



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



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE : SCIENCES

DEPARTEMENT : SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : BEGAG Hadja Zahra

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

FILIERE : SCIENCES AGRONOMIQUES

OPTION : AGROALIMENTAIRE ET CONTRÔLE DE QUALITÉ

Thème

**Isolement et caractérisation des
champignons toxigènes à partir du riz**

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	qualité
Mr. SAIDI Radhwane	Pr.	President
Mlle LOUNICI Safia	MAA	Examineur
Mlle ZAMOUM Miyada	MCA	Rapporteur

Promotion : juillet 2021

Remerciements

Au terme de cette étude, je tiens d'abord et avant tous de remercier Dieu tout puissant de m'avoir guidé et pour le courage, la patience et la santé qu'il nous a accordée durant toutes ces années d'études en particulier, et de vie en général, pour affronter toutes les difficultés et les obstacles, qui se sont hissés au travers de nos chemins.

“Celui qui ne remercie pas les gens ne remercie pas Dieu.”

Alors, Je tiens d'abord à adresser toute ma gratitude au **Dr Zamoum Miyada** laquelle ce travail n'aurait pu aboutir. Je la remercie pour sa gentillesse, son soutien et pour le fait de m'avoir fait partager son expérience. Je lui adresse toute ma reconnaissance pour sa patience, sa disponibilité et sa participation active lors de la rédaction de ce mémoire.

Je remercie aussi les membres de jury qui m'ont fait l'honneur d'accepter le jugement de mon travail.

Mes sincères reconnaissances à nos enseignants du Département des Sciences agronomiques.

Enfin, je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail, trouvent ici l'expression de mon profonde gratitude et respect.

Dédicace

Ce travail représente l'aboutissement du soutien et d'encouragement que mes parents **Merad Fatma** et **Begag Hassan**, et ma grand-mère **Belkacem Zohra** m'ont prodigué tout au long de ma scolarité, les trois personnes qui se sont beaucoup sacrifiées pour moi, m'ont aidée et soutenue, sans eux je n'aurais eu la volonté d'atteindre ce niveau. Merci pour tout et que Dieu vous donne bonne santé et longue vie parmi nous.

Je dédie ce travail aussi :

A mon cher frère **Mohammed** et mes chères sœurs **Anfal** et **Aya** qui ont toujours été là pour moi.

A mon beau-frère **Lamine** et mes petites nièces **Roufida** et **Fatima Zohra**.

A toute ma famille, mes oncles **Djamel** et **Krimo** et mes cousines.

A tous mes amis **Naima**, **Fatima** et **Houda**. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de succès et de bonheur.

A tous les enseignants et les éducateurs qui ont contribué à ma formation durant tout le parcours de mes études jusqu'à ce jour ;

A toute la promotion de **2020 /2021** Agro-alimentaire et contrôle de qualité.

ZAHRA

Begag

Isolement et caractérisation des champignons mycotoxinogènes à partir du riz

Résumé :

Au cours de ce travail, nous avons évalué le taux de contamination de cinq échantillons de riz blanc et cinq échantillons de riz étuvé prélevés de plusieurs points de vente dans la Wilaya de Laghouat, en utilisant la méthode d'ensemencement directe. L'identification des espèces fongiques repose sur l'analyse des critères macroscopiques et microscopiques.

Cette méthode nous a permis d'isoler et d'identifier vingt-huit (28) souches fongiques à partir de riz blanc.

Ces souches appartiennent aux genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* et *Rhizopus*, avec une dominance de genre *Aspergillus* (45%) suivi de genre *Penicillium* (38%).

Et dix-neuf (19) souches fongiques à partir de riz étuvé appartient aux genres *Penicillium*, *Rhizopus* et *Aspergillus*, dont le genre le plus fréquent et le genre *Penicillium* avec un pourcentage de (58%).

Ce travail montre que la traitement thermique (étuvation) qui subis le riz étuvé réduire le risque de contamination de riz par ces champignons.

En prospectivement il serait intéressant d'étudier :

Le degré de la contamination par les mycotoxines : aflatoxine B1 et ochratoxine A (OTA) dans le riz. Ainsi l'étude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines.

Mots clés : isolement, identification, riz, champignons, mycotoxines, *Aspergillus*, *Penicillium*, Laghouat.

عزل وتمييز الفطريات السامة من خلال الأرز

ملخص

خلال هذا العمل، قمنا بتقييم معدل تلوث خمس عينات من الأرز الأبيض وخمس عينات من الأرز المسلوق مأخوذة من عدة نقاط بيع في ولاية الاغواط، باستخدام طريقة البذر المباشر . ويستند تحديد الأنواع الفطرية على تحليل المعايير العيانية والمجهرية.

سمحت لنا هذه الطريقة بعزل وتحديد ثمانية وعشرين (28) سلالة فطرية من الأرز الأبيض.

وتتنمي هذه السلالات إلى أجناس *أسبيرجيلوس* و *بينيسيليوم* و *ألترناريا* و *ريزوبوس*، مع هيمنة جنس *أسبيرجيلوس* (45 في المائة) متابعة بجنس *البنسليوم* (38 في المئة).

و19 سلالات فطرية من الأرز المسلوق ينتمي إلى جنس *البنسليوم*، *ريزوبوس* و *أسبيرجيلوس*، منها الجنس الأكثر شيوعا جنس *البنسليوم* بنسبة (58%).

هذا العمل يدل على أن المعالجة الحرارية التي مر بها الأرز المسلوق قللت من خطر تلوث الأرز من قبل هذه الفطريات ومن تطلعاتنا سيكون من المثير الاهتمام دراسة:

درجة التلوث بالسموم الفطرية (الأفلاتوكسين والأوكراتوكسين) في الأرز وبالتالي دراسة الظروف التي يمكن أن تقلل من إنتاج هذه السموم .

الكلمات الدالة: العزلة، تمييز، الأرز، الفطريات، السموم الفطرية، *أسبيرجيلوس*، *البنسليوم*، الاغواط.

Begag

Isolation and characterization of mycotoxigenic fungi from rice

Summary

During this work, we evaluated the contamination rate of five samples of white rice and five samples of parboiled rice taken from several sales points in the Wilaya of Laghouat, using the direct seeding method on. The identification of fungal species is based on the analysis of macroscopic and microscopic criteria.

This method allowed us to isolate and identify twenty-eight (28) fungal strains from white rice.

These strains belong to the genera *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* and *Rhizopus*, with a dominance of genus *Aspergillus* (45%) followed by genus *Penicillium* (38%), and nineteen (19) fungal strains from parboiled rice belong to the genera *Penicillium*, *Rhizopus* and *Aspergillus*, of which the most frequent genus is the genus *Penicillium* with a percentage of (58%).

Prospectively it would be interesting to study: The degree of mycotoxin contamination: aflatoxin B1 and ochratoxin A (OTA) in rice. Thus, the study of the conditions that can reduce the production of mycotoxins.

Key-words: isolation, identification, rice, fungi, mycotoxins, *Aspergillus*, *Penicillium*, Laghouat.

Liste Des abréviations

AFB1 : Aflatoxine B1

OTA : Ochratoxine A

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

OMS : Organisation mondiale de la santé

CIRC : Centre international de recherche sur le cancer

HBV : Virus de l'hépatite B

UE : Union européenne

CE : Commission européenne

EFSA : Autorité européenne de sécurité des aliments

DJA : La dose journalière admissible

LMR : Limite maximale de résidus

HACCP: Hazard Analysis Critical Control Point

OAIC : Organisme Algérien pour l'importation des céréales

Liste Des Tableaux

Tableau 01 : Principaux types de riz.....	06
Tableau 02 : La qualité nutritionnelle du riz blanc et du riz étuvé.....	09
Tableau 03 : Les Penicillium producteurs des mycotoxines.....	22
Tableau 04 : les mycotoxines rencontrées dans les céréales.....	23
Tableau 05 : Echantillonnage du riz.....	31
Tableau 06 : Les genres fongiques obtenus par la méthode d'ensemencement directe.....	37

Liste Des Figures

Figure 01 : Description et caractéristiques de riz

Figure 02 : Le marché mondial du riz

Figure 03 : L'usinage du riz

Figure 04 : La contamination de quelques denrées alimentaires par les champignons mycotoxigènes

Figure 05 : La position systématique d'*Aspergillus*

Figure 06 : Une moisissure ("*Aspergillus niger*") vue au microscope électronique

Figure 07 : A : Observation microscopique d'*Aspergillus flavus* (Gr x40). B ; Colonie d'*Aspergillus flavus*

Figure 08 : A : Observation microscopique d'*Aspergillus niger* (Gr x 100). B ; Colonie d'*Aspergillus niger* sur milieu sabouraud

Figure 09 : A : Observation microscopique d'*Aspergillus ochraceus* (Gr x 100). B ; Colonie d'*Aspergillus ochraceus* sur milieu sabouraud

Figure 10 : Une colonie d'un *P. roqueforti*

Figure 11 : Une moisissure ("*Penicillium spp*") vue au microscope électronique

Figure 12 : Colonie d'*A. parasiticus* isolé à partir du riz (gauche) et sa fluorescence sous l'UV (droite).

Figure 13 : Structure chimique de l'Aflatoxine B1 (AFB1)

Figure 14 : Structure chimique de l'ochratoxine A

Figure 15 : Les échantillons du riz analysés

Figure 16 : Désinfection superficielle des grains riz

Figure 17 : La méthode d'isolement direct (direct plating) de graines de riz

Figure 18 : Purification des isolats

Figure 19 : Répartition des pourcentages des genres fongiques isolés à partir de riz blanc

Figure 20 : Répartition des pourcentages des genres fongiques isolés à partir de riz étuvé.

Figure 21 : Les colonies fongiques obtenus par l'ensemencement direct des graines de riz

Figure 22 : L'aspect macroscopique (A). Et microscopique d'*A. niger* (B) (grossissement x40)

Figure 23 : : L'aspect macroscopique (A). Et microscopique d'*A. flavus* (B) (grossissement x40)

Figure 24 : L'aspect macroscopique (A). Et microscopique d'*A. ochraceus* (grossissement x40)

Figure 25 : L'aspect macroscopique (A). Et microscopique d'un *Penicillium sp* (B)

(Grossissement x40)

Figure 26 : L'aspect macroscopique (A). Et microscopique d'*Alternaria alternata* (B)

(Grossissement x40)

Figure 27 : L'aspect macroscopique (A). Et microscopique de *Rhizopus*(B)

(Grossissement x40).

Table des matières

Remerciement.....	I
Dédicaces	II
Résumé.....	III
Liste Des abréviation.....	VI
Liste Des Tableaux.....	VII
Liste Des Figures.....	VIII
Table des matières.....	X
INTRODUCTION.....	01
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	03
1. GÉNÉRALITÉS SUR LE RIZ.....	04
1.1 Origine et description botanique	04
1.2 Morphologie du riz	04
1.3 La production de riz.....	05
1.4. Principaux types de riz.....	06
1.5 L’usinage du riz.....	07
1.6 L’étuvage du riz.....	08
1.7 Les avantages de l’étuvage.....	08
• Modifications chimiques.....	08
• Modifications physiques.....	08
• Modifications organoleptiques.....	09
2. GÉNÉRALITÉS SUR LES CHAMPIGNONS.....	10
2.1 Contamination de riz par les champignons mycotoxinogènes	11
2.2 Principales moisissures mycotoxicogènes.....	12
2.2.1 <i>Aspergillus</i>	12
2.2.1.1 Classification.....	12

2.2.1.2 Critères d'identification microscopiques et macroscopiques.....	13
2.2.1.3 physiologie.....	14
2.2.1.4 <i>Aspergillus flavus</i>	15
a. identification macroscopique et microscopique.....	15
b. Toxicité et pouvoir pathogène.....	16
2.2.1.5 <i>Aspergillus niger</i>	16
a. identification macroscopique et microscopique.....	16
b. Toxicité et pouvoir pathogène.....	17
2.2.1.6 <i>Aspergillus ochraceus</i>	17
a. identification macroscopique et microscopique.....	17
b. Toxicité et pouvoir pathogène.....	18
2.2.2 <i>Penicillium</i>	18
2.2.2.1 La taxonomie de <i>penicillium</i>	19
2.2.2.2 Caractères cultureux généraux.....	20
2.2.2.3 Potentiel toxigène.....	21
3. Les mycotoxines en alimentation humaine.....	22
3.1 Aflatoxines B1 (AFB1)	24
3.1.1 Exposition de l'homme aux aflatoxines.....	25
3.1.2 Effets chez l'homme.....	25
3.1.3 Règlementation.....	26
3.2 Ochratoxine.....	26
3.2.1 Exposition de l'homme aux ochratoxines.....	27
3.2.2 Profil Toxicologique.....	27
3.2.3 Règlementation.....	28
3.3 Stratégies préventives pour contrôler les mycotoxines dans les aliments.....	28
3.3.1 Vers une approche stratégique et globale de lutte contre les mycotoxines.....	29
MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	30
1. Matériel utilisé	31

1.1. L'origine de riz commercialisé en Algérie.....	21
2. Méthodes.....	32
2.1 Désinfection de la surface des grains.....	32
2.2 La methode d'isolement direct (direct plating)	33
3.Purification des isolats.....	34
4. Méthodes d'identification des souches fongiques	34
4.1. Identification selon les caractères culturaux (macroscopiques).....	34
4.2. Les caractères microscopiques.....	35
RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	36
1. Résultats.....	37
1.1. Riz blanc.....	38
1.2. Riz étuvé.....	39
2. Identification des champignons toxicogènes.....	41
2.1. <i>Aspergillus Niger</i>	41
2.2. <i>Aspergillus flavus</i>	42
2.3. <i>Aspergillus ochraceus</i>	43
2.4. <i>Penicillium</i>	44
2.5. <i>Alternaria</i>	45
2.6 <i>Rhizopus</i>	46
DISCUSSION.....	47
Conclusion et perspectives.....	51
Références bibliographiques	
Annexes	

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires toxiques synthétisés par des moisissures qui contaminent de nombreuses denrées d'origine végétale, notamment les céréales qui sont le premier facteur d'exposition des consommateurs à ces molécules présentant un réel risque pour la santé humaine et animale (Pellan et al., 2018).

Les consommateurs sont aujourd'hui très sensibles à la notion du risque alimentaire. Si le risque infectieux ou parasitaire est bien compris, celui associé à la présence naturelle des moisissures (champignons microscopiques filamenteux) et de leurs toxines au sein de l'alimentation est le plus souvent ignoré (Khaoula et al., 2020).

De nos jours, la qualité et la sécurité des produits agro-alimentaires courants sont menacées par un grand nombre de mycotoxines. Leur contamination par les champignons microscopiques toxigènes et leur impact néfaste sur la santé humaine et animale ainsi que sur le commerce international sont de plus en plus approuvés par les autorités aussi bien dans les pays développés que dans les pays en voie de développement (Nadjet et al., 2016).

En effet, dans certaines conditions climatiques ou de mauvaise conservation, ces micro-organismes peuvent se développer et conduire à une production de mycotoxines pouvant être néfaste à la santé des animaux et de l'homme, en provoquant un certain nombre de troubles voire des maladies graves (Boudra, 2009).

Le développement non souhaité des moisissures sur une denrée est associé à de multiples nuisances : modification de l'aspect de l'aliment et de ses caractéristiques organoleptiques et chimiques (D'mello, 1997).

Ces aléas conduisent généralement à l'élimination des produits, ce qui entraîne aujourd'hui à l'échelle mondiale une perte de la production alimentaire estimée à 5 à 10% (Yiannikouris, 2002).

Environ 4,5 milliards de personnes dans les pays en voie de développement sont exposés à des denrées alimentaires dont la contamination par les aflatoxines et les ochratoxines n'est pas contrôlée. Les mycotoxines sont donc un problème majeur (Nadjet et al., 2016).

Introduction Générale

L'Algérie, pays importateur de produits en grains, attentif au danger des moisissures toxigènes et disposant très peu de laboratoires utilisant en routine le dosage des mycotoxines, n'applique pas régulièrement au niveau des ports stratégiques les diverses mesures préventives ou procédures de surveillance afin de palier au dommage notable sur la santé du consommateur. Jusqu'à présent, il y a très peu d'informations sur le taux de mycotoxines préjudiciable engendré par ces contaminants naturels pervers, par conséquent l'ingestion régulière qui a lieu, fait susciter des questionnements sur les champignons toxigènes à rechercher, les relations dose-effet, et les outils les plus efficaces à mettre en place pour freiner cette flambée ou cauchemar épidémique (Nadjjet et al., 2016).

Notre étude a pour l'objectif, d'isoler et l'identifier des champignons toxigènes à partir des grains de riz étuvé et non étuvé (blanc) commercialisés dans la Wilaya de Laghouat, et d'évaluer l'effet des procédures industriels sur la présence des champignons mycotoxinogènes dans nos échantillons.

Revue bibliographique

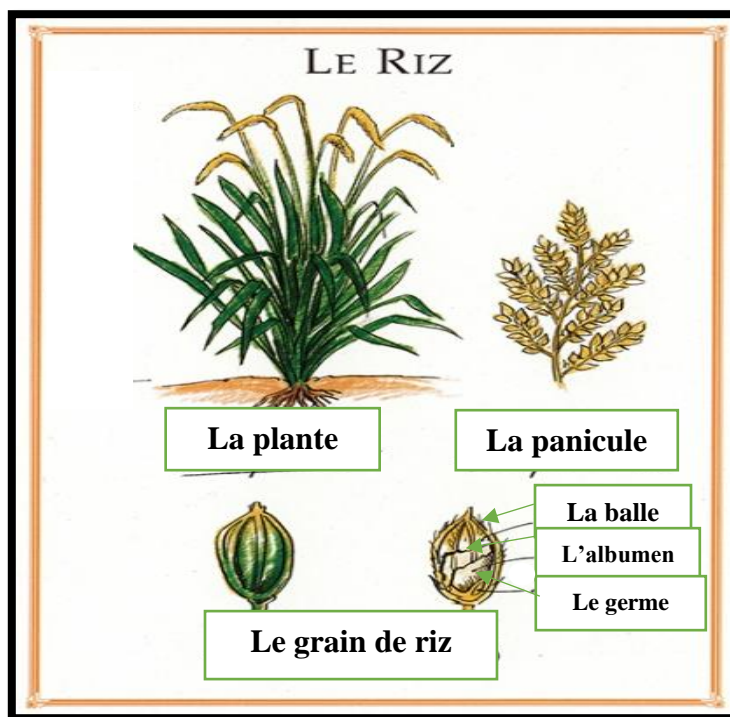
1. GÉNÉRALITÉS SUR LE RIZ

1.1 Origine et description botanique

Le riz est une plante monocotylédone de la famille des graminées et du genre *Oryza*. Le genre *Oryza* comprend de nombreuses espèces sauvages et deux espèces cultivées : *Oryza sativa* et *Oryza glaberrima*. Il est reconnu que ces deux espèces viennent de deux zones géographiques différentes. *O. sativa* a été domestiquée quelques parts en Chine ou en Inde tandis qu'*O. glaberrima* a été domestiquée dans l'ancien delta du fleuve Niger au Mali. La première espèce est cultivée à Madagascar et dans les autres pays rizicoles du monde tandis que la deuxième espèce est en régression. Il existe un très grand nombre de variétés. Elles sont généralement regroupées en deux types : le type indica et le type japonica. Le type indica regroupe les variétés à grains plutôt longs et asymétriques. Ce sont des variétés de climat tropical par contre le type japonica regroupe les variétés à grains plutôt ronds et symétriques. Ce sont des variétés de climat subtropical et tempéré (Arraudeau, 1998).

1.2 Morphologie du riz

Le riz est une plante herbacée annuelle, à port dressé. Une fois germée, la graine émet une racine principale qui dégénère rapidement pour être remplacée par des racines adventives. Les racines adventives se développent à partir du collet en se ramifiant sur le plan horizontal et en profondeur. Les tiges sont de formes cylindriques et portent des nœuds sur lesquels s'insèrent les feuilles. Une feuille est composée d'une gaine qui enveloppe la tige, et d'un limbe parcouru par des nervures fines et parallèles. Les feuilles se développent l'une après l'autre et leur répartition est alternée sur la tige. Au début de la croissance, un plant de riz émet des talles. L'ensemble tige-feuilles constitue la talle. Les talles sont disposées en touffe et portent à maturité la panicule. La panicule longue de 20 à 40 cm est ramifiée et porte les fleurs. Les fleurs appelées épillets donnent des graines regroupées en inflorescences. Les épillets sont à la fois des fleurs mâles et femelles, après autofécondation, elles produisent des grains. Un grain est constitué d'un caryopse enveloppé dans deux glumelles adhérentes, l'ensemble est appelé paddy ou grain de paddy. (Figure 01) (Arraudeau, 1998).



Source : (Mouret, 2013)

Figure 01 : Description et caractéristiques de riz

1.3 La production de riz

Les prévisions actuelles concernant la production mondiale de céréales indiquent une troisième année consécutive de croissance modérée. Les premières prévisions de la FAO concernant la production en 2021 s'établissent à présent à près de 2 821 millions de tonnes (y compris le riz en équivalent usiné), soit un nouveau record et une progression de 1,9 pour cent par rapport à 2020. La plus grande partie de la croissance prévue cette année concerne la production de maïs, qui devrait augmenter de 3,7 pour cent par rapport à 2020. La production mondiale de blé devrait, quant à elle, enregistrer une hausse de 1,4 pour cent en glissement annuel et il est prévu que la production de riz progresse de 1,0 pour cent.

Revue bibliographique

Marché mondial du riz					
	2017/18	2018/19	2019/20	2020/21 estimation	2021/22 prévision (03 juin 2020)
	(..... millions de tonnes)				
Production^{1/}	499.9	508.2	502.9	514.0	519.1
Disponibilités^{2/}	673.6	685.0	689.0	697.0	703.0
Utilisation	498.0	501.3	504.4	513.2	520.6
Commerce^{3/}	48.7	44.2	45.4	48.0	47.9
Stocks de clôture^{4/}	176.8	186.1	183.0	183.9	184.6
	(..... pour cent)				
Rapport stocks mondiaux- utilisation	35.3	36.9	35.7	35.3	35.1
Rapport stocks des principaux exportateurs- utilisation totale^{5/}	18.1	22.5	24.5	24.9	26.0

Figure 02 : Le marché mondial du riz. (FAO, 2021).

1.4. Principaux types de riz

Tableau 01 : Principaux types de riz (Temple et al., 2021).

Type de riz	Caractéristiques
Le riz basmati	L'un des plus connus et les plus appréciés, il a une texture et une saveur légères, sèches et parfumées.
Le riz brun ou riz complet.	Riz entier sans enveloppe extérieure, assez long à cuire.
Le riz blanc	Décortiqué et poli et perdu une grande partie de ses éléments nutritifs.
Le riz rouge	Riz avec une couche de son rouge.
Le riz noir	Riz avec une fine couche de sa noir
Le riz arborio	Riz blanc rond classique considéré comme un des riz les plus fins
Les riz aromatiques	Sont beaucoup plus savoureux que les autres variétés de riz étant donné leur goût particulier.

1.5 L'usinage du riz

Des dizaines de milliers de variétés de riz sont cultivées à travers le monde ; tout au plus quelques-unes d'entre elles sont offertes à notre choix dans les magasins d'alimentation. Le terme RIZ désigne le grain récolté, comme il désigne l'aliment cuisiné, mais le riz ne se consomme pas sous la forme où il est récolté. Avant d'arriver dans l'assiette des consommateurs, il subit un usinage qui le transforme en riz consommable. (Cruz, 2005)

Chacune des étapes de cette transformation a une influence sur la qualité du produit. Après la récolte, le riz est battu. On obtient alors, des grains qui sont encore vêtus de leur balle (les glumes et glumelles), c'est le riz paddy. Le riz subit une opération de décortiquage. Il est alors débarrassé de ses glumes et glumelles, et devient le riz cargo ou riz complet. Il est déjà consommable mais assez long à cuire (40 à 45 minutes). Le riz est ensuite blanchi par abrasion des grains qui sont ainsi débarrassés de leurs périsperme (plus ou moins coloré), téguments et germe. On obtient du riz blanchi (Figure 03).

Le terme usinage est utilisé pour désigner l'ensemble de ces deux opérations successives. (Cruz, 2005)

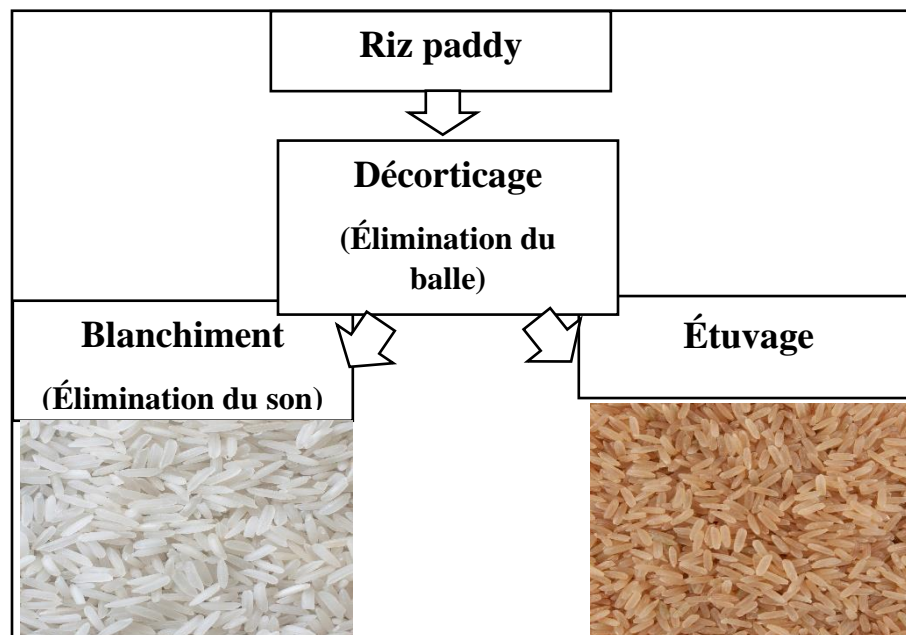


Figure 03 : L'usinage du riz.

Source : (Cruz, 2005)

1.6 L'étuvage du riz

L'étuvage est une technologie appliquée au riz paddy qui consiste en un traitement à la vapeur des grains préalablement réhumidifiés Jusqu'à environ (30%). Après étuvage, le paddy est à nouveau séché jusqu'à l'humidité de sauvegarde (13%). Ce procédé accroît nettement la qualité technologique du riz car il permet de colmater les fissures du grain et de durcir l'amande. Le rendement en grains entiers en est ainsi amélioré et le taux de grains brisés est réduit. L'étuvage améliore également la qualité nutritionnelle (vitamines hydrosolubles et minéraux) et la qualité culinaire du riz. Le riz étuvé cuit est plus ferme, moins collant et les pertes à la cuisson sont réduites. Le seul inconvénient de l'étuvage, pour certains, est qu'il provoque une coloration du grain qui revêt une teinte ambrée ou dorée (CRUZ, 2005).

1.7 Les avantages de l'étuvage

L'étuvage du riz permet la réduction du taux de brisures au décorticage, d'améliorer le rendement, et la réduction des pertes en éléments nutritifs au cours du décorticage et de la cuisson du riz.

Les principales modifications chimiques, physiques et organoleptiques produites par l'étuvage

Sur le riz sont :

- **Modifications chimiques.**

- les substances hydrosolubles (vitamines et sels minéraux), les substances liposolubles, et les globules lipoïdes de l'albumen se dissolvent et se diffusent dans tous les grains.

L'amidon gélatinisé se présente comme une masse compacte et homogène.

Les lipides sont séparés et s'enfoncent dans la masse compacte d'amidon gélatinisé.

- **Modifications physiques :**

Le séchage ramène la teneur en eau du grain au niveau optimal pour l'usage.

Tous les processus biologiques latents ou actifs (germination, prolifération des spores de Champignon, développement d'insectes à différents stades) sont définitivement stoppés.

Revue bibliographique

- le rendement à l'usinage est meilleur et la qualité est améliorée parce qu'il y a moins de Grains brisés.

- le riz étuvé, usiné ou non se conserve mieux et plus longtemps, car la germination n'est plus Possible et la texture compacte de l'albumen lui permet de mieux résister aux attaques des Insectes et de ne pas absorber l'humidité du milieu ambiant.

- **Modifications organoleptiques :**

Les plus importantes modifications organoleptiques sont :

Le riz étuvé cuit est plus digeste, du fait de sa texture et de sa consistance ferme.

Après cuisson, les grains sont plus fermes et ont moins tendance à coller (Espérance, 2010).

Tableau 02 : La qualité nutritionnelle du riz blanc et du riz étuvé (Todomé et al., 2018)

	Riz étuvé	Riz blanc
Calories	151 KCal	320 KCal
Glucides	31,1g	72,6g
Fibres	0,82g	0,6g
Protéines	2.91g	4,2g
Lipides	1,44g	0,4g
Calcium	11.1mg	16mg
Potassium	41.7mg	56mg
Vitamine E	1,4mg	0,08mg
Phosphore	35mg	68mg

2. GÉNÉRALITÉS SUR LES CHAMPIGNONS

Les champignons mycotoxinogènes appartiennent au règne des Fungi ou des Eumycota. Ils sont des micro-organismes eucaryotes, généralement filamenteux, saprophytes ou parasites, hétérotrophes dépendant d'une source de carbone organique (Bensaâda et al., 2010).

La colonie fongique est constituée d'un réseau d'hyphes appelé mycélium. Ils produisent un grand nombre de spores leur assurant un pouvoir de contamination considérable. Elles sont susceptibles d'être présentes dans le sol (habitat primaire), l'air atmosphérique, l'eau et notamment sur une large gamme d'aliments variés, végétaux ou animaux, les céréales (maïs, riz, orge, blé, etc.) et leurs produits dérivés, les lentilles, le tournesol, le soja, les fruits frais ou secs, les arachides, les amandes, les noix, les pistaches, le café, les graines de coton, les épices (poivre, paprika, gingembre, etc.), les jus de fruits, le cidre, les pâtures, les aliments de bétail et de volailles, les ensilages et les fourrages, lait et ses dérivés, viande, etc. (Boudih, 2011).



Source : (Olivier, 2010 ; Cocaul, 2020)

Figure 04 : La contamination de quelques denrées alimentaires par les champignons mycotoxinogènes.

2.1 Contamination de riz par les champignons mycotoxinogènes

Le riz, le maïs et le millet, aliments de base des populations des pays aux conditions climatiques chaudes et humides (et donc en particulier les pays d’Afrique, d’Asie du Sud et d’Amérique du Sud), sont souvent contaminés par les aflatoxines. Environ 55 millions de tonnes de céréales sont perdus chaque année dans le monde (Pfohl-Leszkowicz et al., 2002).

Le riz non-décortiqué du sud-est de l’Asie comporte une grande variété de mycètes. Les moisissures principales sont *Alternaria*, *Curvularia sp.*, *Fusarium oryzae*, *Nigrospora oryzae*, *Chaetomium sp.*, *Phoma sp.*, *Diplodia maydis* Ont isolé les mêmes moisissures du riz indien immédiatement après récolte. (Pitt et al., 2000).

Sur le riz non décortiqué égyptien, certaines espèces d'*Aspergillus* (*A. flavus*, *A. sydowii*, *A. terreus*, *A. fumigatus* et *A. ochraceus*) et certaines espèces de *Penicillium* (*P. chrysogenum* et *P. corylophilum*) ont été isolées, avec *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Trichoderma viride*, *Mucor racemosus* (Abdel-Hafez et al., 1987).

Le riz non-décortiqué est contaminé à des taux élevés par des mycètes de champ, notamment *Fusarium semitectum*, *Bipolaris oryzae*, et *Curvularia sp.*, *Phoma sp.* Et *Colletotrichum sp.* Cependant, une fois le riz décortiqué, il est très peu contaminé par des mycètes, qui sont pour la plupart d'origine de stockage (Pitt et al., 2000).

Les espèces d'*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* et *Alternaria* ont été isolées des échantillons de riz non décortiqué, et de riz poli coréen. *Aspergillus* est le genre dominant pendant le stockage ; *P. citrinum* et *A. candidus* étaient les espèces prédominantes infectant les échantillons, suivis des espèces d'*Alternaria* et d'*A. versicolor*.

Les espèces rapportées de *Penicillium* telles que *P. citrinum* et *P. islandicum* sont prédominantes dans les échantillons de riz décortiqué de l’Argentine et du Paraguay ont isolé *A. flavus*, *A. niger*, *Alternaria*, *Penicillium spp.*, mais aussi *Fusarium spp.* (*F. solani*, *F. moniliforme*, et *F. graminearum*) sur des échantillons de riz polis en Inde (Nguyen, 2007).

2.2 Principales moisissures mycotoxigènes

Les champignons majeurs connus comme précurseurs de l'OTA et de l'AFB1 qui sont impliqués dans la chaîne alimentaire humaine et animale, appartiennent principalement aux genres : *Aspergillus* et *Penicillium* (Delmas-Marty et al., 2003).

2.2.1 *Aspergillus*

Les *Aspergillus* ont une large répartition géographique, mais sont plus souvent associés aux régions à climat chaud (Molinié et al., 2005). Ils peuvent se développer sur de très nombreux substrats : matière organique en décomposition, sol, compost, fruits secs, arachides, céréales... De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont aussi présentes dans les environnements intérieurs, notamment dans la poussière et l'air (Morin et al., 1994).

Certaines espèces peuvent être directement pathogènes pour l'homme et les animaux en étant capable d'envahir les tissus vivants et provoquer des aspergilloses (*Aspergillus fumigatus* responsable de mycoses pulmonaires ; *Aspergillus Niger* responsable d'aspergillose du conduit auditif) (Morin, 1994). D'autres espèces ont un intérêt industriel car utilisées pour produire certaines enzymes d'intérêt ou participer à la fabrication d'aliments (sauce soja, sake) (Kaya-Celiker et al., 2015).

2.2.1.1 Classification

Le genre *Aspergillus* est classé dans la division des Deutéromycètes. De même que pour les *Penicillia*, certaines formes sexuées d'*Aspergillus spp* sont connues et appartiennent à la division des Ascomycètes, famille des Trichocomacées. Dont les genres les plus notables sont *Eurotium* et *Emericella*. Environ 180 espèces, réparties en 18 groupes, composent le genre *Aspergillus*. Sur ces 180 espèces, une vingtaine est pathogène pour l'Homme et l'animal (Gams et al., 1986).

Plus récemment, la section *Aspergillus* a été ajoutée. Elle correspond aux espèces autre fois regroupées sous le nom d'*Eurotium* (Yin et al., 2017).

De plus, l'utilisation des outils de biologie moléculaire a conduit à l'identification fréquente de nouvelles espèces et la taxonomie de ce genre fongique est donc en constante évolution (*A. hancockii* ; *A. korhogoensis*) (Carvajal et al., 2017).

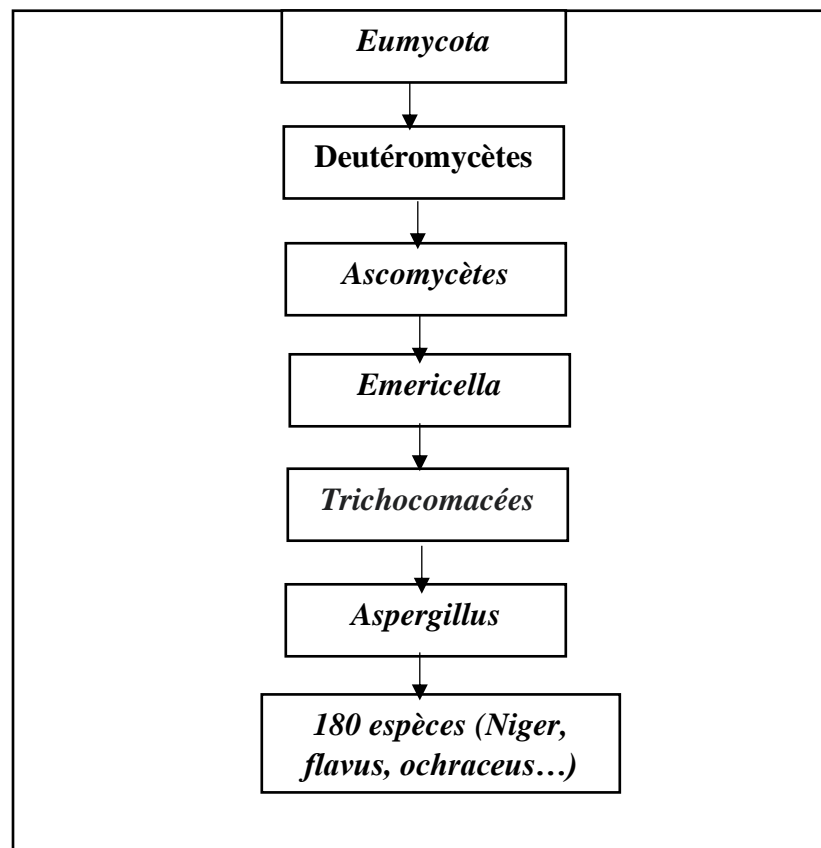


Figure 05 : La position systématique d'*Aspergillus*.

2.2.1.2 Critères d'identification microscopiques et macroscopiques

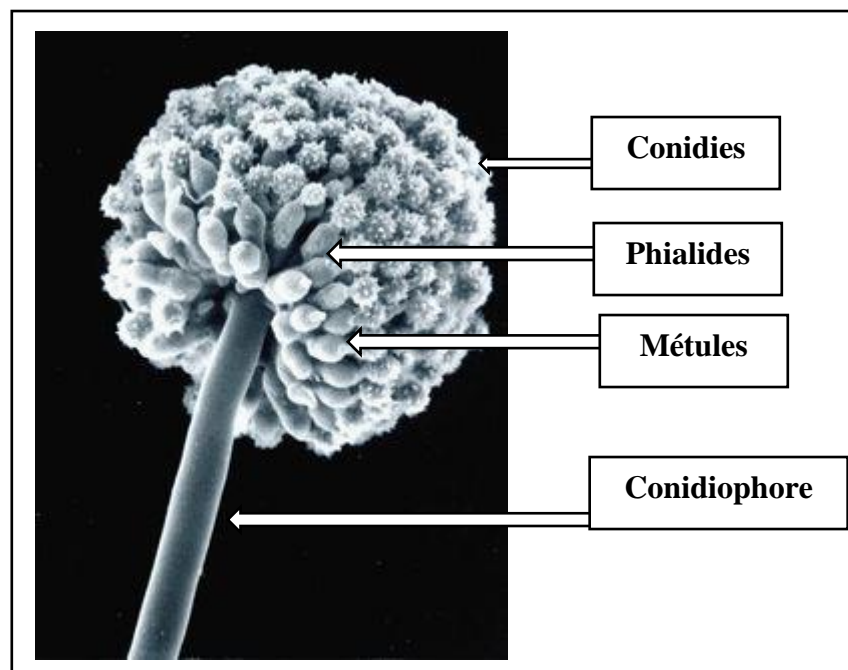
Les colonies d'*Aspergillus* spp, sont duveteuses ou poudreuses, à développement rapide. Elles sont le plus souvent de couleurs vives et variées. Les colonies vont prendre leur teinte caractéristique, brune, verte, jaune ou noire selon les espèces. La couleur de colonies permet parfois une orientation rapide de l'identification : par exemple *Aspergillus candidus* est blanc, *Aspergillus ochraceus* est ocre (d'où son nom), *Aspergillus Niger* est noir et les autres comme *Aspergillus glaucus* et *Aspergillus flavus* sont dans les tons verts. Cependant, l'identification des espèces morphologiquement proches nécessite un examen plus approfondi, à l'échelle microscopique (Makhlouf, 2019).

L'appareil végétatif d'*Aspergillus* spp est formé de filaments mycéliens cloisonnés et ramifiés. Se dressent sur ces filaments végétatifs les conidiophores qui se terminent par une vésicule de forme variable. La forme et la taille de cette vésicule sont spécifiques de l'espèce en question.

Revue bibliographique

Les phialides peuvent être insérées directement sur la vésicule : dans ce cas on parlera de « tête unisériée ». Si les cellules conidiogènes sont précédées de métules, on parlera de « tête bisériée ».

L'ensemble phialides/métules forme le stérigmate. Le stérigmate, la vésicule et les spores constituent la « tête aspergillaire » (figure 06). Les spores sont insérées en chaîne sur les phialides. Elles sont unicellulaires, de forme globuleuse, ou elliptique, et de couleurs variables (Varga et al., 2011)



Source (Miquel, 2014)

Figure 06 : Une moisissure ("*Aspergillus niger*") vue au microscope électronique.

2.2.1.3 physiologie

La température optimale de croissance des *Aspergillus* se situe le plus souvent entre 25°C et 40°C. De ce fait, leur distribution est plutôt tropicale et subtropicale, à la différence des *Penicillium* qui préfèrent des conditions plus tempérées.

De nombreuses espèces d'*Aspergillus* ont la capacité de se développer sur des milieux pauvres en eau. On les retrouve donc fréquemment comme contaminants de produits "secs" (Norvell, 2011)

Revue bibliographique

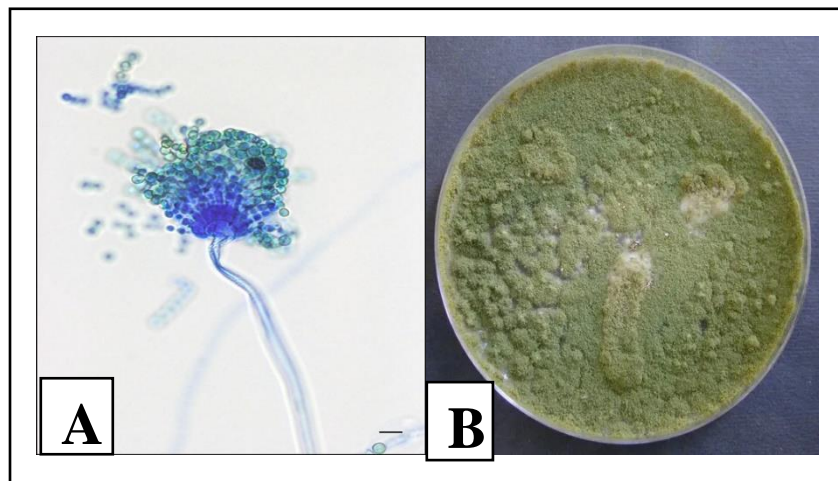
2.2.1.4 *Aspergillus flavus* :

a. identification macroscopique et microscopique

La colonie s'est développée rapidement à 25°C, sur le milieu Sabouraud pour atteindre un diamètre de 5 à 6 cm. Elle est de texture poudreuse, de couleur vert clair à vert vif et vert olive au revers.

Les hyphes étaient septés et hyalins et formaient des mycéliums denses. Les conidiophores étaient hyalins, grossièrement rugueux avec une taille moyenne de $170 \times 15 \mu\text{m}$. Les têtes conidiennes étaient unisériées avec des phialides d'une taille de 10 à $18 \mu\text{m}$ et nées directement sur la vésicule. Les vésicules étaient hyalines, subglobuleuses à globuleuses avec un diamètre moyen de $25\text{-}30 \mu\text{m}$.

Les conidies étaient sub-globuleuses à globuleuses, de couleur vert jaunâtre et d'une taille de 3 à $6 \mu\text{m}$. Sur la base des caractéristiques morphologiques, l'espèce a été identifiée comme étant *Aspergillus flavus* (Ali et al., 2021).



Source : (ESIAB, 2021)

Figure 07 : A ; Observation microscopique d'*Aspergillus flavus* (Gr X40). B ; Colonie d'*Aspergillus flavus*

Revue bibliographique

b. Toxicité et pouvoir pathogène :

A. flavus élabore divers métabolites toxiques, mais surtout des aflatoxines, mycotoxines hépatotoxiques, notamment l'aflatoxine B1 qui est l'un des plus puissants hépato-carcinogènes connus à l'heure actuelle (Samson et al., 2010).

Les matières premières susceptibles d'être contaminées par les aflatoxines sont principalement l'arachide, le maïs, les tourteaux (arachide, coton, coprah et soja), le manioc, le sorgho, le blé, et le lait (ce dernier pouvant contenir de l'aflatoxine M1 issue du métabolisme des aflatoxines ingérées) (Samson et al., 2010).

Environ 50 % des souches d'*A. flavus* sont aflatoxinogènes, mais cette proportion varie selon le substrat d'origine. Par contre, la quasi-totalité des souches d'*A. parasiticus* sont fortement toxigènes (espèce très voisine d'*A. flavus*, ayant des têtes conidiennes unisériées de teinte vert sombre) (Samson et al., 2010).

L'aflatoxinogénèse peut avoir lieu de 12°C à 42°C, avec un optimum situé entre 25°C et 30°C. Dans les aliments composés pour animaux, une teneur en eau minimale de 18 % est nécessaire.

A. flavus présente également un important pouvoir pathogène. Il attaque principalement les voies respiratoires de l'Homme et des animaux. C'est l'un des principaux responsables des Aspergilloses bronchiques allergiques (Samson et al., 2010).

Il est parfois responsable d'avortements mycosiques chez les ruminants. L'espèce voisine, *A. parasiticus*, peut parasiter certains insectes. (Samson et al., 2010)

2.2.1.5 *Aspergillus niger*

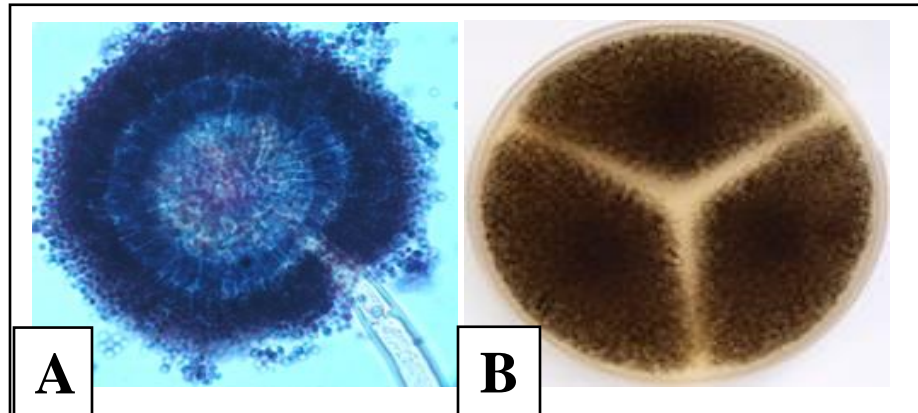
a. identification macroscopique et microscopique

La colonie d'*Aspergillus niger* sur Sabouraud se développait rapidement pour atteindre 3 à 3,5 cm de diamètre.

La couleur de la colonie était grise à noire à l'avant et noire à l'arrière. La texture de la colonie était poudreuse en raison d'une forte sporulation et des zones de croissance distinctes étaient présentes (Figure 08). L'examen visuel des mycéliums suggère que les hyphes étaient initialement jaunes et devenaient noirs avec la formation des conidies ou à maturité de la colonie. Les conidiophores sont hyalins, épais et à parois lisses, longs et globuleux à l'extrémité, généralement de taille 100 -135 ×4-8µmin. Les vésicules sont sub-globuleuses avec un diamètre moyen de 10

Revue bibliographique

-25µm. Les têtes des conidies étaient bisériées avec les phialides d'environ 8 -10µm. Les conidies étaient sub-globuleuses à globuleuses, et noir grisâtre à maturité, produites en chaînes. La taille des conidies matures variait de 3 à 5µm. La paroi des spores était lisse. (Ali et al., 2021)



Source : (ESIAB, 2021)

Figure 08 : A ; Observation microscopique d'*Aspergillus niger* (Gr x 100). B ; Colonie d'*Aspergillus niger* sur milieu sabouraud.

b. Toxicité et pouvoir pathogène :

Aspergillus niger est responsable d'une pourriture du raisin et de quelques autres végétaux. Il peut être impliqué dans des otomycoses chez l'homme.

Aspergillus niger est un agent producteur d'OTA dans le café. (Samson et All,2010)

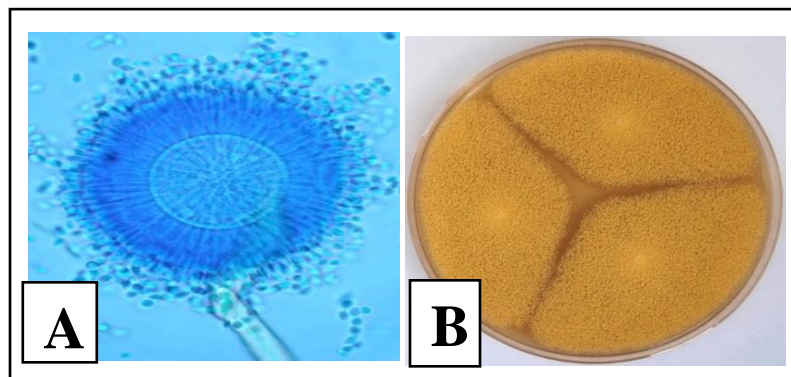
2.2.1.6 *Aspergillus ochraceus*

a. identification macroscopique et microscopique

Les colonies étaient orange ou cannelle sur milieu Sabouraud avec des mycéliums incolores, sans exsudats ni pigments solubles. La couleur était blanche à crème avec un centre ochracé. De diamètre 20 à 25 à 25°C.

Revue bibliographique

Elles avaient une texture lisse à rugueuse et produisaient peu de conidies. Les têtes de conidies étaient très grandes et mesuraient 60 à 80 μm de diamètre avec des conidies compactes. La vésicule était globuleuse et mesurait 26 à 45 μm de diamètre. Le stipe mesurait 500 - 1600 \times 8 - 12 μm avec des parois épaisses et rugueuses qui étaient brunes. La taille des conidies variait entre 2,5 et 4 μm ; elles étaient globuleuses, lisses à finement rugueuses et de couleur orange. Les phialides couvraient la totalité de la vésicule et une partie du stipe produisant des chaînes conidies. (Nyongesa et al., 2015).



Source : (ESIAB, 2021)

Figure 09 : A ; Observation microscopique d'*Aspergillus ochraceus* (Gr x 100). B ; Colonie d'*Aspergillus ochraceus* sur milieu sabouraud.

b. Toxicité et pouvoir pathogène :

Aspergillus ochraceus est le principal agent producteur d'OTA dans le café, (les autres sont *A. carbonarius* et des souches de *A. niger*) (Samson et al., 2010).

2.2.2 *Penicillium* :

Le genre *Penicillium* est un champignon (ou moisissure) qui fait partie des ascomycètes. Ce genre présente une grande importance dans le milieu naturel ainsi que dans la production de plusieurs drogues. Certaines espèces de ce genre produisent la pénicilline, cette molécule est plus utilisée comme antibiotique, qui tue ou arrête le développement bactérien (Harjunpaa, 1996).

2.2.2.1 La taxonomie de *penicillium*

Le genre a été d'abord décrit dans la littérature scientifique par Johann Heinrich Friedrich Link dans son ouvrage observations dans les plantarum ordines naturales en 1809. Le genre *Penicillium* contient environ 300 espèces (Samson, 1994), qui sont classées dans le taxon suivant :

Règne : Mycetea (Fungi)

Division : Amastigomycota

Sous-division : Ascomycotina

Classe : Ascomycetes

Sous-classe : Plectomycetidae

Ordre : Eurotiales

Famille : Eurotiaceae (Trichocomaceae)

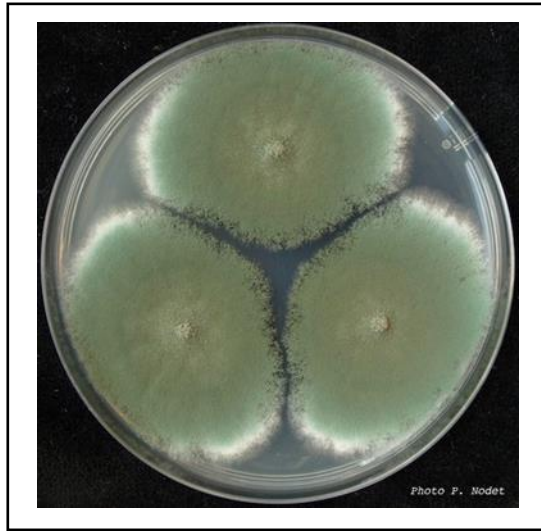
Genre : *Penicillium*

Cependant, d'autres auteurs situent ce genre dans la classe des Deuteromycetes ou champignons imparfaits (Botton et al., 1985)

2.2.2.2 Caractères cultureux généraux

Les *Penicillium* se développent rapidement et facilement sur les milieux de culture utilisés en routine (géloses au malt, Sabouraud). Ils se développent à des températures modérées de l'ordre de 20-27°C. Après 2 jours d'incubation, on observe des petites colonies plates, formées de courts filaments aériens, habituellement blancs. Après 3-4 jours d'incubation, la sporulation va conférer aux colonies leur teinte, le plus souvent dans les tons vert, vert bleu, vert-gris, vert-jaune, gris-bleu mais aussi, pour certaines espèces, jaune, orange, chamois, rose, ou rouge. Cette couleur permet une première orientation dans l'identification. (Tabuc, 2007).

Revue bibliographique



Source : (nodet, 2020)

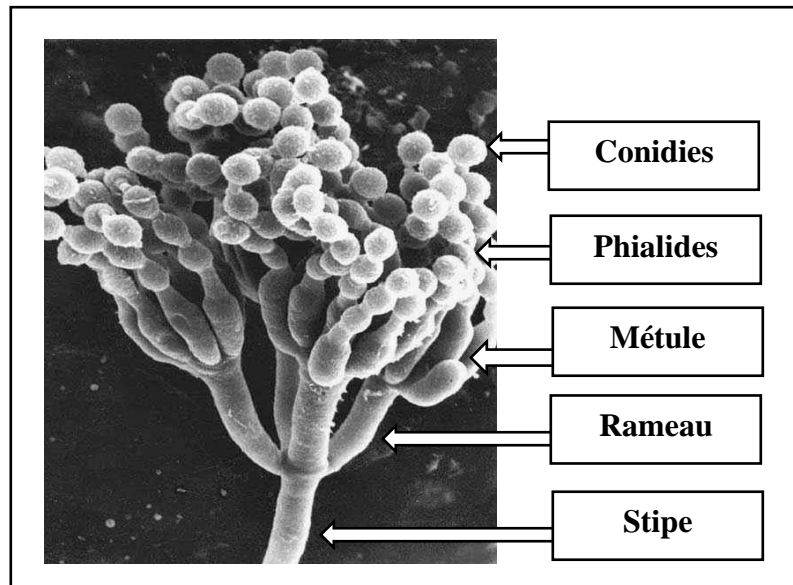
Figure 10 : une colonie de *P. roqueforti*

2.2.2.3 Morphologie microscopique

Au point de vue morphologique, les *Penicillium* se distinguent par leur organisation en pinceau. Le thalle, formé de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se terminent par un pénicille. Les conidiophores peuvent être isolés, groupés en faisceaux lâches ou agrégés en corémies bien individualisés,

Les phialides sont disposées en verticilles à l'extrémité des conidiophores. Les phialides peuvent être insérées directement (*Penicillium monoverticillé*) ou par l'intermédiaire d'une rangée de métules (*Penicillium biverticillé*) ; de deux rangées successives de métules (*Penicillium triverticillé*) ; parfois de trois rangées de métules (*Penicillium quadriverticillé*) sur les conidiophores. Les phialides, ampulliformes ou lancéolées, sont serrées les unes contre les autres donnant à l'ensemble un aspect de pinceau. Les phialides (cellules conidiogènes) donnent naissance à des conidies disposées en longues chaînes. Les conidies sont des spores unicellulaires, globuleuses, elliptiques, cylindriques ou fusiformes, lisses ou rugueuses, hyalines, grisâtres ou verdâtres (Botton et al., 1990) (Figure 11).

Les caractères des pénicilles servent à la différenciation des groupes et des espèces. Certaines espèces peuvent présenter une reproduction sexuée avec la formation d'ascocarpes.



Source : (Bridger, 2010)

Figure 11 : *Penicillium spp.*, vue au microscope électronique.

2.2.2.4 Potentiel toxigène

La majorité d'espèces du genre *Penicillium* (Tableau 3) sont capables de produire des mycotoxines : l'acide cyclopiazonique (*Penicillium chrysogenum*), l'acide pénicillique (*Penicillium cyclopium*) ; la patuline ou la clavacine (*Penicillium expansum*, *Penicillium griseofulvum*), la citrinine (*Penicillium expansum*), l'ochratoxine A (*Penicillium verrucosum*) (Pitt, 2000).

Revue bibliographique

Tableau 03 : Les *Penicillium* producteurs des mycotoxines (Pitt, 2000).

Espèces de <i>Penicillium</i>	Mycotoxines produites
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Acide cyclopiazonique, roquefortine C,
<i>Penicillium citreonigrum</i>	Citréoviridine
<i>Penicillium crustosum</i>	Pénitrem A, roquefortine C,
<i>Penicillium expansum</i>	Citrinine, patuline, roquefortine C
<i>Penicillium griseofulvum</i>	Acide cyclopiazonique, griséofulvine, patuline, roquefortine C
<i>Penicillium nalgiovense</i> (<i>sin.</i> <i>ensenii</i>)	Pénicilline
<i>Penicillium oxalicum</i>	Roquefortine C, acide sécalonique D
<i>Penicillium puberulum</i> (<i>sin.</i> <i>lanosum</i>)	Griséofulvine, acide kojique
<i>Penicillium roquefortii</i>	Acide pénicillique, roquefortine C, PR toxine
<i>Penicillium rubrum</i>	Rubratoxine
<i>Penicillium rugulosum</i>	Rugulosine, skirine
<i>Penicillium simplicissimum</i>	Acide pénicillique, verrucologène
<i>Penicillium vatiabile</i>	Rugulosine
<i>Penicillium verrucosum</i>	Citrinine, ochratoxine A

3. Les mycotoxines en alimentation humaine

Beaucoup d'aliments peuvent être contaminés par les mycotoxines notamment les produits d'origine végétale, comme les céréales et leurs produits dérivés (Baddi et al., 2021).

Revue bibliographique

Tableau 04 : les mycotoxines rencontrées dans les céréales (Cahagnier, 1997).

<i>Tableau : Les mycotoxines rencontrées dans les céréales (d'après CAHAGNIER, 1997).</i>		
Moisissures	Toxines	Céréales
<i>Fusarium</i>	Trichothécènes Zéaralène Fumonisines	Maïs, orge, blé , avoine Maïs, blé , sorgho Maïs, blé
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Ochratoxine A	Blé , orge, maïs
<i>Penicillium viridicatum</i>		
<i>Penicillium citrinum</i>	Citrinine	Orge, seigle , avoine, maïs
<i>Penicillium expansum</i>	Patuline	Maïs, blé
<i>Aspergillus versicolor</i>	Stéigmatocystine	Blé
<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxines	Arachide, maïs, sorgho

Extrait de la revue "Industries des céréales"

Les autres produits d'origine végétale susceptibles d'être contaminés par les mycotoxines sont : les fruits secs (les noix, les amandes, les arachides, les pistaches, les raisins...), les légumes secs (graines oléagineuses, et haricotes ...), les épices, le café, le cacao, les fourrages, les jus et les produits de fermentation. ; Parmi les aliments et les produits d'origine animale, le lait, les produits laitiers, les œufs, les viandes et tout ce qui en dérive peuvent être souillés par les mycotoxines (Galtier et al., 2006).

La production des mycotoxines peut survenir au champ, pré et post-récolte, lors du transport, pendant le stockage ou au cours de transformation. L'étalement dans le temps de la consommation et le transport à longue distance des aliments nécessite de plus en plus de stockage d'où le développement des moisissures à la surface (Chapeland et al., 2005).

Revue bibliographique

Il faut souligner que l'absence de la moisissure dans une denrée ne signifie pas forcément l'absence de la mycotoxine. L'entrée des mycotoxines dans la chaîne alimentaire de l'homme s'effectue ; soit par des denrées consommées directement (arachides, pistaches, amandes, etc.), soit indirectement par des produits dérivés à partir desquels sont élaborés des aliments finis (semoule, farine, biscuits...). En outre, les mycotoxines peuvent se transmettre par des produits d'origine animale, si l'animal a consommé une nourriture contaminée par des mycotoxines (Ibbitson et al, 2020).

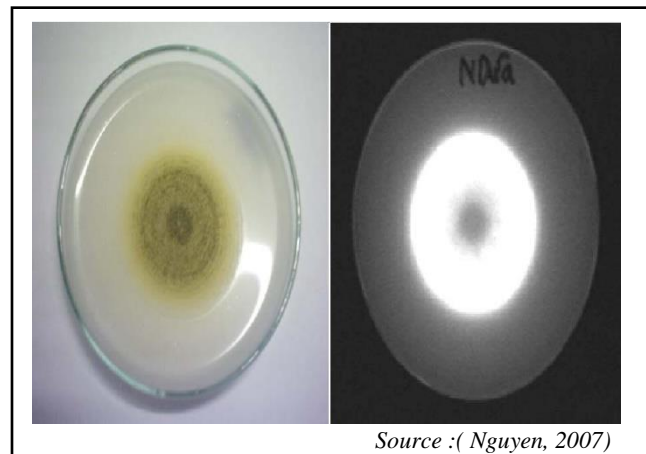


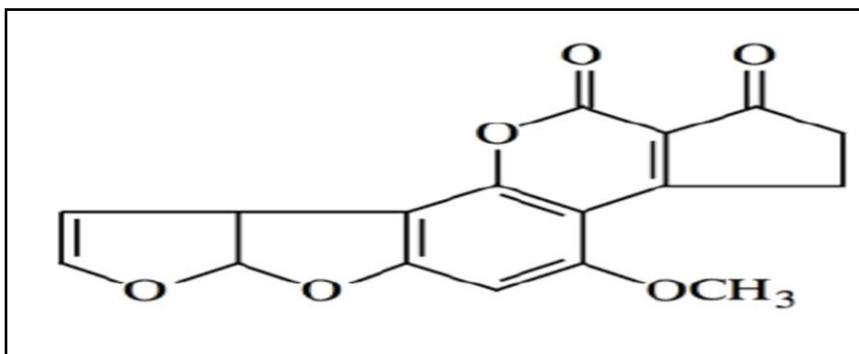
Figure 12 : Colonie d'*A. parasiticus* isolé à partir du riz (gauche) et sa fluorescence sous l'UV (droite).

3.1 Aflatoxines B1 (AFB1)

Le terme « Aflatoxine » a été connu au début des années soixante suite à la mort de milliers de dindes. Ceci est dû à la consommation de la farine d'arachides importée d'Amérique latine qui a été contaminée par la toxine *Aspergillus flavus*. Ces aflatoxines sont classées cancérigènes du groupe 1 par le Centre International de Recherche sur le cancer (CIRC). (Liu et Wu, 2010)

Une des plus célèbres mycotoxines est possédant le profil toxicologique le plus sérieux, l'aflatoxine B1 (AFB1) dont le nom chimique est le suivant :

6-Méthoxy-difurocoumarone2,3,6 α ,9 α -tétrahydro-4-méthoxy-cyclopenta-[c]furo[3',2':4,5]furo [2,3-h][l]benzopyran-1,11-dione (Figure 13)(El khoury, 2007).



Source : (Eskola, 2002).

Figure 13 : structure chimique de l'Aflatoxine B1 (AFB1).

3.1.1 Exposition de l'homme aux aflatoxines :

On le trouve comme contaminant des noix et des grains de céréales comme le blé, l'orge, le maïs, le riz et le sorgho dans les champs où l'environnement est chaud et humide. Dans la plupart des cultures céréalières, la contamination par les AFs se produit après la récolte, et les niveaux peuvent encore augmenter rapidement pendant le stockage et le transport avec une gestion inadéquate comme une température et une humidité relative élevées (>65%) (Ramírez-Camejo et al., 2012).

3.1.2 Effets chez l'homme

La plupart des études épidémiologiques tendent à montrer qu'il existe une corrélation entre une exposition chronique à l'aflatoxine via le régime alimentaire et une prévalence du cancer primitif du foie. Néanmoins, cette relation est modulée par d'autres facteurs qui influencent ce risque de cancer comme l'infection virale à l'hépatite B (HBV). La majorité des études épidémiologiques étayant la relation aflatoxine - cancer du foie provient de régions du globe, Asie du Sud-Est, Chine, Afrique Occidentale et Equatoriale où la prévalence de l'HBV et de l'AFB1 est élevée. En Amérique Latine, la prévalence du cancer primitif du foie et de l'infection à l'HBV est faible alors que l'exposition à l'AFB1 est élevée.

3.1.3 Règlementation

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).

Actuellement, la Commission européenne et les États membres discutent de l'alignement de la législation de l'UE sur la décision du Codex Alimentarius pour ces 3 types de fruits à coque. En juin 2009, la Commission européenne a demandé à l'EFSA d'évaluer les effets sur la santé publique d'une augmentation du taux maximal d'aflatoxines totales de 4 µg/kg à 10 µg/kg. (Koutsoumanis et al., 2020)

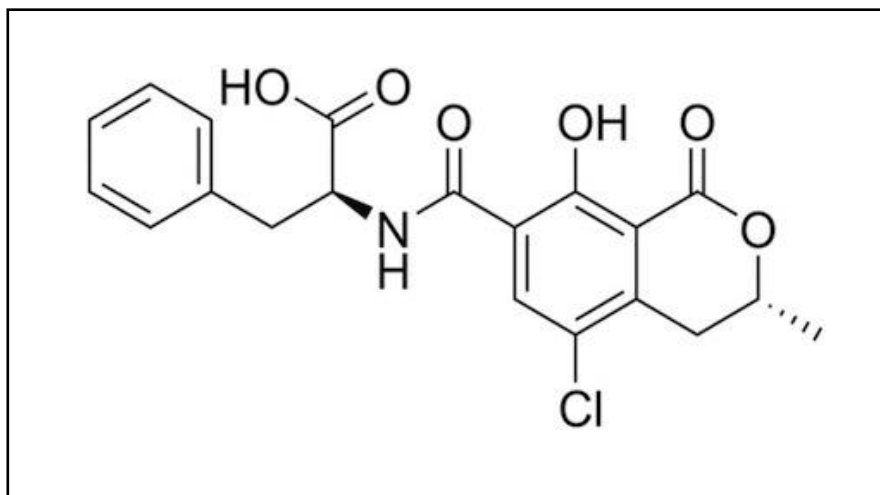
L'année 2020 a déjà passé les 60 ans de la découverte des AFs. Depuis lors, malgré les progrès scientifiques dans la connaissance des AFs et les efforts déployés pour réduire le risque qu'ils représentent pour la santé publique, les pays en développement doivent encore tolérer un niveau élevé de contamination des aliments par les AFs pour ne pas compromettre l'approvisionnement alimentaire (Pickova et al., 2021).

3.2 Ochratoxine

L'ochratoxine A (OTA) est une mycotoxine très répandue qui est produite principalement par les champignons *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium verrucosum* pendant le stockage des céréales, des produits céréaliers et d'autres produits dérivés de plantes tels que les herbes, les épices, le raisin, etc (Petzinger et al., 2000).

L'Ochratoxine est une mycotoxine, dérivée de la famille des dihydrocoumarines. Son nom chimique est :

« L-phénylalanine-N-[(5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-méthyl-1-oxo-1H2-benzopyrane-7yl) carbonyl] -(R) -isocoumarine » (Figure 14) (Ratulo et al., 2004)



Source : (Eskola, 2002).

Figure 14 : structure chimique de l'ochratoxine A

3.2.1 Exposition de l'homme aux ochratoxines :

L'OTA a d'abord été détectée comme contaminant naturel du maïs. Elle contamine toutes les céréales (notamment le blé, l'orge...) et certaines graines (riz, haricots, café, soja, cacao...).

On note sa présence dans les produits dérivés des céréales comme la farine, le pain, les pâtes, la bière (Pfohl-Leszkowicz, 1999).

On la retrouve également dans le vin et les jus de raisin mais aussi dans les produits d'origine animale tels que la viande et le lait (Pattono et al., 2011).

3.2.2 Profil Toxicologique :

L'ochratoxine A (OTA), a été impliquée dans un large éventail d'effets toxicologiques, notamment la toxicité rénale, la mutagénicité, la tératogénicité, la neurotoxicité et l'immunotoxicité, pour n'en citer que quelques-uns, tant chez les animaux que chez les humains. Sur la base d'études animales et d'études épidémiologiques sur des populations humaines, l'OTA

a été classée comme cancérogène de classe 2B (cancérogène possible pour l'homme) par le CIRC (O'Brien et al., 2005).

3.2.3 Réglementation

Les autorités législatives discutent des limites maximales de résidus (LMR) d'OTA dans diverses denrées alimentaires. Le présent article présente des arguments qui suggèrent une dose journalière admissible (DJA) de 1,5 ng d'OTA/kg de poids corporel et une LMR bien inférieure à 5 microgrammes d'OTA/kg de céréales et de produits céréaliers, comme l'a proposé la Commission européenne (Petzinger et al., 2000).

3.3 Stratégies préventives pour contrôler les mycotoxines dans les aliments

Les recommandations du Codex Alimentarius pour la prévention et la réduction des mycotoxines dans les grains et les matières premières sont axées sur les lignes directrices des bonnes pratiques agricoles, des bonnes pratiques de fabrication et de l'application de l'analyse des risques et des points de contrôle critiques (HACCP). Différentes stratégies de contrôle avant et après la récolte ont été largement évaluées dans divers domaines, Parmi les mesures pratiques utiles, citons la sélection de variétés de grains plus résistantes, la sélection de grains de haute qualité, l'évitement d'une forte densité de plantes, la gestion préventive contre la contamination par les insectes et la gestion adéquate des résidus de produits qui peuvent souvent être à l'origine du développement de champignons producteurs de mycotoxines. Il a été établi que certaines pratiques de gestion agricole appropriées peuvent avoir un impact positif sur la réduction des mycotoxines, telles que la rotation des produits, le travail du sol, l'irrigation, la fertilisation, une sélection précise des dates de récolte, un équipement approprié et l'élimination des produits endommagés à forte teneur en eau.

Ces dernières années, des programmes de développement spéciaux ont été mis en place pour le contrôle des mycotoxines avant la récolte, comme le développement de cultivars de plantes transgéniques résistants aux infections fongiques ou aux dommages causés par les insectes, capables de cataboliser ou d'interférer avec la production de toxines (Abia et al., 2021).

3.3.2 Vers une approche stratégique et globale de lutte contre les mycotoxines :

L'application de la méthode L'HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) est une méthode connue et bien établie dans l'agro-alimentaire dont le but est d'assurer la production sans risques des aliments. L'HACCP ayant démontré son efficacité, la Commission Européenne encourage les projets visant à appliquer cette méthode de contrôle au problème des mycotoxines. Elle est en fait un plan logique de tous les contrôles à mettre en œuvre pour prévenir les aléas de sécurité alimentaire. Ce plan est spécifique au risque que l'on cherche à éviter. Il établit des contrôles réguliers et systématiques tout au long de la chaîne de production alimentaire. Il prévoit en outre les actions correctrices à mettre en œuvre si un risque est repéré à l'occasion d'un contrôle ou si un contrôle se révèle défaillant. Il s'agit avant tout d'anticiper le risque. L'HACCP vise à prévenir trois types de risques : les risques biologiques (la présence de micro-organismes pathogènes), les risques chimiques (la présence dans le produit de résidus de pesticides) et les risques physiques (présence dans le produit de matériau qui ne devrait pas s'y trouver : fragments de verre ou de métal) (Guezlane-tebibel et al., 2016).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Cette étude a pour objectif d'isoler et identifier des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines (aflatoxine B1, et ochratoxine A) à partir du riz étuvé et riz blanc commercialisé dans la wilaya de Laghouat.

L'étude a été réalisée au sein du laboratoire de microbiologie département de sciences agronomique de l'université Amar telidji, durant la période, du mois de Février jusqu'au mois d'Avril 2021.

1. Matériel utilisé

Dix échantillons (10) du riz dont cinq de riz blanc décortiqué et cinq riz étuvé ont été collectés de plusieurs points de vente dans la Wilaya de Laghouat pendant le mois du février 2021, afin d'obtenir une hétérogénéité des prélèvements.

Tableau 05 : Echantillonnage du riz.

N° D'échantillons	Type et Lieu
E1	Riz étuvé (centre-ville)
E2	Riz étuvé non conditionné (Aflou)
E3	Riz étuvé conditionné (la marque Anouar)
E4	Riz étuvé conditionné (la marque Secchi)
E5	Riz étuvé non conditionné (ksar el hirane)
N1	Riz blanc conditionné (la marque Anouar)
N2	Riz blanc conditionné (la marque host)
N3	Riz blanc conditionné (Al assafia)
N4	Riz blanc conditionné (ksar el hirane)
N5	Riz blanc conditionné (centre-ville)

1.1. L'origine de riz commercialisé en Algérie :

Les États-Unis est le principal exportateur du riz vers plusieurs pays du monde, parmi lesquelles l'Algérie. L'entrée de produit est au niveau de port de la ville de Mostaganem, ensuite est transformé dans des sacs de plastique de 50kg vers Blida pour le conserver. (D'après OAIC, 2018)

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La destination de riz aux consommateurs est conditionnée dans des petits sacs de (500g ou 1kg) (Figure 15).



Figure 15 : Les échantillons du riz analysés.

2. Méthodes

Dans le but d'isoler des champignons mycotoxinogènes présents dans nos échantillons du riz, le milieu de culture Sabouraud a été utilisé (Annex). La gélose Sabouraud est un milieu d'utilisation générale, permettant la croissance et l'isolement d'une grande variété de levures et moisissures. C'est une gélose glucosée présentant un pH légèrement acide pour favoriser la culture des champignons.

Afin d'isoler les champignons mycotoxinogènes, la méthode « Direct plating » a été utilisée.

2.1 Désinfection de la surface des grains :

Dix grains de chaque échantillon de riz sont désinfectés en surface dans une solution d'hypochlorite de sodium à (2%), pendant 3 minutes (Figure 16). Après trois rinçages à l'eau distillée stérile, afin d'éviter toutes contaminations éventuelles, les grains sont séchés avec du papier absorbant stérile pour être, ensuite,ensemencés (Ahlam et al., 2019).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

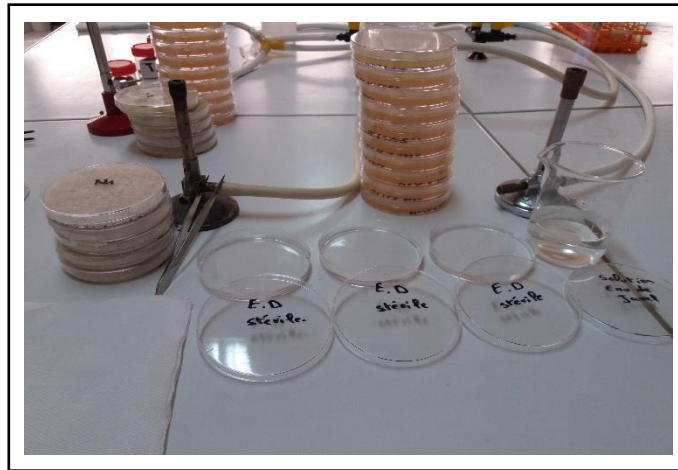


Figure 16 : Désinfection superficielle des grains riz

2.2 La méthode d'isolement direct (direct plating) :

Dans une zone stérile et en conditions aseptiques près d'un bec benzène, nous avons versés dans chaque boîte de pétri 15 ml de gélose Sabouraud. Les graines désinfectées sont placées directement, à l'aide d'une pince stérile, à raison de dix grains par boîte (Figure 17). L'ensemble est incubé à 25°C pendant 4 à 6 jours (Davide, 2016).

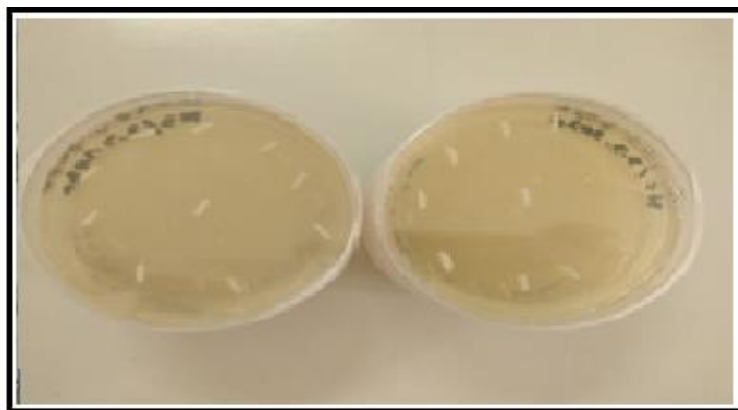


Figure 17 : La méthode d'isolement direct (direct plating) de graines de riz

MATÉRIEL ET MÉTHODES

5. Purification des isolats :

Des observations quotidiennes sont effectuées dès l'apparition de moisissures. Chaque moisissure développée est repiquée, à l'aide d'un fil de platine stérile, au centre de boîte de Pétri contenant un milieu Sabouraud, puis incubé à 25°C pendant 6 jours. En cas de contamination par autre souche fongique, la purification des souches est effectuée par le repiquage d'un hyphe terminal au centre de boîte contenant le même milieu et dans les mêmes conditions d'incubation jusqu'à l'obtention de souches pures (Figure 18) (Guiraud, 2003)

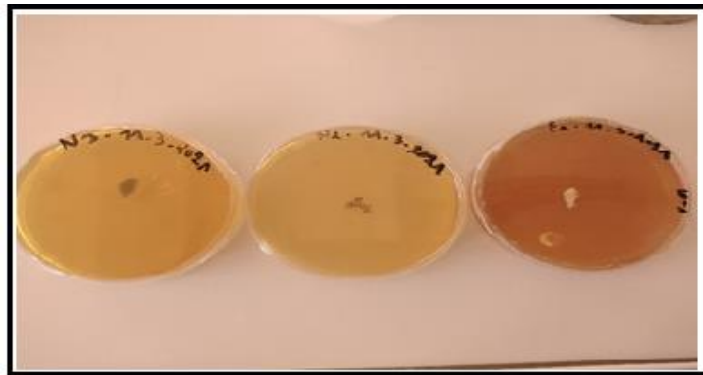


Figure 18 : Purification des isolats.

6. Méthodes d'identification des souches fongiques :

6.1. Identification selon les caractères cultureux (macroscopiques) :

L'identification est fondée sur la technique de Pitt et Hoking (1997) selon les caractéristiques suivantes :

- **Diamètre de colonie** : On mesure les diamètres des colonies macroscopiques en millimètres sur le fond de la boîte.
- **L'aspect des colonies** : qui représente un critère clef d'identification. Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

- La couleur des colonies : c'est un élément très important d'identification. Les couleurs les plus fréquentes sont le blanc, crème, jaune, orange, brun allant jusqu'au noir. Les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*, *Penicillium*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*) (Botton et al., 1990).

6.2. Les caractères microscopiques :

Les caractères suivants sont notés :

Hyphes cloisonnés ou non, type et apparence du système sporal, caractéristiques de la spore asexuée (couleur, taille, septation et des conidies de fructification, etc) (Guiraud, 2004).

L'identification microscopique est effectuée par un prélèvement d'un petit fragment mycélien à l'aide d'une anse de platine stérile ou par la technique de scotch. Puis le fragment est déposé sur une lame en lui ajoutant le Bleu de lactophenol, ensuite recouvert d'une lamelle ; L'observation est effectuée au microscope optique aux différents grossissements ($\times 10$, $\times 40$) (Guiraud, 2004).

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Résultats

Après la phase d'incubation des colonies fongiques ont poussées autour des échantillons (Figure21).

Les résultats de de l'isolement sont représentés dans le tableau 06

Tableau 06 : Les genres fongiques obtenus par la méthode d'ensemencement directe.

	Genres isolés	Nombre de répétitions	Nombre total d'isolats
Riz blanc	<i>Aspergillus</i>	12	28
	<i>Penicillium</i>	12	
	<i>Alternaria</i>	2	
	<i>Rhizopus</i>	2	
Riz étuvé	<i>Penicillium</i>	11	19
	<i>Rhizopus</i>	6	
	<i>Aspergillus</i>	2	

Résultats et discussion

1.1. Riz blanc

28 isolats fongiques ont été prélevés et purifiés à partir d'échantillons de Riz blanc. Après identification, il s'est avéré que les 28 isolats fongiques appartiennent à 4 genres : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* et *Rhizopus*.

On remarque que le genre prédominant est l'*Aspergillus*, il regroupe les espèces suivantes :

- *A. flavus* par 6 répétitions.

- *A. niger* par 4 répétitions.

- *A. ochraceus* 2 répétitions.

Le genre *Penicillium* est représenté par 12 isolats, et les genres : *Alternaria*, et *Rhizopus* sont représentés par 4 isolats pour chaque genre.

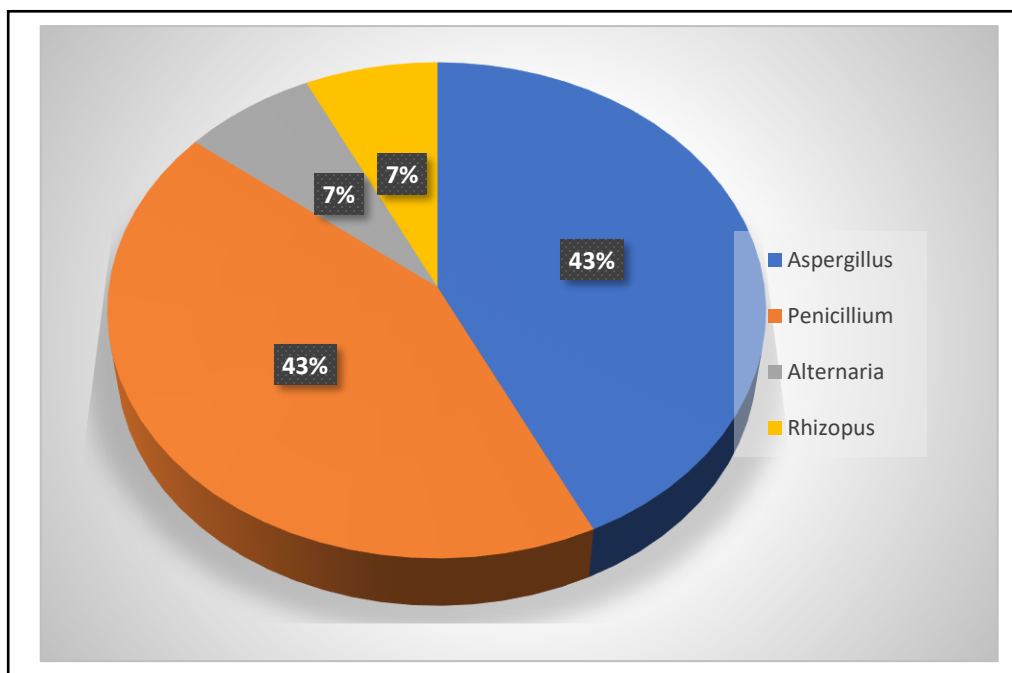


Figure 19 : Répartition des pourcentages des genres fongiques isolés à partir de riz blanc.

Résultats et discussion

1.2. Riz étuvé

Il est représenté par 19 isolats. Les genres fongiques trouvés sont : *Penicillium*, *Aspergillus* et *Rhizopus*.

On remarque que le genre *Penicillium* est le prédominant par 11 isolats, mycelium est représenté par 6 isolats, 2 isolats représente *A. flavus*

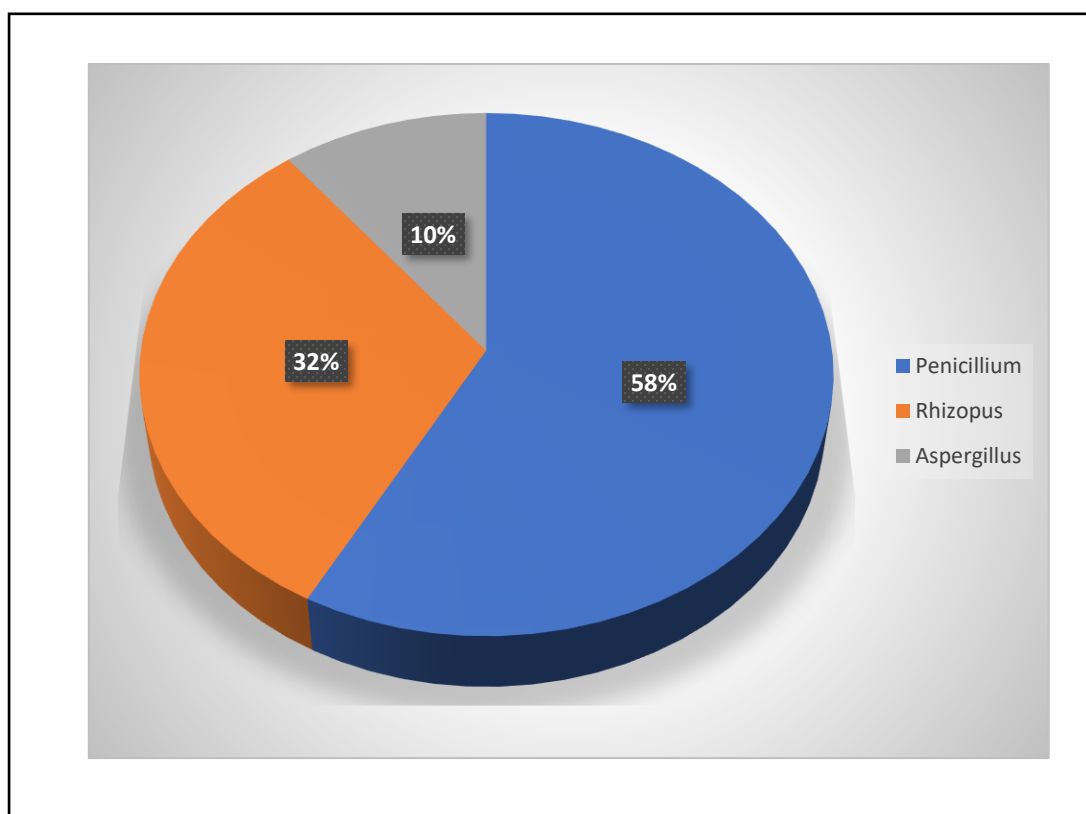


Figure 20 : Répartition des pourcentages des genres fongiques isolés à partir de riz étuvé.

Résultats et discussion

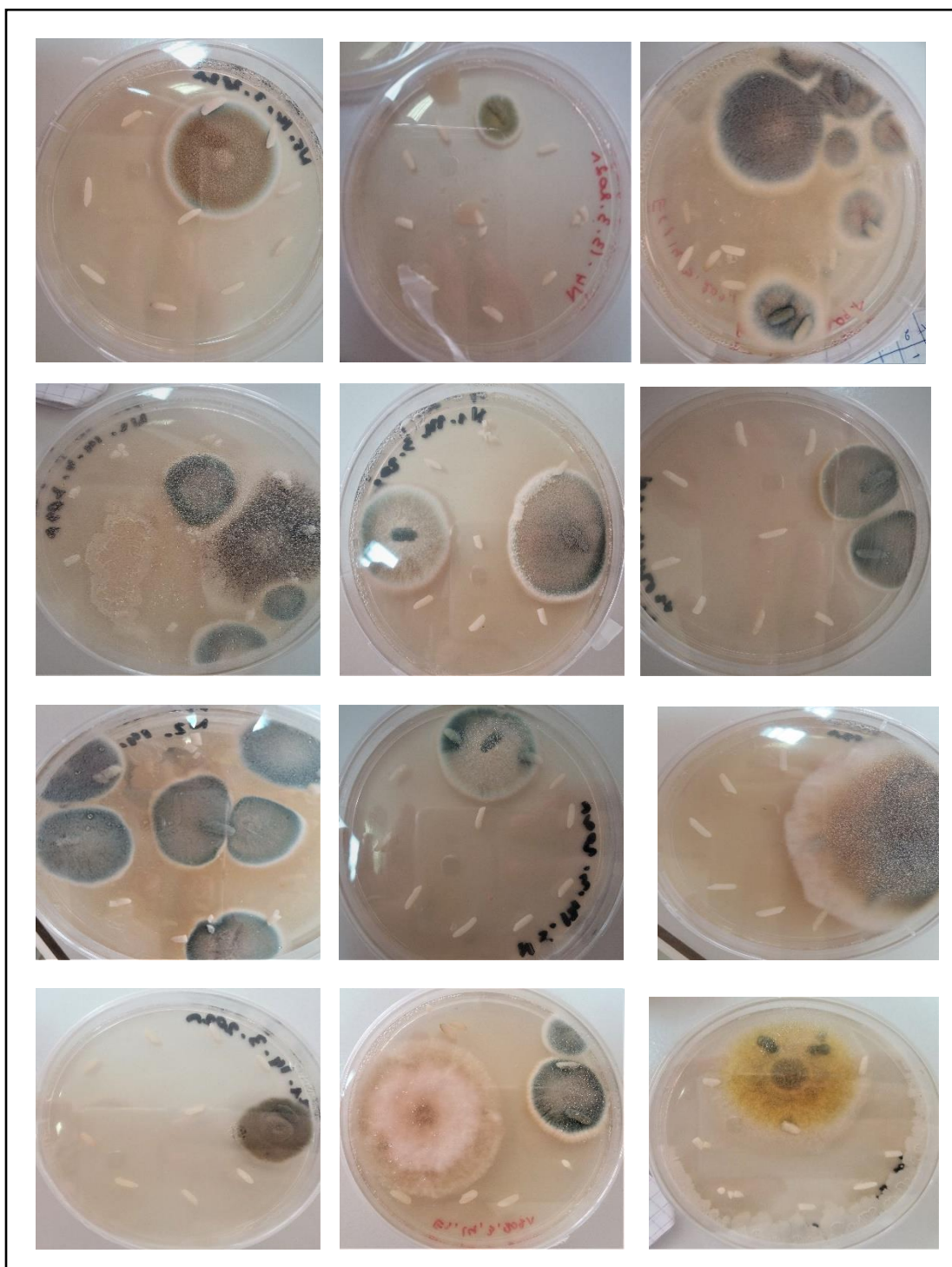


Figure 21 : Les colonies fongiques obtenus par l'ensemencement direct des graines de riz.

Résultats et discussion

2. Identification des champignons toxinogènes

L'identification des genres fongiques a été réalisée selon les clés de détermination de Champion, R. (1997). En se basant sur les caractères macroscopiques des colonies (aspect, couleur, forme, contour, etc.) et sur les caractères microscopiques du mycélium et des conidies (cloisonnement du mycélium, forme des spores et conidies, forme des organes).

2.1. *Aspergillus Niger*

4 isolats ont classé dans l'espèce *Aspergillus Niger* cette espèce possède un thalle à croissance rapide. Leur caractère microscopique présente un mycélium cloisonné et des vésicules globuleuses avec conidies globuleuses parfois légèrement aplaties, brune, échinuleuses et verruqueuses, La colonie est d'abord blanche et translucide puis devient noire en sporulant (Figure 22).

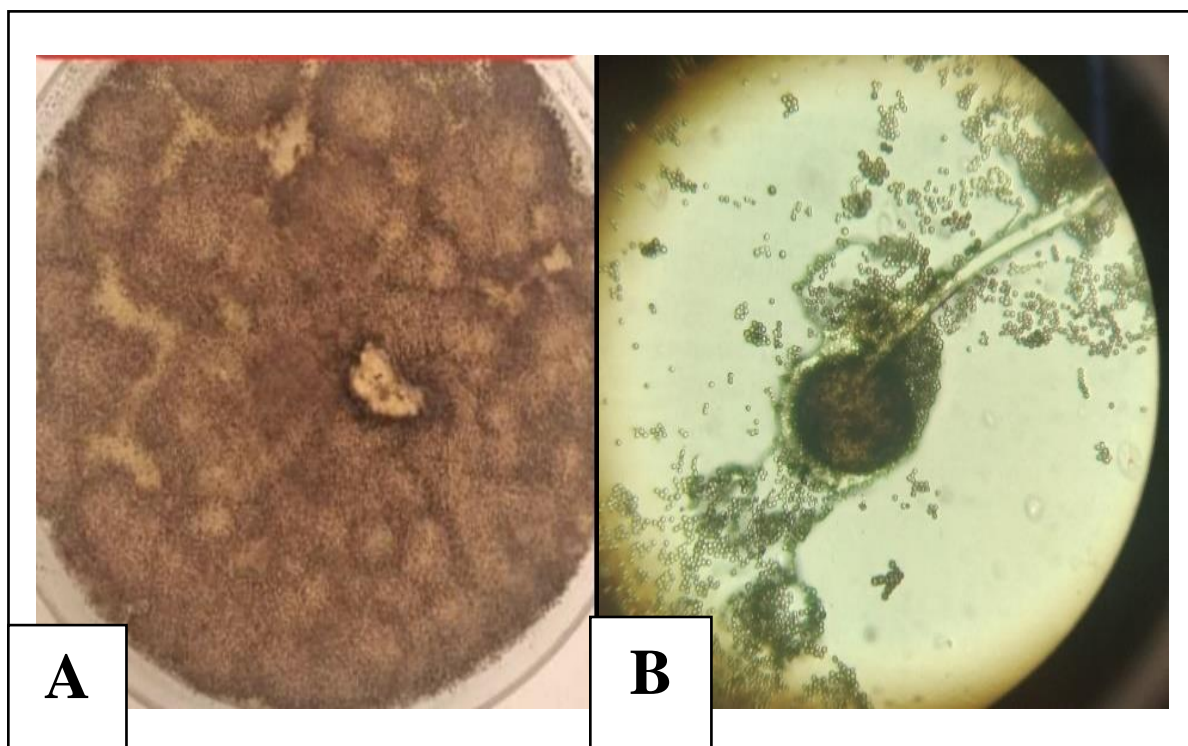


Figure 22 : L'aspect macroscopique (A). Microscopiquement d'*A niger* (B) (grossissement x40).

Résultats et discussion

2.2. *Aspergillus flavus*

8 isolats ont classé dans le genre *Aspergillus flavus* les colonies duveteuses à poudreuse, planes et de couleur vert-jaune. Leurs caractères microscopiques : conidiophore long et non cloisonné, hyalines. Les conidies sont globulaires de couleur verte. La colonie est duveteuse à poudreuse, blanche puis jaune (Figure23).

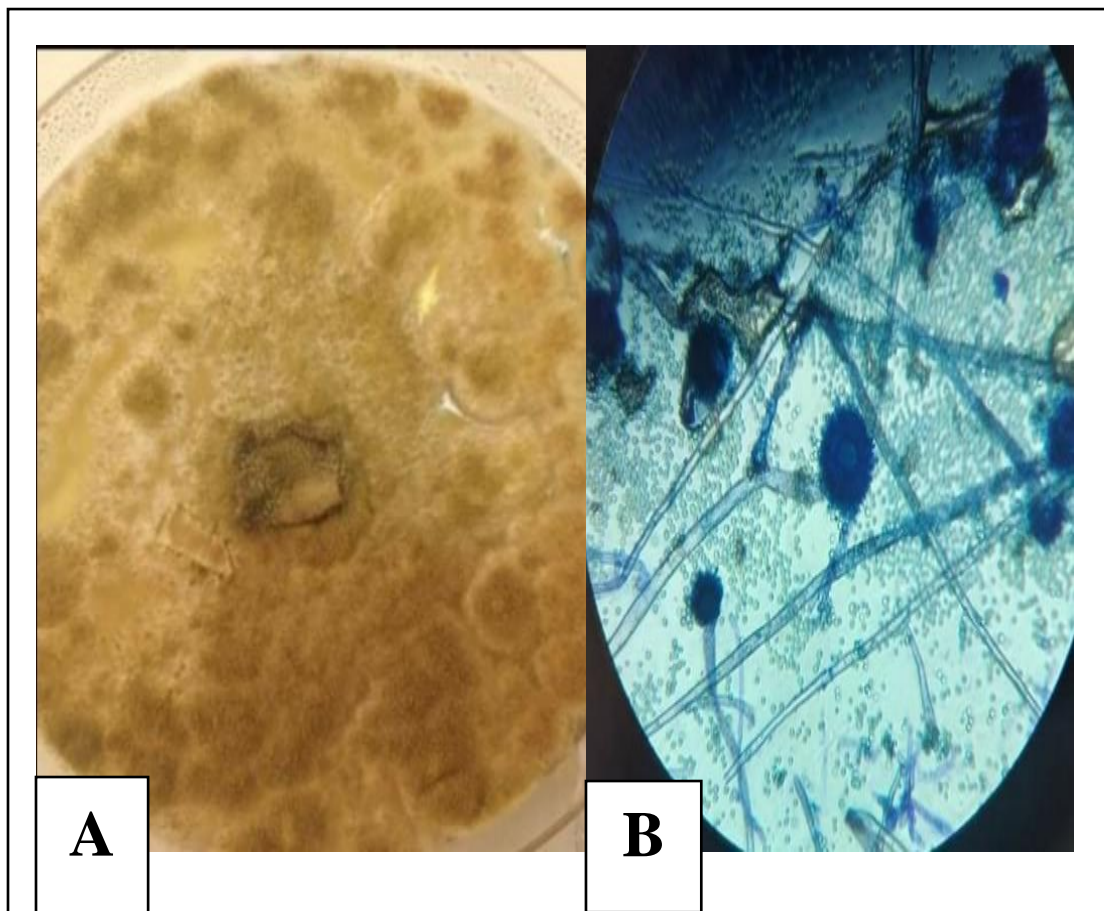


Figure 23 : : L'aspect macroscopique (A). Microscopiquement d'*A. flavus* (B) (grossissement x40).

Résultats et discussion

2.3. *Aspergillus ochraceus*

D'après Champion, (1997), l'*Aspergillus ochraceus* poussent rapidement. Les colonies sont poudreuses ou duveteuses de couleur ocre ((A) (Figure 24).

Ils se caractérisent par la formation d'organes de reproduction asexuée : les têtes aspergillaires. Le conidiophore de longueur variable se renfle (Figure 24 B).

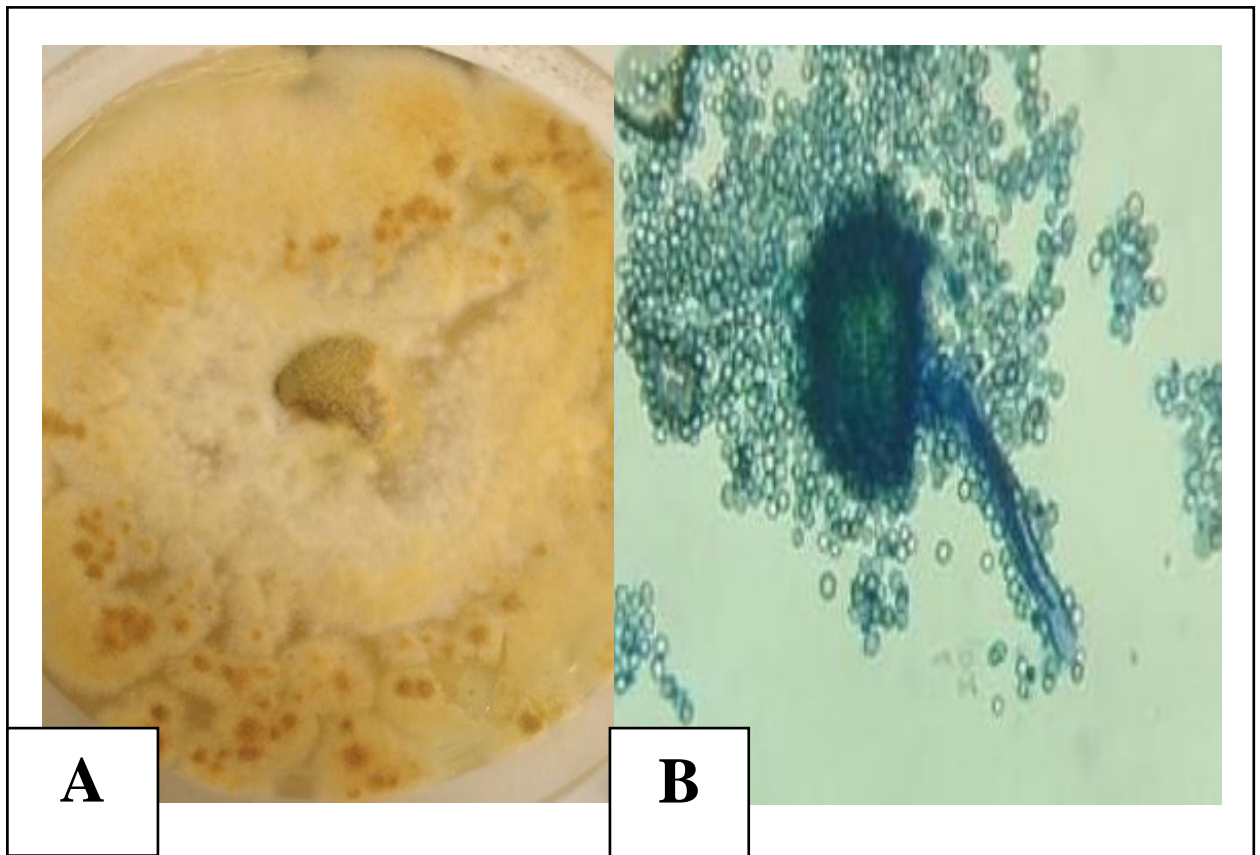


Figure 24 : L'aspect macroscopique (A). Microscopiquement d'*A. ochraceus* (grossissement x40).

Résultats et discussion

2.4. *Penicillium*

D'après le diagnostic macroscopique, 21 isolats présentent des colonies de couleur vert-bleuâtre (la couleur des phialides) et un aspect velouté. Ces isolats correspondant au genre *Penicillium sp.* Leurs caractéristiques microscopiques sont les suivants : le thalle formé de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés. Les conidiophores sont septés et groupés en faisceaux lâches ou agrégés en corémies bien individualisés (Figure 25).

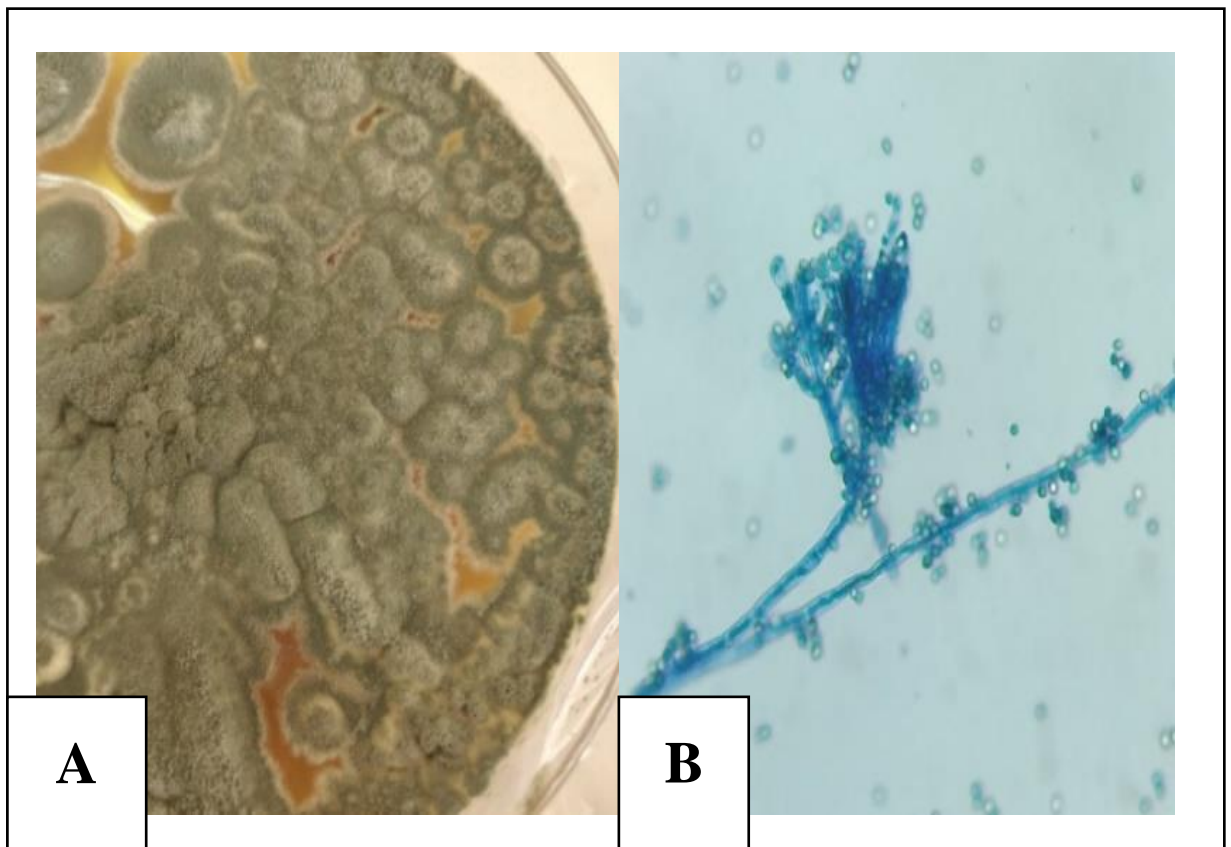


Figure 25 : L'aspect macroscopique (A). Microscopiquement de *Penicillium sp* (B)

(Grossissement x40).

Résultats et discussion

2.5. *Alternaria*

D'après le diagnostic macroscopique, des isolats les colonies apparaissent noires ou vertes et duveteuses. Elles présentent une texture épaisse. D'après les clés d'identification de Champion, R. (1997). Deux isolats correspondent à l'espèce *Alternaria alternata*. Leurs caractéristiques microscopiques sont les suivantes : mycélium cloisonné, conidies en chaînes simples ou ramifiées, brunes, irrégulières avec un rostre apical court mais bien différencié (Figure 26).

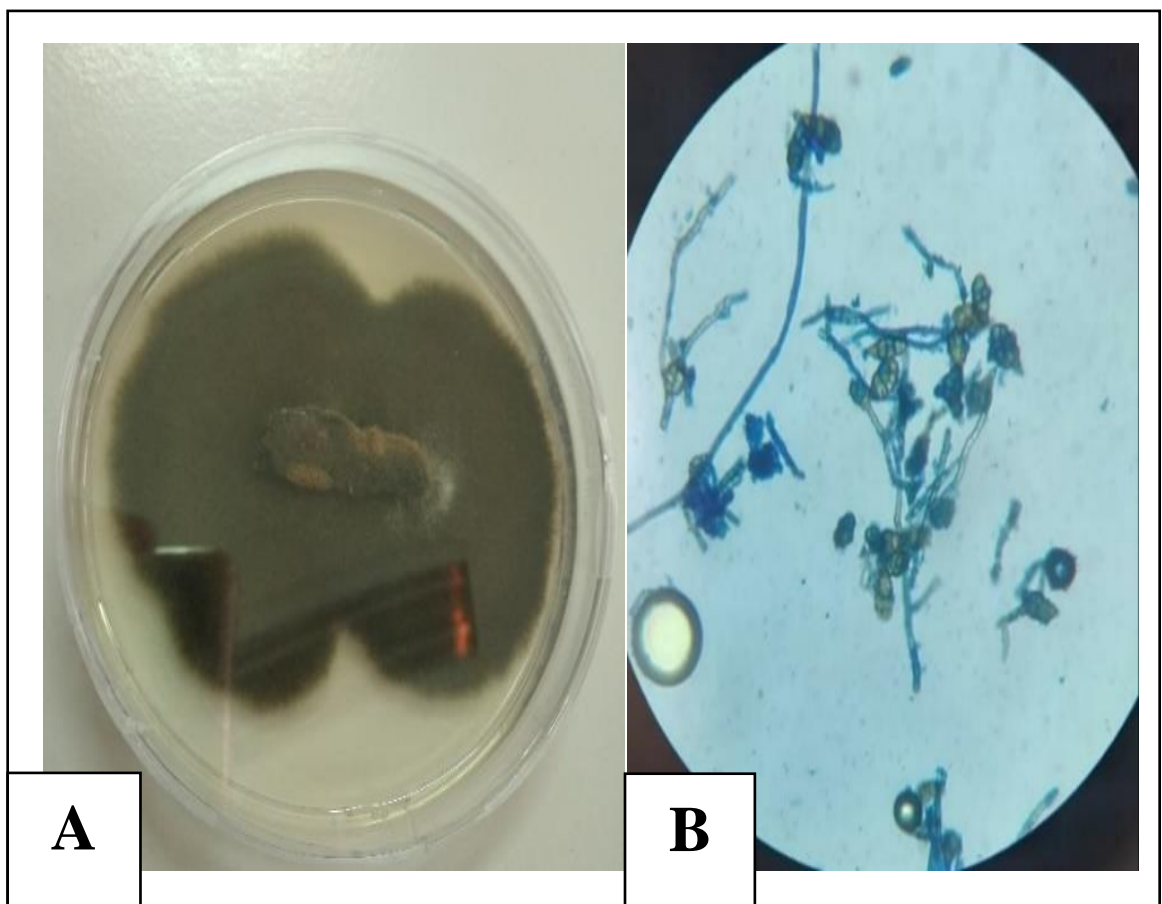


Figure 26 : L'aspect macroscopique (A). Microscopiquement d'*Alternaria alternata* (B)

(Grossissement x40).

Résultats et discussion

2.6 *Rhizopus*

Les espèces de *Rhizopus* se développent sous forme de filaments, avec des hyphes ramifiés qui sont coenocytées (multinucléées). Les hyphes ramifiés sont de trois types : stolons, rhizoïdes pigmentés et sporangiosphères non ramifiées.

On observe des sporangiospores non ramifiées de couleur brune, se produisant en grappes à l'extrémité des tubes hyphaux.

On peut également observer des spores isolées, de forme ovoïde, de couleur hyaline à brune.

Les spores sont arrondies avec des bases aplaties.

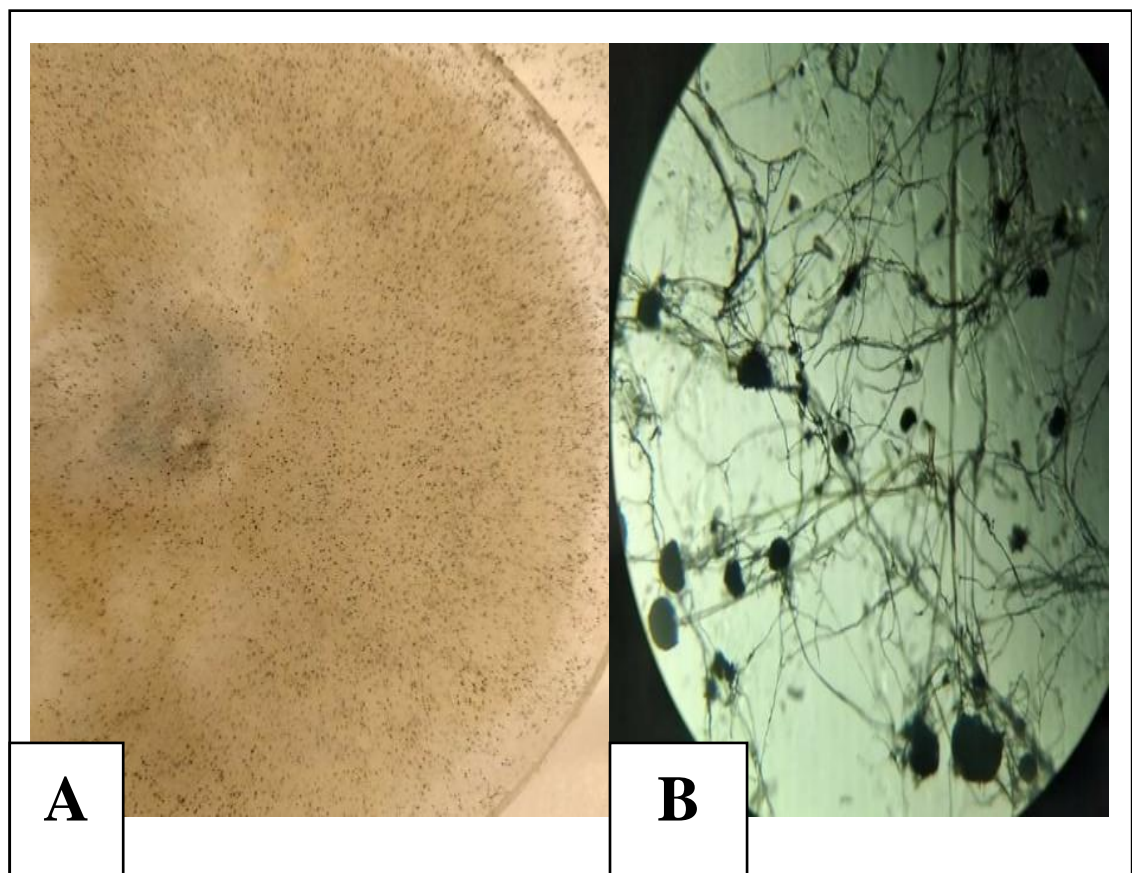


Figure 27 : L'aspect macroscopique (A). Et microscopiquement de *Rhizopus*(B) (Grossissement x40).

3. DISCUSSION

D'après les résultats de notre étude, la contamination des grains du riz par les différentes espèces fongiques peut les rendre non consommables. La gravité de la présence des champignons se manifeste par la sécrétion des mycotoxines dangereuses, qui provoquent des maladies périlleuses pour l'homme et l'animale, ou de nombreux champignons de stockage produisent des substances toxiques. Par conséquent, elles sont considérées comme d'importants problèmes de pollution alimentaire et leur apparition sur les grains lors de stockage est considéré comme un véritable signal de la détérioration de la qualité des graines. L'environnement a une grande influence sur les grains, même s'elles sont de bonne qualité originale, surtout pour ce qui concerne l'humidité et la température (Laouid et Neftia, 2007).

Les résultats montrent la présence des champignons mycotoxinogènes, notamment *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *Penicillium sp*, *Alternaria* dans le riz blanc, et *Penicillium sp* et un genre d'*Aspergillus* dans le riz étuvé.

En Corée, Park et al., 2005 ont rapporté la présence *A. candidus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. versicolor* dans 88 échantillons de riz, avec les fréquences de contamination 26% ; 17% ; 18% ; 7% ; 20% respectivement (Je et al., 2005).

Aussi au Vietnam, (Morand-Fehr et al., 2001) ont montré la contamination de 25 échantillons de riz par le genre *Aspergillus*. Les espèces *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. oryzae* ont été isolées dans les proportions 40% ; 23% ; 11% respectivement.

Une autre étude effectuée en Inde sur 1200 échantillons de riz a montré que l'ensemble des grains de riz paddy était infecté par *Aspergillus*. Quatre différentes espèces d'*Aspergillus* ont été identifiées : *A. flavus* (1002), *Aspergillus niger* (910), *Aspergillus ochraceus* (154) et *Aspergillus parasiticus* (331) (Reddy et al., 2009).

Ces champignons microscopiques filamenteux sont d'une grande importance en raison de la production potentielle de mycotoxines, ce qui peut contaminer de nombreux produits agricoles comme le blé, l'avoine, l'orge, le tournesol, le soja, etc (Greco et al., 2014).

Résultats et discussion

Aucun pays au monde n'est épargné par la contamination des céréales par les mycotoxines. En Chine, 37 échantillons de riz ont été analysés. Les échantillons de riz décortiqué ont montré une teneur moyenne de 3,87 µg/kg d'aflatoxines (Liu et al., 2017).

En Tunisie, Ghali et al., (2008) ont testé 16 échantillons de riz et ; 12,5 % de ces échantillons étaient contaminés par les AFs avec un niveau moyen de 4,7 µg/kg. Par contre leurs résultats n'ont pas montré la présence de l'AFB1.

En Inde, les études de Reddy et al., en 2002 ont démontré que présence d'AFs dans 3 échantillons de riz sur les 48 analysés avec des niveaux de contaminations supérieures à la limite acceptable. Dans le respect des résultats, les valeurs maximales en AFs dans cette étude, étaient inférieures à celles de Bandara et al., (1991) ; Ghali et al., (2008), mais supérieure à celles de Liu et al., (2006). Dans une autre étude, Toteja et al., (2006) ont analysé 1511 échantillons de riz étuvé en Inde et 38,5 % des échantillons étaient contaminés par l'AFB1.

Au Vietnam, l'OTA a été détecté dans le riz avec des niveaux de contamination entre 21,3 et 26,2 µg/kg (Trung et al., 2001). Au Maroc, Zinedine et al., 2007 ont rapporté une forte fréquence (avoisinant 90%) de contamination du riz commercialisé à Rabat-Salé. Environ 15% de l'ensemble des échantillons étaient au-dessus de la limite maximale fixée par la législation de l'Union Européenne.

Plusieurs pays européens ont eu à étudier la présence naturelle de l'OTA dans le riz, car, c'est l'une des plus importantes cultures vivrières au monde. Il fournit 27,0 % de l'approvisionnement en énergie alimentaire et 20,0 % de l'apport en protéines alimentaires partout dans le monde (FAO, 2004).

Ainsi on peut citer la Turquie, où les travaux de Serkan et al., (2010) ont conduit à l'identification de 38 (38.0%) d'échantillons contaminés sur les 100 échantillons de riz analysés. Seulement trois (3) échantillons ont présentés des niveaux de contamination supérieurs aux limites tolérables.

En Tunisie, l'étude de la contamination des échantillons de riz par l'OTA, fait ressortit 25% de contaminations, avec des teneurs comprises entre 0.8-2.3 µg/kg (Ghali et al., 2008)

Résultats et discussion

Cependant, en Grande Bretagne (Scudamore et al., 1997) et en Espagne (Gonzalez et al., 2006), bien qu'ils affichent des fréquences de contaminations assez faibles et relativement proches (7.5% et 7.8% respectivement), on dénote des contaminations élevées d'OTA (min 1,0 µg/kg et 4.3 µg/kg ; max, 19.0 µg/kg et 27.3 µg/kg) respectivement.

Les travaux de Park et al. (2005) en Corée du Sud font ressortir une fréquence de contamination assez proche des deux dernières. Ainsi, 9% des échantillons de riz coréens étaient contaminés par l'OTA ; avec des teneurs qui varient entre 2.1 et 6.0 µg/Kg.

Bien d'autres études ont été réalisées dans plusieurs pays. La Côte d'Ivoire (Sangare Tigori et al., 2006) ; le Brésil (Simionato et al., 2003) ; le Portugal (Pena et al., 2005) ; le Vietnam (Nguyen et al., 2007).

Nous avons observé que la fréquence de contamination dans le riz blanc est plus élevée par rapport au riz étuvé, et la dominance de genre *Aspergillus* et de *Penicillium* qui ont potentiellement productrices des Aflatoxines et Ochratoxines.

D'après nos résultats, *Aspergillus* est le genre le plus fréquent et le plus dominant dans les échantillons analysés de riz blanc. Le genre *Penicillium* est plus fortement marqué dans les échantillons analysés de riz étuvé. Dans ces mêmes échantillons, *Aspergillus* vient en deuxième position après *Penicillium*.

La haute fréquence et l'abondance d'*Aspergillus* et de *Penicillium* dans notre étude pourraient être dues aux pratiques agricoles non scientifiques et inadéquates, ainsi qu'à de mauvaises conditions de stockage (Whitlow et Hagler, 2001).

Parmi les sections d'*Aspergillus* identifiées, *Aspergillus flavus*, est la plus dominante avec 8 isolats dans les deux échantillons. Ces résultats rejoignent ceux de (Mersellem et al., 2013)

La dominance du genre *Aspergillus* dans la flore contaminante des céréales a été reportée dans plusieurs travaux. (Le Bars et al., 1987 Badji et al., 2005).

Tandis que, les résultats obtenus par la méthode de grains montrent la dominance de genre *Penicillium* suivi par *Aspergillus*. La méthode directe est la méthode préférée pour détecter, évaluer et isoler des mycètes des nourritures particulières telles que des grains et des noix. Dans cette

Résultats et discussion

methode, des particules de nourriture sont placées directement sur des milieux. Ce processus est plus efficace pour étudier la qualité mycologique inhérent, et permet également une bonne évaluation de la présence potentielle des mycotoxines (Nguyen, 2007). Il faut aussi souligner l'apparition du genre *Alternaria* qu'est accompagnée aussi par une production de mycotoxines (Charouana et Brel, 2018).

En outre, la dominance d'*Aspergillus* section *flavi* par rapport aux autres sections d'*Aspergillus* identifiées dans le riz analysé, est signalée dans les études menés dans les régions à climat chaud, les espèces de cette section sont les plus fréquemment isolées dans les graines de céréales (Riba, 2008). *Aspergillus favus* est l'espèce type de cette section, elle est très répandue dans les climats chauds et occupe des niches écologiques très divers (Wilson et al., 2002). Cette espèce vit dans le sol à l'état saprophyte mais est capable de provoquer le pourrissement des grains (Horn et Dorner, 1998), c'est un agent principal qui provoque la production d'aflatoxine de type B seulement.

Généralement, les espèces d'*Aspergillus* et *Penicillium* sont des contaminants typiques des céréales de stockage. Dans les mauvaises conditions de stockage, ces champignons peuvent évoluer et devenir des parasites. (El Khoury, 2007)

Nous avons rendu compte également que le traitement thermique (étuvage) qui subit le riz étuvé réduit le risque de contamination de riz par ces champignons.

La contamination par les moisissures peut survenir avant la récolte, elle peut être aggravée par les conditions d'entreposage, comme elle peut aussi survenir au cours du processus de fabrication ou pendant le stockage (FAO et OMS, 2012).

***CONCLUSION ET
PERSPECTIVES***

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

De nos jours, les mycotoxines posent un réel problème sanitaire à l'échelle mondiale. Les aflatoxines sont, sans aucun doute, responsables de cancer du foie chez l'homme (Lyoussi, 2012).

En Algérie, le manque de contrôles sanitaires, le mauvais conditionnement des aliments (lieux de stockage humides, chauds et mal aérés) ainsi que l'absence d'une réglementation stricte augmentent le risque de contamination par ces métabolites. La fréquence de contamination des aliments mis à la disposition du public et la teneur des aflatoxines deviennent une menace sérieuse (Bouras, 2014).

Dans cette étude, nous avons essayé de présenter la majorité des travaux qui ont été effectués sur la contamination du riz par les champignons mycotoxigènes, Nous avons isolé 47 souches fongiques appartenant aux genres *Aspergillus*, *penicillium*, *Alternaria* et *Rhizopus*.

Selon les résultats trouvés, il paraît clairement que la population algérienne n'est pas à l'abri du danger causé par les mycotoxines de ces champignons du fait qu'un ensemble des échantillons du riz était fortement contaminés par ces moisissures.

On peut conclure que cette contamination a lieu du fait de l'absence de contrôles de routine par les autorités compétentes et de l'absence de standards de qualité et de sécurité sanitaire des aliments, dans les unités industrielles Algériennes et les unités d'importation pour le contrôle de la croissance des moisissures et la production des mycotoxines pendant la distribution et le stockage. Une révision des normes réglementaires proposées par les autorités Algérienne s'avère nécessaire en vue de leur harmonisation avec la réglementation internationale en vigueur (Zinedine et Idrissi, 2007).

Finalement, un programme de surveillance des mycotoxines est devenu une priorité nationale et ce pour la protection des consommateurs inconscients des effets néfastes provoqués à long terme par ces substances (Zinedine et Idrissi, 2007).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au terme de ce travail, il sera intéressant de compléter et de développer le sujet par les études suivantes :

- Étude du degré de contamination par les mycotoxines : aflatoxine B1 et ochratoxine A (OTA) dans le riz.
- Étude des conditions pouvant réduire la production des mycotoxines.
- L'extraction des mycotoxines.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abdel-Hafez**, A. M., Obada, A. S., & Ahmad, M. M. A. (1987). N-level atom and N-1 modes: statistical aspects and interaction with squeezed light. *Physical Review A*, 35(4), 1634
2. **Abia**, W. A., Montgomery, H., Nugent, A. P., & Elliott, C. T. (2021). Tropane alkaloid contamination of agricultural commodities and food products in relation to consumer health: Learnings from the 2019 Uganda food aid outbreak. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 501-525.
3. **Abia**, W. A., Montgomery, H., Nugent, A. P., & Elliott, C. T. (2021). Tropane alkaloid contamination of agricultural commodities and food products in relation to consumer health: Learnings from the 2019 Uganda food aid outbreak. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 501-525.
4. **Afssa**. (2009). Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes
5. **Ahlam**, L. O. M. R. I., & Zad, M. D. (2019). Les méthodes d'isolement, de purification, d'identification et de caractérisation des champignons phytopathogènes du blé dur de la région de Bordj Bou Arreridj (Doctoral dissertation).
6. **Ali**, B. J., Saleh, P. F., Akoi, S., Abdulrahman, A. A., Muhamed, A. S., Noori, H. N., & Anwar, G. (2021, May). Impact of Service Quality on the Customer Satisfaction: Case study at Online Meeting Platforms. In Ali, BJ, Saleh, Akoi, S., Abdulrahman, AA, Muhamed, AS, Noori, HN, Anwar, G.(2021). Impact of Service Quality on the Customer Satisfaction: Case study at Online Meeting Platforms. *International journal of Engineering, Business and Management* (Vol. 5, No. 2, pp. 65-77).
7. **Ali**, F., Akhtar, N., Shafique, S., & Shafique, S. (2021). Isolation and identification of Aspergilli causing Banana fruit rot.
 - a. alimentaires humaine et animale. *Rapport final*, 1-308.
8. **Andre A.** (1967); Le riz, Maisonneuve et Larose, Paris
9. **Arraudeau M.** (1998); Le riz irrigué; Maisonneuve et Larose; Paris, 659p
10. **B. Courtois** (2007) Une brève histoire du riz et de son amélioration génétique. Cirad, France,

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

11. **Baddi, M.**, NASSIK, S., ALALI, S., & EL HRAIKI, A. (2021). L'impact économique et sanitaire des mycotoxines entre aujourd'hui et demain. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 9(3).
12. **Badji, B.**, Riba, A., Mathieu, F., Lebrihi, A., & Sabaou, N. (2005). Activité antifongique d'une souche d'*Actinomyces* d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxigènes. *Journal de Mycologie Médicale*, 15(4), 211-219.
13. **Bandara, J. M. R. S.**, Vithanage, A. K., & Bean, G. A. (1991). Occurrence of aflatoxins in parboiled rice in Sri Lanka. *Mycopathologia*, 116(2), 65-70.
14. **Bensaâda, H.**, Meledjem, M., Lounis, A., & Bouhous, M. E. (2010). *Les champignons entomophthorales et leur utilisation en lutte biologique* (Doctoral dissertation, université de jijel).
15. **Botton, B.**, Breton, A., Fèvre, M., Guy, P., Larpent, J. P., & Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle
16. **Botton, M.**, & Ron, A. (1990). Gain enhancement in a free electron laser by two-stream instability. *Journal of applied physics*, 67(10), 6583-6585.
17. **Botton, R.**, Cosserat, D., & Charpentier, J. C. (1985). Un nouvel appareil de laboratoire pour l'étude des réactions gaz-liquide et la simulation des réacteurs: la colonne à bulles-gazosiphon. *Entropie (Paris)*, 21(123), 56-67.
18. **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* (Doctoral dissertation, Université Paris-Est).
19. **Boudra, H.** (2009). Les mycotoxines dans les fourrages: un facteur limitant insidieusement la qualité des fourrages et les performances des ruminants. *Fourrages*, 199, 265-280.
20. **Bridger, G. J.**, Skerlj, R. T., Hernandez-Abad, P. E., Bogucki, D. E., Wang, Z., Zhou, Y., ... & Schols, D. (2010). Synthesis and structure– activity relationships of azamacrocyclic CXC chemokine receptor 4 antagonists: Analogues containing a single azamacrocyclic ring are

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

- potent inhibitors of T-cell tropic (X4) HIV-1 replication. *Journal of medicinal chemistry*, 53(3), 1250-1260.
21. **Cahagnier, B.**, Dragacc, S., Frayssinet, C., J.M. Frémy, Hennebert, G.L., Lesage-meessen, L., Multon, J.L., Richard-Molard, D. & Roquebert, M.F. (1998) *Moisissuers des aliments peu hydrates*. Lavoisier Tec&Doc, France.
 22. **Cahagnier, B.**, Dragacc, S., Frayssinet, C., J.M. Frémy, Hennebert, G.L., Lesage-meessen, L., Multon, J.L., Richard-Molard, D. & Roquebert, M.F. (1998) *Moisissuers des aliments peu hydrates*. Lavoisier Tec&Doc, France.
 23. **Carvajal-Campos, A.**, Manizan, A. L., Tadrist, S., Akaki, D. K., Koffi-Nevry, R., Moore, G. G., ... & Puel, O. (2017). *Aspergillus korghoensis*, a novel aflatoxin producing species from the Côte d'Ivoire. *Toxins*, 9(11), 353.
 24. **Champion, R.** (1997). *Identifier les champignons transmis par les semences*. Éditions Quae.
 25. **Chapeland-Leclerc, F.**, Bouchoux, J., Goumar, A., Chastin, C., Villard, J., & Noël, T. (2005). Inactivation of the FCY2 gene encoding purine-cytosine permease promotes cross-resistance to flucytosine and fluconazole in *Candida lusitanae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(8), 3101-3108.
 26. **Cruz, J. F.** (2005). *Usinage du riz au Burkina Faso : diagnostic technique des rizeries*.
 27. **Delmas-Marty, M.**, Delage, G. G., & Abdelgawad, E. L. (2003). *L'harmonisation des sanctions pénales en Europe* (p. 592). Société de législation comparée.
 28. **EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ)**, Koutsoumanis, K., Allende, A., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., ... & Herman, L. (2020). Scientific Opinion on the update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA (2017–2019). *EFSA Journal*, 18(2), e05966.
 29. **EL KHOURY A.**, (2007). *Champignons Mycotoxinogènes et Ochratoxine A (OTA) et Aflatoxine B1 (AFB1) dans les vignobles libanais: Occurrence et Origine*, L'UNIVERSITE SAINT JOSEPH DE BEYROUTH.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

30. **El Khoury, A.** (2007). Champignons Mycotoxinogènes et Ochratoxine A (OTA) et Aflatoxine B1 (AFB1) dans les vignobles libanais: Occurrence et Origine (Doctoral dissertation).
31. **Eskola M.**, 2002.- Study on trichothecenes, zearalenone and ochratoxin A in finnish cereals: Occurrence and analytical techniques. Academic dissertation, EELA Publications, Helsinki.
32. **Eskola M.**, 2002.- Study on trichothecenes, zearalenone and ochratoxin A in finnish cereals: Occurrence and analytical techniques. Academic dissertation, EELA Publications, Helsinki.
33. **Espérance ZOSSOU** et Jonas WANVOEKE,2010. ETUVAGE AMELIORE DU RIZ : Dispositif et description du processus
34. **FAO. 2010.** «Aperçu du développement rizicole. » FAO, Côte d'Ivoire, 9.
35. **Galtier, P.**, Loiseau, N., OSWALD, I. P., & Puel, O. (2006). Toxicologie des mycotoxines: dangers et risques en alimentation humaine et animale. Bulletin de l'Académie vétérinaire de France.
36. **Gams W**, Christensen M, Onions A.H.S, et al. Infrageneric taxo of Aspergillus, in : Samson R.A. Pitt J.I. Advances of Penicillium and Aspergillus systematics. London&New-York, Plenum Publi, 1986.
37. **Ghali, R.**, Hmaissia-Khlifa, K., Ghorbel, H., Maaroufi, K., & Hedili, A. (2008). Incidence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in Tunisian foods. Food control, 19(9), 921-924.
38. **Greco, M. T.**, Roberto, A., Corli, O., Deandrea, S., Bandieri, E., Cavuto, S., & Apolone, G. (2014). Quality of cancer pain management: an update of a systematic review of undertreatment of patients with cancer. J Clin Oncol, 32(36), 4149-4154.
39. **Guezlane-tebibel N.**, Bouras n. et ould el hadj m. d., 2016 .les mycotoxines: un danger de santé public
40. **Guiraud, J. P.**, & Rosec, J. P. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Afnor.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

41. **Guiraud, J. P.**, & Rosec, J. P. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Afnor
42. **Harjunpää, V.**, Teleman, A., Koivula, A., Ruohonen, L., Teeri, T. T., Teleman, O., & Drakenberg, T. (1996). Cello-Oligosaccharide Hydrolysis by Cellobiohydrolase II from *Trichoderma Reesei*: Association and Rate Constants Derived from an Analysis of Progress Curves. *European journal of biochemistry*, 240(3), 584-591.
43. **Horn, B. W.**, & Dorner, J. W. (1998). Soil populations of *Aspergillus* species from section Flavi along a transect through peanut-growing regions of the United States. *Mycologia*, 90(5), 767-776.
44. **Ibbitson, J.** (2020). Emergency wage subsidy approved, but parties dispute how parliament should meet next. *Globe and Mail*.
45. **Ibbitson, J.**, & Bricker, D. (2020). Planète vide. Les Arènes.
46. **Ibbitson, J.**, & Bricker, D. (2020). Planète vide. Les Arènes.
47. **Je, J. Y.**, Park, P. J., & Kim, S. K. (2005). Antioxidant activity of a peptide isolated from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate. *Food Research International*, 38(1), 45-50.
48. **KAYA-CELIKER, Hande, MALLIKARJUNAN, P. Kumar, et KAAYA, Archileo.** Mid-infrared spectroscopy for discrimination and classification of *Aspergillus* spp. contamination in peanuts. *Food Control*, 2015, vol. 52, p. 103-111.
49. **Khaoula, M. A. H. R. O. U. C. H. E.**, & Siham, N. E. K. H. I. L. I. (2020). Evaluation de l'activité de l'huile essentielle d'*Azadirachta indica* vis-à-vis d'*Aspergillus flavus* des noix du *Juglans regia* (Doctoral dissertation).
50. **Liu, X.**, Xu, C., Zhong, X., Li, Y., Yuan, X., & Cao, J. (2017). Comparison of 16 models for reference crop evapotranspiration against weighing lysimeter measurement. *Agricultural water management*, 184, 145-155.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

51. **Liu, and Wu, F.** (2010). Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: a risk assessment. *Environment Health Perspectives* 118:818-24.
52. **Lyoussi, M.** (2012). *Alimentation et cancers digestifs* (Doctoral dissertation).
53. **MAKHLOUF J** (2019). Caractérisation de la biodiversité des souches d'*Aspergillus* de la section Flavi isolées d'aliments commercialisés au Liban: approche moléculaire, métabolique et morphologique.
54. **Miquel P** (2014). Les moisissures font le lit de l'asthme à l'école
55. **Molinié, A.,** Faucet, V., Castegnaro, M., & Pfohl-Leszkowicz, A. (2005). Analysis of some breakfast cereals on the French market for their contents of ochratoxin A, citrinin and fumonisin B1: development of a method for simultaneous extraction of ochratoxin A and citrinin. *Food chemistry*, 92(3), 391-400.
56. **Morand-Fehr, P.,** & Tran, G. (2001). La fraction lipidique des aliments et les corps gras utilisés en alimentation animale.
57. **Morin O.** (1994). *Aspergillus et aspergilloses: biologie*, Ed. Techniques Encycl. Med. Chir. (Elsevier, Paris), Mal- adies infectieuses 8-600-A-10 Morno-Martinez
58. **Nadjet, G. T.,** Noureddine, B. O. U. R. A. S., & Didi, O. E. H. M. (2016). LES MYCOTOXINES: UN DANGER DE SANTÉ PUBLIC. *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"*, 6(1).
59. **Norvell, L.L.** (2011). Fungal nomenclature. 1. Melbourne approves a new Code. *Mycotaxon* 116: 481–490
60. **Nyongesa, B. W.,** Okoth, S., & Ayugi, V. (2015). Identification key for *Aspergillus* species isolated from maize and soil of Nandi County, Kenya. *Advances in Microbiology*, 5(04), 205.
61. **O'Brien, E.,** & Dietrich, D. R. (2005). Ochratoxin A: the continuing enigma. *Critical reviews in toxicology*, 35(1), 33-60.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

62. **Patton, A. J.** (2011). Volatility forecast comparison using imperfect volatility proxies. *Journal of Econometrics*, 160(1), 246-256.
63. **Pellan, L.,** Strub, C., Durand, N., Fontana, A., & Schorr-Galindo, S. (2018). Décryptage des mécanismes biologiques impliqués dans le bio contrôle des champignons mycotoxinogènes des céréales. Poster communications-P20. ISSCT.
64. **Petzinger, E.,** & Ziegler, K. (2000). Ochratoxin A from a toxicological perspective. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 23(2), 91-98.
65. **Pfohl-Leszkowicz, A.,** Petkova-Bocharova, T., Chernozemsky, I. N., & Castegnaro, M. (2002). Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract tumours: a review on aetiological causes and the potential role of mycotoxins. *Food additives & contaminants*, 19(3), 282-302.
66. **Pickova, D.,** Ostry, V., & Malir, F. (2021). A Recent Overview of Producers and Important Dietary Sources of Aflatoxins. *Toxins*, 13(3), 186.
67. **Pitt, B.,** Poole-Wilson, P. A., Segal, R., Martinez, F. A., Dickstein, K., Camm, A. J., ... & ELITE II investigators. (2000). Effect of losartan compared with captopril on mortality in patients with symptomatic heart failure: randomised trial—the Losartan Heart Failure Survival Study ELITE II. *The Lancet*, 355(9215), 1582-1587.
68. **Pitt, J. I.** (2000). Toxigenic fungi: which are important?. *Sabouraudia*, 38(Supplement_1), 17-22.
69. **Ramírez-Camejo, L. A.,** Zuluaga-Montero, A., Lázaro-Escudero, M., Hernández-Kendall, V., & Bayman, P. (2012). Phylogeography of the cosmopolitan fungus *Aspergillus flavus*: is everything everywhere. *Fungal biology*, 116(3), 452-463.
70. **Reddy, A. R.,** Ramakrishna, W., Sekhar, A. C., Ithal, N., Babu, P. R., Bonaldo, M. F., ... & Bennetzen, J. L. (2002). Novel genes are enriched in normalized cDNA libraries from drought-stressed seedlings of rice (*Oryza sativa* L. subsp. indica cv. Nagina 22). *Genome*, 45(1), 204-211.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

71. **Reddy, K. R.**, & Cameselle, C. (2009). Electrochemical remediation technologies for polluted soils, sediments and groundwater. John Wiley & Sons.
72. **Riba, A.**, Mokrane, S., Mathieu, F., Lebrihi, A., & Sabaou, N. (2008). Mycoflora and ochratoxin A producing strains of *Aspergillus* in Algerian wheat. *International journal of food microbiology*, 122(1-2), 85-92.
73. **Samson, R. A.** (1994). Current systematics of the genus *Aspergillus*. *The genus Aspergillus*, 261-276.
74. **Samson, R. A.**, Houbraken, J., Thrane, U., Frisvad, J. C. & Andersen, B. (eds., 2010). Food and indoor fungi. (CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre: Utrecht, The Netherlands). 390 p.
75. **Scudamore, K. A.**, & Livesey, C. T. (1998). Occurrence and significance of mycotoxins in forage crops and silage: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(1), 1-17.
76. **Scudamore, K. A.**, Hetmanski, M. T., Chan, H. K., & Collins, S. (1997). Occurrence of mycotoxins in raw ingredients used for animal feeding stuffs in the United Kingdom in 1992. *Food Additives & Contaminants*, 14(2), 157-173.
77. **Serkan, C.**, Goksel, C., Ramazan, A., Yucel, B., Ahmet, D. D., & Sinan, A. (2010). Heart rate profile during exercise in patients with early repolarization. *Chinese medical journal*, 123(17), 2305-2309.
78. **Tabuc, C.** (2007). *Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines* (Doctoral dissertation).
79. **Temple, L.**, Onjaherilanto, R., Razafimahatratra, M. H., Nkott, N., Lucrèce, A., & Ramanitrinizaka, F. N. A. (2021). Gouvernance des conditions sociétales d'évaluation de Plantes de riz Génétiquement Editées à Madagascar.
80. **Todomé, L.**, Lejars, C., Lançon, F., & Hamimaz, R. (2018). Pourquoi le riz étuvé local est-il peu disponible sur les marchés urbains du Bénin?.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

81. **Toteja, G. S.**, Mukherjee, A., Diwakar, S., Singh, P., Saxena, B. N., Sinha, K. K., ... & Sarkar, S. (2006). Aflatoxin B1 contamination of parboiled rice samples collected from different states of India: A multi-centre study. *Food additives and contaminants*, 23(4), 411-414.
82. **Trung, T. S.**, Bailly, J. D., Querin, A., Le Bars, P., & Guerre, P. (2001). Fungal contamination of rice from south Vietnam, mycotoxinogenesis of selected strains and residues in rice. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 152(7), 555-560.
83. **Van Egmond H. P.** (2002). Worldwide Regulations for Mycotoxins, *Advances in Experimental Medical Biology*, Vol. 504, 2002, pp. 257-269.
84. **Varga, J.**, Frisvad, J. C., and Samson, R. A. (2011). Two new aflatoxin producing species, and an overview of *Aspergillus* section *Flavi*. *Stud.Mycol.* 69, 57–80. doi: 10.3114/sim.2011.69.05
85. **Whitlow, L. W.**, & Hagler, W. M. (2001, October). Mycotoxin contamination of feedstuffs- An additional stress factor for dairy cattle. In North Carolina State University, Raleigh, NC. Symposium sur les bovins laitiers. CRAAQ, Québec.
86. **Yiannikouris A.**, Jouany J. P., 2002.- Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review, *Anim. Res.*, INRA, EDP Sciences, 51: 81-99.
87. **Yin, P.**, Chen, R., Wang, L., Meng, X., Liu, C., Niu, Y., ... & Kan, H. (2017). Ambient ozone pollution and daily mortality: a nationwide study in 272 Chinese cities. *Environmental health perspectives*, 125(11), 117006.
88. **Zimmerli, B.**, Dick, R., 1996. Ochratoxin A in table wine and grape-juice: Occurrence
89. **Zinedine A.**, et Idrissi L. (2007). Présence et réglementation des mycotoxines dans les aliments au Maroc: Situation actuelle et perspectives. *Les Technologies De Laboratoire - N°7* Novembre-Décembre 2007
90. **Zinedine, A.**, & Idrissi, L. (2007). Présence et réglementation des mycotoxines dans les aliments au Maroc: Situation actuelle et perspectives. *Les technologies de laboratoire*, 2(7).

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

91. **Zinedine, A.**, Soriano, J. M., Juan, C., Mojemmi, B., Molto, J. C., Bouklouze, A., ... & Manes, J. (2007). Incidence of ochratoxin A in rice and dried fruits from Rabat and Sale area, Morocco. *Food Additives and Contaminants*, 24(3), 285-291.

ANNEXES

1. Matériels

- Bec Bunsen.
- Autoclave
- Des flacons (250ml)
- Lames
- Papier d'aluminium
- Balance
- Microscope optique
- Boîtes pétris.
- Entonnoir
- Papier absorbant
- Pissette.
- Ans de platine.
- Les lamelles
- L'étuve
- Becher

2. Milieu de culture

Milieu sabouraud

1. Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée

Peptone de caséine 5,00

Peptone de viande 5,00

Glucose monohydraté 40,00

Chloramphénicol 0,50

Agar 15,00

pH final à 25°C : $5,6 \pm 0,2$

2. Préparation

Dissoudre 13 g de poudre dans 200ml d'eau distillée, agiter puis autoclaver à 120° pendant 20min.

3. Solutions

- L'eau distillée stérile.
- **Lactophénol.**

Composition :

Aniline bleue 0,05 g

Acide lactique 20 ml

Phénol crystal 20 g

Glycérol 40 ml

Eau distillée 20 ml.