

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée



Réf :

Mémoire de fin de cycle
En vue de l'obtention de diplôme

MASTER

Thème

**Recherche de souches fongiques productrices
d'ochratoxine A dans la fige sèche.**

Présenté par :

M. KADI Massinissa
M. ISMAIL Ghayal

Soutenu le : 20 Septembre 2021

Devant le jury composé de :

M. KECHA Mouloud	Pr	Président
M. BETTACHE Azzeddine	MCA	Examineur
M. BOUKHALFA Farid	MCA	Encadreur
M. ARROUL Younes	Doctorant	Invité

Année Universitaire : 2020 / 2021

Dédicaces

Je dédie ce travail :

À ceux qui m'ont tout donné sans jamais rien attendre en retour, à ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans les moments difficiles et importants de ma vie, mes très chers parents qui, au fil des ans, ont toujours manifesté leur soutien et ont fait en sorte que je réussisse.

À celle qui a comblé mon cœur d'amour et ma vie de joie, Amel.

À chaque membre de ma famille sans exception.

À Mr Hafed-eddine MANSOURI et à sa petite famille que j'aime énormément.

À Mr MADANI Khodir pour ses conseils et son amitié qui m'a valu d'agréables années à l'université.

À tous mes amis Anis, Amar, Ahmed, Imad, Rabah, Ahmed, Lounis, Fahem, Azouz, Younes et Rayane pour qui j'exprime une énorme gratitude.

À Mr BOUKHALFA Farid et ARROUL Younes pour leur soutien et conseils afin d'aboutir à terme ce travail de valeur.

À Mlle BOUAOUD qui nous a été d'un conseil et d'une bienveillance exemplaire.

Un grand Merci à vous tous.

Massi

Dédicaces

*Louange à Dieu, le Miséricordieux, le compatissant. Paix et Salut sur
notre Prophète Mohammed.*

Je dédie ce travail

À

*Mes chers parents
Mes grands-parents que Dieu les protège
Mon petit frère Yazid
Mes tantes : Saloua et Safia*

Et

*Mes tantes paternelles : Ouardia, Saadia et Djazia
Aux petits anges de la famille : Asma, Dania, Anis, Anais et Samy*

Et

*À toute ma famille, à mes voisins
Pour vous mes chers amis : Khaled, Hachemi et Rachid*

*Avec un grand honneur que je dédie ce mémoire pour mes
enseignants : AOUCHE A/Aziz et AMER Mohend qui ont
fait de moi ce que je suis aujourd'hui !*

*À mon cher ami et frère : KADI Massinissa et à tous mes amis :
Ahmed, Rabah, Anis, Kamel, Amar, Azouz et Younes ARROUL.*

*À Mr Hafed-edine MANSOURI pour son accueil au sein du Labo
Qualilab*

*Merci pour Rafika, Cylia et Fatima pour leur collaboration
Merci également à toute personne ayant contribué de près ou de loin.
Ghayal*

Remerciement

À l'issue de ce travail, on tient tout d'abord à exprimer notre entière reconnaissance à dieu tout puissant qui, sans lui, rien ne serait possible.

Patience, volonté et courage ont été nos armes afin d'aboutir à bon terme nos divers travaux au fil des années aboutissant à ce dernier, qui représente tant pour nous, récompense de nos efforts fournis mais aussi achèvement d'un long parcours marquant le début d'un second chapitre de notre vie.

La concrétisation de ce travail est tout d'abord le fruit de nos efforts et de notre dévouement à ce que la science peut fournir de meilleur mais c'est sans oublier l'encouragement et les conseils de personnes qui ont été au fil de ces années, nos guides et nos mentors afin de pouvoir servir l'intérêt de science et celui de l'humain.

*Nos sincères remerciements sont adressés à notre enseignant encadreur **Mr BOUKHALFA Farid** qui nous a été d'une aide et d'un conseil précieux.*

*Nos plus sincères et profonds remerciements vont également à **Mr ARROUL Younes**, doctorant et co-encadreur, qui, en plus de sa bienveillance, nous a été d'une orientation remarquable, faisant de notre travail son intérêt majeur.*

*Nous tenons impérativement à remercier **Mlle BOUAOUD** pour son soutien mais avant tout pour ses conseils tout au long de notre travail.*

*On remercie vivement le président du jury **Pr KECHA Mouloud** de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*Nous tenons également à saluer **Mr BETTACHE Azzedine** de veiller au bien être de l'étudiant, aux côtés du chef de département **Mr DJOUDI Ferhat** qui font un travail exceptionnel en faveur de l'évolution de l'étudiant, et c'est un énorme privilège de l'accueillir au sein du jury autant qu'examineur.*

*Enfin, nous remercions le directeur du Laboratoire de contrôle de la qualité **ECOSS Qualilab Mr HAFED-EDDINE MANSOURI** de nous avoir été d'une grande contribution dans la concrétisation de notre travail.*

LISTE DES ABREVIATIONS

AF	Aflatoxine
AFB1	Aflatoxine B1
AFB2	Aflatoxine B2
AFG1	Aflatoxine G1
AFG2	Aflatoxine G2
Aw	Activité de l'eau
DG18	Dichlorane 18% Glycérol Agar
DNS	Dinitro Salicylic Acid
HPLC	Chromatographie Liquide Haute Performance
IARC	Agence Internationale De Recherche Sur Le Cancer
MADR	Ministère De L'agriculture Et Du Développement Rural
MEA	Malt Extract Agar
OTA	Ochratoxine A
PDA	Potato Dextrose Agar
UV-Vis	Ultraviolet- Visible

LISTE DES FIGURES

Figure 1 Photographie des feuilles de figuier et d'une figue.....	4
Figure 2 Schématisation de la structure de la paroi fongique.....	10
Figure 3 <i>Aspergillus niger</i> (culture de 7 jours sur gélose au malt à 25°C et aspect microscopique)	12
Figure 4 : Courbe d'étalonnage de la solution de SAB (1mg/ml)	23
Figure 5 Aspect des boites après culture observées à l'œil nu.	27
Figure 6 Aspect des boites vues à l'œil nu de la culture primaire à la culture purifiée.	28
Figure 7 Observation au microscope Optique et à la loupe de la culture obtenue	28
Figure 8 Observation des boites et microscopique pour l'échantillon AVERKAN.....	29
Figure 9 Observation des Boites pour l'échantillon TAAMRIWT et AVERKAN BARBACHA	26
Figure 10 Image de la variété TAAMRIWT dans DG 18 ne présentant aucune culture fongique.....	26
Figure 11 Observation des Boites pour l'échantillon AVERKAN AKBOU	26

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I composition et valeur nutritive de la figue fraiche et sèche.....	6
Tableau II composition en éléments minéraux de la figue fraiche et sèche	6
Tableau III Détail des échantillons selon origine, date et quantité établi par nos soins.	16
Tableau IV Préparation de la gamme d'étalonnage de la BSA (1mg/ml).....	22
Tableau V Les propriétés physico-chimiques des variétés analysées établi par nos soins.	24
Tableau VI Tableau comparatif des résultats, établi par nos soins.	25

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : Généralités sur la figue et la figue sèche	
I. LE FIGUIER	3
1. Caractéristiques botaniques :.....	3
2. Habitat et répartition géographique :	3
3. Usage et propriété :	4
II. LA FIGUE :	4
1. Description du fruit.....	4
2. Formation et maturation de la figue :.....	5
3. Critères de classification :	5
A Selon les critères morphologiques	5
B Selon la comestibilité du fruit.....	5
4. Composition chimique :.....	5
III.Figue sèche :	6
1. Elaboration de la figue sèche :.....	7
2. Séchage et conservation :	7
A. Séchage traditionnel (au soleil).....	7
B. Séchage moderne :	8
CHAPITRE II: Généralités sur les champignons et les mycotoxines	
LES CHAMPIGNONS:	
I. Historique et évolution :.....	10
II. Caractéristiques et classification:	10
1. Caractéristiques cytologiques :.....	10
2. Reproduction des champignons.....	10
3. Mode de vie des champignons :	11
4. Toxinogénèse des champignons :	11

5. Moisissures et alimentation :	11
A. Moisissures dans la figue sèche :	11
a) Généralités sur les Aspergillus.....	11
b) Taxonomie et classification.....	11
GENERALITES SUR LES MYCOTOXINES :	12
1. Origine chimique:.....	13
2. Les principales Mycotoxines :	13
A Aflatoxine	13
B Ochratoxine A (OTA) :	13
3. La Mycotoxinogénèse :	13
4. Contamination de la figue sèche par les mycotoxines :	14
I. L'OCHRATOXINE A (OTA) :	14
1. Généralités sur les Ochratoxines :	14
2. L'ochratoxine A (OTA) :	14
3. La prévention et lutte contre la production de l'ochratoxine A (OTA) :	15
a) Les méthodes chimiques :	15
b) Les méthodes physiques :	15
c) La stratégie de bio-contrôle.....	15
MATERIEL ET METHODES.....	16
I. EVALUATION MICROBIOLOGIQUE :	16
1. Echantillonnage :	16
2. Préparation des milieux de culture utilisés :	17
3. Isolement de la mycoflore :	17
4. Lecture des résultats :	17
5. Purification de la pré-culture :	18
6. Préparation des frottis de moisissures pour la microscopie :	18
7. Identification des isolats :	19

II. EVALUATION PHYSICO-CHIMIQUE :	19
1. Mesure du pH :	19
2. Détermination de l'acidité titrable :	19
3. Détermination de la teneur en eau.....	20
4. Détermination de l'activité de l'eau (Aw) :	21
5. Dosage des sucres réducteurs : :	21
6. Dosage des sucres totaux : :	21
7. Dosage des protéines :	22
Résultats et Discussion	24
I. Résultats de l'évaluation physico-chimique :	24
1. Dosage des Glucides:.....	24
2. Dosage des protéines :	25
3. Humidité et teneur en eau :	26
4. Acidité titrable :	26
5. pH :	27
II. Résultats de l'évaluation microbiologique :	27
1. Variétés : TAAMRIWT et AVERKAN EXTRA ADEKAR 900 m :	27
2. Variété : TAAMRIWT EXTRA BENI-MAOUCHE 800 m :	28
3. Variété : AVERKAN Extra BENI-MAOUCHE 800 m.....	29
4. Variété : TAAMRIWT et AVERKAN BARBACHA.....	29
5. Variétés : TAAMRIWT et AVERKAN AKBOU :	30
Conclusion et Perspectives	34
Listes des références	
Annexes	
Résumé	

Introduction

L'arboriculture fruitière fait partie intégrante de la vie économique et sociale de l'Algérie dont la mise en culture de plusieurs espèces a été favorisée par sa géographie et ses conditions pédoclimatiques très diversifiés permettant une production fruitière tout au long de l'année. **(Bachi, 2012).**

Le Figuier, plante originaire du Moyen Orient et dans plusieurs régions, surtout celles du bassin méditerranéen. La figue, (dont son nom botanique : *Ficus carica*) présente une richesse nutritionnelle notamment par son apport en glucides, fibres, acides aminés essentiels, vitamines et minéraux **(Sadhu, 1990)**. L'utilisation traditionnelle des diverses parties du figuier présente des vertus médicinales importante **(Rubnov et al., 2001)**.

La production nationale des figues en 2018, est estimée à 606 700 Qx et la production des figues sèches est de l'ordre de 31 200 Qx faisant d'elle, la quatrième culture fruitière après l'olivier, le palmier dattier et l'agrumes en Algérie. L'Algérie produit des figues en quantité importante spécialement la région de la Kabylie (Bejaia et Tizi-Ouzou) et Sétif **(MADR, 2019)**. Ces chiffres font donc de l'Algérie le troisième pays producteur de figue après la Turquie et l'Egypte **(FAO, 2015)**.

La figue fraîche est très rapidement périssable à température ambiante. **(El khaloui 2010)**. Le séchage est élaboré afin de prolonger leur durée de vie en réduisant sa teneur en eau **(Vinson 1999)**, et s'effectue soit par méthode traditionnelle ou dans des séchoirs mécaniques **(Karathaanos et Belessiotis, 1997)**.

La présence de moisissures filamenteuses et de toxines dans la figue sèche influence fortement l'aspect qualitatif et sanitaire de cette dernière notamment par la contamination en mycotoxines qui sont des toxines du métabolisme secondaire de certaines espèces de moisissures pouvant être nocives à la santé humaine. Les AFs et OTA sont les mycotoxines les plus fréquentes et font ainsi l'objet d'un contrôle régulier. Toutefois, la présence de moisissures au sein d'un aliment ne signifie pas forcément la production de mycotoxines. La mycotoxinogénèse est un phénomène d'une grande complexité dont les conditions optimales dépendent d'une combinaison des facteurs température et humidité dont leur étude nous aidera à contrôler la production des mycotoxines au cours du stockage de ces denrées alimentaires en l'occurrence la figue et la figue sèche.

C'est dans ce sens que notre travail s'inscrit à la recherche de souches fongiques mycotoxinogènes notamment la production d'OTA très abondante dans la figue sèche.

Notre travail sera présenté comme suit : Une première partie résumant la recherche bibliographique effectuée afin de présenter au mieux l'intitulé de notre travail suivi notamment de la partie expérimentation qui aura pour objectif principal l'isolement et la purification de souches de moisissures possédant le caractère de production de mycotoxine bien défini au nom d'OTA donc potentiellement ochratoxinogènes à partir d'échantillons provenant essentiellement des quatre coins de la Wilaya de Béjaïa pour une représentativité des échantillons et assurer la fiabilité des résultats obtenus, ainsi de l'étude faite.

Partie Bibliographique

I. LE FIGUIER :

Le figuier commun au nom scientifique (*Ficus carica* L.) dont la région méditerranéenne est une zone caractéristique à cette espèce, devenue une tradition à travers sa culture et son utilisation ancestrale.

En Algérie, la culture de ce fruit est d'une importance socio-économique fondamentale, d'autant plus qu'est considérée par le passé comme étant un critère de sédentarisation des populations (Bouzidi L, 2012). Le figuier Algérien caractérisé notamment par une multitude de variétés locales auxquelles plusieurs appellations sont attribuées et ce, en fonction des zones et des localités (Hadj Sahraoui, 2014).

Le figuier, étant un arbre fruitier de l'ordre des *Rosales* et de la famille des *Moraceae*, abrite plus de 1400 espèces calcées répartis en environ 40 genres (Watson et Dallwitz, 2004). Selon le *Codex alimentarius* (2006), le figuier commun *Ficus carica* est la seule espèce décrite productrice de fruits comestibles.

1. Caractéristiques botaniques :

Le figuier, arbre dioïque de formes **male** (*caprifiguier*) et **femelle** (*figuier commun*) pouvant supporter jusqu'à deux à trois cycles de fruits par an. *Le caprifiguier* abrite l'insecte à l'origine de la pollinisation, *Blastophaga psenes*, sous forme de larve au niveau des ovaires des fleurs femelles et assure par conséquent la production du pollen responsable de la reproduction (Valizadeh et al., 1987) (Hossaert-McKey et al., 1993).

Le *figuier commun*, produisant que des graines ; ses fleurs mâles sont stériles (Khadari et al., 1994).

2. Habitat et répartition géographique :

Le figuier est un arbre originaire du bassin méditerranéen oriental et de l'Asie, devenu couramment cultivé dans tous les pays tropicaux et subtropicaux (Stover, 2007). Servant également de source commerciale importante dans certaines parties des Etats Unis, en Chili, en Inde,...(Chawla et al., 2012). Etant peu exigeant et très tolérant pouvant s'adapter à plusieurs conditions climatiques, le figuier possède également la capacité de produire longtemps. Cependant, il est intolérant à l'ombre (Jeddi, 2009).

En Algérie : Selon les statistiques du MADR, une superficie de 46 935 ha est réservée à la culture du figuier représentant ainsi un taux 5,70 % de la surface occupée par les

plantations en Algérie après l'olivier, le palmier et les agrumes abondamment réparties dans les willayas de Béjaïa, Tizi-Ouzou et Sétif (MADR, 2019).

3. Usage et propriété :

Certaines parties de la plante comme l'écorce, les feuilles, les fruits, les graines et le latex procure un effet thérapeutique et médicinal important. Le fruit, pouvant être consommé frais ou sec, est très nourrissant et peut servir comme produit industriel (Jeddi, 2009). En médecine traditionnelle, l'emploi fréquent des racines autant que traitement du leucoderme et des fruits à caractère doux, pour ses propriétés purgatives et une activité anti-inflammatoire. Il a été aussi rapporté que *Ficus carica* possède également des activités antioxydante, antivirale, antibactérienne, hypoglycémique (Baby, 2011).

II. LA FIGUE :

La figue, fruit ancestral, est commercialisée sous forme fraîche ou sèche. Le taux de glucides élevé pour la figue sèche, obtenue uniquement par pollinisation, tandis que les figues fraîches sont produites à partir de variétés parthénocarpiques sans pollinisation (Westerkamp et Gottsberger., 2000 ; Lev-Yadun et al., 2006).

1. Description du fruit :

La figue est un fruit charnu, en forme d'urne dont l'ouverture appelé ostiole est hermétiquement fermée par des bractées ne s'écartant qu'à maturité. Intérieurement, la figue est tapissée de plusieurs centaines, parfois de milliers de fleurs majoritairement femelles. (Pesson et Louveaux, 1984).



Figure 1 Photographie des feuilles de figuier et d'une figue (Bachi, 2012).

Les caractères morphologiques souvent influencés par les conditions du milieu (climat, composition du sol) permettent une identification précise en fonction des critères suivant : taille, forme du fruit et de la feuille, couleur de l'épiderme, etc. (**Khadari et al., 1994**) (**Nieddu., 2005**).

Les figues sont divisées en deux catégories : Les figues blanches, se caractérisant par un épiderme vert ou vert jaune, et une pulpe rouge assez sucrée. Les figues colorées (noires) se caractérisent quant à elles par un épiderme rouge-violet, rouge-brun ou noir et une chair plus ou moins foncée (**Khadari et al., 1994**).

Le lexique botanique ne décrit pas la figue autant que fruit, s'agissant en fait d'un réceptacle charnu, le **synconium** (vrai fruit) contenant les fleurs qui, mûres, deviennent comestibles. La figue est enveloppée par une pellicule, et possède une pulpe composée d'un réceptacle renfermant les graines (akènes), un ostiole (opercule) et d'un pédoncule.

2. Formation et maturation de la figue :

La figue est un ensemble de fleurs mâles et femelles jumelées dans une structure végétale commune présentant un ostiole. Le type du figuier est indiqué en fonction de la disposition de ces fleurs (**Vidaud, 1997**).

L'insecte *Blastophaga psenes* assure la pollinisation qui se reproduit dépendamment de la fructification du figuier créant un rapport de dépendance mutuelle (**Valdeyron et al.; 1998**). Ne distinguant pas entre les fleurs longistyles femelles et les fleurs brévistyle mâles, cause une pollinisation involontaire après passage par les longistyles et pont ses œufs sur les brévistyles (**Pontappidan, 1997**).

Ce cycle de développement dure environ deux mois donnant un fruit qui arrive à maturité en fin d'été ou en automne d'où le nom figues d'automne. A ce stade les fleurs femelles ne produisent pas que des graines mais aussi permettent la formation de réceptacle charnu de qualité gustative. (**Valdeyron et al ; 1998**).

3. Critères de classification :

A. Selon les critères morphologiques : Les figues ont des formes et colorations diverses. Selon la forme on distingue les fruits oblongs, pyriformes ou ronds. Pour la couleur, les fruits peuvent varier du violet, noire, verte, rouge et brune. (**Vidaud, 1997**).

B. Selon la comestibilité du fruit : On distingue d'une part, les **figues comestibles** à graines appelées aussi **figues domestiques** regroupant deux variétés des figues d'automne ou des variétés dites Unifères et les variétés pouvant fournir deux à trois

générations annuelles dites Bifères (Vidaud, 1997). D'autre part, il existe d'autres types de figuier appelés les caprifiguiers ne produisant ni graines ni fruits comestibles mais que du pollen qu'est un vecteur polinisateur (Somon, 1987).

4. Composition chimique :

La figue est un fruit, qui, par ses composants chimiques notamment son taux élevé en glucides, pauvre en protéines et en quantité négligeable en lipides, possède une influence particulière sur les propriétés organoleptiques, et par conséquent la valeur nutritionnelle et biologique du fruit (Kolesnik et al., 1987).

La composition moyenne de la figue est illustrée dans le **tableau I (Favier et al., 1993)**. Par ailleurs, la figue procure un apport très conséquent en minéraux et présente des teneurs très appréciables en calcium et magnésium. Étant aussi une très bonne source d'oligo-éléments **tableau II (Favier et al., 1993)**. Après séchage, la figue devient un aliment concentré et énergétique. (Vinson, 1999).

Tableau I : Composition et valeur nutritive de la figue fraîche et sèche (Favier et al., 1993).

Composition (g/100 g)	Figue fraîche	Figue sèche
Eau	79.5	25
Protéines	0.9	3.2
Lipides totaux	0.2	1.2
Glucides	13	53
Fibres alimentaires	2.3	8

Tableau II : Composition en éléments minéraux de la figue fraîche et sèche (Favier et al., 1993).

Minéraux (mg/100 g)	Figue fraîche	Figue sèche
Sodium	3	14
Potassium	232	770
Calcium	60	160
Fer	0.78	2.5
Phosphore	0.26	71
Magnésium	18	62

III. LA FIGUE SECHE :

La figue sèche est le produit des fruits secs mûrs de *Ficus carica* après procédé de séchage. C'est une source de nutrition importante pour les humains (FAO, 2010).

1. Elaboration de la figue sèche :

Le principe de base du séchage des figues constitue en la réduction du taux d'activité de l'eau empêchant le développement des microorganismes et inhibant ainsi leur capacité d'altération, il s'effectue soit artificiellement dans des séchoirs ou exposées au soleil au moyen de l'énergie solaire. (Abene *et al.*, 2005).

La qualité de la figue sèche est étroitement liée à l'état de maturité des figues. La date optimale de récolte est déterminée en fonction de la couleur et de la fermeté du fruit. Les figues destinées au séchage doivent être cueillies à l'état très mûres et récoltées par temps sec et chaque variété doit être cueillie séparément selon ses aptitudes à la dessiccation. La figue parfaitement mûre se flétrit, son port n'est plus érigé, la peau est légèrement craquelée ; le pédoncule d'abord turgescence et blanc laiteux, devient sec et translucide. La figue se détache plus facilement avec son pédoncule contrairement à une figue insuffisamment mure. Cet état de maturité avancé est impératif pour l'obtention des figues sèches de bonne qualité (Ouaouich et Chimi, 2005).

2. Séchage et conservation :

La figue, consommée fraîche en été (Guvenc *et al.*, 2009), est un fruit très fragile et rapidement périssable à température ambiante (El Khaloui, 2010). Les variétés à peau noire et violette sont consommées à l'état frais, tandis que les variétés à peau verte sont celles destinées au séchage (Ouaouich et Chimi, 2005). L'étude des conditions de stockage des figues est primordiale en vue de sa sensibilité à la prolifération microbienne même à basse température de stockage afin d'allonger sa durée de vie (Martinez-Garcia *et al.*, 2013) d'où l'intérêt du séchage ou de la mise en conserve (Deborah et Stéphanie, 2008), permettant aussi la valorisation du produit en absorbant le surproduit (Mamouni, 2002). Les figues pollinisées sont les seules concernées par le procédé de séchage d'où l'intérêt de la caprification (Mamouni, 2002; Oukabli, 2003), les figues à peau fine sont les plus recommandées (Gamero, 2002) tandis que les figues à fleurs et celles d'automne sont destinées à la consommation en frais (Mamouni, 2002).

A. Séchage traditionnel (au soleil) : méthode de conservation traditionnelle permettant l'obtention de figues sèches avec de moyens simples avec coûts réduits et possédant des propriétés organoleptiques très agréables (Sen *et al.*, 2010; Faleh *et al.*, 2012). Les figues sont étalées en monocouche au soleil et sous des conditions favorables (El Khaloui, 2010) à l'air libre (Oukabli, 2002) sur différentes surfaces, sol en terre battue, sur les terrasses (Jeddi, 2009), que l'on recouvre impérativement durant la nuit pour des

raisons qualitatives de séchage et d'hygiène tout en veillant à retirer celles suffisamment séchées afin de finaliser le séchage à l'ombre et dans un endroit très aéré (**Gamero, 2002**). Un aspect bien souple, des pulpes fines et une consistance mielleuse ainsi que le maintien de la forme après pression entre pouce et index indiquent la finalisation du séchage (**Gamero, 2002; El Khaloui, 2010**). Ce procédé ne permet aucune maîtrise de certains paramètres et de facteurs nuisibles faisant du produit final un produit de qualité réduite sur le plan hygiénique et nutritif (**Jeddi, 2009; El Khaloui, 2010**).

B. Séchage moderne : De nos jours, certaines techniques modernes permettent une production élevée de figues sèches se basant sur des systèmes de séchage mécaniques à l'air chaud (**Babalís et al., 2006**). La cinétique de séchage de convecteur dépend de plusieurs facteurs et des propriétés thermodynamiques de l'air (la température, l'humidité et la vitesse de flux d'air) (**Martinez-Garcia et al., 2013**). Les étapes de séchage sont :

- **Réception** : Les figues sont pesées à la réception et une identification des variétés est obligatoire afin de s'assurer de la qualité des fruits réceptionnés (**Ouaouich et Chimi, 2005**).
- **Triage et calibrage** : Le triage se fait manuellement sur tapis d'inspection et permet la suppression des figues impropres à la consommation, peu mûres, abîmées. Le calibrage est l'obtention de fruits de même calibre (même volume, même densité) afin d'assurer l'uniformité (**Ouaouich et Chimi, 2005**).
- **Nettoyage et lavage** : Le fruit est soigneusement nettoyé et lavé afin d'éliminer toute trace de contamination ou de souillure (**Ouaouich et Chimi, 2005**).
- **Blanchiment** : a pour but de nettoyer la peau en éliminant la poussière qui souvent, la recouvre, les traces de latex qui rendent le fruit collant et rend aussi la peau plus perméable, ce qui facilite le séchage. (**Ouaouich et Chimi, 2005**)
- **Séchage** : Le séchage est réalisé dans des séchoirs mécaniques dans une enceinte fermée, permettant de maîtriser les paramètres de séchage, d'optimiser l'énergie et d'assurer au produit les normes d'innocuité et de qualité requises. Ce dernier possède plusieurs avantages dont les plus importants sont : Le séchage indirect du produit avec de l'air ventilé évitant la dégradation de ses composants sensibles aux photons, une qualité excellente du produit séché fini, le séchoir utilise l'énergie du soleil le jour et du fuel la nuit évitant la réhydratation du produit pendant la nuit et enfin une facilité de construction à faible coût d'installation. (**Ouaouich et Chimi, 2005 ; Jeddi, 2009 ; El Khaloui, 2010**).

Immédiatement après l'opération de trempage, les figues sont étalées en monocouche sur des claies qu'on superpose dans l'enceinte du séchoir (El Khaloui, 2010). Un système de ventilation alimenté par des cellules solaires permet de propulser l'air chaud dans les différentes parties du séchoir (Ouaouich et Chimi, 2005; El Khaloui, 2010). Le coefficient efficace de la diffusion d'humidité des figues augmente avec la température de l'air (Martinez-Garcia et al. 2013). La température de séchage est fixée entre 60 et 65°C (El Khaloui, 2010), mais la première phase du séchage doit se faire à des températures inférieures à 45°C (Gamero, 2002). Les claies sont de temps en temps retirées et retournées afin d'améliorer les conditions de séchage. L'opération dure environ 3 heures, après quoi les figues acquièrent la couleur jaune dorée désirée. Toutes les larves sont également tuées lors de cette opération (El Khaloui, 2010).

- Triage après séchage et Conditionnement :

Une fois séchées et refroidies, les claies doivent être retirées du séchoir une à une (Faleh, 2012). Un contrôle, un triage et une élimination des fruits grillés et très secs sont établis (Jeddi, 2009). Le procédé est suivi d'un pesage et d'une mise en emballage alimentaires à base de polyéthylène ou de polyvinyle des figues séchées (Ouaouich et Chimi, 2005; Jeddi, 2009), des pellicules cellulosiques (cellophane), ou des emballages en papier et carton (Ouaouich et Chimi, 2005). Les figues séchées sont définies comme étant des produits stables pendant leur durée de conservation suite à la diminution de l'activité de l'eau mais des problèmes provenant de la formation fréquente de mycotoxines suites à certaines contaminations (Sen et al., 2010).

LES CHAMPIGNONS :

I. Historique et évolution :

À la fin du XXe siècle, les mycologues utilisaient la taxonomie des champignons de Takhtadzhian (Takhtadzhian, 1991), dans laquelle le règne *Fungi* était composé de deux phyla – *Myxomycota* (ou moisissure visqueuse) et *Eumycota* (ou vrais champignons) (Holiachuk et Kosylovych, 2021).

L'évolution de la biologie moléculaire au cours des quinze dernières années, le règne *Fungi* a inclus de sept phylums (Hibbett et al., 2007) à dix-huit phylums (Tedersoo et al., 2018) et par la suite dix-neuf phylums (Wijayawardene et al., 2020).

II. Caractéristiques et classification:

Les champignons, appelés aussi *mycètes*, sont des organismes eucaryotes uni ou pluricellulaires incluant des espèces macroscopiques (macromycètes) et microscopiques (micromycètes), d'aspect filamenteux ou levuriforme. (Chabasse et al., 2002).

1. Caractéristiques cytologiques :

D'un point de vue cytologique, les champignons sont connus par la présence d'une paroi formée principalement à 80% de polysaccharides, notamment des glucanes et de la chitine. L'ergostérol est le principal constituant de leur membrane cytoplasmique, cible de plusieurs antifongiques polygéniques. (Chabasse et al., 2002) proférant une protection contre des agressions du milieu extérieur (Nwe et Stevens, 2008).

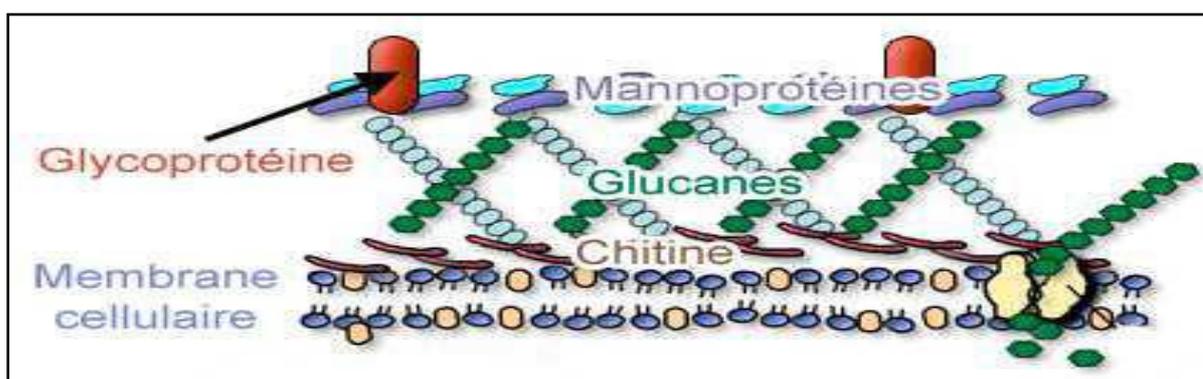


Figure 2 Schématisation de la structure de la paroi fongique (Nwe et Stevens, 2008)

2. Reproduction des champignons : Les champignons assurent un pouvoir de propagation et de contamination considérable suite à une génération de spores issues par voie de reproduction sexuée ou asexuée, qui est un critère de base de leur classification. (Chabasse et al., 2002).

A. Reproduction asexuée "Anamorphe" : Ce mode de reproduction asexuée chez les champignons est assuré par le bourgeonnement, fission binaire, fragmentation, ou par formation de conidies (Alexopoulos et al., 1996).

B. Reproduction sexuée "Téléomorphe" : La reproduction sexuée (ou la téléomorphe) fait intervenir la rencontre de filaments spécialisés (plasmogamie), la conjugaison des noyaux (caryogamie) et enfin une méiose suivie d'une ou plusieurs mitoses suivis par la génération de conidies (Deacon, 2005). Voir figure 1 en annexe I.

3. Mode de vie des champignons :

Les champignons sont qualifiés comme étant ubiquitaires établissant des interactions avec les diverses espèces allant du saprophytisme au parasitisme, en passant par le commensalisme, ou encore aident à des phénomènes de symbiose, ce qui explique la coévolution avec ces espèces (animaux et végétaux). (Chabasse et al., 2002).

4. Toxinogénèse des champignons :

La production de ces toxines peut entraîner une intoxication alimentaire ou de mycotoxicoses suite à l'accumulation de ces substances dans des végétaux ultérieurement consommés par l'homme ou l'animal. (Chabasse et al., 2002). Le développement des champignons (moisissures) sur les denrées alimentaires peut provoquer leur détérioration, ce qui entraîne une baisse qualitative et hygiénique de ce dernier (Botton et al., 1990 ; Girardin, 1997; Sautour, 2002).

5. Moisissures et alimentation :

Durant le stockage et le transport des produits destinés à l'alimentation en général et les fruits saisonniers stockés en particulier, une prolifération importante des micromycètes à leurs surfaces est souvent constatée.

A. Moisissures dans la figue sèche : La figue, fournit un écosystème favorable à la prolifération des moisissures notamment les espèces du genre *Aspergillus*.

a) Généralités sur les *Aspergillus* : Les *Aspergillus* sont des microorganismes cosmopolites, omniprésents, pouvant se développer sur plusieurs substrats dont la matière organique en décomposition, sol, compost, fruits secs, arachides, céréales... (Morin et al., 1994; Aleksic et al., 2017).

b) Taxonomie et classification :

Ces moisissures appartiennent à l'embranchement des *Ascomycota*, Classe des *Eurotiomycètes*, Section des *Eurotiales*, à la famille des *Trichocomaceae* renfermant 56

genres. Le genre *Aspergillus* comprend 250 espèces (Raper et Fennell., 1965 ; Peterson et al., 2000 ; Samson et Varga., 2010 ; H. Kaya-Celiker, et al., 2015). Le genre *Aspergillus* comprend plusieurs sections productrices de toxines, les *Flavi*, les *Nigri* et les *Circumdati* sont les plus réputées dans la production des toxines fongiques.

- **Section des *Flavi*** : La section des *Flavi* à très haute fréquence de génération des toxines fongiques (mycotoxinogène) en raison de la diversité des denrées alimentaires contaminées. Les espèces de cette section génèrent des toxines nommées *Aflatoxines* qu'on trouve généralement dans les céréales, noix, arachides, fruits secs (figues sèches). (voir Figure 2 en annexe I).

- *Aspergillus parasiticus* : Cette espèce produit les aflatoxines, l'acide kojique, l'acide aspergillique (voir Figure 3 en annexe I) (Hedayti et al., 2007; Samson et al., 2010).

- **Section des *Nigri* (moisissures noires)** : Retrouvées dans les régions tempérées chaudes particulièrement les pays du sud du bassin méditerranéen (Schuster et al., 2002).

Aspergillus niger : cette espèce est majoritairement connue pour la production de mycotoxines de type OTA. Ce champignon à croissance rapide (2-3 jours) sur milieux de culture classiques (Géloses au Malt et Sabouraud). La température optimale de développement varie généralement entre 25 et 30°C mais peut pousser à 42°C. (Tabuc., 2007).

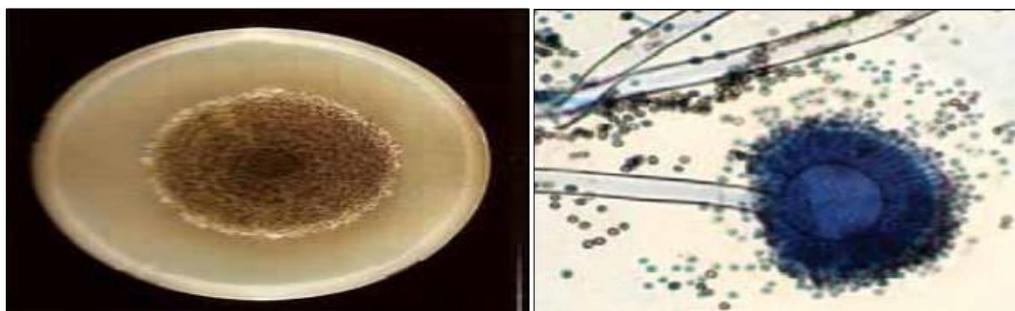


Figure 3 *Aspergillus niger* (culture de 7 jours sur gélose au malt à 25°C et aspect microscopique). (Tabuc 2007).

GENERALITES SUR LES MYCOTOXINES :

La prolifération des champignons toxigènes sur la surface des denrées alimentaires en particulier les figues sèches entraîne une production de quelques métabolites secondaires fortement toxiques résistants aux traitements physiques et chimiques, nommées Mycotoxines.

Le terme « mycotoxine » provient du mot grec « Mycos », qui signifie un champignon et du mot latin « Toxicum » qui veut dire poison. (Tola et Kebede, 2016; Mousavi Khaneghah et al., 2019).

1. Origine chimique: L'origine chimique des mycotoxines est très diverse. Certaines dérivent des acides aminés (alcaloïdes de l'ergot, acide aspergillique), des polycétoacides (aflatoxines, ochratoxine)... (Pfohl-Leskowicz et al., 1999).

2. Les principales Mycotoxines : Les mycotoxines d'une grande importance agro-économique sont : les aflatoxines, les ochratoxines, les alcaloïdes de l'ergot, les toxines d'*alternaria* et la patuline. (Agriopoulou et al., 2020). On en cite les plus fréquentes :

A. Aflatoxines : Les aflatoxines les plus intéressantes du point de vue sanitaire. Ces substances sont synthétisées par des espèces représentatives de la section des *Flavi* notamment *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus nomius* (Kurtzman et al., 1987). Les aflatoxines les plus fréquentées dans la nature sont : **AFB1**, **AFB2**, **AFG1**, **AFG2** et **AFM1**. (Voir figure 2 en annexe II).

B. Ochratoxine A (OTA) : L'ochratoxine A est un dérivé de phénylalanine produit par des espèces du taxon *Aspergillus* de la section des *Nigri* ou bien *Black Aspergilli* (Pitt et Hocking, 1997). C'est la mycotoxine la plus détectée dans le sang humain dans le monde (Pena et al., 2006). En effet, l'agence internationale de recherche sur le cancer (IARC) la classe dans le groupe 2B comme composé cancérigène (IARC, 1999) notamment impliquée dans une pathologie humaine mortelle de la région des «Balkans» telle que les tumeurs des voies urinaires (Pfohl-Leskowicz et al., 2002; Monaci et Palmisano, 2004).

3. La Mycotoxinogénèse : La Mycotoxinogénèse est définie comme étant l'ensemble de facteurs de synthèse et d'excrétion des mycotoxines. La nature de mycotoxines contaminant les aliments ainsi que la quantité produite dépendent d'une part, de la stabilité des toxines dans le milieu alimentaire et d'une autre part, des facteurs environnementaux ou extrinsèques et d'autres facteurs liés à la nature de la souche, dis intrinsèques. (Olsen et al., 2003; Blumenthal, 2004).

A. Facteurs intrinsèques influençant la Mycotoxinogénèse :

Au sein d'une espèce toxigène donnée, la production de toxines n'est pas pour toutes les souches. De même, une moisissure peut produire plusieurs toxines mais une même substance toxique peut être produite par plusieurs champignons mycéliens microscopiques. (Duverger et al., 2011).

B. Facteurs extrinsèques de la Mycotoxinogénèse :

Les facteurs extrinsèques ou environnementaux d'origine chimique, physique, ou biologique ont une influence sur la production de mycotoxines (Mitchell et al., 2004).

a) Facteurs physico-chimiques :

- **Température :** Jouant un rôle prépondérant sur la croissance mycélienne (**Chapland et al., 2005**).
- **L'activité d'eau (Aw) :** L'activité hydrique nécessaire à la production de toxines doit être supérieure à celle permettant la croissance fongique (**Pfohl-Leszkowicz., 2001**).
- **Le pH :** Le pH de la toxinogénèse est inférieur à celui de la croissance fongique (**Keller et al., 1997**).
- **La composition gazeuse :** La composition de l'air joue un rôle important dans la mycotoxinogénèse. Selon (**Taniwaki et al., 2001**), une teneur de **40%** en CO₂ et **1%** en O₂ entraîne une réduction à **65%** de la prolifération d'*A. flavus* et une inhibition totale de la production d'**AFB1**.

b) Facteurs biologiques : beaucoup d'autres facteurs conditionnent également la prolifération des moisissures toxigènes et leurs mycotoxines produites.

c) Facteurs génétiques : Toutes les souches d'une même espèce ne sont pas toxigènes même sur un substrat identique (**Chapel et Leclerc, 2005**).

4. Contamination de la figue sèche par les mycotoxines :

La contamination des figues sèches par les mycotoxines peut se produire à différentes phases : avant ou après récolte, pendant, la transformation, le conditionnement ou au stockage (**Pereira et al., 2014**).

L'OCHRATOXINE A (OTA) :**1. Généralités sur les Ochratoxines :**

Les ochratoxines A, B et C sont des métabolites produites par des moisissures appartenant aux genres *Aspergillus* (*A. niger*, *A. orchaceus*, *A. carbonarius*) et *Penicillium* (*P. verrucosum*, *P. viridicatum*). L'ochratoxine A (OTA) étant à la fois la plus répandue et la plus toxique, produite sur le raisin et lors du stockage de différentes denrées alimentaires (céréales, café, cacao, fruits secs, épices, ...) (**Houissa, 2021**).

2. L'ochratoxine A (OTA) : L'OTA a été découverte pour la première fois en 1965 par une équipe de chercheurs scientifiques Sud-Africains dans une recherche destinée à la découverte de nouvelles toxines fongiques (**Van der Merwe, 1965**). *A. ochraceus*, a été le premier champignon classé comme ochratoxinogène (**Ciegler et al., 1972; Abarca et al., 1994; Horie et al., 1995**)

➤ **L'ochratoxine (OTA) et la contamination des aliments :**

L'ochratoxine A est principalement retrouvée dans les céréales (blé, maïs, seigle, orge) mais aussi dans très abondante dans les fruits secs (figues, raisins) (Ngundi *et al.*, 2006).

Les facteurs qui ont une influence sur la production de L'OTA : La contamination des fruits secs par L'OTA dépend des conditions microclimatiques (Magan et Aldred, 2005).

Néanmoins, les facteurs influençant le cycle de vie de cette moisissure sont : l'Aw, la température et les propriétés chimiques de la matrice alimentaire (Belli' *et al.*, 2004 ; Mitchell *et al.*, 2004; Belli' *et al.*, 2005).

- Les conditions de pré-récolte : (Pietri *et al.*, 2001; Lopez de Cerain *et al.*, 2002).
- Les conditions après la récolte : L'état des fruits à la récolte ou après possède une influence sur l'accumulation d'OTA. La pluie pendant le processus de séchage augmente le risque de contamination par l'OTA, car le séchage devient irrégulier et à taux d'humidité inapproprié (Drusch et Ragab, 2003).

3. La prévention et lutte contre la production de l'ochratoxine A (OTA) :

En raison des risques que peut présenter la production de l'OTA sur la santé humaine et animale ainsi que les pertes économiques énormes engendrées par l'accumulation de cette mycotoxine sur les céréales, fruits secs et figues ...etc., la prévention par tous les moyens possibles contre la formation de cette dernière est l'une des préoccupations majeures des scientifiques (Khoury, 2017).

a) Les méthodes chimiques :

- **Les fongicides** : substances chimiques très efficaces contre la production de l'OTA. (Tjamos *et al.*, 2004 ; Belli *et al.*, 2007).
- **Procédés chimiques de dégradation de l'OTA** : Le principe se base essentiellement sur l'utilisation des composés chimiques capables de transformer cette toxine en d'autres métabolites (Commission européenne, 2006).

b) Les méthodes physiques : Les méthodes physiques de décontamination reposent sur le nettoyage, tri ainsi qu'à l'irradiation éliminant les fractions contaminées de l'aliment. (Deberghes *et al.*, 1993; Deberghes *et al.*, 1995; Refai *et al.*, 1996; Aziz *et al.*, 2004 ; Kanapitsas *et al.*, 2016).

- **La stratégie de bio-contrôle** : Elle repose sur l'utilisation des composés naturels issus des plantes (composés phénoliques, huiles essentielles), ainsi que des microorganismes (bactéries lactiques, levures, actinomycètes) (Khoury., 2017).

Partie Pratique

Matériel et Méthodes

L'identification de la mycoflore présente dans les échantillons de figues sèches prélevés utilisés pour l'isolement des souches de moisissures potentiellement mycotoxinogènes produisant notamment des ochratoxines A s'est effectuée suivant les étapes citées ci-dessous :

I. Evaluation Microbiologique :

1. Echantillonnage : L'obtention d'un échantillonnage représentatif est particulièrement importante pour la détermination des souches fongiques notamment des moisissures productrices d'OTA car la distribution des mycotoxines dans les aliments n'est pas forcément homogène. Les échantillons de figues sèches fournis sont destinés à différentes utilisations (utilisation industrielle, consommation humaine) ont été récoltés par des professionnels des quatre coins de la Wilaya de Béjaïa et serviront donc lors de notre étude de recherche et d'identification des souches fongiques productrices d'OTA.

Le choix de l'échantillonnage est en fonction de certains facteurs tels que la productivité élevée de ces régions ainsi que les conditions de culture, de récolte, de procédé de séchage effectué et de conservation avant commercialisation. Les cultivars les plus dominants utilisés sont la variété **TAAMRIWT** et la variété **AVERKAN**, étant les plus abondantes lors de la précédente saison de récolte. Les échantillons utilisés sont répartis comme suit détaillant l'origine, la date et la quantité prise est dans le tableau ci-dessous :

Tableau III Détail des échantillons selon origine, date et quantité établi par nos soins.

Variété	Origine	Altitude (m)	Date de prélèvement	Quantité (g)
TAAMRIWT EXTRA	Tizi El-Korn, commune de TAOURIRT IGHIL, ADEKAR, Béjaïa	900m	22/04/2021	500
AVERKAN EXTRA				500
TAAMRIWT EXTRA	Association des figues sèches de la commune de Beni Maouche, Béjaïa	800m	25/04/2021	250
AVERKAN EXTRA				250
TAAMRIWT	Commune de BARBACHA, Béjaïa	/	17/05/2021	200
AVERKAN		/		200
TAAMRIWT FAIBLE MARCHANDE	Commune d'AKBOU, Béjaïa.	/	24/05/2021	200
AVERKAN FAIBLE MARCHANDE		/		200

2. Préparation des milieux de culture utilisés : (voir en Annexe III).

- Dans le but d'isolement et de purification dans notre étude, les milieux de culture suivants ont été utilisés: PDA - Malt Extract Agar (MEA) - Dichloran Glycérol 18 (DG 18).
- ❖ Détail du Protocole de préparation des milieux cité en **annexe III**.
- ❖ La composition de ces milieux de culture (DG 18, MEA, PDA). Voir **annexe III**.

3. Isolement de la mycoflore :

L'isolement des organismes fongiques pluricellulaires mycotoxinogènes à partir des échantillons de figues sèches consiste en l'utilisation d'un milieu sélectif favorisant la croissance d'espèces fongiques productrices d'ochratoxines A. Le milieu DG18 (Dichloran, Glycérol, Chloramphénicol, Agar 18) préconisé pour être favorable à la croissance des *Mycètes Xérophiles* se développant à une activité de l'eau très réduite, représente le milieu favorable à la croissance des souches productrices d'ochratoxines A, favorisant notamment la croissance du genre *Aspergillus* de la section des *Nigri* dont *Aspergillus niger* principal producteur d'ochratoxine A.

Après préparation du milieu d'ensemencement, on procède à la mise en culture des échantillons de figues sèches sélectionnés suivant un Protocole expérimental bien défini.

Les figues sèches sont désinfectées en surface avec un coton imbibé d'éthanol à raison de 70% (v/v) dans la zone stérile afin de détruire les conidies ou les spores qui peuvent notamment se trouver au niveau de l'épiderme (pellicules) de ses dernières, puis on procède au découpage en petites portions à l'aide d'un scalpel stérile qui seront par la suite déposer à la surface du milieu gélosé dans les boîtes pétri suivi d'une incubation à 25°C-28°C pour une durée de 5 à 7 jours. (Ailsa et John, 1980).

- L'expérimentation est répétée deux fois pour chaque échantillon (pour un total de 04 échantillons).

4. Lecture des résultats :

Après croissance fongique importante, on effectue une purification puis on étudie les souches potentiellement mycotoxinogènes productrices d'OTA morphologiquement et taxonomiquement en se basant sur un nombre de caractères principales : la couleur et la texture des colonies, le mode d'organisation des cellules sporogènes (phialides), le nombre de vésicules qui portent les phialides, la forme et les dimensions des conidies (spores), présence de cleistothèse et de sclérotés...(Ailsa et John, 1980).

5. Purification de la pré-culture :

A. La technique de la culture monospore :

Dans un premier temps, la souche à monospore est repiquée dans une boîte contenant du milieu PDA et laissée se développer sur la totalité de la surface de la boîte pendant 5 à 7 jours. Un expiant est prélevé à partir de la périphérie de la boîte et introduit dans un tube contenant 9 ml d'eau distillée stérile, après agitation, une suspension sporule est obtenue à partir de laquelle des dilutions au dixième sont réalisées comme suit :

- 1 ml de la suspension sporale est prélevé puis introduite dans un tube contenant 09 ml d'eau distillée stérile. Une opération qui est reproduite autant de fois jusqu'à la dilution voulue.
- A partir des deux dernières dilutions (10^{-3} et 10^{-4}), 1 ml est prélevé puis étalé sur milieu PDA qui servira de milieu de repiquage. Après 24h d'incubation à 28°C, à l'aide d'une loupe binoculaire, le repérage et la délimitation des spores en germination sont effectués. Ces dernières sont prélevées à raison de 03 à 04 conidies puis déposées dans de nouvelles boîte de pétri contenant du milieu PDA puis incubées à 28°C pendant une semaine (**Rapilly., 1968**).

B. Autres techniques :

➤ **Technique directe:** Pour obtenir des isolats purs, Chaque isolat développé a été repiqué, à l'aide d'une anse de platine stérile, au centre de boîte de pétri à milieu PDA puis incubé à 28°C pendant 5 à 7 jours. En cas de contamination par d'autres souches fongiques, la purification des souches s'effectue par le repiquage des disques des cultures au centre de boîte du même milieu et dans les mêmes conditions d'incubation jusqu'à l'obtention de souches pures (**Guiraud., 2003**).

6. Préparation des lames d'observation microscopique des moisissures :

Des mycètes sont examinés au microscope en tant que frottis humides. Pour préparer un frottis humide, on utilise une aiguille d'inoculation pour récupérer une petite partie de la colonie comportant les structures conidiogènes. L'échantillon est prélevé à partir des bords de la colonie car les structures fertiles sont jeunes et le nombre de spores n'est pas excessif. De plus, on prend les structures qui peuvent enfermer les spores (cléistothèce), etc., près du centre de la colonie, où la probabilité de trouver des spores à maturité est la plus grande. Les coupes d'échantillon posées sur une lame sont d'abord « mouillées » avec une goutte d'éthanol de 70%. Quand la majeure partie de l'éthanol s'est évaporée, on ajoute une goutte

d'acide lactique (pour la phase ou le système optique de contraste d'interférence) ou un colorant de lactofuchisine pour le champ lumineux, puis on pose une lamelle de couverture. Le liquide en excès est épongé avec une serviette ou un papier absorbant. On procède ensuite à l'examen au microscope.

7. Identification des isolats :

L'identification des moisissures a été réalisée par l'observation macroscopique (aspect des colonies) et par l'observation microscopique (aspect du mycélium et des spores).

➤ Etude des caractères cultureux macroscopique :

- **Au niveau du mycélium:** la couleur et la texture du thalle, la couleur du revers de la colonie, le contour de la colonie et la vitesse de croissance apicale (**Chabasse et al., 2002 ; Djossou, 2011**).
- **Au niveau des spores :** la densité sur le thalle, l'aspect des spores (granuleux, poudreux), l'uniformité de la couleur des spores, la présence de pigment diffusible (**Djossou, 2011**).

➤ Etude des caractères morphologiques microscopiques :

Ce type d'identification est fondée essentiellement sur l'étude morphologique du mycélium : hyphes cloisonnés ou non, type et apparence du système sporale, caractéristiques de la spore asexuée (couleur, taille), etc. (**Guiraud, 2003**). Les isolats ont été examinés au microscope en tant que frottis humides. (**Zaitlin et al., 2003**).

II. EVALUATION PHYSICO-CHIMIQUE :

1. Mesure du pH : Méthode NF V 05 -108 – 1970

- Mode opératoire :

Ajout de 10ml d'eau distillée chaude à 2g de chaque échantillon, le mélange est broyé et laissé refroidir, ensuite le pH mètre est étalonné avec une solution tampons.

La sonde du pH mètre est introduite dans un volume d'échantillon suffisamment important pour permettre l'immersion des électrodes. La valeur de pH se lit directement sur l'appareil (**Norme AFNOR: V 05-108**). (pH mètre illustré en annexe V)

2. Détermination de l'acidité titrable : (NF V 05-101, 1974)

Le titrage de l'acidité est réalisé à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) en présence de phénolphthaléine autant qu'indicateur coloré.

➤ Une aliquote de 25 g de figes sèches finement coupées ou broyées sont placées dans une fiole conique avec 50 ml d'eau distillée, puis on chauffe le contenu au bain- marie

pendant 30 mn. On transvase, après refroidissement, quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 250 ml et on complète jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée. Après avoir bien mélanger le contenu est filtré à travers du papier filtre.

➤ On prélève 25 ml du filtrat, on les verse dans un erlenmeyer; on ajoute quelques gouttes de phénolphaléine (0,3 ml), on titre par une solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante.

➤ L'acidité titrable est exprimée en gramme d'acide Citrique pour 100 g de produit :

$$A = [(C_{\text{NaOH}} * V_{\text{NaOH}} * 0,064 / \text{Prise d'essai}) * 100] * 10^3$$

Acidité titrable : exprimée en g d'acide citrique par 100 g MS.

C_{NaOH} : concentration de la solution de soude (0,1 N).

V_{NaOH} : volume (ml) de soude chute de burette.

Prise d'essai : poids de l'échantillon utilisé pour le test.

0,064 : facteur conventionnel établi pour l'acide citrique.

3. Détermination de la teneur en eau (Humidité) : Méthode NF V 05 – 105 :

L'humidité correspond à la différence entre le poids initial et le poids final de l'échantillon (après étuvage).

- Mode opératoire :

➤ Cinq (05 g) grammes du broyat de figues sont mis dans des creusets en verre puis déposés dans une étuve à une température égale à 103 °C ± 2 °C pendant 24h.

➤ Après la durée d'étuvage, ils sont placés dans un dessiccateur pour éviter toute réhydratation et se débarrasser définitivement de toute trace d'eau, après refroidissement on les pèse avec la balance de précision. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

➤ La teneur en eau (Humidité) est exprimée en pourcentage :

$$\text{Humidité (\%)} = [(M1 - M0) / (M2 - M0)] \times 100$$

Avec :

M0 : Masse du creuset vide.

M1: Masse du creuset après séchage.

M2: Masse du creuset contenant la prise d'essai.

4. Détermination de l'activité de l'eau (A_w) :

L'activité de l'eau pour les échantillons de la figue sèche est déterminée à l'aide d'un appareil sophistiqué qui permet de déterminer la valeur exacte de (A_w). Une photo réelle pour l'appareil (Modèle : **ROTRONIC**) est illustrée en annexe V.

5. Dosage des sucres réducteurs : (Miller, 1959) :

Le dosage des oses réducteurs est réalisé selon la méthode décrite par **Miller en 1959**.

- Une prise d'essai de 1g de la poudre est mélangée avec 50 ml d'eau distillé. Le mélange agité pendant 45 min à température ambiante sera filtré à l'aide d'un papier spécial pour filtration. Un volume 200 μ l est alors additionné à 300 μ l du réactif **DNS**, suivi d'un chauffage au bain marie à 100°C pendant 5 minutes.
- Après chauffage, 1,5 ml d'eau distillé, est ajouté au mélange qui sera laissé à l'abri de la lumière pendant 15 min, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 530 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, la teneur en glucides réducteurs dans la poudre est déterminée en faisant référence à une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions opératoires en utilisant le glucose.



L'appareillage ainsi que les réactifs utilisés lors de ce dosage sont cités en annexe.

Figure : Images du procédé expérimental pour le dosage des sucres réducteurs.

A : Échantillon de figes sèches après broyage. **B :** Récupération du filtrat.
C : Préparation des réactifs de dosage.

6. Dosage des sucres totaux : (Du Bois et al. 1956) :

La teneur en glucides totaux est déterminée par la méthode de **Du Bois**.

- Une prise d'essai de 1g de la poudre d'échantillon de figes sèches est suspendue dans 50ml d'eau distillé et laissée sous agitation pendant 45 minutes à température ambiante. Une fois filtrée, un volume de 2 ml de sels **CAREZ I** et **CAREZ II** est additionné au mélange, qui sera ainsi laissé décanter pendant 30 minutes. Une filtration est réalisée afin de récupérer le filtrat.

- Pour un volume de 1 ml du filtrat sont ajoutés respectivement, 1 ml de phénol à raison de 5% et 3 ml d'acide sulfurique, le mélange est mis à l'abri de la lumière pendant 30 minutes à une température ambiante. L'absorbance est mesurée à une longueur d'ondes de 550nm en utilisant un spectrophotomètre UV-VIS contre un témoin. Les résultats sont exprimés selon une courbe d'étalonnage réalisée avec une solution glucose.

7. Dosage des protéines : (Bradford, 1976)

Le dosage des protéines totales dans les extraits enzymatiques est déterminé selon la **méthode de Bradford**.

- **Principe :** La méthode de Bradford est une méthode colorimétrique dont le principe repose sur l'adsorption du bleu de Coomassie G-250 sur les protéines (avec les acides aminés basiques tel que : Arg, Lys, His). Une fois lié aux protéines sa couleur vire vers le bleu avec une absorbance maximale aux alentours de 595 nm, dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de protéines présentes dans l'échantillon.
- **Mode opératoire :** Pour 500 µl de chaque extrait enzymatique, 2 ml de réactif de Bradford sont ajoutés. Une fois bien homogénéisé avec un vortex, l'ensemble est gardé à l'obscurité et à température ambiante pendant 20 minutes. L'absorbance est alors mesurée au spectrophotomètre UV-VIS à une longueur d'ondes de 595nm. La concentration en protéines, des extraits enzymatiques, est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage avec la protéine du sérum albumine bovine (**SAB**) réalisée dans les mêmes conditions expérimentales que les échantillons.
- **Elaboration de la courbe d'étalonnage de protéines :**

Une gamme étalon est préparée à partir d'une solution mère de sérum albumine bovine (**BSA**) (1mg/ml) selon les quantités suivantes : 0, 100, 200, 300, 400 et 500 µl. Toutes les dilutions des solutions protéiques sont effectuées en présence de l'eau distillée. Les échantillons et le blanc sont ajustés à un volume final de 500 µl. Après addition de 2ml du réactif de Bradford et agitation, la solution est laissée à l'obscurité 15 min puis l'absorbance est mesurée à 595 nm contre le blanc au spectrophotomètre UV-VIS.

Tableau IV Préparation de la gamme d'étalonnage de la BSA (1mg/ml).

N° tube	Blanc	1	2	3	4	5
BSA (µl)	0	100	200	300	400	500
Eau distillée (µl)	500	400	300	200	100	0
Total (µl)	500	500	500	500	500	500
Réactif Bradford (µl)	2000					

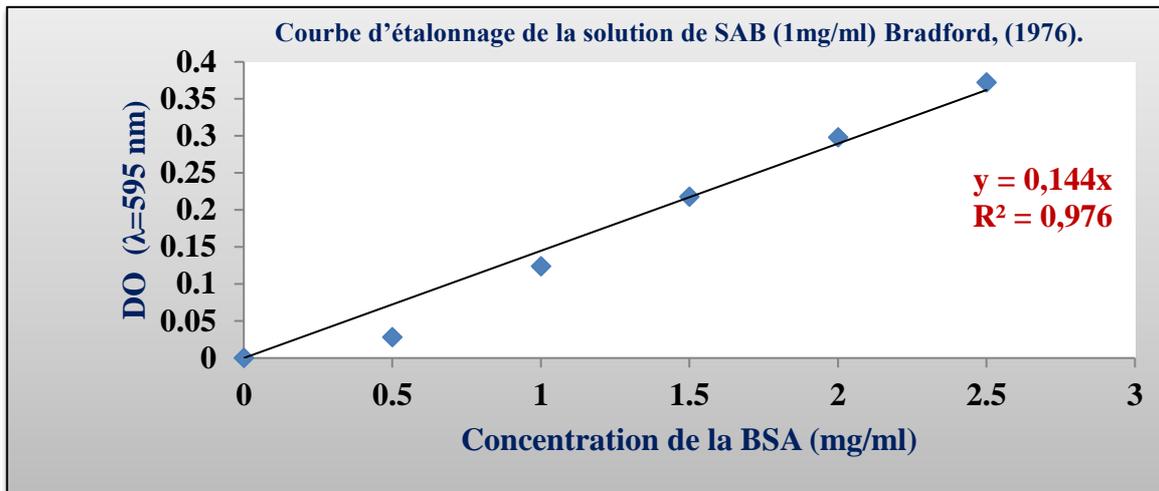


Figure 4 : Courbe d'étalonnage de la solution de SAB (1mg/ml) (Bradford, 1976).

Résultats et Discussion

Résultats et Discussion

I. Résultats de l'évaluation physico-chimique :

Le tableau ci-dessous résume les résultats des caractéristiques physico-chimiques de nos variétés de figue sèches étudiées :

Tableau V Les propriétés physico-chimiques des variétés analysées établi par nos soins.

Propriétés physico-chimiques		Acidité (%)	Activité de l'eau (Aw)	Brix (%)	Extrait sec (%)	Humidité (%)	pH
Variétés							
ADEKAR 900m Extra	Taamriwt	0.42	0.700	70.00	79.03	20.97	4.38
	Averkan	0.49	0.680	72.00	77.28	22.72	4.36
BENI-MAOUCHE 800m Extra	Taamriwt	0.52	0.660	76.00	75.80	24.20	4.60
	Averkan	0.58	0.668	78.30	73.52	26.48	4.68
BARBACHA	Taamriwt	0.37	0.690	68.00	79.90	20.10	4.66
	Averkan	0.42	0.680	70.60	79.47	22.53	4.76
AKBOU Faible Marchande	Taamriwt	0.58	0.620	70.00	80.77	19.23	4.42
	Averkan	0.63	0.618	72.20	77.72	22.28	4.52

1. Dosage des Glucides:

Notre évaluation a révélé un taux moyen de 51.67 % pour les sucres totaux et 21.02 % pour les sucres réducteurs. Ce résultat semble être légèrement inférieur comparé à la valeur des glucides (57,36 %) trouvée dans les études de (**Khairuddin et al., 2017**) et à celle rapportée par (**Eshak, 2018**) qui a signalé que les échantillons de figues séchées au soleil ont enregistré une valeur de (76,9%).

La courbe de dosage de ces deux sucres (Totaux et Réducteurs) citées en **Annexes IV**.

Les glucides forment la principale partie de notre alimentation et sont apportés essentiellement par les fruits (**Lee et al., 1970**). La concentration en glucides des fruits est d'un grand intérêt, en raison de leur influence sur les propriétés organoleptiques et constitue un critère d'évaluation de la maturation, elle conditionne également la stabilité et la conservation des fruits (**Golubev et al., 1987; Jiang et al., 2013**). Les figues sèches contiennent des quantités importantes de sucres, une portion de 100 g de ce fruit apporte 63,87 g de glucides dont 47,92 g de sucres (24,79 g de glucose, 22,93 g de fructose, 5,07 g d'amidon, 0,13 g de galactose et 0,07 g de saccharose) selon l'étude de (**Lim, 2012**).

2. Dosage des protéines :

Malgré que les figes ne soient pas une bonne source de matière protéique, elles peuvent contribuer à l'alimentation humaine avec une très bonne qualité de certains acides aminés essentiels (Eshak, 2018). Elles représentent un nutriment important pour le fonctionnement, la structure et l'entretien de l'organisme.

Les études précédentes de (Chauhan *et al.*, 2015) ont rapporté que la fige sèche ne contient que 3,01 % de protéine, tandis que (Eshak, 2018) a noté dans sa recherche que les échantillons séchés au soleil ont enregistré une teneur en protéines (7,45 %).

Cependant, le résultat de notre expérimentation sur la fige sèche a permis d'avoir une valeur de 0,56 %, c'est un taux qui est largement inférieur par rapport aux résultats des études antérieures.

Nos résultats ont été comparés à d'autres résultats obtenus de l'analyse physico-chimique des études précédentes, le détail de cette comparaison est dans le tableau ci-dessous :

Tableau VI Tableau comparatif des résultats, établi par nos soins.

Nutriment	Sucres totaux (%)	Sucres réducteurs (%)	Taux de protéines (%)	Observation (courbe)	Intervalle
Valeur + référence					Protéines : 3 à 8 %
Nos valeurs (courbe)	51,67	21,02	0,56		Glucides : plus de 53 %
Chauhan <i>et al.</i> , (2015)	/	/	3,01	Pro : < Glu : /	Nos valeurs sont inférieures à celles citées comme références.
Soni <i>et al.</i> , (2014)	/	/	4,67	Pro : < Glu : /	
Ait Haddou <i>etal.</i> , (2014)	/	/	4,17 à 7,23	Pro : < Glu : /	
Khairuddin <i>etal.</i> , (2017)	57,36	/	/	Pro : / Glu : <	
Eshak, (2018)	73,70	/	8,42	Pro : < Glu : <	
Khairuddin <i>etal.</i> , (2017)	/	/	3,93	Pro : < Glu: /	
Meziant, (2014)	85,00	/	/	Pro : / Glu : <	
Conclusion	Notre valeur est inférieure	/	Notre valeur est inférieure	Notre valeur est inférieure	

3. Humidité et teneur en eau :

Selon (Al Askari et al., 2012), la globalité de l'eau contenue dans les figes fraîches ne peut être éliminée par le processus de séchage, cela est due aux faits que les fruits sont composés d'eau libre et d'eau liée, cette dernière reste fixée aux groupements hydroxyles, carbonyles et aminés des molécules de sucres simples, polysaccharides...etc.

Nos résultats compris dans l'intervalle (19 à 27 %), ne sont pas en accord avec ceux indiqués par (Bey et al., 2016), qui ont trouvé des valeurs comprises entre 18,08 et 19,04% et à ceux de (Guvanc et al., 2009). Cependant, elle est conforme à la norme internationale de la fige sèche, qui stipule que cette teneur en eau ne doit pas être supérieure à 30% (Askari et al., 2012).

Ceci peut être expliqué par les variations géographiques et climatiques ainsi que la période de récolte, la variété et le type d'irrigation des cultivars qui fait varier le taux d'humidité comme l'explique (Guvanc et al., 2009) dans leur étude. Des caractères tels que l'âge de la plante, la période du cycle végétative et même des facteurs génétiques peuvent influencer sur la teneur en eau selon (Doukani et Tabak, 2015).

Certains taux d'humidité sont très favorables à la croissance de souche d'*Aspergillus niger* productrices d'Ochratoxines A. Les échantillons ayant enregistré une prolifération importante à des taux élevés sont ceux exposés ou se trouvant à des taux d'humidité reflétés par les résultats de ces derniers (entre 16,00% et 20,00%).

4. Acidité titrable :

Selon (Ouaouich et Chemi, 2005; Chahidi et al, 2008), l'acidité titrable et le pH sont des paramètres essentiels pour la détermination de la date de récolte et du degré de maturité.

Notre résultat pour ce paramètre, est d'une valeur moyenne de 0,50 g/100g, une valeur considérée comme supérieure à celle d' (Al-Askari et al. 2012) indiquant des valeurs allant de 0,26 à 0,38 g/100g et inférieure à celui de (Bey et al.,2016) qui ont trouvé une valeur de 1,92g/100g.

Cette acidité peut être due à la présence d'acides organique tel que l'acide citrique qui reflète la richesse de ce fruit en cette matière (jusqu'à 3 % poids sec) (Al-Askari et al., 2012) et sa relation aux conditions climatiques (Doukani et Tabak, 2015), ainsi qu'à d'autres caractéristiques génotypiques, la récolte tôt ou tard des fruits et les conditions écologiques de croissance des figiers (Simsek et Yildirim, 2010).

5. pH :

Le pH constitue un paramètre primordial pour le bon développement des microorganismes au sein du fruit. En effet, un produit acide est mieux protégé contre les altérations biologiques et enzymatiques, comparé à un produit à pH neutre (**Doukani et Tabak, 2015**). Notre échantillon de figue sèche présente un pH légèrement acide allant de 4.38 à 4.76 qui est nuisible aux bactéries mais favorable au développement de la flore fongique notamment la flore ochratoxinogène productrice d'OTA.

Nos résultats ne sont pas en accord avec ceux rapportés par (**Al Askari et al., 2012**) qui fixent des valeurs de 4,9 à 5,4 et à ceux obtenus par (**Piga et al., 2004**) qui sont compris entre 4,87 et 5,05. Les différences enregistrées sont tributaires d'un grand nombre de facteurs parmi lesquels on cite : la région, les conditions climatiques et l'état de maturation du fruit.

II. Résultats de l'évaluation microbiologique :

1. Variétés : TAAMRIWT et AVERKAN EXTRA ADEKAR 900 m :

Après incubation des boîtes à des températures optimales (28°C) pendant 5 à 7 jours, nous avons constaté une forte prolifération de colonies de forme arrondies blanchâtres en dehors de la zone de dépôt des morceaux de figes sèches ce qui nous laisse dire qu'il s'agirait en l'occurrence de levures qu'on suspecte issues de la flore originelle de cette figue.

Nous avons constaté une légère prolifération de certaines colonies de moisissures de couleur vert-grise en dehors des zones de dépôt des portions de figue suspectées être *Penicillium* ce qui explique une contamination de la surface du milieu (**Tabuc, 2007**).

Ces boîtes n'ont pas été repiquées car elles ne présentent aucune culture d'espèces du genre *Aspergillus* producteur de la mycotoxine recherchée en l'occurrence l'OTA.

Les boîtes sont observées à l'œil nu et sont illustrées dans les images ci-dessous :



Figure 5 Aspect des boîtes après culture observées à l'œil nu.

2. Variétés : TAAMRIWT EXTRA BENI-MAOUCHE 800 m :

Les boîtes incubées dans des conditions idéales de température (28°C) pendant 5 à 7 jours ont enregistré l'apparition de cultures impures traduite par une prolifération importante de moisissures l'une sous un aspect cotonneux (sous forme de coton) d'autres en forme de tiges portant une tête aspergillaire de couleur foncée.

Dans l'objectif d'obtenir des colonies homogènes purifiées des colonies noirâtres, nous avons procédé à une série de repiquages successifs suivant la méthode directe (à l'aide d'une anse de platine). L'observation d'un frottis à l'état frais de la lame sous microscope optique équipée d'une caméra (OPTIKA) au grossissement (x10) puis (x40) révèle la présence des têtes aspergillaires de couleur noire avec un sporophore foncé et des hyphes siphonnés, également des spores exogènes noires présentes et en se fiant à ses caractéristiques morphologiques et culturaux, on suspecte une espèce du genre *Aspergillus* de la section des *Nigri* (Chabasse et al., 2002).

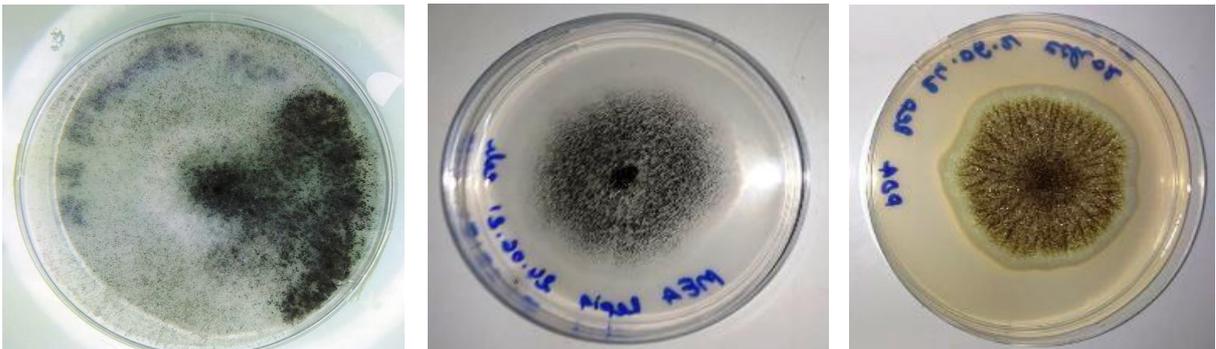


Figure 6 Aspect des boîtes vues à l'œil nu de la culture primaire à la culture purifiée.

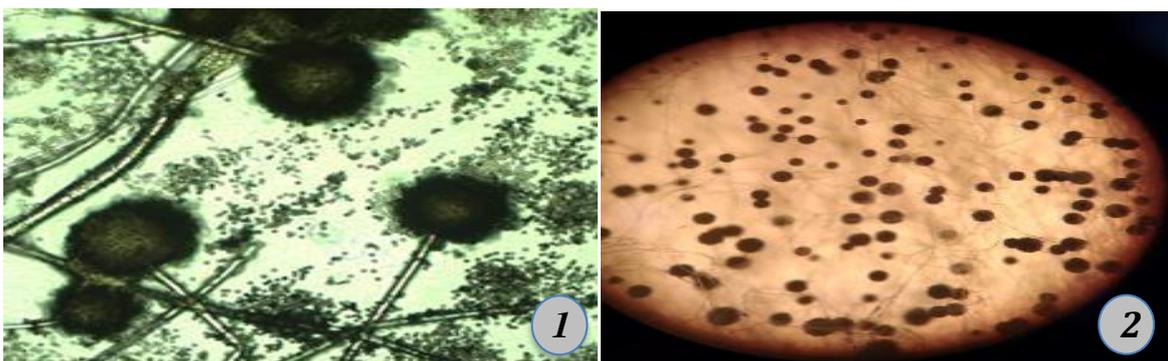


Figure 7 Observation au microscope Optique et à la loupe de la culture obtenue.

- 1** : Observation des cultures *d'Aspergillus* section *Nigri* au microscope gr*40.
- 2** : Observation des cultures *d'Aspergillus* section *Nigri* à la loupe gr*2.

3. Variété : AVERKAN EXTRA BENI-MAOUCHE 800 m :

Une fructification fongique importante est constatée après incubation à des températures optimales de 25°C - 28°C pendant 5 à 7 jours.

Le constat visuel des boîtes montre un aspect hétérogène des souches d'où la nécessité d'effectuer une purification par repiquage. Cette purification survient après observation de colonies noires suspectées d'être *Aspergillus* section des *Nigri*. En effet, après purification, l'observation au microscope optique équipée d'une caméra (OPTIKA) aux grossissements : (x10) et (x40) reflète l'observation d'un mycélium cloisonné et un conidiophore long coiffé d'une tête aspergillaire foncée formée de vésicules. Selon (Tabuc., 2007), ces caractéristiques sont proches de celles d'*Aspergillus niger*.

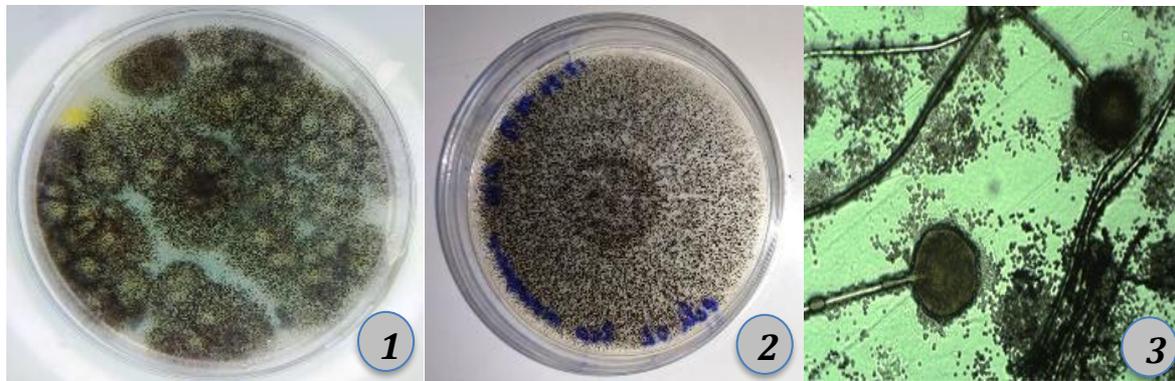


Figure 8 Observation des boîtes et microscopique pour l'échantillon AVERKAN BENI-MAOUCHE.

- 1** : Boîte incubée 7 jours dont l'apparition de cultures impures sur milieu DG 18.
- 2** : Observation de culture pure sur boîte après repiquages successifs sur milieu MEA.
- 3** : Observation des cultures d'*Aspergillus* section *Nigri* au microscope gr*40

4. Variétés: TAAMRIWT et AVERKAN BARABACHA :

Des cultures impures témoignent la croissance remarquable de la moisissure au bout de 5 à 7 jours d'incubation à 28°C.

En suivant l'évolution de la culture fongique, on observe une variation de couleur des cultures du blanc puis au jaune et enfin au noire suspectant ainsi d'être des *Aspergillus* immatures qui arrivent à maturation après un certain temps d'incubation faisant référence aux caractéristiques morphologiques de ce genre avancées par (Tabuc, 2007).

L'observation de la zone suspectée après le repiquage successif par technique directe, révèle la persistance de la couleur noire sur toute la surface de la boîte.

Sous microscope optique équipée d'une caméra (OPTIKA), au grossissement (x10), nous avons distingué un mycélium cloisonné et un sporophore long qui se termine par une tête aspergillaire entourée par des spores de couleur foncée.

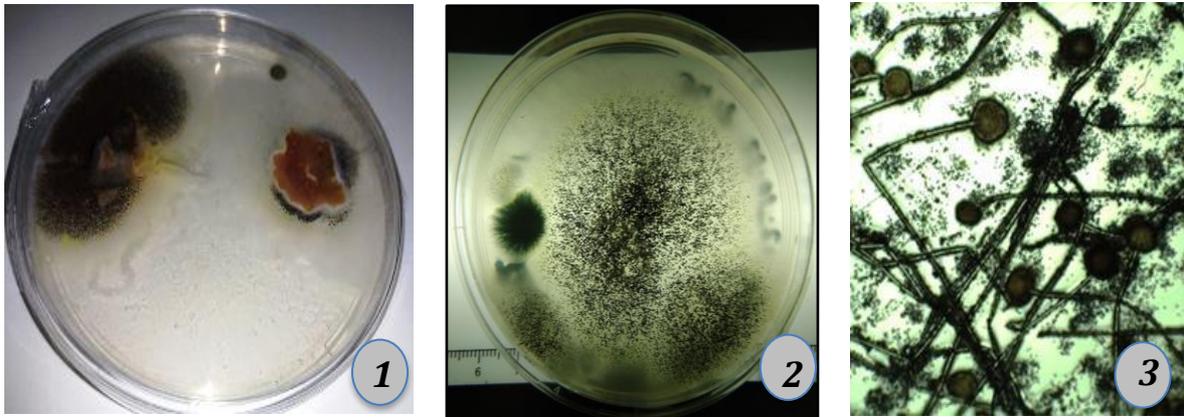


Figure 9 Observation des boîtes pour l'échantillon TAAMRIWT et AVERKAN BARBACHA

- 1** : Boîte incubée 7 jours dont l'apparition de cultures impures sur milieu DG 18.
2 : Observation de culture boîte après 1^{er} repiquages sur milieu MEA.
3 : Observation des cultures *d'Aspergillus* section *Nigri* au microscope gr*10.

5. Variétés : TAAMRIWT et AVERKAN AKBOU :

Après incubation des boîtes de pétri contenant des morceaux de figue imprégnés dans la gélose DG18 à des conditions optimales de croissance (28°C) pendant 5 à 7 jours.

Nous avons constaté une absence totale de la croissance fongique sur les zones où les morceaux de l'échantillon TAAMRIWT sont déposés, par conséquent, cette variété est exclue de la suite de l'expérimentation. L'image ci-dessous montre la forme des boîtes observées à l'œil nu.



Figure 10 Image de la variété TAAMRIWT dans DG 18 ne présentant aucune culture fongique.

Cependant concernant l'échantillon AVERKAN, une culture plus ou moins pure témoigne de la croissance d'une espèce dominante de moisissure au bout de 5 à 7 jours d'incubation à 28°C. En suivant l'évolution de la culture fongique, on observe une variation

de couleur des cultures du blanc puis au jaune et enfin au noire suspectant ainsi d'être des *Aspergillus* n'étant pas encore arrivées à maturation qui se transforme en colonies noirâtres après une semaine d'incubation faisant référence aux caractéristiques morphologiques de ce genre avancées par (Tabuc, 2007). L'observation de la zone suspectée après le repiquage successif par technique de monospore, révèle la persistance de la couleur noire sur toute la surface de la boîte après la même durée d'incubation 5 à 7 jours. Sous microscope optique, au grossissement (x10), nous avons distingué un mycélium cloisonné bien formés et un sporophore long qui se termine par une tête aspergillaire portant plusieurs vésicules.

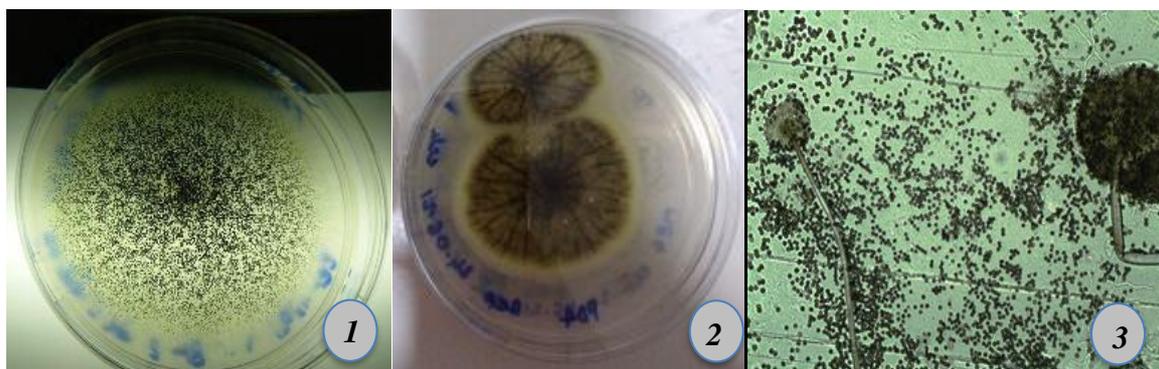


Figure 11 Observation des boîtes pour l'échantillon AVERKAN

- 1** : Boîte incubée 7 jours dont l'apparition de cultures pures sur milieu DG 18.
- 2** : Observation de culture boîte après repiquages sur milieu PDA.
- 3** : Observation des cultures *d'Aspergillus* section *Nigri* au microscope gr*10.

La présence des moisissures et des levures dans les aliments, avec des charges élevées, est révélatrice d'une mauvaise qualité hygiénique. Certains facteurs dont la qualité, la durée et les conditions de stockage des figues sèches sont à l'origine de ce taux élevé de contamination ainsi que l'importante biodiversité dans cette dernière (Davis et al. 1987). Ces moisissures ont un impact néfaste sur la santé humaine et animale se manifestant notamment par la production de mycotoxines en l'occurrence l'OTA.

L'espèce *Aspergillus niger* est considérée comme une moisissure de stockage (Withlowet al., 2001). Elle est souvent isolée des fruits secs et responsable de la contamination post-récolte et de la production d'OTA (Abarca et al., 2003; Esteban et al., 2004; Esteban et al., 2006 ; Leong et al; 2006) comme résultat, la dominance de ce genre dans la flore contaminant les échantillons analysés est attendue en se basant sur les études rapportées dans plusieurs travaux (Le Bars et al., 1987 ; Riba et al. , 2005).

Les caractères morphologiques et cultureux sont déterminés après ensemencement des échantillons suivi d'une purification pour l'obtention de souches pures sur des milieux de

cultures spécifiques (DG 18, MEA et PDA) incubées à 25 °c – 28 °c pendant 5 à 7 jours. L'identification se fait à l'œil nu pour les caractères macroscopiques et au microscope optique pour les critères microscopiques. À partir de ces caractéristiques, l'identification se fait à l'aide de clés d'identification selon la technique de Pitt (**Pitt et al., 1997**).

Une étude récente a indiqué que la production d'OTA son accumulation dans les figes séchées débutent au temps de séchage et augmentent durant le stockage et le transport quand les conditions environnementales favorables sont réunies (**Guler et Heperkan, 2008**).

- **Production des levures et moisissures à faible quantité :**

D'après les résultats de notre analyse pour les variétés **TAAMRIWT** et **AVERKAN** en provenance de la région, nous avons constaté une prolifération importante des levures unicellulaires sous forme des colonies arrondies blanches et une légère prolifération de certaines colonies de moisissures de couleur vert-grise en dehors des zones de dépôt des portions de fige , ce qui explique une contamination de la surface du milieu, suspectant qu'il s'agit d'une espèce du genre *Penicillium* selon les caractéristiques macro et micro morphologiques avancées par (**Tabuc, 2007**).

Les levures et moisissures se trouvent dans l'environnement avec un large éventail en raison de leur capacité à utiliser une variété de substrats et à leur tolérance relative à basse température, pH faible et eau de faible activité. (**National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002**).

Les figes sèches sont très sensibles à l'infection par les conidies d'*Aspergillus* sur les surfaces extérieures des fruits ainsi que par les conidies transportées à l'intérieur du fruit par les insectes. De plus, les conditions de température généralement pendant la récolte des fruits seraient apparemment presque idéales pour la croissance des champignons.

La raison de cette faible incidence n'est pas évidente. Elle reflète probablement les mauvaises conditions de sporulation de la moisissure et/ou une dispersion inefficace des spores. Il est possible que le niveau d'infection du fruit soit principalement associé aux niveaux de spores dans et à côté des champs.

L'apparition de certains genres et/ou espèces autres qu'*Aspergillus* section *Nigri*, autant que genre dominant dans les figes sèches peut être due à sa période de collecte tel est le cas des figes séchés collectées dans les vergers pendant la phase de séchage dans la

région égéenne de la Turquie expliquant ainsi l'apparition de champignon n'ayant pas de caractéristiques similaires macro et microscopique d'*Aspergillus*.

- **Discussion pour identification des souches productrices d'OTA :**

D'après les résultats de notre analyse pour les deux variétés étudiées **TAAMRIWT** et **AVERKAN** en provenance de la région de BENI-MAOUCHE, nous avons constaté une production importante des moisissures filamenteuses. Leur observation sous loupe et microscope optique a révélé la présence d'un mycélium siphonné (non septé) pour la variété **TAAMRIWT** qui est suspectée d'être *Mucor sp* ou *Rhizopus sp* selon les caractéristiques macro et micro morphologiques avancées par (**Chabasse, D et al., 2002**). Certaines études confirment que ces espèces peuvent croître dans des conditions de croissance similaires à celles des espèces d'*Aspergillus* en l'occurrence celles productrices d'OTA. En revanche, la variété **AVERKAN**, a révélé la présence des têtes aspergillaires à mycélium cloisonné (septé) et un conidiophore long coiffé d'une tête aspergillaire formée de deux vésicules. Selon (**Tabuc, 2007**), ces caractéristiques sont proches de celles de l'*Aspergillus niger*.

La différenciation morphologique des espèces appartenant au genre *Aspergillus* est difficile et les résultats imprécis limitent l'identification exacte. L'identification des espèces basée sur caractérisation phénotypique (caractéristiques morphologiques et biochimiques) est utile, mais elle présente un inconvénient qui est le temps et n'est pas toujours directe. (**Rodrigues et al, 2009**). De plus, les espèces toxigènes de genre *Aspergillus* de la section des *Nigri* sont des champignons étroitement liés et la combinaison d'un ensemble de caractéristiques spécifiques a été suggérée pour l'identification des espèces (**Rodrigues et al, 2011**).

CONCLUSION

Les moisissures sont des microorganismes ubiquistes susceptibles de contaminer de nombreux produits alimentaires destinés à l'alimentation animale ou humaine. Le développement des moisissures mycotoxinogènes est en fonction de certains facteurs dont l'étude de ces derniers interviendrait positivement dans le contrôle et la limitation de la production de substances toxigènes nuisibles à la santé humaine.

Plusieurs conséquences peuvent survenir suite au développement des espèces fongiques mycotoxinogènes sur ces substrats dont les principales sont l'altération des propriétés organoleptiques et la diminution des qualités nutritives et sanitaires entraînant des troubles fonctionnels chez l'humain ou l'animal. Les espèces les plus fréquentes appartiennent aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* et leurs proportions respectives varient dépendamment des conditions climatiques dans lesquelles leurs substrats évoluent et aussi en fonction des conditions hydro-thermiques observées pendant les différentes phases que subit l'aliment.

Nos travaux ont permis de mettre en évidence la flore fongique potentiellement mycotoxinogène responsable de la production d'ochratoxine A dans une denrée alimentaire fortement privilégiée par les consommateurs en Algérie qui est en l'occurrence la figue sèche. Cette évaluation nous permet par conséquent de fournir des informations sur la qualité des produits alimentaires. La conséquence possible d'un développement fongique incontrôlé est la production et l'accumulation de mycotoxines dans les aliments. Nous avons montré que les échantillons de figues sèches pouvaient être contaminés par l'ochratoxine A d'où l'intérêt de rechercher des espèces productrices de cette dernière appartenant au genre *Aspergillus* section des *Nigri*. Les résultats obtenus montrent que la majorité des échantillons de figues sèches ayant servi à l'étude de la production de métabolites secondaires en l'occurrence les OTA, sont contaminés par les *Aspergillus* de la section des *Nigri*. Les facteurs conduisant à l'imprégnation mycotoxique d'une denrée sont liés non seulement à la souche fongique mais également à l'ensemble des conditions écologiques. Mais il est généralement admis que plus le taux initial de la contamination par des espèces ochratoxinogènes est important, plus les risques d'imprégnations toxiques sont élevés.

Bien que les taux des isolats ochratoxinogènes dans la plupart des échantillons analysés soit modéré, mais les quantités d'OTA sécrétées peuvent représenter un véritable risque pour la santé humaine. Car les effets chroniques (ingestion de grandes quantités) sont les plus redoutés.

Sur le plan de la sécurité sanitaire des aliments, notre travail représente une contribution à une analyse des risques liés à la contamination par les OTA dans les figues sèches. Il convient de prendre en considération les résultats obtenus afin d'établir une réglementation en vigueur.

Nous tenons particulièrement à préciser que suite aux cultures obtenues, résultats de l'isolement et de la purification effectués pour les différents échantillons, une conservation des souches à température de réfrigération a été entamée, et ce, pour des objectifs d'identification de la mycotoxine sollicitée en l'occurrence l'ochratoxine A, une identification nécessitant le traitement des cultures obtenues pour but d'extraction et de détection par procédé de HPLC couplé à une Spectroscopie de masse (SM).

Une démarche de mise en évidence de l'ochratoxine A a été entamée mais sans suite, conséquences de diverses contraintes d'ordre administratif (réponse tardive aux demandes faites) et sanitaire, ce qui nous a valu l'arrêt de toute activité visant à finaliser nos travaux de mise en évidence et de détection de l'ochratoxine A produite.

PERSPECTIVES :

En Algérie, la figue sèche est un aliment fortement privilégié en raison de son taux élevé de consommation quotidienne. Il n'en est pas moins qu'il représente un aliment à fort risque de contamination notamment par les espèces fongiques mycotoxinogènes pouvant ainsi affecter ses propriétés qualitatives et hygiéniques.

Cependant, contrairement à toute attente, ces résultats inquiétants n'ont en aucun cas attiré l'attention ni des cultivateurs ni des autorités concernées et encore moins des vendeurs, faisant du consommateur une victime potentielle pouvant induire diverses pathologies survenant suite à l'ingestion de quantités élevées de ces substances se trouvant dans le produit consommé.

Notre travail se reposant sur la recherche d'espèces fongiques productrices d'un type bien connu de mycotoxines en l'occurrence l'ochratoxine A, qui, à de fortes concentrations peut s'avérer être nocif pour l'organisme humain pouvant provoquer des complications d'ordre sanitaire, d'où l'importance d'établir un suivi quotidien des multitudes de cultures cultivées à travers l'ensemble du territoire national et particulièrement dans la Wilaya de Béjaïa en raison de son importance agricole et économique de la région.

La protection et la conservation durant les différentes étapes allant de la pré-récolte des figues jusqu'à l'obtention du produit fini de figues sèches serait le moyen le plus efficace afin d'assurer la qualité et l'hygiène des figues sèches et ce, en mettant au point des méthodes d'analyse et de contrôle du suivi du produit durant ses différentes phases d'acheminement.

L'utilisation d'emballages (citant à titre d'exemple des sacs à base de polyéthylène) réduit le contact direct entre la denrée alimentaire destinée à la consommation et l'environnement externe et par conséquent toute éventuelle contamination par les espèces ochratoxinogènes.

Etendre l'étude sur un grand nombre d'échantillons servirait fortement à un contrôle et à une limitation de la contamination et de la propagation de ces espèces mycotoxinogènes. L'Etude approfondie de l'écologie des moisissures toxigènes et l'influence des conditions de stockage (température, humidité) sur la toxigenèse associée à une application des techniques moléculaires afin d'identifier d'une manière plus précise les isolats toxigènes et d'évaluer par conséquent le dosage d'OTA notamment par HPLC couplée à une spectroscopie de masse (SM) des échantillons, et de tous les extraits afin de déterminer d'une manière plus précise le potentiel ochratoxinogènes des souches isolées.

Enfin il est indispensable d'élargir l'étude pour la lutte biologique par l'étude de l'influence de la compétition ou de la synergie entre champignons qui partagent les mêmes niches écologiques, notamment le genre *Aspergillus*, sur la production des OTA.

La Recherche d'espèces fongiques pouvant se nourrir de mycotoxines ou la sélection génétique des plantes résistantes à l'invasion de ces mycotoxines constituent des moyens de lutte biologique limitant toute contamination par ces espèces donc par leurs mycotoxines. A titre préventif, il faut prendre en compte certains conseils pour réduire les risques liés à la présence de ces mycotoxines dans l'alimentation. Il est impératif également de mettre en place une réglementation fixant le seuil maximal d'OTA tolérée dans le produit en question soit les figes sèches ainsi que la sensibilisation de la population algérienne sur le danger de ces mycotoxines.

I. Listes des références

A

- Abarca, M.L., Accensi, F., Bragulat, M.R., Castella, G., Cabanes, F.J., 2003. *Aspergillus carbonarius* as the main source of *ochratoxin A* contamination in dried vine fruits from the Spanish market. *Journal of Food Protection* 66, 504–506.
- Abarca, M. L. B., M.R.; Castella, G.; Cabanes, F.J. (1994). *Ochratoxin A* production by strains of *Aspergillus niger*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2650-2652.
- Abene A., Dubois V., Si-Youcef M. et Leray M. (2005). Etude expérimentale de capteurs solaires a air : le séchage de la figue. *Technologies Avancées*, 17 :15-28.
- Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., &Varzakas, T. (2020). Advances in Occurrence, Importance, and Mycotoxin Control Strategies: Prevention and Detoxification in Foods. *Foods*, 9, 137, 1-48
- Aish J.L., E.H. Rippon, T. Barlow and S.J. Hattersley, 2004. *Ochratoxin A*. In: *Mycotoxins in Food Detection and Control* (N. Magan, M. Olsen, ed.), Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, UK, 367-405.
- Ait Haddou et al., (2014) : Ait-Haddou, L., Blenzar, A., Messaoud, Z., Van Damme, P., Boutkhil, S., &Boukdame, A.(2014) .L'effet du cultivar, du prétraitement et de la technique de séchage sur quelques paramètres physico-chimiques des figues séchées de sept cultivars locaux du figuier (*Ficus Carica*L.) au Maroc . *European Journal of Scientific Research*,121 (4),336-346.
- Al-Askari, G; Kahouadji, A., Khedid K., Charof, R., &Mennane, Z. (2012). Caractérisations physico-chimique et microbiologique de la figue sèche prélevée des marchés de Rabat-Salé, Temara et Casablanca, 7 (26) ,12-19.
- Aleksic B, Bailly S, Draghi M et al (2016) Production of four macrocyclic trichothecenes by *Stachybotrys chartarum* during its development on different building materials as measured by UPLC-MS/MS. *Build Environ* 106:265–273
- Alexopolous CJ, Mims CW, Blackwell M (1996). *Introductory Mycology*. 4th edition, John Wiley, New York.
- Aziz, N. H., Moussa, L. A. And Far, F. M. (2004). Reduction of fungi and mycotoxins formation in seeds by gamma radiation. *Journal of food safety*, 24, 109-127.

B

- Babalis S.J. et Belessiotis V.G. (2004). Influence of the drying conditions on the drying constants and moisture diffusivity during the thin-layer drying of figs. *Journal of Food Engineering*, 65: 449-458.
- Baby J., Justin R. S., 2011. pharmacognostic and phytochemical properties of *Ficus carica* Linn-An overview. *International Journal of Pharmacological Techniques Research- India*; 08-12.
- BachirBey, M., Louaileche, H., Meziat, L., Richard, G., &Fauconnier, M.L. (2016). Effects of sundrying on physicochemical characteristics, phenolic composition and in vitro antioxidant activity of dark fig varieties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1-8.

- Badillet G., de Briève C., Guého E., (1987), Champignons contaminants des cultures, champignons opportunistes, Atlas clinique et biologique, vol II, Ed VARIA, Paris
- Basse M.W. (1989). Besoin en séchage: le point de vue des fermiers de Sierra Leone. In « Céréales en régions chaudes ». Ed. John LibbeyEurotext. 57-69.
- Battilani P., P. Giorni, T. Bertuzzi, S. Formenti and A. Pietri, 2006. *Black aspergilli and ochratoxin A* in grapes in Italy. International Journal of Food Microbiology 111, 53-60.
- Belli', N., Mari'n, S., Sanchis, V., and Ramos, A.J. (2004). Influence of water activity and temperature on growth of isolates of *Aspergillus* section *Nigri* obtained from grapes. Int. J. Food Microbiol., 96, 19–27.
- Belli', N., Ramos, A.J., Coronas, I., et al. (2005). *Aspergillus carbonarius* growth and *ochratoxine A* production on a synthetic grape medium in relation to environmental factors. J. Appl. Microbiol., 98, 839–44.
- Belli, N., Marin, S., Argiles, E., Ramos, A. J. And Sanchis, V. (2007). Effect of chemical treatments on ochratoxigenic fungi and common mycobiota of grapes (*Vitis vinifera*). Journal of Food Protection®, 70, 157-163.
- Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y. et Veau P. 1990. Moisissures utiles et nuisibles Importance industrielle. Ed : Masson. Paris. p512.
- Boudra H. 2002. La contamination par les moisissures et les mycotoxines des fourrages conservés signification et prévention. Institut National de la Recherche Agronomique. 53-70.
- Bouzid L., 2012. Caractérisation morphologique de quatre variétés Algériennes de Figuier « *Ficus carica* L. ». Thèse magister, Ecole Nationale Supérieure Agronomique (Alger), 167 p.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry, 72(1-2), 248-254.
- Brien J., et Hardy T.S.(2002). Fig growing in NSW. Agfact H3.1.19, first edition Order N° H3.1.19 Agdex 219. Edited by Ann Munroe. Pp 1-8.

C

- Canadas, D. (2006). Evaluation du procédé Oxygreen® pour son potentiel de décontamination en ochratoxine A du blé. Les effets toxiques liés à une exposition sub chronique à l'ochratoxine A sont-ils atténués? (Doctoral dissertation).
- Chabasse D., Bouchra J.P., Gentile L., Brun S and Penn P. (2002). Cahier de formation biofarma : les moisissures d'intérêt médical. Labo Analy De biomédicale.
- Chahidi, B., El-Otmani, M., Jacquemond, C., Tijane, M., El-Mousadik, A., Srairi, I., & Luro F. (2008). Utilisation de caractères morphologiques, physiologiques et de marqueurs moléculaires pour l'évaluation de la diversité génétique de trois cultivars de clémentinier. Biologie et génétique moléculaire, 331(1), 1-12.
- Chapeland-Leclerc, Papon, N., Noël, T., Villard, J. (2005). Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicoles) .

- Chauhan et al., (2015) : Chauhan, A., Tanwar, B., &Intelli, A. (2015) . Influence of Processing on Physicochemical, Nutritional and Phytochemical Composition of *Ficus carica*(Fig) Fruit. Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, 8(6), 254-259.
- Chawla A., Kaur R., Sharma A.K., 2012. *Ficus carica*Linn. A Review on its Pharmacognostic, Phytochemical and Pharmacological Aspects. International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research - Punjab, India; 1(4): 215-232.
- Chermette R., Bussieras J., (1993), Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par leService de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort
- Chessa I., Nieddu G. (2005). Analysis of diversity in the fruit tree genetic resources from a Mediterranean island. Genetic Resources and Crop Evolution, 52:267-27.
- Ciegler, A., Fennell, D., Mintzlaff, H.-J. And Leistner, L. (1972). *Ochratoxin* synthesis by *Penicillium* species. Naturwissenschaften, 59, 365-366.
- Commission, E. (2006). Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuff. 2006R1881-EN-01.09. 2014-014.001-1.

D

- Deberghes, P., Betbeder, A., Boisard, F., Blanc, R., Delaby, J., Krivobok, S., Steiman, R., Seigle-Murandi, F. And Creppy, E. (1995). Detoxification of *ochratoxin A*, a food contaminant: prevention of growth of *Aspergillus ochraceus* and its production of *ochratoxin A*. Mycotoxin research, 11, 37-47.
- Deberghes, P., Deffieux, G., Gharbi, A., Betbeder, A., Boisard, F., Blanc, R., Delaby, J. And Creppy, E. (1993). Detoxification de l'*ochratoxine A* par des moyens physiques, chimiques et enzymatiques. Hum. Ochratoxicosis Pathol, 231, 75-82.
- Djossou O., Perraud-Gaime I., Lakhali Mirleau F., Rodriguez-Serrano G., Karou G., Niamke S., Ouzari I., Boudabous A and Roussos S. (2011). Robusta coffee beans postharvest microflora: *Lactobacillus plantarum* sp. A potential antagonist of *Aspergillus carbonarius*. Anaerobe. p: 1-6.
- Doukani, K., et Tabak, S. (2015). Profil Physico chimique du fruit " Lendj" (*Arbutus unedo* L.). Nature & Technology, (12), 51.
- Doymaz I. (2005). Sun drying of figs: an experimental study. Journal of Food Engineering, 71: 403-407.
- Drusch, S. and Ragab, W. (2003). Mycotoxins in fruits, fruit juices, and dried fruits. J. Food Prot., 66, 1514-27.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical chemistry, 28(3), 350-356.
- Duverger, F., Bailly, S., Querin, A., Pinson-? -Gadais, L., Guerre, P., and Bailly, J. (2011). Influence of culture medium and incubation time on the simultaneous synthesis of deoxynivalenol and zearalenone by *Fusarium graminearum*. Revue Méd. Vét 162 :93-97.

E

- El Khoury, R. (2017). La lutte biologique contre l'ochratoxine A: utilisation des extraits de plantes médicinales ainsi que des souches *d'actinobactéries* et mise en évidence de leur mode d'action (Doctoral dissertation, Toulouse, INPT).
- Eshak, N.S. (2018). Quality Attributes of Some Vegetables and Fruits Preserved by Sun and Oven Drying Methods. Alexandria Science Exchange Journal, 39 (4), 708-721.
- Esteban, A., Abarca, M.L., Bragulat, M.R., Cabañes, F.J., 2004. Effects of temperature and incubation time on production of ochratoxin A by *black aspergilli*. Research in Microbiology 155, 861–866.
- Esteban, A., Abarca, M.L., Bragulat, M.R., Cabaie, F.J., 2006. Effect of water activity on ochratoxine A production by *Aspergillus niger* aggregate species. International Journal of Food Microbiology 108, 188–195.

F

- Fakhoury, M.A., Woloshuk, C.P., 1999. Amyl, the a-amylase gene of *Aspergillusflavus*: Involvement in aflatoxin biosynthesis in maize kernels. Biochemistry and Cell Biology 89, 908–914.
- FAO, 2010.
- FAO-WHO (2013). Proposed Draft Annex For The Prevention And Reduction Of Aflatoxins And Ochratoxin A Contamination In Sorghum (Code Of Practice For The Prevention And Reduction Of Mycotoxin Contamination In Cereals (Cac/Rcp 51-2003)). Codex Alimentarius Commission.
- FAO, 2015.

G

- Guiraud J.P. (2003). Microbiologie alimentaires. (edn) Dunod. Paris.p : 651.
- Guiraud J. P. 1998. Microbiologie alimentaire. Ed : Dunod, Paris. 7-330.
- Guler, F.K., Heperkan, D., 2008. Natural occurrence of ochratoxine A in dried figs. AnalyticaChimicaActa 617, 32–36.
- Guvenc, M. E. (2009). Analysis of fatty acid and some lipophilic vitamins found in the fruits of the (Ficuscarica) variety picked from the Adiyaman district, 4 (3), 320-323.

H

- Hadj Sahraoui, K., 2014. Etude sectorielle arboriculture fruitière et de la vigne : filière arboriculture fruitière. Realagro : Actualité, fiche technique, réglementation. Décembre arboriculture fruitière. Realagro : Actualité, fiche technique, réglementation. décembre 22, 2014.)
- Hawksworth, D.L., Lücking, R., 2017. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. The Fungal Kingdom, pp. 79–95
- Hedayti, M.T., Pasqualotto, A.C., Warn, P.A., Bowyer, P., and Denning, D.W. (2007). *Aspergillusflavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. Microbiology 153:1677-1692.

- Hibbett, D. S., Binder, M., Bischoff, J. F., et al. (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological research*, 111, 509-547.
- Hocking, A. D., & Pitt, J. I. (1980). Dichloran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low-moisture foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 39(3), 488-492.
- HORIE, Y. (1995). Productivity of ochratoxin A of *Aspergillus carbonarius* in *Aspergillus* section *nigri*. *Nippon Kingakki Kaiho*, 73-76.
- Houissa, H. (2020). Les Mycotoxines du mil: occurrence et flore fongique (Doctoral dissertation, Université Montpellier; Université de Tunis El-Manar. Faculté des Sciences de Tunis (Tunisie))

J

- Jeddi L., 2009. Valorisation des figes de Taounate- Potentiel, mode et stratégies proposées. Mémoire d'ingénieur d'état professionnelle. Option : Industries Agricoles et Alimentaires. Direction provinciale d'agriculture de Taounate (Maroc) : pp 8.
- Joseph B., Justin Raj S., 2011. pharmacognostic and phytochemical properties of *Ficus carica* Linn-An overview. *International Journal of PharmTechResearch*, Vol. 3, N° 1, pp 08-12.

K

- Kabak, B., Dobson, A. D. And Var, I. L. (2006). Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 593-619.
- Kanapitsas, A., Batrinou, A., Aravantinos, A., Sflomos, C. And Markaki, P. (2016). Gamma radiation inhibits the production of Ochratoxin A by *Aspergillus carbonarius*. Development of a method for OTA determination in raisins. *Food Bioscience*, 15, 42-48.
- Karathanos V.T et Belessiotis V.G.(1997). Sun and artificial air drying kinetics of some agricultural products. *Journal of Food Engineering*. Great Britain; 31:35-46.
- Keller S.E., Sullivan T.M., Chirtel S. (1997). Factors affecting the growth of *Fusarium proliferatum* and the production of fumonisin B1: oxygen and pH, *Indust. Microbiol, Biotechnology*. 19:305-309
- Khadari B., Lachermes P. et Kjellberg F. (1994). Identification variable et des ressources génétiques chez le figuier (*Ficus carica* L.): Utilisation des marque RAPD. In « Quel avenir pour l'amélioration des plantes ? ». AUPELF-UREF. John Libbey Eurotex. 399-412.
- Khairuddin et al., (2017) : Khairuddin ,M.F., Haron, H., Yahya, H ., & Che Malek, N.H. (2017). Nutrient Compositions and Total Polyphenol Contents of Selected Dried Fruits Available in Selangor, Malaysia .*Journal of Agricultural Science*, 9 (13),41-49.
- Kolesnik A. A ., Kakhniashvili T.A., Zherebin Yu L., Golubev V N. et Pilipenko L.N. (1987). Lipid of the fruit of *ficus carica*. *Plenum Publishing Corporation*, 4: 423-427.

L

- Leong, S.L., Hocking, A.D., Pitt, J.I., 2004. Occurrences of fruit rot fungi (*Aspergillus* section *Nigri*) on some drying varieties of irrigated grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 10, 83–88.
- Lev-Yadun S., Ne'eman G., Abbo S. etFlashman M. (2006). Comment on “Earlydomesticatedfig in the Jordan Valley. *Science*. 314: .1683.
- Lim, (2012) : Lim, T.K. (2012). Edible medicinal and non-medicinal plants: *Ficuscarica*. *Moraceae* Fruits. Ed. Springer Sciences Media B, 3,898 p.
- Lopez de Cerain, A., González-Pen~ as, E., Jimé'nez, A.M., and Bello, J. (2002). Contribution to the study of *ochratoxin A* in Spanish wines. *Food Addit. Contam.*, 19, 1058–64.
- Luchese, R.H., Harrigan, W.F., 1993. Biosynthesis of aflatoxin: The role of nutritional factors. *Journal of AppliedBacteriology* 72, 5–14.

M

- MADR, 2019.
 - Magan, N. and Aldred, D. (2005). Conditions of formation of ochratoxin A in drying,transport and in different commodities. *Food Addit. Contam.*, 22, (Suppl. 1), 10–16.
 - Magan, N., Sanchis, V. And Aldred, D. (2004). Role of spoilage fungi in seed deterioration. *Fungal biotechnology in agricultural, food and environmental applications*, 311-323.
- Meziant L. (2014). Etude de l'effet du séchage sur les caractéristiques physico-chimiques et l'activité antioxydante de neuf variétés de figues (*Ficus carica*L.). Université de Bejaïa
- Miller, G. L. (1959). Modified DNS method for reducing sugars. *Anal Chem*, 31(3), 426-428.
- Miller, G. L. (1959). Modified DNS method for reducing sugars. *Anal Chem*, 31(3), 426-428.
 - Mitchell D., Parra R., Aldred D. et Magan N. (2004). Water and temperature relations of growth and ochra- toxin A production by *Aspergilluscarbonarius* strains from grapes in Europe and Israel. *Journal of Applied Microbiology*, 97:439–445.
 - Morin O. (1994). *Aspergillus* et aspergilloses: biologie, Ed. Techniques Encyl. Med. Chir. (Elsevier, Paris), Mal- adies infectieuses 8-600-A-10 Morno-Martinez
 - MousaviKhaneghah, A.; Fakhri, Y.; Gahruie, H.H.; Niakousari, M.; Sant'Ana, A.S. (2019). Mycotoxins in cereal-basedproducts during 24 years (1983–2017): A global systematic review. *Trends Food Sci. Technol.*, 91, 95–105.
 - Mycobiome diversity: high-throughput sequencing and identification of fungi. *Nat. Rev. Microbiol.* 17, 95–109.

N

- National Committee for Clinical Laboratory Standards, (2002). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 12th informational supplement. M100-S12, NCCLS, Wayne, PA
- Nilsson, R.H., Anslan, S., Bahram, M., Wurzbacher, C., Baldrian, P., Tedersoo, L., 2019.
- Norme AFNOR: V 05-108, 1970.
- Norme AFNOR: V 05-101, 1974.
- Norme AFNOR: V 05-108, 1970.
- Norme AFNOR: V 05-105.

O

- Okos M.R., Narasimhan R.K., Singh et Witnauer A.C. (1992). Food dehydration. In «Handbook of Food Engineering » Hedman D.R. et Lund D.B- New York: Marcel Dekke
- Ouaouich A. et Chimi H. (2005). Guide du secteur de figue. Organisation des Nations Unies pour le développement industriel. US/MOR/A48.
- Ouaouich, A., & Chimi, H. (2005). Guide du sécheur de figues. Projet de développement du petit entrepreneuriat agroindustriel dans les zones péri-urbaines et rurales des régions prioritaires avec un accent sur les femmes au Maroc, 1-27.
- Oukabli A. (2003). Le figuier un patrimoine génétique diversifier à exploiter. Transfert de technologie en agriculture. Bulletin mensuelle d'information de liaison du PNTTA, Juillet 2003, 106 : 1-4.
- Oukabli A., Mamouni A., 2005. Potentialités et perspectives de développement de la figue séchée au Maroc Institut National Recherche Agroalimentaire; pp 19. Ch EM.; 22(1), 366-382.

P

- Payne, G.A., Hagler, W.M., 1983. Effect of specific amino acids on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus* in defined media. Applied and Environmental Microbiology 46, 805–812.
- Pesson P. et Louveaux J. (1984). Pollinisation et productions végétales. Quae. :63
- Pfohl-Leszkowicz A. (2001). Définition et origines des mycotoxines in Les mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque, Ed. Tec & Doc. 3-14
- Pfohl Leszkowicz, A. And Manderville, R. A. (2007). Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. Molecular Nutrition & Food Research, 51, 61-99.
- Pietri, A., Bertuzzi, T., Pallaroni, L., and Piva, G. (2001). Occurrence of ochratoxin A in Italian wines. Food Addit. Contamin., 18, 647–54.
- Piga, A., Pinna, I., Özer, K. B., Agabbio, M., et Aksoy, U. (2004). Hot air dehydration of figs (*Ficus carica* L.): drying kinetics and quality loss. International journal of food science & technology, 39(7), 793-799.
- Pitt J.I. et Hocking A.D. 1997. Fungi and food spoilage. 2ème Ed. Blackie Academic and Professional, London. p 503.

- PONTAPPIDAN A. (1997). Le figuier. Le nom de l'arbre. 1ère édition, Actes sud, France.

R

- Raper K., Fennell D.J. (1965). The genus *Aspergillus*, Williams and Wilkins editors, Baltimore
- Rapilly, F.1968. Les Techniques de mycologie en pathologie végétales. Annales des epiphyties Volume19. Edition INRA, Paris.pp.25-39.
- Reboux G., Bellanger A., Roussel S., Grenouillet F., et Million L. 2010. Pollution atmosphérique, moisissures et habitat : risques pour la santé et espèces impliquées. Revue française d'Allergologie. 50 : 611–620.
- Reddy, T.V., Viswanathan, L., Venkitasubramanian, T.A., 1971. High aflatoxin production on a chemically defined medium. Applied Microbiology 22, 393–396.
- Refai, M., Aziz, N., El-Far, F. And Hassan, A. (1996). Detection of ochratoxin produced by *A. ochraceus* in feed stuffs and its control by γ radiation. Applied radiation and isotopes, 47, 617-621.
- Reski-Bekki, M. A. (2014). Production de metabolites par les levures: caractérisation et identification des arômes et des alcools (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat, Université d'Oran. Algérie).
- RINGOT, D. C., A.; SCHNEIDER, Y.J.; LARONDELLE, Y. (2006). Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. Chem. Biol. Interact., 18–46.
- Rodrigues, P., Venâncio, A., Kozakiewicz, S., & Lima, N. (2009). A polyphasic approach to the identification of aflatoxigenic and non-aflatoxigenic strains of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from Portuguese almonds. International Journal of Food Microbiology, 129, 187–193.
- Rodrigues, P., Santos, C., Venâncio, A., & Lima, N. (2011). Species identification of *Aspergillus* section *Flavi* isolates from Portuguese almonds using phenotypic, including MALDI-TOF ICMS, and molecular approaches. Journal of Applied Microbiology, 111, 877–892.

S

- Soni, N., Mehta, S., Satpathy, G., & Gupta, R. K. (2014). Estimation of nutritional, phytochemical, antioxidant and antibacterial activity of dried fig (*Ficus carica*). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 3 (2), 158-165.
- Stover E.D., Aradhya M.K., Crisosto C. Ferguson L., 2007. The fig : Overview of an ancient fruit. Department of Plant Sciences, One Shields Avenue, University of California, Hort Science; 42(5): 1083-1087.

T

- Tjamos, S., Antoniou, P., Kazantzidou, A., Antonopoulos, D., Papageorgiou, I. and Tjamos, E. (2004). *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* in Corinth Raisin and WineProducing Vineyards in Greece: Population Composition, Ochratoxin A Production and Chemical Control. Journal of Phytopathology, 152, 250-255.

V

- VALDEYRON G., KJELLBERG F. et GARRONE B. (1998). Le figuier. Les écologistes de l'Euzière. 2ème édition, Midi, Montpellier.
- Valizadeh M., Valdeyron G., Kjellberg F. et Ibrahim M. (1987). Flux génique chez le figuier. *Ficus carica*: dispersion par le pollen dans un peuplement dense. *Ecologica Plant.* 8 (2): 143-154.
- VIDAUD J. (1997).
- Vinson J A., Zubik L., Bose P., Samman N. et Proch J. (2005). Dried Fruits: Excellent in vitro and in vivo Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*, 24: 44-50.

Z

- Zaitlin B., Watson S. B., Ridal D., Stachwill T. et Parkinson D.. *Actinomycetes* in Lake Ontario, habitats and geosmim and MIB production, 95 (2), 2003, p.113-118.

Annexes

Annexe I : Aspect des moisissures et cycle de reproduction sexuée

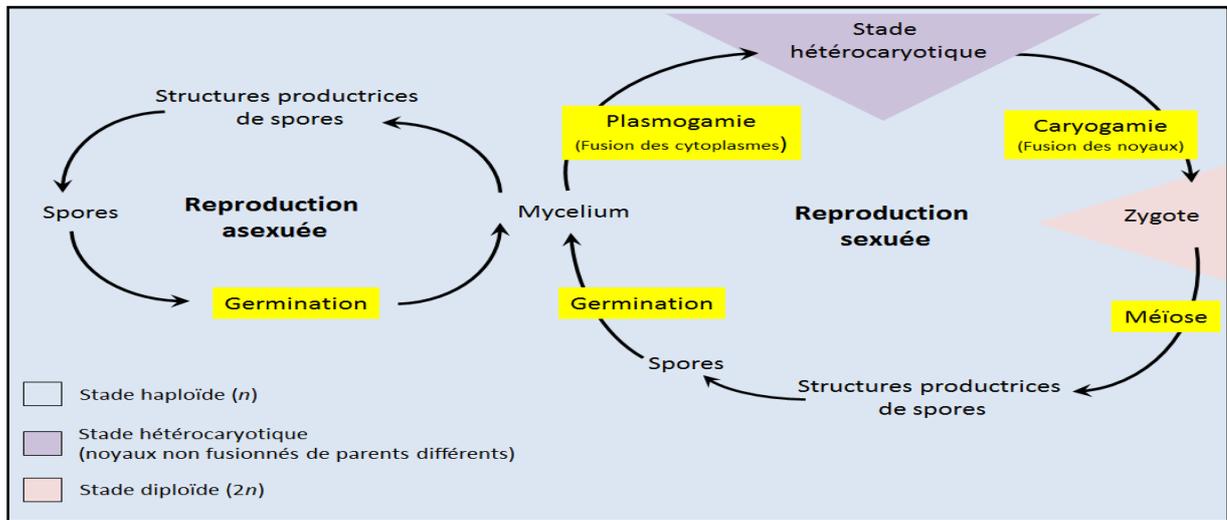


Figure 1 : Reproduction sexuée "téléomorphe" chez les mycètes (Deacon, 2005).

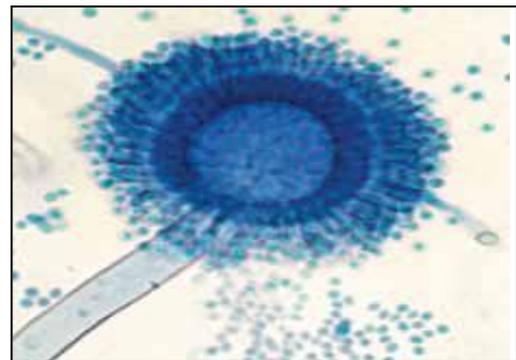


Figure 2 : *Aspergillus flavus* (culture de 7 jours sur gélose au malt à 25°C et aspect microscopique).

(Raper et Fennell, 1965 ; Pitt et Hocking, 1997 ; Samson *et al.*, 2006)

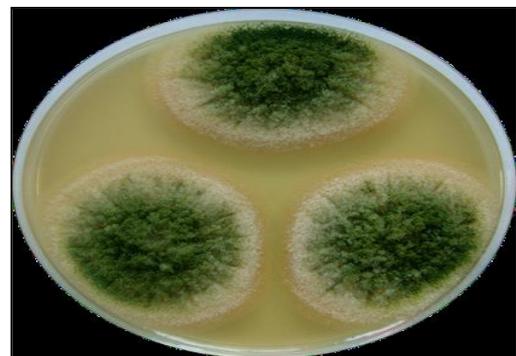
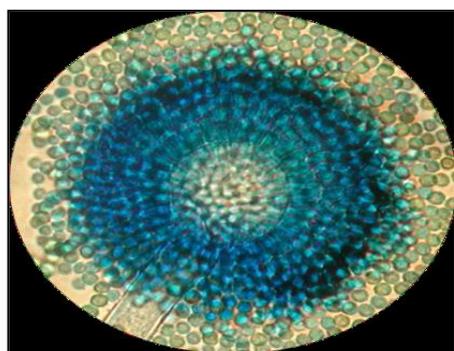


Figure 3 : Aspect microscopique (gauche) et macroscopique (droite) d'*Aspergillus parasiticus*, après culture sur MEA à 25°C pendant 5 jours

(Hedayti *et al.*, 2007 ; Samson *et al.*, 2010).

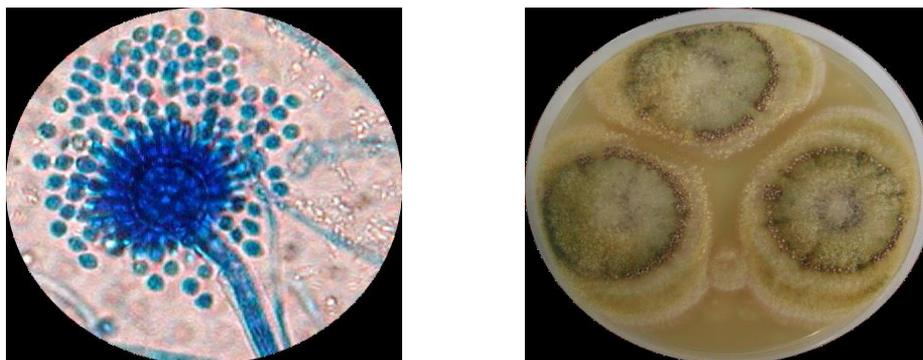


Figure 4 : Aspect microscopique (gauche) et macroscopique (droite) de l'*Aspergillus nomius*, après culture sur MEA à 25°C (Kurtzman *et al.*, 1987).

Annexe II : Structures chimiques des mycotoxines.

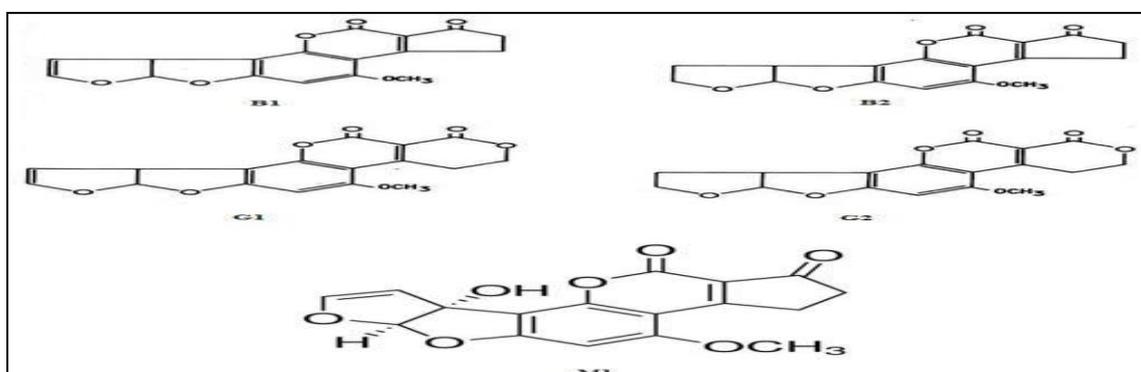


Figure 1 : Structure des principales aflatoxines: B1, B2, G1, G2 et M1

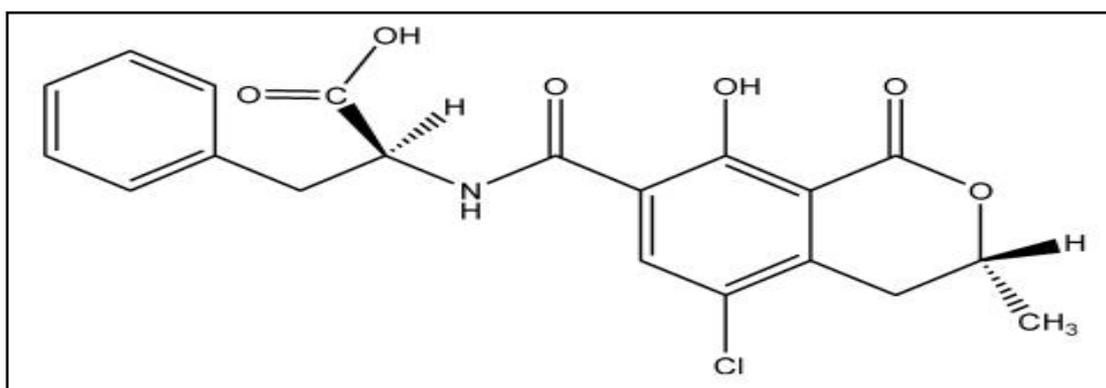


Figure 2 : Structure chimique de l'OTA. Schéma adapté et modifié d'El Khoury et Atoui (2010).

Annexe III : Milieux de culture.

- **La composition du milieu de culture DG 18 :** Selon la notice du flacon contenant le milieu DG 18 (2013).

Tableau I : La composition du milieu DG 18 en grammes pour un litre d'eau pure selon la Fiche technique Gélose DG18 Version 02.2013.

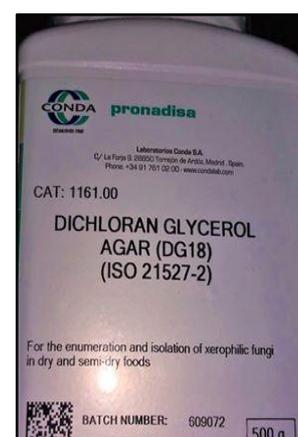
Ingrédient	Quantité pour 1L d'eau pure (g/l)
Tryptone	5,00
Glucose	10,00
Sulfate de magnésium, 7H ₂ O	0,50
Phosphate monopotassique	1,00
Dichloran (dichloro-2,6-nitro-aniline)	0,002
Chloramphénicol	0,10
Agar	15,00
Glycérol (*)	220,00
pH final à 25°C	5,6 ± 0,2

(*) : Optionnel, en fonction de la nature du milieu (présent / absent).

- **Préparation du milieu DG 18 :**

La référence du milieu utilisé est illustrée dans la figure suivante.

✦ Addition d'une quantité de 15.8 g du milieu dans un volume de 500 ml d'eau distillée stérile, ensuite, ajout d'un volume de 110 ml de Glycérol suivi d'un autoclavage à 121°C pendant 15 min.



➤ Quelques stations de cette préparation sont présentées dans la figure ci-dessous :

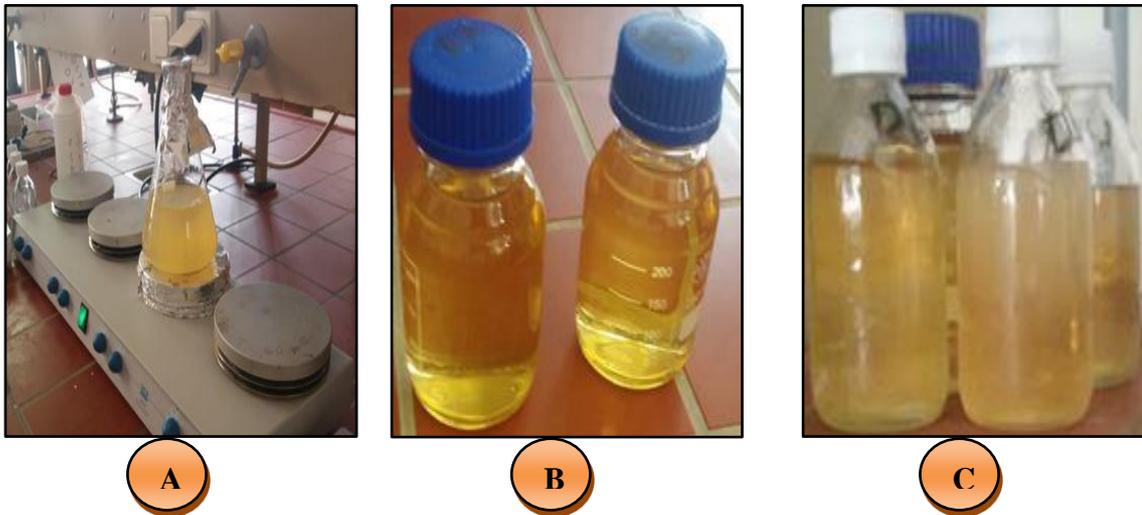


Figure 1 : Quelques stations de la manipulation au laboratoire
A : chauffage du milieu de culture DG 18 sur la plaque chauffante agitatrice.
B et C : répartition du milieu de culture DG 18 en flacons après autoclavage.

- **La composition du milieu de culture Malt Extract Agar (MEA) :**

Selon la notice du flacon contenant du milieu MEA (2015) ; **Fiche technique ts 163422 rev.0 / 02.04.2015**

Tableau II : La constitution du milieu Malt Extract Agar (MEA) en grammes pour un litre d'eau pure selon la notice du flacon contenant le milieu MEA (2015).

Ingrédient	Quantité pour 1L d'eau pure (g/l)
Peptone	0.78
Maltose	12.75
Dextrine	2.75
Glycérol	2.35
Agar	15.0
pH final	4.7 ± 0.2

- **Préparation du milieu Malt Extract Agar (MEA) :** La référence du milieu utilisé est illustrée dans la figure suivante.

✦ Suspender 31.5 g du milieu dans un litre d'eau distillée stérile, ensuite ajouter 2.35 ml de Glycérol Supplément (80021) puis chauffer jusqu'à dissolution totale et autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.



- **La composition du milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA) :** Selon la notice du flacon contenant le milieu PDA (2016) ; Liofilchem - Potato Dextrose Agar - Rev.0 / 31.08.2016.

- **Tableau III :** La composition du milieu Potato Dextrose Agar (PDA) en grammes pour un litre d'eau pure selon la notice d'utilisation de PDA (2016).

Ingrédient	Quantité pour 1L d'eau pure (g/l)
Extrait de pomme de terre (dans 200 g de pomme de terre)	4.0
Dextrose	20.0
Agar	17.0
pH final à 25°C	5.6 ± 0.2

• **Préparation du milieu Potato Dextrose Agar (PDA):** La référence du milieu utilisé est illustrée dans la figure suivante.

✦ Suspandre 42.0 g du milieu dans un litre d'eau distillée stérile puis chauffer jusqu'à dissolution totale et autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.



Annexe IV: Préparation des réactifs utilisés.

Le tableau ci-dessous, résume la nature des réactifs utilisés dans le dosage des sucres et protéines :

Tableau I : la nature des réactifs ayant servi dans l'analyse physico-chimique de la figue (Dosage des sucres et protéines), établi par nos soins.

Expérimentation	Méthode	Réactifs (/ g ou / ml)
Dosage des sucres réducteurs	(Miller, 1959)	DNS : 0.2 g Soude (NaOH) : 0.32 g Tartrate double sodium potassium : 6 g Eau distillée : 10 ml
Dosage des sucres totaux	DuBois et al. (1956)	CAREZ I : Acétate de Zinc tri hydraté : 2.38 g Acide acétique glacial : 0.3 g ou 3 ml Eau distillée : 10 ml CAREZ II : Ferrocyanure de Potassium : 1.06 g Eau distillée : 10 ml Phénol à 5 % : 5 g de phénol et 100 ml d'eau distillée Acide sulfurique

<p align="center">Dosage des protéines</p>	<p align="center">Bradford, (1976)</p>	<p align="center">Bradford</p> <p>Bleu de Coomassie G-250 : 10 mg</p> <p>Ethanol 95 % : 5 ml</p> <p>Acide phosphorique à 85 % : 10 ml</p> <p>Eau distillée : compléter jusqu'à un volume de 100 ml.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ce réactif doit être conservé à 4°C et à l'abri de la lumière.
---	---	---

Annexe V: liste du matériel ayant servi à la recherche de l'ochratoxine A .

1) Analyse physico-chimique :

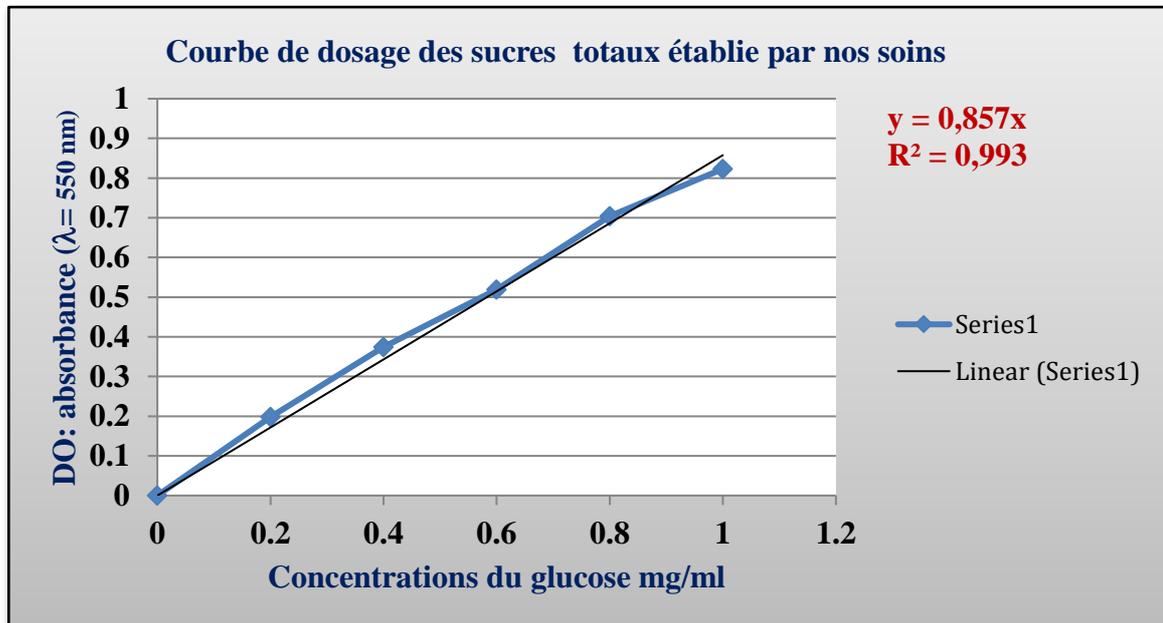
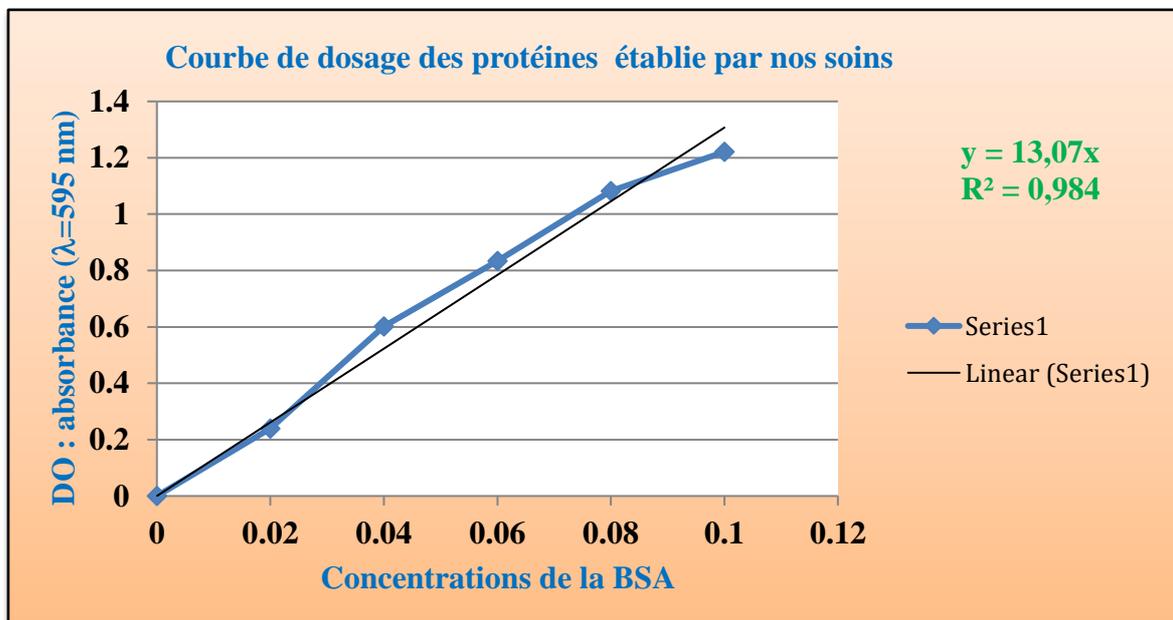
Tableau I : matériel pour analyse physico-chimique, établi par nos soins.

Paramètre	Appareil utilisé
<p align="center">Mesure du pH</p>	<p align="center">pH mètre</p> 
<p align="center">Détermination de la teneur en eau</p>	<p align="center">Balance</p> 

	<p>Dessiccateur</p>  <p>étuve à 105°C</p> 
<p>Mesure de l'activité d'eau (Aw)</p>	<p>Rotronic</p> 
<p>Mesure de la densité optique</p>	 <p>Spectrophotomètre UV-Visible</p>
<p>Verrerie utilisée</p>	<p>Tubes à essais Erlenmeyer Becher Entonnoir</p>

2) Analyse microbiologique :

- Boîtes de pétri
- Flacons stériles
- Scalpel
- Pince
- Ecouvillon
- Hotte d'isolation
- Etuve à incubation à 28°C
- Hotte à flux laminaire
- Microscope optique équipé d'une caméra (OPTIKA)
- Loupe à observation au grossissement (x2) et (x4).
- Autoclave.
- Plaque chauffante agitatrice

Annexe VI : Résultats de dosage des sucres et protéines (courbes de dosage).**Figure 1 : Courbe de dosage des sucres totaux établie par nos soins****Figure 2 : Courbe de dosage des protéines établie par nos soins**

Résumé :

La figue (*Ficus carica L.*) est un fruit de grande valeur nutritionnelle avec des teneurs élevées en fibres, minéraux et vitamines. La consommation des figues sèches est très largement répandue en Algérie notamment dans la région de Kabylie d'où l'importance économique de la culture de ce dernier. En raison de sa teneur élevée en sucre, la figue sèche est d'une grande sensibilité à la contamination par des moisissures et à la formation de mycotoxines du genre *Aspergillus* notamment les productrices d'OTA par les *Aspergillus* section des *Nigri*. De plus, les conditions pédoclimatiques en Algérie sont favorables à ce genre fongique dont quelques espèces (*A. niger* et l'*A. carbonarius*), capables de produire les ochratoxines A (OTA). Ces moisissures toxigènes sont répandues sur les figues durant la croissance, la maturation et le séchage du fruit, mais se développent en particulier durant la phase de maturation et de sur-maturation. Ce thème de mémoire de fin de cycle vise à établir un état des lieux de la contamination par les OTA de la figue sèche algérienne notamment par la recherche des espèces ochratoxinogènes, déterminer les points critiques et proposer des stratégies en vue de réduire sensiblement les niveaux de contamination.

La démarche globale consiste en la recherche des espèces fongiques dans les échantillons de figues sèches collectées.

Mots-clés : Figue, figue sèche, *Aspergillus*, mycotoxines, ochratoxine A, moisissures.

Abstract :

The fig (*Ficus carica L.*) is a fruit of great nutritional value with high contents of fibres, minerals and vitamins. The consumption of dried figs is very widespread in Algeria, particularly in the Kabylia region, hence the economic importance of its cultivation. Because of their high sugar content, dried figs are very sensitive to contamination by moulds and to the formation of mycotoxins of the genus *Aspergillus*, in particular OTA producers by the *Aspergillus* section of *Nigri*. Moreover, the pedoclimatic conditions in Algeria are favourable to this fungal genus, some species of which (*A. niger* and *A. carbonarius*) are capable of producing ochratoxin A (OTA). These toxigenic moulds are widespread on figs during growth, ripening and drying of the fruit but develop particularly during the ripening and over-ripening phase. This work aims to establish an inventory of OTA contamination of Algerian dried figs, in particular through the search for ochratoxinogenic species, to determine critical points and to propose strategies to significantly reduce contamination levels.

The overall approach consists in the research of fungal species in the collected dried fig samples.

Keywords: fig, dried figs, *Aspergillus*, mycotoxins, ochratoxin A, moulds.