Ces mycotoxicoses aiguës et relativement fréquentes chez l'animal ingérant des céréales moisies, et être aussi des maladies chroniques chez l'homme qui consomme de petites quantités d'aliments contaminés pendant toute sa vie. **(Florence Chapeland-Leclerc et al., 2005).**

Les mycotoxicoses sont de plus en plus impliquées dans les maladies humaines et animales, que ce soit dans les pays industrialisés ou en développement. Dans ce dernier cas, la malnutrition peut être un facteur aggravant de l'effet mycotoxigène. **(Bacha H et al., 1988).**

Les mycotoxicoses ont plusieurs symptômes qui sont partagés d'une espèce à l'autre à une toxine, ces symptômes :

- ✓ Dans le traitement, les médicaments et les antibiotiques ne sont pas efficaces.
- ✓ L'analyse des aliments révèle une activité fongique.
- ✓ Les symptômes ne sont pas transmissibles aux sujets témoins.
- ✓ La dose de toxicité chez les sujets est influencée par l'âge, le sexe et l'état nutritionnel de l'hôte. **(USDA., 2006)**

II-4-Les différents types de mycotoxines :

Les denrées alimentaires contaminer par plusieurs mycotoxines secrète par différents moisissures. En cas des grains de café l'Ochratoxine et l'Aflatoxine sont les principalement mycotoxines existées. **(Nadine Zakhia-Rozis et Sabine Schorr-Galindo., 2013).**

II-4-1-L'Ochratoxines :

Les ochratoxines sont des métabolites secondaires produits par diverses espèces d'*Aspergillus* (*A.ochraceus*, *A. sulphureus*, *A.sclerotinum*, *A. niger*, *A.carbonarius*). Et se *Penicillium* (*P.verrucossum*, *P. purpurascens*), commune qui contaminent les aliments, y compris une grande variété de fruits et légumes. Ils sont un groupe d'iso coumarines dérivatives, Il existe plusieurs ochratoxines comme l'OTB qui est le dérivé non chloré de l'OTA et l'OTC qui est son ester éthylique. Structurellement les trois ochratoxines différent, cependant ces différences ont des effets marqués sur leur potentiel toxique. Dont l'OTA est le plus abondamment produit et le composé le plus toxique. **(RivkaBarkai-Golan).**

L'ochratoxine est considéré comme un puissant cancérogène néphrotoxique. **(IndranilSamanta., 2014).**

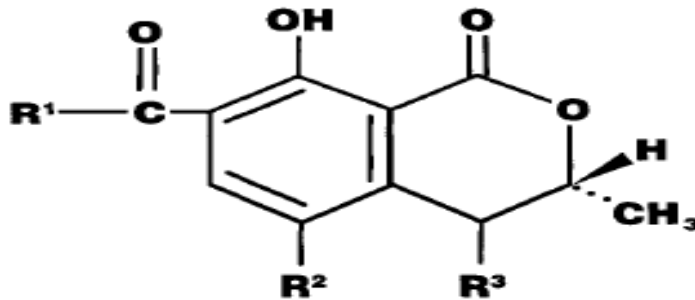


Figure 1.7: structure chimique générale de l'ochratoxine. (George G.Khachatourians et Dilip K.Arora., 2002).

II-4-1-1-L'ochratoxine A :

L'ochratoxine A secrète par les espèces *Penicillium verrucosum* dans les climats tempérés et *Aspergillus ochraceus* dans les régions chaudes. (Yves Thé et al., 2014).

L'OTA a été isolée pour la première fois en 1965 et peut comme contaminer de nombreux aliments tels que les céréales et leurs dérivés, les épices, les noix, les fruits secs, les olives, les raisins, la viande, le lait, le vin, la bière, le cacao et le café. (Van der Merwe et al, 1965).

En 1974, Levi et ses collègues a été remarquées l'OTA dans le café. (Levi, Trenk et Mohr., 1974).

Dans l'étude de pfohl-leszkowincz et Manderville qui a montré que l'approvisionnement en OTA dans la boisson du café n'est pas négligeable compte tenu de ses propriétés cancérogènes. (Pfohl-Leszkowicz et Manderville., 2007). (Ana Julia Benites et al., 2016).

II-4-1-2-Structure chimique :

La structure chimique de l'OTA est montrée dans la figure suivante. Elle s'agit de 7-carboxy-5-chloro-8-hydroxy-3,4dihydro-3R-méthylisocomarine-7-L-β-phénylalanine. (Cole et al., 2003b).

La formule brute de l'OTA est : $C_{20} H_{18} O_6 NCL$.

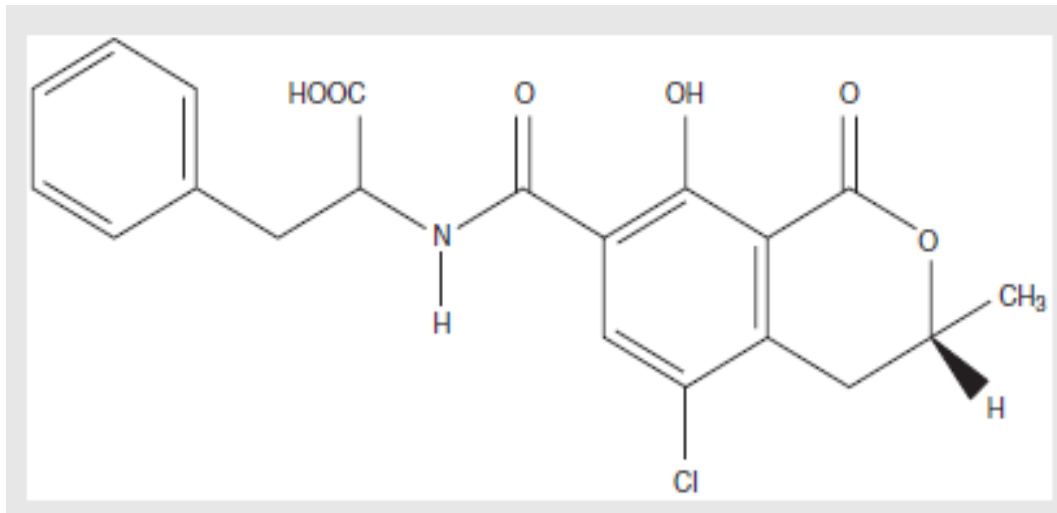


Figure 1.8: structure chimique de l'OTA. (Noel Durand et al., 2013).

II-4-1-3-Propriétés physico-chimique de l'ochratoxine A :

- L'OTA est un solide blanc de masse molaire : 403.8g/mol. (Ana Julia Benites et al., 2016).
- A un point de fusion de 169°C lorsqu'elle est cristallisée dans du xylène et 94-96°C dans le benzène.
- Le spectre d'absorption UV varie en fonction de PH et la polarité du solvant. (John F. Leslie et Antonio F. Logrieco., 2014).
- Il est partiellement dégradé dans des conditions normales de cuisson. (Muller., 1982).
- Il est complètement dégradé par un traitement à l'hypochlorite de sodium 4% (Castegnaro et al ., 1991).
- L'OTA est thermostable il peut résister l'autoclavage à 121°C pendant 3 heures.
- L'OTA est un acide organique faible ayant un pKa=7,1.
- L'OTA à une fluorescence verte en milieu acide et une fluorescence bleue en milieu alcalin, cette propriété est utilisée pour la détection et le dosage de l'OTA. (André et Khoury et Ali Atoui., 2010).

II-4-1-4-Biosynthèse de l'ochratoxine :

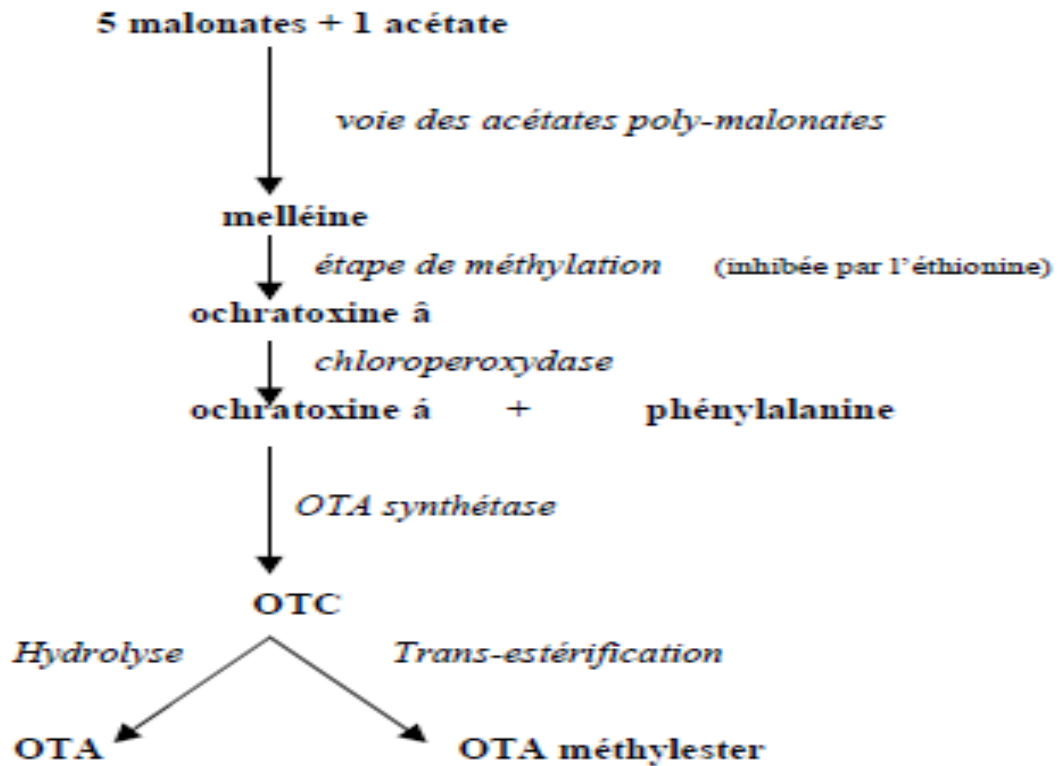


Figure 1.9 : schéma de synthèse de l'OTA. (Harris et Mantle., 2001).

La voie des acétate-polymalonates entraîne la production d'un polypeptide aromatique « la mélléine ».

Après réduction du carbonyl en C3 et méthylation, on obtient l'ÔTâ, la chloroperoxydase assure la chlorination en ÔTâ.

L'éthionine, qui est un inhibiteur de la méthylation inhibe complètement la production d'OTA.

Une enzyme libre de la cellule : l'OTA synthétase, qui a besoin d'ATP et d'ions Mg⁺⁺ catalyse la liaison de l'OTA avec la phénylalanine. (Marion Rouvier., 2002).

II-4-1-5-L'effet de l'Ochratoxine A sur la sante :

L'exposition humaine par l'OTA les denrées alimentaires provoquer d'une pathologie nommée Néphropathie Endémique de Balkans(NEB), ce qui est similaire à toutes les critères d'une néphropathie tubulo-interstitielle chronique, les symptômes sont :

- Insuffisance rénal précédée par une anémie très marquée.
- Une hyperuricémie et une hyperuricosurie.
- Diminution du volume de reins.
- L'évolution de l'OTA insidieuse aboutit en 2 à 10 ans à l'insuffisance rénale terminale, sans hypertension artérielle.

Des nombreuses études réalisées ont montré la présence d'OTA dans le plasma humaine ainsi que dans le lait maternel sans qu'on puisse établir une relation avec l'exposition alimentaire. La durée de vie de cette toxine chez l'homme pourrait être l'explication de cette observation.

L'OTA inhibe la respiration mitochondriale. (Afssa.2006).

II-4-2-Les aflatoxines :

Le terme d'Aflatoxine (AF) a été attribué à toxine en référence à *Aspergillus flavus* (abrégé en *A. flavus*), premier champignon identifié comme étant responsable de la sécrétion de toxines. (Asao T, Buchi G, Abdelkader M.M, et al., 1963).

II-4-2-1-Structure :

La structure générale des AF est constituée d'un cycle coumarinique et de deux furanes, auxquels peuvent être accolés un cycle pentone (Aflatoxines B et M) ou un cycle lactone hexagonal (Aflatoxines G). Les structures diffèrent entre elles par la position de leurs radicaux sur le squelette de base.

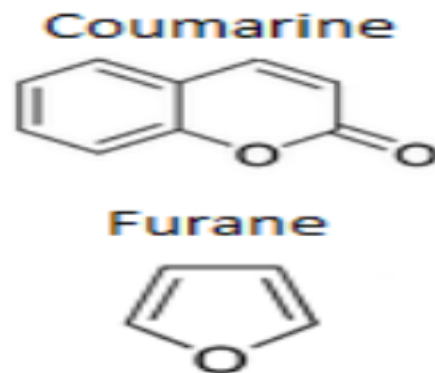


Figure1.10 : Structure générale des Aflatoxines.

Les Aflatoxines forment un groupe de 18 composés structurellement proches, Il existe six formes les plus couramment rencontrées dans les aliments (B1, B2, G1, G2, M1 et M2). Ce groupe de toxines est issu de la voie des polycétoacides. . (Pfohl-Leszkowicz A., 1999) et (Dutton M. F, Ehrlich K, Bennett, J. W.,1985).

Mycoflore toxogène

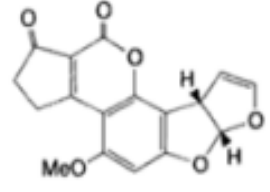
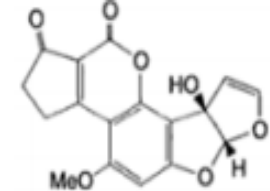
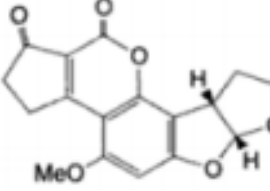
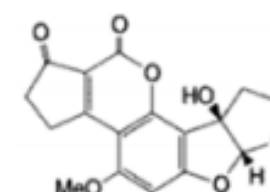
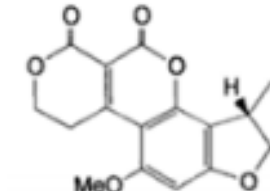
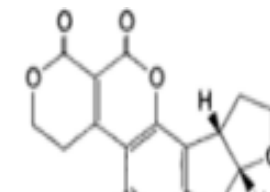
Dénomination	Formule brute	Masse molaire (g/mol)	Structure chimique
Aflatoxine B1	$C_{17}H_{12}O_6$	312,3	
Aflatoxine B2	$C_{17}H_{14}O_6$	314,3	
Aflatoxine M1	$C_{17}H_{12}O_7$	328,3	
Aflatoxine M2	$C_{17}H_{14}O_7$	330,3	
Aflatoxine G1	$C_{17}H_{12}O_7$	328,3	
Aflatoxine G2	$C_{17}H_{14}O_7$	330,3	

Tableau 4 : Les principales Aflatoxines. (Pfohl-Leszkowicz A., 1999) et (Dutton M. F, Ehrlich K, Bennett, J. W.,1985).

4-2-2-Propriétés physico-chimiques :

- Les aflatoxines sont des molécules de faible poids moléculaire (312 à 330 g/mol).
- Ils sont très peu solubles dans l'eau (10 à 30 µg/ml).
- Insolubles dans les solvants non polaires.
- Très solubles dans les solvants organiques moyennement polaires (Chloroforme et alcool méthylique).
- Elles sont assez facilement extraites. Sous lumière ultra-violette (**U.V. longs**).
- Elles sont fluorescentes (Blue pour les AFB et verte pour les AFG, l'AFM1 ayant une fluorescence bleu-mauve). (**afssa.2006**) et (**Pfohl-Leskowicz A., 1999**).

Chapitre II :

Le café

I-Histoire du café :

Le café est l'une des boissons les plus populaires au monde en raison de sa grande importance dans la vie d'un individu.

Il y a plusieurs contes et légendes sur l'histoire du café et sa découverte.

Les premières mentions écrites du café sont dues aux savants médecins, *Razhès*, à la fin du IXe siècle, et *Avicenne*, au XIe siècle, qui décrivent les effets du café sur l'appareil digestif. **(Gerauddebry., 1993).**

Le caféier est vraisemblablement originaire d'Éthiopie. Sa culture aurait commencé dans l'Arabie voisine, où il est appelé K'hawah, un nom qui signifie "revigorant". **(Penilleau. A., 1864).**

Deux types de caféiers sont cultivés : *Coffea arabica* et *Coffea canephora*.

L'espèce *Arabica* est la plus ancienne et celle qui est la plus cultivée.

Le *Robusta* fut découvert plus tardivement, vers le XIXème siècle **(Stella A., 1998 et Hardy C., 1998).**

Le café demeure l'un des produits les plus consommés au monde et constitue la deuxième boisson après l'eau. **(Justin Koffi. H ., 2007).**

II-Généralité sur le café :

Le caféier est une plante appartenant à la classe des dicotylédones et à la famille des *Rubiaceae*. Le café vert est issu des fruits des espèces cultivées du genre *Coffea*. Ce genre comprend 80 espèces regroupe plusieurs variétés que l'on pourrait comparer aux cépages du vin. Les deux noms du caféier utilisés couramment sont le *Robusta* et l'*Arabica*. Le café *Robusta* est le grain de l'espèce *Coffea canephora*. L'*Arabica*, *Coffea Arabica* est une espèce qui comprend des variétés comme le typica, le bourbon (variétés anciennes) et le caturra **(Perrot ., 1944) , (Bridson et Verdcourt ., 1988).**

Un caféier n'est rentable qu'au bout de 5 ans et sa durée de vie est de 25 à 50 ans. Il produit des fruits charnus, le plus souvent rouges ou violets, semblables à des cerises. (**Justin Koffi. H ., 2007**).

Le caféier *Arabica* atteint 5 à 6 mètres de haut, le *Robusta* 10 à 12 mètres. (**Denis. D, Bernard .F ., 2003**).

III-Ecologie du café :

Les températures optimales pour les différentes variétés seront similaires à celles de leur habitat naturel. Pour l'*Arabica*, est de 15 à 24 ° C. Pour le *Robusta*, les températures sont plus élevées, est de 24 à 30 ° C. L'*Arabica* poussé dans les latitudes proches des tropiques entre les latitudes de 25°N et 25°S. Des altitudes d'environ 600 à 2000 mètre .Le *Robusta* se trouve à 1000 mètre d'altitude au niveau l'équateur. (**M.N. Clifford and K.C. Willson ., 1988**).



A



B

Figure 2.1 : Un exemple de caféier. **A**: (*Coffea Arabica*) (**Justin Koffi. H ., 2007**).

B : le caféier *Canephora Robusta*, Cote- d'Ivoire (**Jeanguyt M, Séguier-Guis M et Duris D., 2003**).

IV-Classification du café et botanique:

Botaniquement, le café appartient au genre *Coffea* de la famille des *Rubiaceés*. Le sous-genre *Coffea* comprend plus de 80 espèces (**Bridson et Verdcourt., 1988**). Le café est une plante vivace et à feuillage persistant .Il à une tige verticale dominante avec un système racinaire peu profond, les racines nourricières du café *Arabica* pénètrent relativement plus profondément dans le sol tandis que le *Robusta* a des racines nourricières concentrées très près de la surface du sol. (**PushpaS.Murthy, M.MadhavaNaidu ., 2012**).



Figure 2.2: branche du café (**Adriana Farah, Thiago Ferreira dos Santos., 2015**).

Les feuilles de café sont opposées à la coupe sur les ventouses. Les feuilles apparaissent brillantes, ondulées et de couleur vert foncé avec des nervures bien visibles. Les fleurs blanches (odeur proche de celui du jasmin pendant quelques jours). L'inflorescence presque toute l'année. (**Murthy PS et Naidu MM., 2012**).

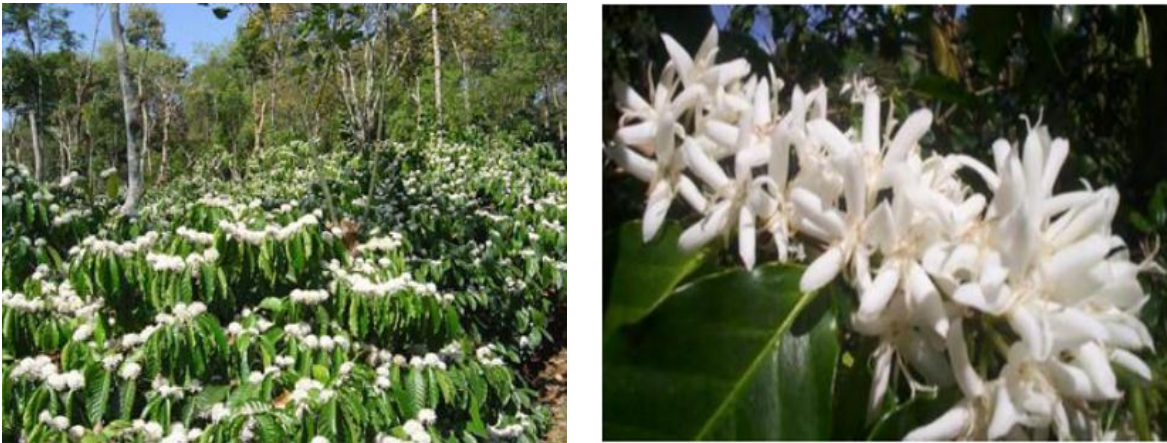


Figure 2.3 : Fleurs de caféier (Pushpa S. Murthy, M. Madhava Naidu., 2012), (Thorn, J., 2002).



Figure 2.4 : les fruits de caféier (Justin Koffi. H., 2007).

Le café est une plante de jour court et donc l'initiation florale a lieu dans des conditions de jour court de 8 à 11 h de lumière du jour. La pollinisation a lieu dans les 6 h après la floraison. Le processus de fécondation est achevé dans les 24 à 48 h après la pollinisation. La taille, l'épaisseur ou le nombre de piqûres dans les parois des scléroïdes est considéré comme un caractère taxonomique important pour différencier les espèces. La germination a lieu en 45 jours environ. (Pushpa S. Murthy, M. Madhava Naidu., 2012).

Il existe plusieurs différences entre les espèces d'*Arabica* et de *Robusta*, les plus représentatives sur le marché international, en ce qui concerne leurs caractéristiques botaniques, génétiques, morphologiques du haricot ainsi que la composition chimique et les Conditions environnementales (altitude, pluviométrie et température). (Napolitano, Fogliano, Tafuri, & Ritieni., 2007), (Ana Júlia Benites et al., 2016).

V-Systématique des caféiers :

La famille des *Rubiaceae* comprend environ 630 genres et 13000 espèces avec une large distribution géographique dans les régions tropicales et subtropicales (Struwe., 2002). Les études phylogénétiques basées sur des données moléculaires et combinées avec des données morphologiques ont amélioré la classification des *Rubiaceae* en sous-familles (Bremer et al., 1995 ; Bremer., 1996). Une de ces améliorations est l'aboutissement d'une nouvelle classification en 3 sous-familles : *Rubioideae*, *Cinchonoideae* et *Ixoroideae* et à la division de la tribu des *Coffeae* en 11 genres *Argocoffea*, *Belanophora*, *Calycosiphonia*, *Coffea*, *Diplospora*, *Discospermum*, *Nostolachma*, *Psilanthus*, *Tricalysia*, *Sericanthe* et *Xanthonnea*. (Bremer et al., 1995 ; Rova et al., 2002).

VI-Classification :

Règne	<i>Plantae.</i>
Sous règne	<i>Tracheobionta.</i>
Division	<i>Magnoliophyta.</i>
Classe	<i>Magnoliopsida.</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Rubiales</i>
Famille	<i>Rubiaceae</i>
Genre	<i>Coffea</i>

(Pushpa S. Murthy, M. Madhava Naidu., 2012).

VII-Constituants d'une cerise de café :

Après la pollinisation, un fruit se développe en une cerise de 10 à 15 mm de long contenant deux graines (les grains de café).

Le fruit comprend :

- **la peau** (épicarpe ou exocarpe), qui est une couche monocellulaire recouverte d'une substance cireuse qui protège le fruit; il est généralement rouge, rose foncé ou jaune. (Coulibaly et al., 2002 ; Stoffelen et al., 2002).
- **la pulpe** (mésocarpe), qui comprend une pulpe charnue et dans les fruits mûrs, une couche pectineuse visqueuse de mucilage adhérent au parchemin.
- **le parchemin ou parch** (endocarpe), qui est un mince revêtement de polysaccharide semblable à du papier friable.(FAO., 2006).
- **la peau d'argent**, qui est composé principalement de polysaccharides, en particulier de cellulose et d'hémicelluloses, en plus de monosaccharides, de protéines, de polyphénols et d'autres composés mineurs.
- **deux graines** elliptiques ou ovoïdes contenant de l'endosperme et des embryons..(Adriana Farah, Thiago Ferreira dos Santos.,2015).

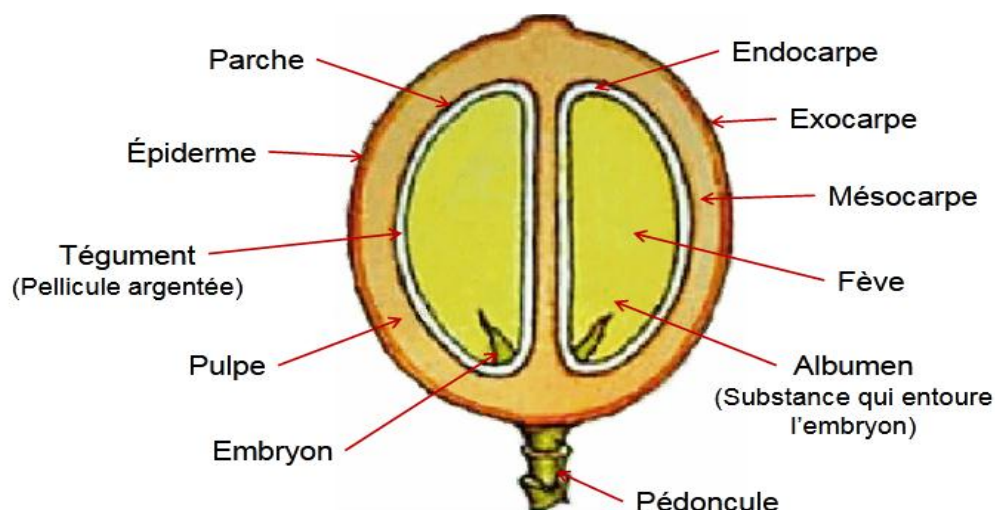


Figure 2.5 : Coupe d'une cerise de café (http://www.hotellerie-restauration.ac-versailles.fr/cafeologie/diaporama/cerise_cafe_vert.pdf).

VIII-Composition du café :

La composition du café est très complexe avec plus d'une centaine de substances chimiques identifiées. Elle est également variable selon les espèces.

Composants	Arabica		Robusta		Poudre de café instantané soluble
	Vert	Torréfié	Vert	Torréfié	
Minéraux	3.0-4.2	3.5-4.5	4.0-4.5	4.6-5.0	9.0-10.0
Caféine	0.9-1.2	~1.0	1.6-2.0	~2.0	4.5-5.1
Trogonelline	1.0-1.2	0.5-1.0	0.6-0.75	0.3-0.6	-
Lipides	12.0-18.0	14.5-20.0	9.0-13.0	11.0-16.0	1.5-1.6
Acides chlorogénique totaux	5.5-8.0	1.2-2.3	7.0-10.0	3.9-4.6	5.2-7.4
Acides aliphatiques	1.5-2.0	1.0-1.5	1.5-2.0	1.0-1.5	-
Oligo-saccharides	6.0-8.0	0-3.5	5.0-7.0	0-3.5	0.7-5.2
Polysaccharides totaux	50.0-55.0	24.0-39.0	37.0-47.0	-	~6.5
Acides aminés	2.0	0	2.0	0	0
Protéines	11.0-13.0	13.0-15.0	11.0-13.0	13.0-15.0	16.0-21.0
Acides humiques	-	16.0-17.0	-	16.0-17.0	15.0

Tableau 05 : La composition chimique moyenne des grains de café verts et torréfiés est donnée dans le Tableau suivant (Debry G., 1993).

VIII-1. L'eau :

L'eau est un composant particulièrement important du café et de ses produits. Présent dans une proportion d'environ 50% dans le café parchemi humide, environ 10-13% en vert exporté, tandis que le café torréfié peut contenir jusqu'à 5%. (Smith.A.W et al., 1985).

La teneur en humidité déclarée des grains de café vert varie de 8 à 13% pour l'*Arabica* et de 12-13% pour le *Robusta*. (John L.Massey., 2016).

VIII-2. Les Minéraux :

La teneur en minéraux des cafés verts est en moyenne d'environ 4% sur une base sèche, avec du potassium son principal constituant à environ 4%/de cette quantité. Le calcium et le magnésium sont présents en quantités beaucoup plus petites, et de même les éléments non métalliques, le phosphore et soufre. (Smith.A.W., 1985).

VIII-3. Les matières grasses :

Le café comporte 15 à 20% de matières grasses :

- **Les lipides** des grains de café sont composés d'une huile de café présente substantiellement dans l'endosperme, la différence de contenu base sur les espèces de café par exemple, rapporté que le café *Arabica* avait une teneur moyenne de 15%db et *Robusta* à 1%/db. (Smith.A.W., 1985). Ces lipides sont les supports des composés aromatiques.
- **Les protéines** représentent environ 11%; dont une partie est détruite à la torréfaction. Les acides aminés sont impliqués dans la formation de la saveur et de la couleur du café, la quantité et les types d'acides aminés affectent l'intensité et la qualité de l'arôme. (R.J.Clarke, O.G.Vitzthum., 1987).
Des niveaux de protéines allant de 11 à 17% pour l'*Arabica* et de 11 à 13% pour le *Robusta*. (John L.Massey., 2016).

VIII-4-Les glucides :

Les grains de café sont une riche source de polysaccharides, représentant environ 50% du poids sec des grains verts et environ 40% du poids sec des grains torréfiés, qui sont principalement composés de galactomannanes, d'arabinogalactanes de type 2 et cellulose. Les glucides allant de 60 à 76% pour l'*Arabica* et de 69 à 76% pour le *Robusta*. (John L.Massey., 2016).

VIII-5-La caféine :

La caféine est le principe actif le plus connu dans le café.

La caféine est un alcaloïde naturel et le principal membre de l'alcaloïde de xanthine méthyle, que l'on trouve couramment dans les feuilles de thé et les grains de café. (Victor R Preedy., 2012).

Le café *Robusta* a environ le double de la quantité de caféine trouvée dans les cafés *arabica*, avec des valeurs moyennes allant de 0.6 à 1.9% pour l'*arabica* et environ 2.2% pour le *robusta*. (John L.Massey., 2016).

Nom : caféine.

Nom chimique : 1, 3,7-triméthylxanthine ou 1, 3,7-triméthyl-1H-purine-2,6-dione.

Formule chimique : $C_8H_{10}N_4O_2$.

Aspect : poudre blanche, inodore et de goût amer.

Masse molaire : 194.19g/mol. (Victor R Preedy., 2012).

VIII-5-1-Structure :

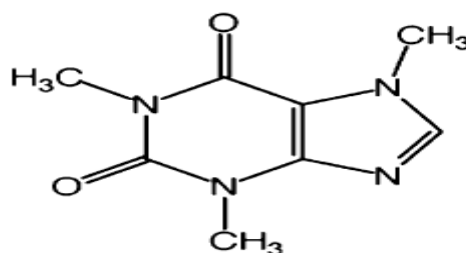


Figure 2.6 : structure de la caféine. (Debasis, Hiroyoshi, Anand., 2017).

Traitement du café vert :

Le traitement du café vert consiste à extraire les fèves en éliminant les enveloppes (exocarpe , pulpe , parche et pellicule).

On distingue deux méthodes de traitement :

-La méthode sèche : cette méthode est la plus simple et la plus utilisée sur le café *Robusta* (et *Arabica* au Brésil).

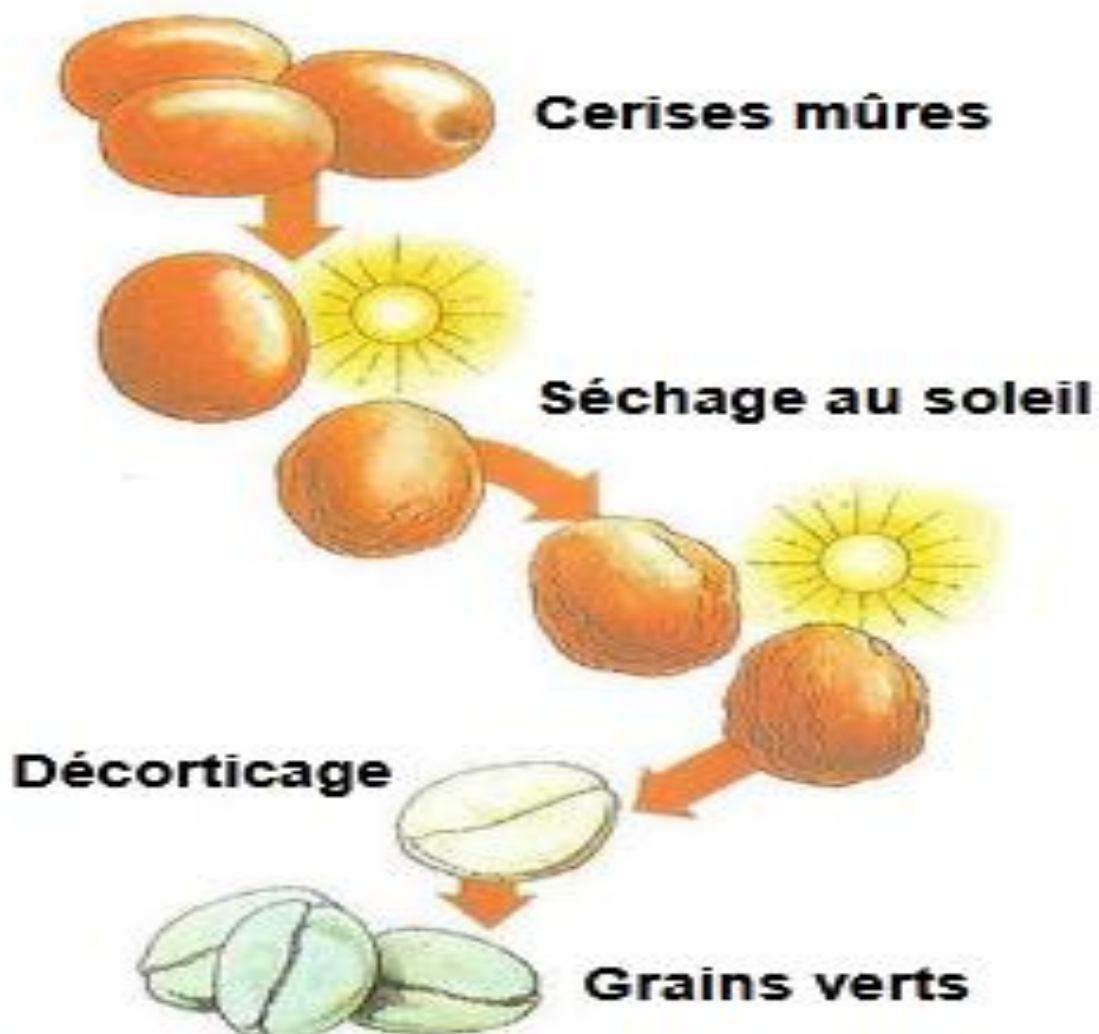


Figure2.7 : la méthode sèche.(http://www.hotellerie-restauration.ac-versailles.fr/cafeologie/diaporama/cerise_cafe_vert.pdf).

-**La méthode humide** : cette technique est généralement utilisée sur les variétés Arabica. Elle comprend quatre étapes :

- ❖ le dépulpage : permet l'élimination par frottement de l'exocarpe. On obtient le café parche humide (mucilagineux).
- ❖ La démulcination (fermentation) : permet la dégradation du mucilage par hydrolyse.
- ❖ Le lavage : pour éliminer les traces de mucilage.
- ❖ Le séchage : permet l'obtention du café parche sec.

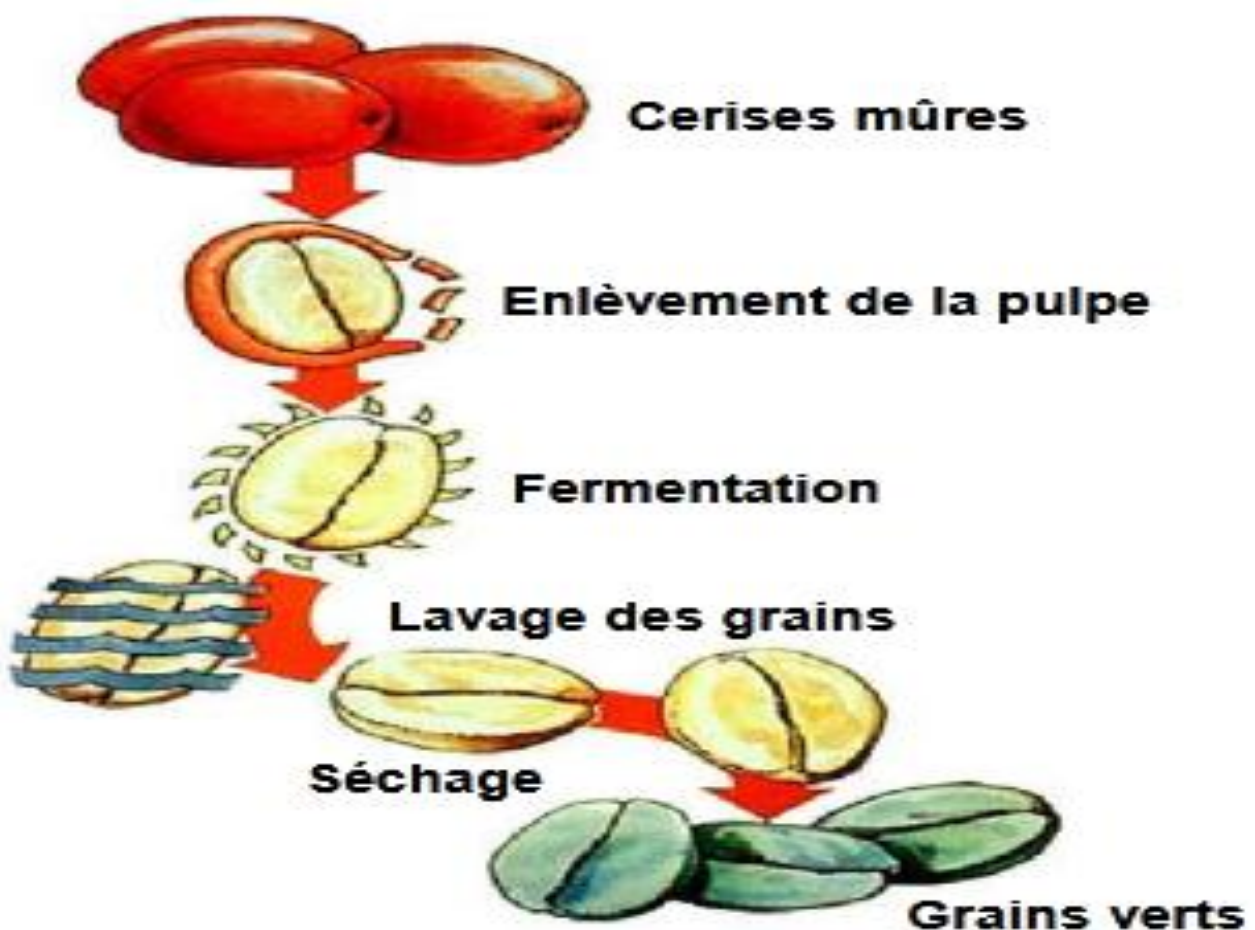


Figure 2.8: La méthode humide. (http://www.hotellerie-restauration.ac-versailles.fr/cafeologie/diaporama/cerise_cafe_vert.pdf).

En fin de traitement, 1 tonne de cerises fraîches donne 400 à 450 kg de cerises sèches et 200 kg de café marchand. (**Athmani Leila., 2008**).

IX-Le marché de café :

le café est l'une des principales denrée alimentaire d'origine agricole échangée sur les marchés internationaux, et le deuxième bien de consommation échangé dans le monde, derrière le pétrole et avant le charbon, la viande, le blé et même le sucre.(**Khalid. K ., 2010**).

X-Les principes pays exportateurs du café :

Pendant les années à 2016 jusqu'à 2019 le sud American considère le première exportateur du café, suivi Asia et Océanie, Afrique et central American et mexico.

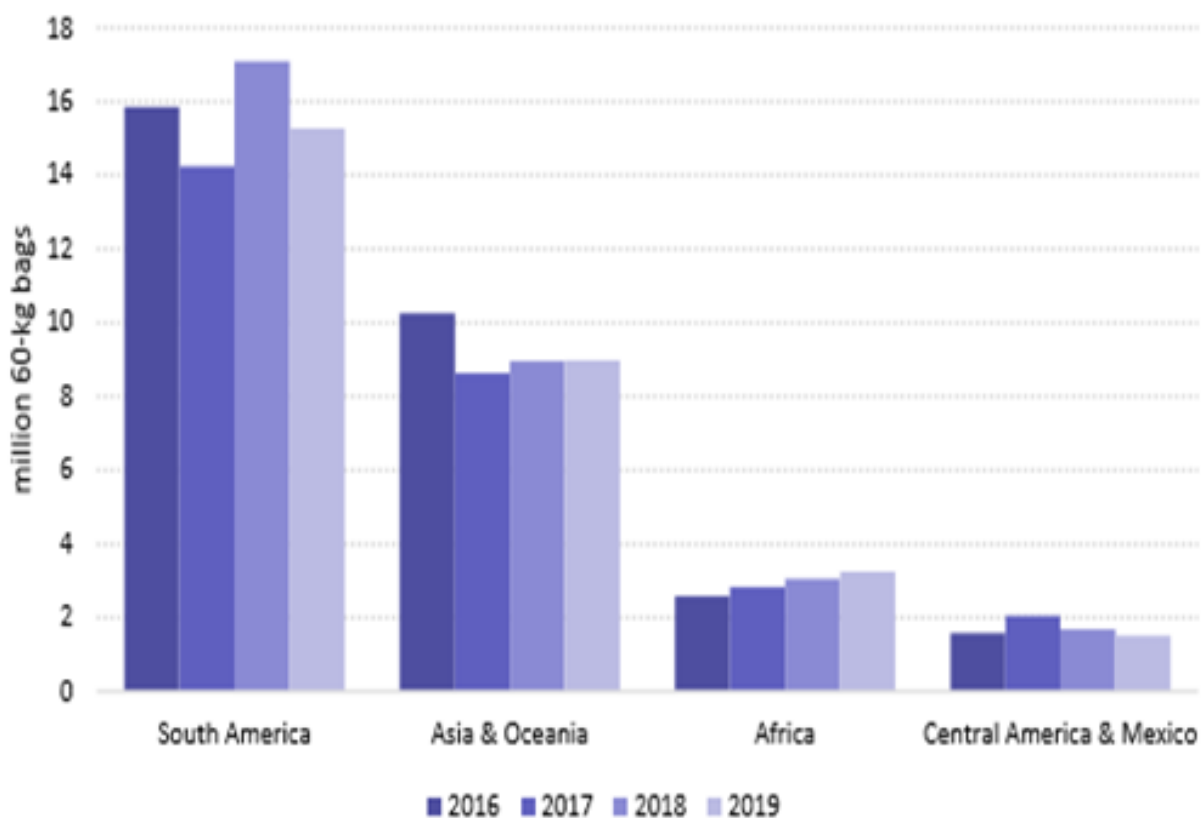


Figure 2.9 : Les principes exportateurs du café «sac de 60 Kg» (OIC., 2019).

XI-La production mondiale du café vert :



Figure 2.10: régions géographiques (cercles colorés) les pays producteurs de café vert (John L.M., 2016).

La production des variétés *Arabica* et *Robusta* est augmentée pendant les 10 ans passés.

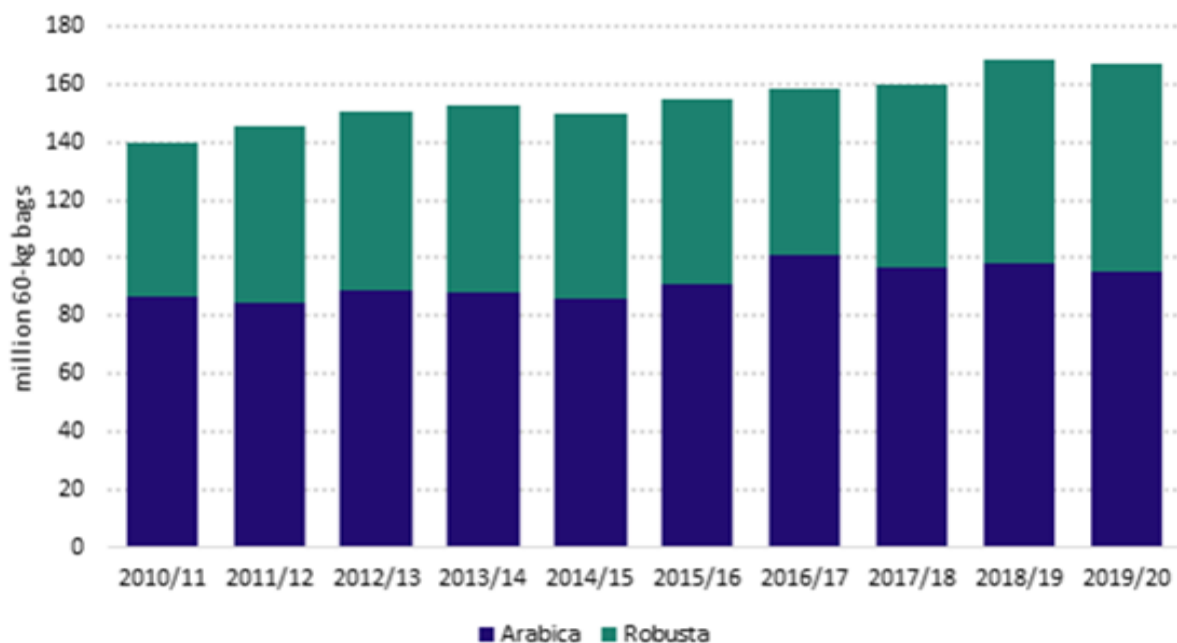


Figure 2.11 : Les principaux producteurs de café «sac de 60 Kg» (OIC., 2019).

XII-La consommation de café :

L'Europe est classée comme le premier consommateur de café avec 55 millions de sacs pendant 2 années, suivi par l'Asie et l'Océanie, l'Amérique du Nord, l'Amérique du Sud, l'Afrique et l'Amérique centrale et le Mexique.

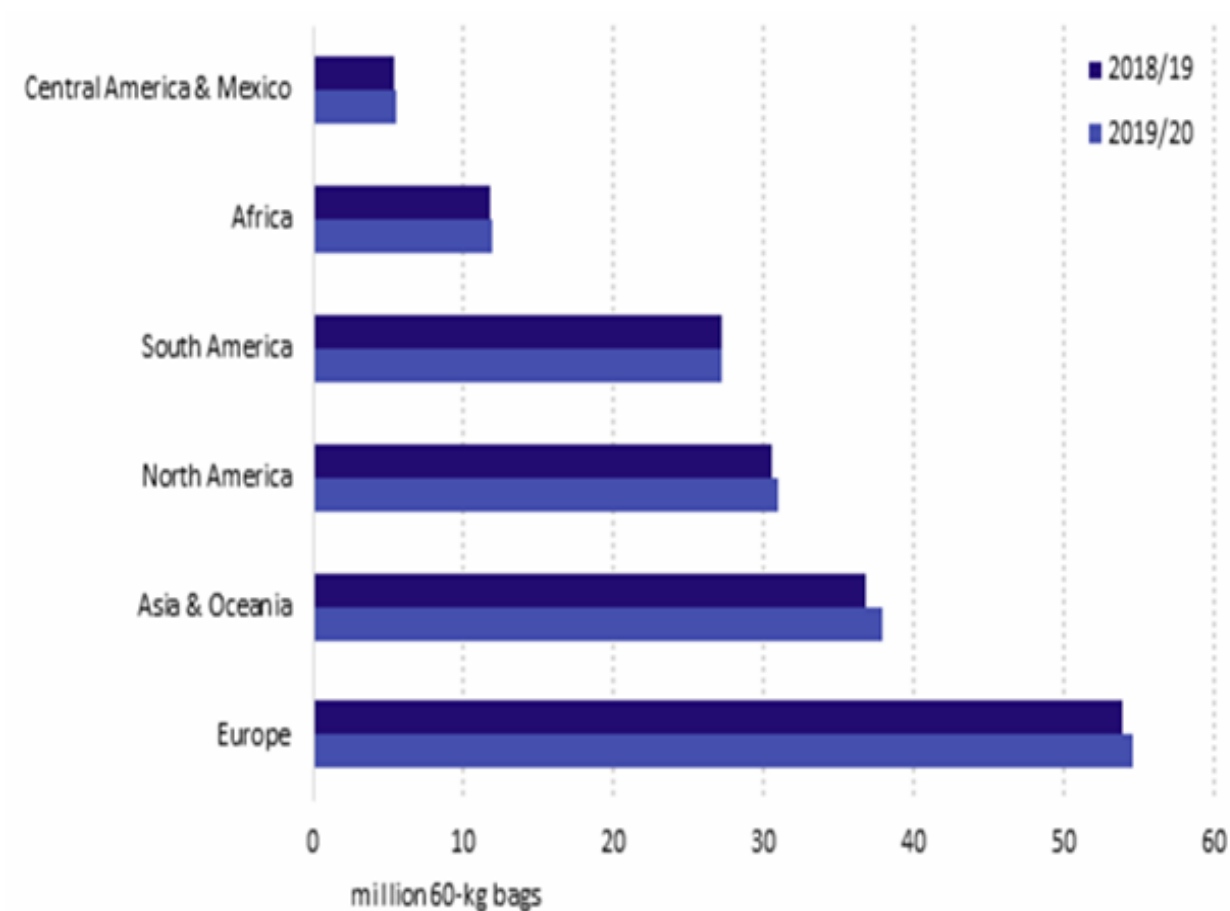


Figure 2.11: Les principaux consommateurs du café «sac de 60 Kg» (OIC., 2019).

Matériels et méthodes

I-Choix de la région :

La ville de Laghouat est une wilaya d'Algérie en Afrique du nord, une superficie de 400 km² et située à 400 km au sud de la capitale Alger, Elle compte 144747 habitants (recensement de 2008) pour une densité de 361.87 habitants par km².

La consommation du café est très élevée à cause de coutumes et tradition dans Laghouatien, cette région est l'une des villes algériennes où la préparation du café est faite traditionnellement (torréfié et broyé manuellement de café) (H.Gueddouda., 2014).

II-Echantillonnage :

L'Algérie ne produit pas de café vert, mais en consomme car le café constitue la boisson populaire du pays, par conséquent elle a recouru à l'importation pour satisfaire ces besoins.

L'Algérie importe en moyenne 100 000 à 110 000 tonnes par an (Anonyme b, 2004). Les importations de café vert fluctuent dans le temps mais suivent une évolution constante chaque année pour atteindre 120 000 tonnes en 2004.

Les importations nous parviennent surtout de Côte-d'Ivoire et d'Indonésie, mais aussi des autres pays exportateurs car le café est un produit négocié dans la bourse, de ce fait, il suit la loi de l'offre et la demande.

Années	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004
Importations (tonnes)	53624	73463	87853	85253	80726	106690	87260	110710	126145	118070

Tableau 6 : Les importations de café vert au cours de la décennie 1995-2004(Anonyme b, 2004).

III- Prélèvement :

Durant le mois de décembre et le mois janvier on a fait un prélèvement du café vert dans la région de Laghouat au niveau de marché local au total de six variétés à 500g de chaque type de café ont été analysé. Deux variétés d'*Arabica* (Brésilienne et Ivoirienne) et quatre variétés de *Robusta* (Indonésienne, Vietnamiennne 1, Vietnamiennne 2, Ivoirienne).

L'analyse consiste à mettre en évidence la présence de mycotoxines dans la mycoflore du café vert.

Tableau 7 : Echantillons prélevé.

Variété de café	Code utilisés	Date du début d'analyse
Arabica Brésilienne	A.E.E	03 décembre 2019
Arabica Ivoirienne	AIII.E.E	
Robusta Ivoirienne	R III.E.E	
Robusta Vietnamiennne 1	RI.E.E	
Robusta Vietnamiennne2	R I.E.E	
Robusta Indonésienne	RII.E.E	

IV-Etude de la mycoflore :

Pour étude ou bien évaluer la mycoflore fongique qui contamine les grains de café en a réalisé des différentes méthodes. (Hannin.S, Hassikou.K, Benkirane, Ouazzanitouhami, A et Douira.A., 2003).

- La méthode de buvard.
- La méthode Ulster.

IV-1-Méthode buvard :

Cette méthode consiste à tester 50 grains de café de chaque variété, Alors que 5 grains par boîte de pétri de 90 mm de diamètre qui contient des papiers buvard humidifiés.



Figure 3.1 : Méthode direct de buvard.

IV-2-Méthode Ulster :

Le principe de méthode Ulster est placer les grains de café (5 grain) dans boîte pétri contient de milieu PDA.

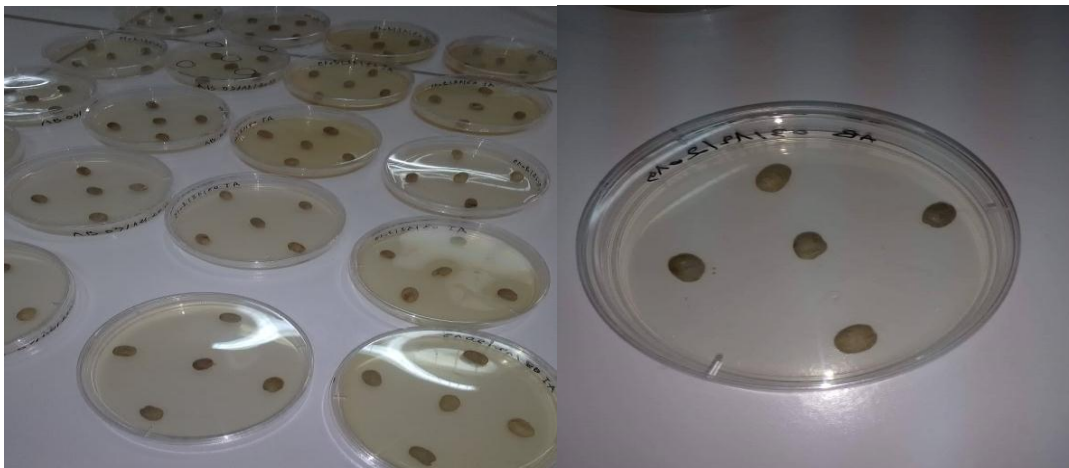


Figure 3.2 : Méthode direct d'Ulster.

L'incubation des boîtes pétries à température 25°C pendant 7 jours (**MOURIA Btissam., OUAZZANI_Touhami Amina., DOUIRA Allal., 2012**). En suite les grains sont testés sur la loupe pour observer et dénombrer les moisissures, puis évaluer le taux de contamination.

$$C (\%) = \frac{N2}{N1} \times 100$$

N1 : nombre total de grains par boîte.

N2 : nombre de grains contaminés.

C% : taux de contamination.

V- Purification des moisissures :

On a réalisé de plusieurs repiquages successifs sur milieu PDA pour l'obtention des isolats purs, la purification fait sur milieu PDA par technique de touche centrale et incubés les boîtes à 25°C pendant 7 jours. (**G.Reboux, S. Roussel, F. Grenouillet., 2006**).

VI-Identification des moisissures :

Pour l'identification de mycoflore, les caractéristiques macroscopiques et microscopiques de la colonie sont importantes. (**Pitt et Hocking., 2009**).

➤ **Caractéristiques macroscopiques (morphologique) :**

Constituent l'aspect, Le relief, La taille, La couleur des colonies, ou bien les structures de fructification.

➤ **Caractéristiques microscopiques :**

Constituent la présence ou l'absence des conidies, aussi la structure et la taille des spores. (**Mahendra Rai et al., 2010**).

VII-Identification des genres :

L'identification a été réalisée sous microscope soit par une observation directe, soit après culture sur lame. (**G. Reboux, S. Roussel, F. Grenouillet., 2006**).

➤ Micro-culture :

Quelques gouttes d'eau distillée stérile, sont déposés sur les papiers buvard dans la boîte de pétri de 9 cm de diamètre pour réaliser une humidification, un support qui porte une lame stérile, est placée sur lui une petite carré de PDA solidifié, ensemencer les spores d'une souche fongique pure sur les limites périphériques du carré, recouvrir par lamelle.

L'incubation a été faite à une température de 25 °C pendant 7 jours. Après l'incubation, transférer la lamelle sur une autre lame contenant lactophénol pour faire l'observation microscopique. (Cahagnier et Richard-Mollard, 1998).



Figure 3.3 : Méthode de micro culture.

VII-1-Confirmation de l'identité des espèces *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus flavus* :

On a fait une touche centrale dans le milieu AFPA à 25°C pour confirmer le pouvoir de sécréter le mycotoxine des espèces *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus flavus*.

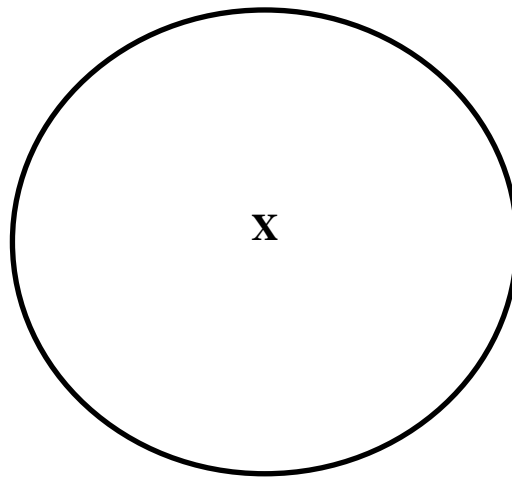


Figure 3.4 : Méthode de touche centrale sur milieu AFPA.

Résultats

I. Analyses mycologique :

I.1. Résultat de la méthode buvard et Ulster :

La méthode buvard c'est la méthode d'analyse qui consulte le plus grand taux de contamination dans les échantillons analysés, En suite la méthode Ulster.

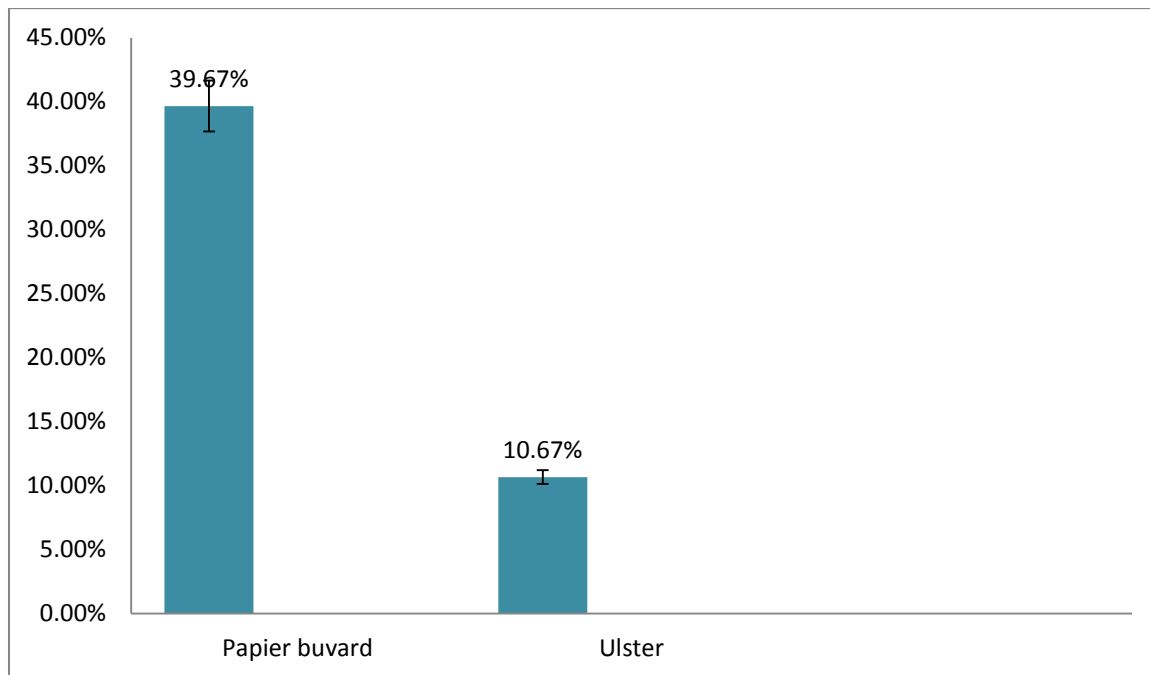


Figure4.1 : Taux de contamination révélé pour chaque méthode d'isolement utilisée.

I.2. Taux de contamination :

La variété de café Arabica d'origine Ivoirienne représente le taux de contamination le plus élevé de 90% puis d'origine Brésilienne avec de taux de contamination de 58%, suivie de la Robusta Ivoirienne par taux de contamination de 52% et la variété la moins contaminée est la variété Robusta Vietnamienne1 et Indonésienne puis Vietnamienne2.

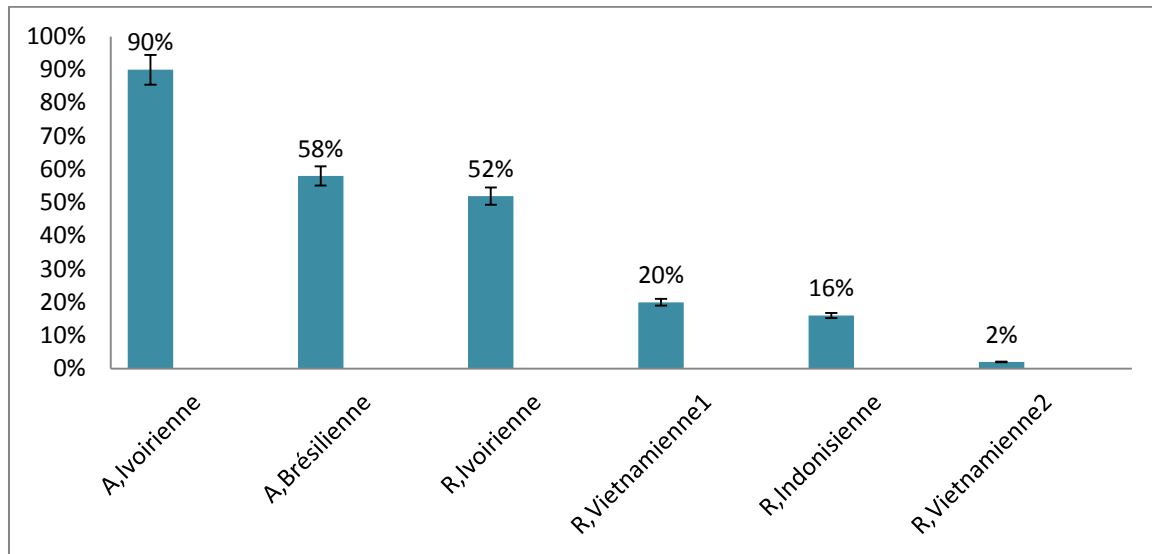


Figure 4.2 : Taux de contamination de chaque variété de café.

I.3. Abondance des espèces fongiques isolée de chaque variété de café analysée :

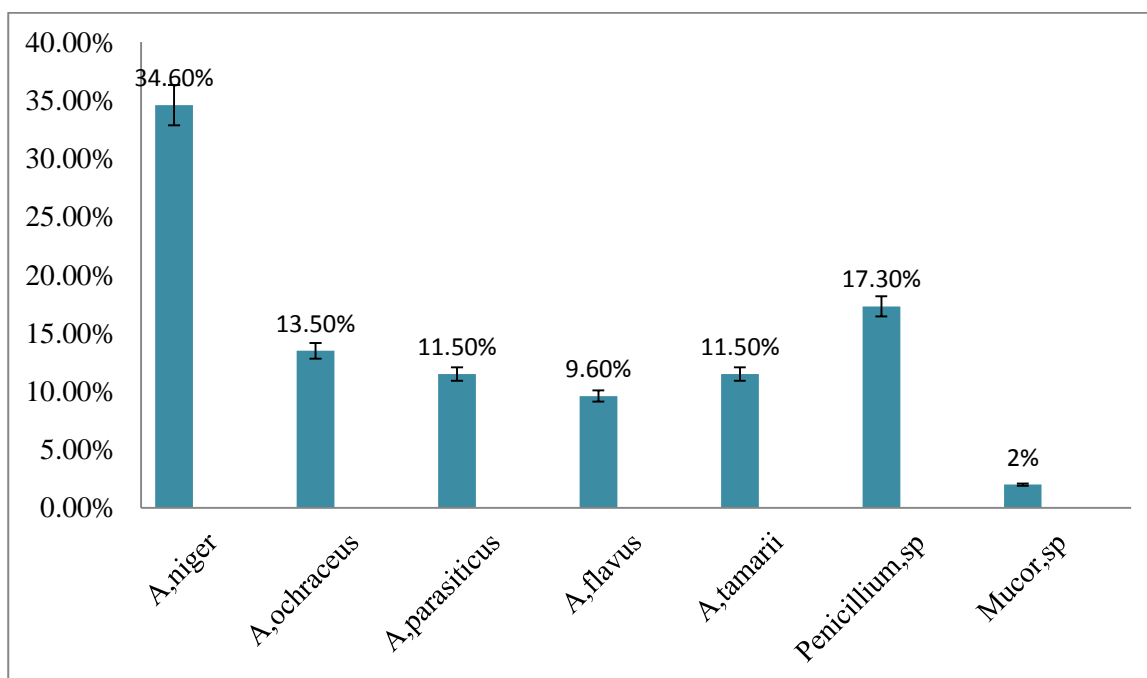


Figure 4.3 : Abondance des espèces fongiques isolées de la variété Arabica Ivoirienne.

La variété Arabica Ivoirienne caractérise une grande variation des espèces contaminant par une grande abondance de *Aspergillus niger* et *Penicillium.sp*.

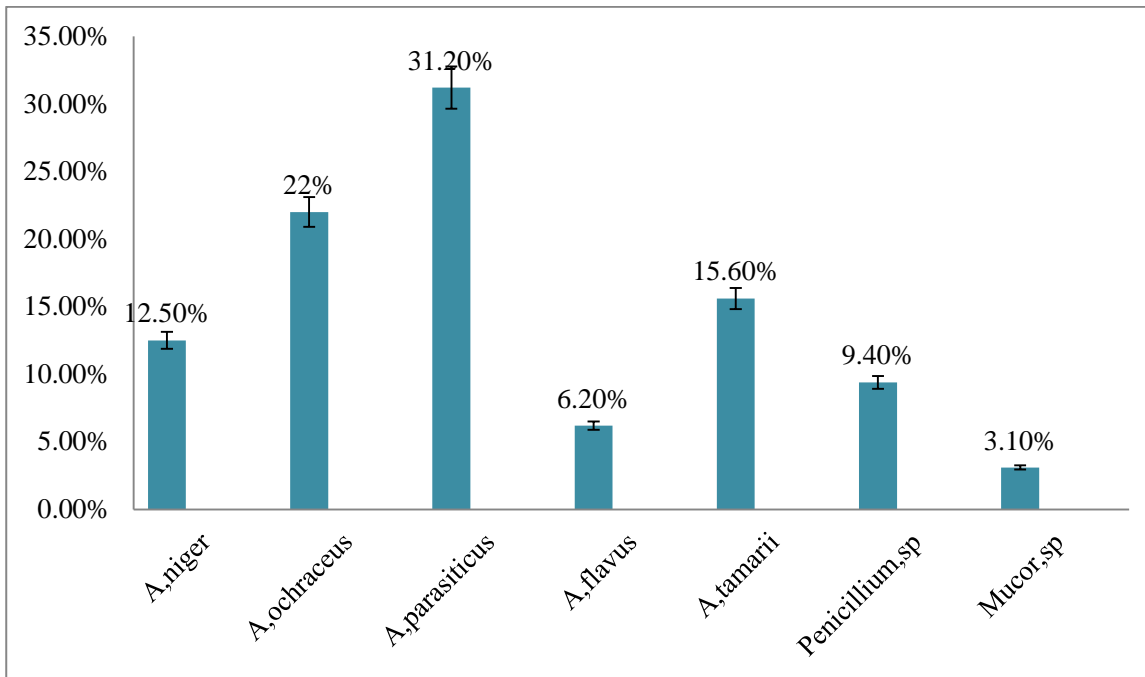


Figure4.4 : Abondance des espèces fongiques isolées de la variété Arabica Brésilienne.

L'*Aspergillus parasiticus* est l'espèce la plus abondante dans la variété Arabica Brésilienne, puis les espèces *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus tamarii* et moins abondance de l'*Aspergillus niger* par rapport à la variété Arabica Ivoirienne et présence de *Penicillium.sp* par abondance faible.

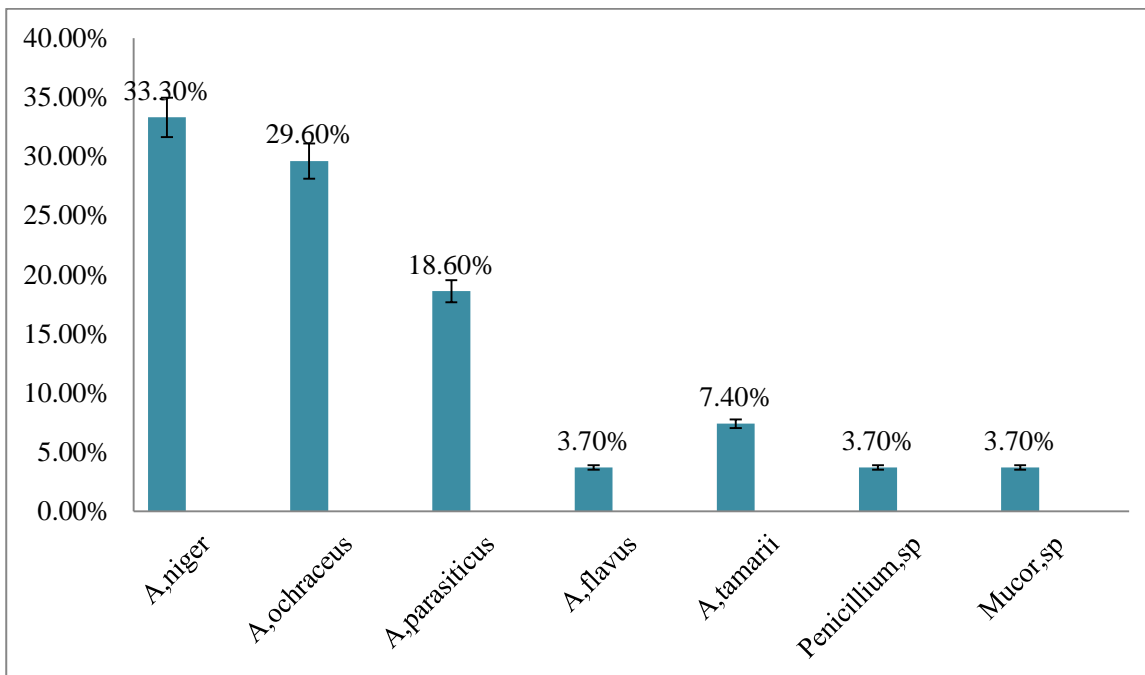


Figure4.5 : Abondance des espèces fongiques isolées de la variété Robusta Ivoirienne.

La figure 4.5 représente les espèces présents dans la variété Robusta Ivoirienne, le genre *Aspergillus* est le plus abondant, les espèces les plus dominantes sont l'*Aspergillus niger* et *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus parasiticus*.

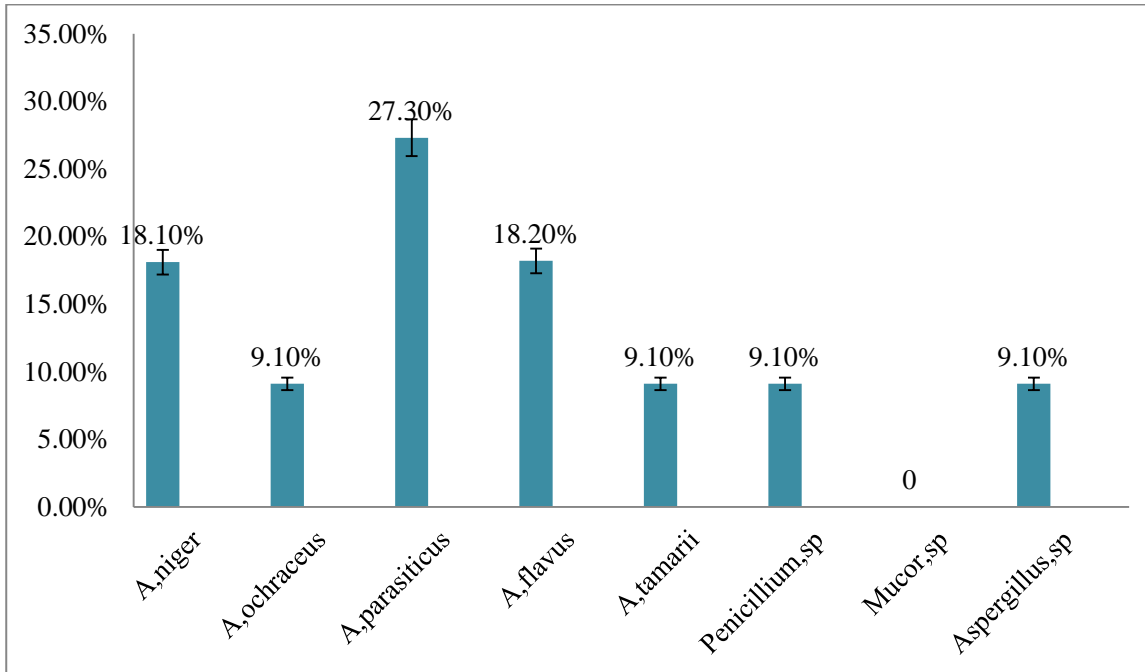


Figure4.6: Abondance des espèces fongiques isolées de la variété Robusta Vietnamiennel.

Toujours le genre *Aspergillus* est le dominant mais on remarque de faible abondance des espèces fongique dans la variété Robusta Vietnamiennel par la majorité de les espèces *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*.

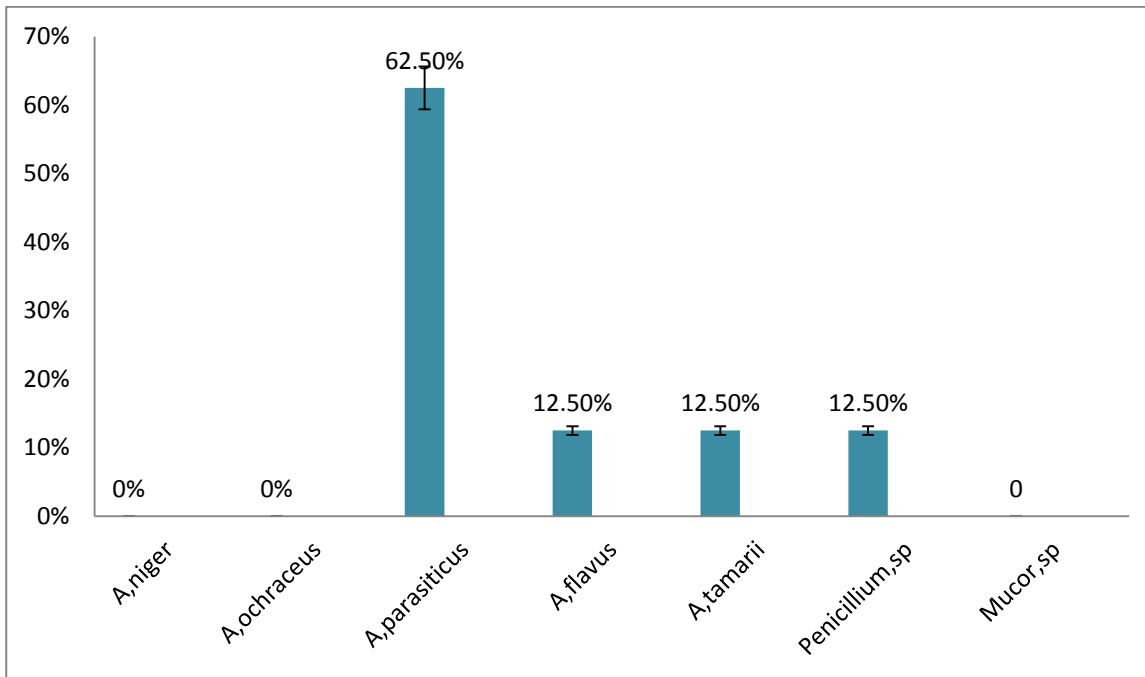


Figure4.7 : Abondance des espèces fongiques isolées de la variété Robusta Indonésienne.

La figure4.7 montre que l'espèce *Aspergillus parasiticus* est la plus fréquente dans la variété Robusta Indonésienne par une grande abondance, et les autres espèces *Aspergillus flavus*, *Aspergillus tamaritii* et *Penicillium.sp* représente la flore de stockage.

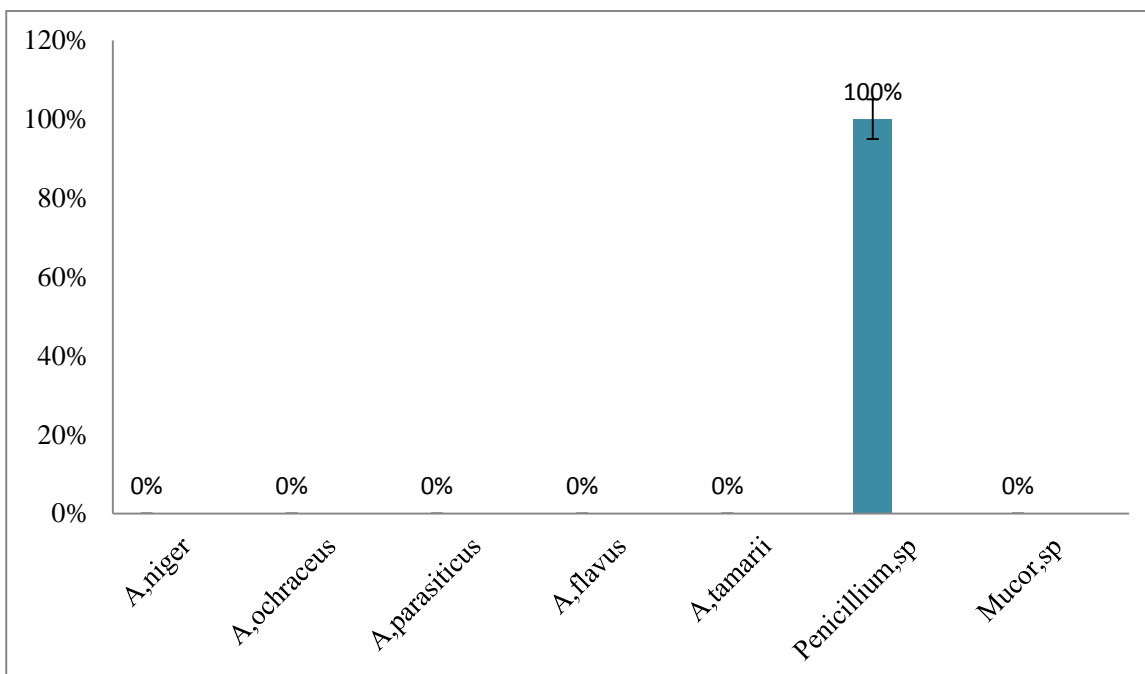


Figure4.8: Abondance des espèces fongiques isolées de la variété Robusta vietnamienne2.

La variété de café Robusta vietnamienne2 ce moins contamine par apport les autres variétés par une seule espèce qui le *Penicillium.sp*.

II. Identification du genre *Aspergillus* et genre *Penicillium* :

La méthode Pitt et Hocking et la méthode utilisée pour l'identification des espèces par déterminer les caractéristique macroscopique et microscopique.

L'identification a été réalisée sous microscope après culture sur lame (micro-culture).



Figure 4.9 : Observation microscopique de genre *Aspergillus* par microscope optique (Gr x20).



Figure 4.10 : Observation microscopique de genre *Penicillium* par microscope optique (Gr x20).



Figure 4.11 : Espèce du genre *Aspergillus flavus* sur milieu AFPA.

Discussion

Discussion :

Les 6 échantillons du café prélevés sont analysés pour connaître et déterminer les différents genres et espèces des moisissures productrices ou non de mycotoxine.

Pour l'analyse microbiologique (isolement et identification) nous avons utilisé 2 méthodes : Papier buvard et Ulster. Les résultats obtenus remarquent que la méthode buvard est la méthode qui prend le plus grand nombre de moisissures à taux de contamination 39.67 % par contre la méthode ulster qui prend de moins nombre de la moisissure à taux de contamination 10.67 %, car les facteurs de risque influent sur la qualité de milieu qui affecte aux résultats, ainsi que les moisissures préfèrent l'humidité pour bonne croissance.

Les variétés de café vert analysées prélevées de différentes origines, la variété Arabica Ivoirienne est la variété qui a révélé de grands pourcentages de contamination avec un taux de contamination de 90%, suivie de l'Arabica Brésilienne et Robusta Ivoirienne de taux de contamination entre 60% à 50%.

Les variétés les moins contaminées sont le Robusta Vietnamiennel et Robusta Indonésienne avec un taux inférieure de 20% et 16% à successivement et en fin la variété Robusta Vietnamiennel2 marquée le plus moins de taux de contamination par rapport aux autres variétés de peu de taux de contamination de 2%, ces valeurs sont faibles par rapport à la flore des champs et de stockage, et nous pensons ces résultats faibles à cause de l'utilisation des antifongiques dans le traitement post-récolte des grains de café vert.

Pendant l'identification des moisissures, le genre le plus abondant est l'*Aspergillus* dans toutes les variétés analysées qui représentent la flore de stockage.

Dans notre résultat on a obtenu 34% d'*Aspergillus niger* et 17% *Penicillium sp* et 13% de l'*Aspergillus ochraceus* dans la variété Arabica Ivoirienne.

Ces valeurs sont faibles par rapport à mes collègues, elles obtiennent de 82% d'*Aspergillus niger* dans le café Arabica Brésilienne (**Bouazzara H et Bouelle N., 2017**).

Pour l'identification d'espèce on utilise le milieu AFPA, ce milieu stimule l'*Aspergillus flavus* et l'*Aspergillus parasiticus* pour sécréter la toxine sous forme d'un aspect orange, notre résultat obtenu un aspect marron.

L'hypothèse appropriée pour le problème est l'échec de ces résultats soit il y a une contamination dans le milieu ou bien en a dépassé une étape de purification pour l'identification d'espèce.

Conclusion

Conclusion :

Le café est la boisson la plus consommée en Algérie, mais sa contamination peut entraîner des problèmes sanitaire et économiques dans le monde, Cependant, il existe plusieurs sources de pollution, que ce soit pendant la culture ou le stockage Comme exposition aux pesticides ou aux mycotoxines.

Le travail vise à reconnaître les moisissures qui contaminent des graines de café, Après de notre étude et à travers les résultats obtenus nous avons confirmé que le café est contaminé par les moisissures et on a pu identifier les espèces suivant : *A.flavus*, *A.paraciticus*, *A.ochraceus*, *A.terreus*, *A.niger* et nous pensions que ces souches ont la capacité de produire des mycotoxines (l'Ochratonine A et l'Aflatoxine B₁).

Dans le résultat obtenu au milieu AFPA les espèces identifiées ne secrètent pas des mycotoxines mais ça ne signifie pas que le café n'est pas pollué par les mycotoxines en raison de plusieurs facteurs intrinsèque et extrinsèque, Pour que notre étude s'intéresse les moisissures existe dans le café et pas aux mycotoxines.

Pour éviter la contamination des aliments, doivent être respectées les conditions de stockage, transformation ou de récolte de chaque aliment, le traitement des grains de café pour décontaminer les aliments est réduire le développement des moisissures.

Références bibliographiques

- **A.D. Hocking , J.I. Pitt , R.A. Samson , U. Thrane ., 2006.** Advances in Experimental Medicine and Biology , page: 61.
- Adebajo L.O, Bamgbelu O.A., 1994.** Mold contamination and the influence of water activity and temperature on mycotoxin production by two Aspergilli in melon seed. Die Nahrung. pp. 209-217.
- **Alban Gauthier., 2016.** Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. Sciences pharmaceutiques.
- **Belli N, Marin S, Sanchis V.,2004.** Influence of water activity and temperature on growth of isolates of aspergillus section nigri obtained from grapes, in International Journal of Food Microbiology.
- **Bouchet P, Guignard J-L,Pouchus Y-V., 2005.** Les champignons, mycologie fondamentale et appliquée. Paris: Masson 2èmeédition. pp.109-111.
- **Campbell C.K, Johnson E.M, Philpot C.M. et al., 1996.** Identification of pathogenic fungi, Public Health Laboratory Service.
- **Dilip K. Arora , Paul D. Bridge , DeepakBhatnagar ., 2004.**Fungal Biotechnology in Agricultural, Food, and Environmental Applications, page: 306 .
- **G. Reboux , S. Roussel, F. Grenouillet ., 2006.** Moisissures de l'environnement agricole. Page : 251.
- **G. Reboux et al ., 2010.** Moisissures et habitat : risques pour la santé et espèces impliquées.
- **Jan Dijksterhuis and Han Wösten ., 2013.** Development of Aspergillusniger, page: 9-10-16.
- **John Dighton , James F. White , Peter Oudemans ., 2005.** The Fungal Community Its Organization and Role in the Ecosystem , page: 20-120.
- **John F. Leslie , Antonio F. Logrieco ., 2014.**Mycotoxin Reduction in Grain Chains, page: 12.

- **M.N. Clifford and K.C. Willson ., 1988.** Coffee :Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage.
 - **MahendraRai and George Kovics ., 2010.** Progress in Mycology. Page: 97.
 - **Meyer A, Deiana J, Bernard A., 2004.** Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. France: Doin 2^{ème} édition.
 - **Pfohl-Leszkowicz A.,1999.** Les mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque.
 - **Pitt J.I, Hocking A.D.,1985.**Fungi and food spoilage. Sydney: Academic Press.
 - **Pushpa S. Murthy ,M. Madhava Naidu ., 2012.** Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review.
 - **Ramesh Maheshwari ., 2005.** Fungi Experimental Methods in Biology, page: 24.
- AFSSA, Mars 2009, Maison Alfort** Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale.Ressource numérique disponible sur : <https://www.anses.fr>.
- Afssa.2006.**Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.Rapport Synthétique. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animal.
- Ana JúliaBenites, Marlene Fernandes, Ana Rita Boleto, Sandra Azevedo, André etKhouryet Ali Atoui., 2010.**Ochratoxine A: General Overview and Actual Molecular Status.
- André etKhouryet Ali Atoui., 2010.**Ochratoxine A: General Overview and Actual Molecular Status.
- Athmani Leila ., 2008.** Thèse : Etat phytosanitaire des principales denrées importées au niveau du port d'Alger et des ports secs de Rouïba.
- Bacha H, R.Hadidane, E.E.Creppy, C.Regnault, F.Ellouze and G.Dirheimer., 1988.**Monitoring and identification of Fungal Toxins in Food Products, Animal Feed and Cereals in Tunisia.
- Bouazzara H, Boulella N., 2017.** Etude mycotoxicologique du café commercialesé dans la region de Lagouat.

Brochard G, Le Bacle C., Septembre 2009. Mycotoxines en milieu de travail. I. Origine et propriétés toxiques des principales mycotoxines. Document pour le médecin du travail, DMT n°129.

Castegnaro M, Barek J, Frémy J.M, et al.,1991. Laboratory Decontamination and Destruction of Carcinogens in Laboratory Wastes: Some Mycotoxins.

CDC(Centers for Disease Control and Prevention),,2004. Outbreak of aflatoxin poisoning Eastern and Central Provinces, Kenya.53, 2004.790–793.

Cole, R.J, Jarvis, B.B., Schweikert, M.A., 2003b. Handbook of
Debasis. B, Hiroyoshi. M, Anand. S., 2017. Green Coffee bean extract in human health.pp19.

Debry G ., 1993. Le café et la sante. Paris: John LibbeyEurotext; .pp560.

Florence Chapeland-Leclerc, Nicolas Papon, Thierry Noel, Jean Villard., 2005. Moisissures et Risques Alimentaires (Mycotoxicoles).

George G.Khachatourians et Dilip K.Arora., 2002. Applied mycology and Biotechnology- Volum2.Agriculture and food production.

Hannin.S, Hassikou.K, Benkirane, Ouazzanitouhami, A et Douira.A., 2003

Harris et Mantle., 2001. Thèse. Mari on Rouvier.2002.

http://www.hotellerierestaurant.acversailles.fr/cafeologie/diaporama/cerise_cafe_vert.pdf.

Indranil Samanta., 2014. Veterinary Mycology.

International Coffee Organization., 2019. Country data on the global coffee trade, [enligne], http://www.ico.org/profiles_e.asp,2019.

John F. Leslie et Antonio F. Logrieco., 2014. Mycotoxine Reduction in Grain Chains.

John L.Massey., 2016. Coffee –Production.Consumption and Health Benefits.

Khalid. K., 2010. le café: Marché et tendances, Revue de la filière agroalimentaire, Food magazine.

Levi, C. P., Trenk, H. L., & Mohr, H. K., 1974. Study of the occurrence of ochratoxin A in green coffee beans. Journal - Association of Official Analytical Chemists.

Marion Rouvier., 2002.L'ochratoxine A : Nature, Origine et Toxicite.These docteur vétérinaire université Toulouse.

MOURIA Btissam., OUAZZANI_Touhami Amina., DOUIRA Allal., 2012. Isolement et identification de la mycoflore du compost des déchets urbains solides.

Müller H.M.,1982. Decontamination of mycotoxins.I. Physicalprocess.

Nadine Zakhia-Rozis et Sabine Schorr-Galindo., 2013.Les Mycotoxines : Quelles Réponses de La Recherche à Cette Problématique.

Noël Durand,Daniel Duris1,Ang_eliq ue Fontana,OlayaCastellanos-Onorio,Mima Suarez-Quiroz,Sabine Schorr-Galindo1.,2013.Synthèse.

Pfohl-Leszkowicz, A., &Manderville, R. A. ,2007. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. Molecular Nutrition & Food Research.

References bibliographiques:

RivkaBarkai-Golan.AspergillusMycotoxins.

Sandra Silva, Ana Lúcia Leit~ao.,2016. Food Control.Occurrence of ochratoxinA in roasted coffee samples commercialized in Portugal.

Secondary fungal metabolites. Academic Press (Elsevier Science), USA,

Smith.A.W,R.J. Clarke,R.Macrae., 1985. Coffee. Volume1: chemistry.

Stella A., L'ABC daire du café. FA259301. Paris: Flammarion; 1998.199p.

Sweeney, M.J., Dobson, A.D.W. (1998) Review: Mycotoxin production by Aspergillus, Fusarium and Penicillium Species. International Journal of Food Microbiology 43 : 141–158.

USDA. , 2006.Grain Fungal Diseases and mycotoxin Reference.2006.

Van der Merwe, K. J., Steyn, P. S., Fourie, L., Scott, D. B., &Theron, J. J.

1965.,Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by AspergillusochraceusWilh. Nature.

Victor R Preedy., 2012.Cafeine.Cafeine: chemistry, Analysis, Function and Effects, Royal Society of chemistry, 2012.pp424.

Wogan, G. N., 2000. Impacts of chemicals on liver cancer risk. Seminars in Cancer Biology.

Yves Thé, Pierre Manda, Eric Elleingand, Felix HouphouëtYapi, Francis AdouYapo, Jean David N'Guessan, Sébastien D. Dano, Joseph Allico Djaman.,2014.Rôle de l'ochratoxine A dans le développement des tumeurs de la vessiechez les patients ivoiriens.

Annexes

Milieux de cultures :

PDA (Potatoes Dextrose agar).....1

Pomme de terre.....200 g

Glucose.....20g

Agar.....20 g

Eau distillé.....1000 ml

Eau physiologique.....2

Na Cl9g

Eau distillé.....1000 ml

AFPA (Milieu Sélectif pour *A. flavus* et *A.parasiticus*).....3

Extrait de levure.....20 g

Peptone.....10 g

Citrate ferrique ammoniacal.....0.5 g

Chloramphénicol.....0.1 g

Dichloran solution ethaolique à 0.2%.....1 ml

Agar.....15 g

Eau distillée.....1000 ml

Colorants :

Lactophénol.....	1
Phénol pur cristallisé.....	100 g
Acide lactique.....	100 g
Glycérol pur	100 g
Eau distillée	100 ml