

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد الصديق بن يحيى – جيجل
Université Mohammed-Seddik Benyahia – Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et
de la Vie

Département : Microbiologie
Appliquée et Sciences Alimentaires



كلية: علوم الطبيعة و الحياة
قسم: الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم
التغذية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : Master Académique en Biologie

Option : Agroalimentaire & Contrôle de Qualité

Thème

**Essai de bio-conservation du pain traditionnel contre les altérations
fongiques en utilisant les huiles végétales.**

Membres du Jury :

Présidente : Mme BENHAMADA N.

Promotrice : Dr. AKROUM S.

Examinatrice : Mme BOUCHEFRA A.

Présenté par :

M^{lle} BIROUK Bochra

M^{lle} SEDIRA Ines

Année Universitaire : 2018 - 2019

Numéro d'ordre :

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu, le tout puissant et miséricordieux, de nous avoir donné la force, le courage et la persistance durant nos longues années d'études et surtout de nous avoir permis de finaliser ce travail.

Un énorme merci au Dr. AKROUM pour sa disponibilité, sa patience, son aide précieuse et ses conseils, tout au long de ces mois de travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury Mme BOUCHEFRA et Mme BENHAMADA pour avoir accepté d'examiner et apporter leurs avis sur notre étude.

Nous tenons aussi à exprimer nos sincères remerciements à tous les enseignants qui nous ont transmis une partie de leur savoir et qui nous ont orientées dans la poursuite de nos études.

Et un remerciement spécial aux membres de nos familles qui nous ont toujours aidées, soutenues et encouragées, surtout dans les moments difficiles : « Recevez ici nos remerciements et grâces infinies ».

Enfin, nous souhaitons adresser nos remerciements à toutes les personnes qui nous ont apporté leur aide et qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.



Dédicace

Je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans les soutiens indéfectibles et sans limites de mes chers parents (Doria et Kheireddine) qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui.

Que dieux vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

Je dédie aussi ce travail à :

- ❖ Mes 2 frères (Kacem et Mehdi)*
- ❖ Mon cousin kamel*
- ❖ Mes oncles, mes tantes et leur famille.*
- ❖ Tous mes amis, mes collègues*

Bouchra

Je tiens à exprimer mon éternelle reconnaissance à :

- ❖ Mes parents Djamel-Eddine et Rachida.*
- ❖ Ma soeur Sofia.*
- ❖ Mon frère Imed-Eddine.*

Je vous remercie infiniment pour tous vos encouragements, pour votre appui, votre compréhension et votre support permanent.

Je dédie ce travail également à l'ensemble de la famille et à tous mes amis.

Gness

Liste des abréviations

Aw : Activité de l'eau.

Ca : Calcium.

Cm : Centimètre.

CMIs : Concentrations Minimales Inhibitrices.

Cu : Cuivre.

Fe : Fer.

HE : Huiles essentielles.

HIV : Human Immunodeficiency virus.

Kg : kilogramme .

ml : millilitre.

Mg : Magnésium.

NT : non testé.

g : gramme.

sp : species .

ug : microgramme.

Zn : Zinc.

OCIM : Office de coopération et d'information muséale.

Liste de figures

	Page
Figure 1 : Observation microscopique d' <i>Aspergillus niger</i> et d' <i>Aspergillus penicillioides</i> ...	4
Figure 2 : Altération du pain par <i>Aspergillus niger</i>	4
Figure 3 : Altération du pain par <i>Aspergillus penicillioides</i>	4
Figure 4 : Observation macroscopique et sous binoculaire de <i>R. nigricans</i> sur le pain.....	5
Figure 5 : Observation microscopique de <i>P. notatum</i>	6
Figure 6 : Présentation de <i>P. Notatum</i> sur le pain.....	6
Figure 7 : Présentation de <i>P.brevicompactum</i> sur le pain.....	6
Figure 8 : Observation microscopique de <i>M. mucebo</i>	7
Figure 9 : Présentation de <i>M. mucebo</i> sur le pain.....	7
Figure 10 : Présentation de <i>Cladosporium cladosporioides</i> sur le pain.....	8
Figure 11 : Observation microscopique de <i>Cladosporium cladosporioides</i>	8
Figure 12 : Exemples de quelques morceaux de pain moisi utilisés pour le prélèvement des moisissures.....	16
Figure 13 : Photos du pain infecté avant l'incubation.	19
Figure 14 : Exemples des mycéliums obtenus après l'isolement des moisissures.....	20
Figure 15 : Observation macroscopique de la moisissure 1 après 3 jours d'incubation.....	20
Figure 16 : Observation macroscopique de la moisissure 2 après 3 jours d'incubation.....	21
Figure 17 : Observation macroscopique de la moisissure 3 après 3 jours d'incubation.....	21
Figure 18 : Observation macroscopique de la moisissure 4 après 3 jours d'incubation.....	22
Figure 19 : Observation macroscopique de la moisissure 5 après 3 jours d'incubation.....	22
Figure 20 : Observation macroscopique de la moisissure 6 après 3 jours d'incubation.....	22
Figure 21 : Observation microscopique de la moisissure 1 au grossissement x 40.....	23
Figure 22 : Observation microscopique de la moisissure 2.	24
Figure 23 : Observation microscopique de la moisissure 3 au grossissement x 40.....	24
Figure 24 : Observation microscopique de la moisissure 4 au grossissement x 40.....	25

Figure 25 : Observation microscopique de la moisissure 5 au grossissement x 40.....	26
Figure 26 : Observation microscopique de la moisissure 6 au grossissement x 40.....	26
Figure 27 : Absence d'activité de l'huile de romarin et de l'huile d'amandes douces aux volumes 0,05 et 0,10 ml.....	28
Figure 28 : Quelques zones d'inhibition obtenues avec l'huile de nigelle aux volumes 0,05 et 0,10 ml.....	29
Figure 29 : Exemples des résultats obtenus pour l'huile de nigelle.....	30
Figure 30 : Absence de croissance de <i>P. chrysogenum</i> sur le milieu contenant l'huile de nigelle.....	31
Figure 31 : La croissance de <i>P. chrysogenum</i> sur les milieux contenant l'huile de coco, l'huile d'olives et l'huile de pistachier.....	31
Figure 32 : La croissance d' <i>E. herbariorum</i> et <i>Alternaria alternata</i> sur le milieu contenant l'huile d'amandes douces.....	32
Figure 33 : Les diamètres de croissance les plus faibles donnés par <i>P. chrysogenum</i>	33
Figure 34 : La croissance des moisissures les plus résistantes sur le pain préparé avec l'huile d'amandes douces.....	33
Figure 35 : La croissance des moisissures sur le pain préparé avec l'huile de tournesol.....	34

Liste de tableaux

page

Tableau 1 : Diamètres des zones d'inhibition obtenus par la méthode des puits (en cm).....	27
Tableau 2 : Résultats de la méthode de culture sur gélose additionnée d'huile (exprimés en cm).....	30
Tableau 3 : Diamètres de croissance des moisissures sur le pain préparé avec les huiles végétales (exprimés en cm).....	32

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

	Page
1. Introduction	1
2. Partie bibliographique	3
2.1. Généralité sur les moisissures.....	3
2.2. Les moisissures d'altération du pain	3
2.2.1. <i>Aspergillus</i>	3
2.2.2. <i>Rhizopus</i>	5
2.2.3. <i>Penicillium</i>	5
2.2.4. <i>Mucor</i>	6
2.2.5. <i>Cladosporium</i>	7
2.3. Facteurs d'altération des aliments	8
2.3.1. Les paramètres intrinsèques	8
2.3.2. Les paramètres extrinsèques	9
2.4. Conséquences de la présence des mycotoxines dans les aliments	10
2.5. Effets des mycotoxines sur la santé	10
2.6. Les huiles végétales	11
2.6.1. Définition des huiles végétales	11
2.6.1.1. Huile de nigelle	12
2.6.1.2. Huile de coco	13
2.6.1.3. Huile de romarin	13
2.6.1.4. Huile d'amandes douces	13
2.6.1.5. Huile d'olives	13
2.6.1.6. Huile de pistachier	14
3. Matériel et méthodes	12
3.1. Isolement et purification des moisissures d'altération du pain.....	16

3.2. Identification des moisissures	17
3.2.1. Observation macroscopique	17
3.2.2. Observation microscopique.....	17
3.3. Activité antifongique <i>in vitro</i> des huiles végétales	17
3.3.1. La méthode des puits	17
3.3.2. La méthode de culture sur gélose additionnée d'huile.....	17
3.4. Activité antifongique des huiles végétales testée sur le pain	18
3.4.1. Préparation du pain	18
3.4.2. Activité antifongique testée sur le pain	19
4. Résultats	20
4.1. Isolement et purification des moisissures d'altération du pain	20
4.2. Identification des moisissures.....	23
4.3. Activité antifongique <i>in vitro</i> des huiles végétales	27
4.3.1. Résultats obtenus pour la méthode des puits.....	27
4.3.2. Résultats obtenus pour la méthode de culture sur gélose additionnée d'huile.....	29
4.4. Activité antifongique des huiles végétales testées sur le pain	32
5. Discussion	35
6. Conclusion	37
7. Références bibliographiques	38

1. Introduction

Le pain traditionnel est un aliment de base pour l'être humain. En effet, ce dernier en consomme de très grandes quantités quotidiennement. Le pain est à la base préparé à la maison par pétrissage d'un mélange composé de farine, d'huile, d'eau potable, de sel de cuisine, et d'un agent de fermentation (levure boulangère). Cette constitution se transmet de génération en génération, même si elle subit de légères modifications d'une région à une autre ou d'une culture à une autre culture. (Chung et Pomeranz, 1983).

Une fois préparé, le pain est souvent sujet à des altérations fongiques qui rendent sa conservation difficile. Parmi les espèces fongiques les plus courantes sur le pain moisi, nous pouvons citer : *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger*, *Eurotium herbariorum*, *Rhizopus nigricans*, *R. stolonifer*, etc. La croissance de ces moisissures d'altération dépend de plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques, comme : l'humidité atmosphérique, l'activité de l'eau du pain, le pH du pain, la lumière, la propreté de l'endroit où est conservé le pain et la proximité d'autres aliments moisissés (Cahangier et al., 1998).

Ce dernier point est d'ailleurs primordial car les moisissures peuvent altérer différents types de substrats et ont un très grand pouvoir de dissémination qui leur permet de contaminer en peu de temps un grand nombre d'aliments. C'est le cas de *P. italicum*, *P. expansum* et *Alternaria alternata* qui sont des contaminants courants des tomates et des agrumes et qui se transmettent facilement au pain. (Vagelas et al., 2011).

Le développement des moisissures sur le pain peut être à l'origine de plusieurs désagréments. Cela peut effectivement conduire à la perte de ses valeurs nutritionnelles et à l'altération de ses caractéristiques organoleptiques. Les grandes quantités de pain jetées quotidiennement à cause des moisissures conduit ainsi à une perte non négligeable au niveau des maisons. Et quand ce pain est produit industriellement, son altération entraîne une sérieuse perte économique. D'un autre côté, les mycotoxines libérées par les mycètes causent à long terme de grands risques pour la santé du consommateur (Tahani et Elamrani, 2008).

Dans notre travail, nous avons testé les différentes huiles végétales dans la préparation du pain à fin d'évaluer leurs actions sur les moisissures.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressées à l'activité antifongique de certaines huiles végétales et nous avons songé à les utiliser dans la préparation du pain traditionnel. Nous avons choisi l'huile de nigelle car elle a fait l'objet de plusieurs études qui ont démontré sa capacité à inhiber les moisissures pathogènes pour l'homme (Fawzy Ramadane, 2015), l'huile de coco qui est déjà utilisée pour la préparation du pain et qui à différentes concentrations joue un rôle protecteur (Shino et al.,

1. Introduction

2016), l'huile d'olives et l'huile de pistachier car elles sont très réputées dans notre cultures pour leurs vertus médicinales, y compris les vertus antimicrobiennes (Mezni et *al.*, 2015) , et enfin l'huile de romarin car elle est facile à obtenir, de plus la plante productrice (le romarin) a de très grandes activités antimicrobiennes (Fadil et *al.*, 2015).

A fin d'étudier l'activité antifongique de ces huiles, nous avons commencé par isoler les espèces fongiques du pain, les identifier en nous basant sur leurs caractéristiques macroscopiques et microscopiques (Botton et *al.*, 1990 ; Bessadat et *al.*, 2014). Puis, nous avons testé *in vitro* l'activité antifongique des huiles végétales sélectionnées. Afin de confirmer cette activité, nous avons préparé le pain traditionnel avec ces huiles, nous l'avons inoculé avec les moisissures isolées, et nous avons observé si les huiles ont pu empêcher son altération pour vérifier si elles ont effectivement un rôle dans l'amélioration de la bio-conservation du pain traditionnel contre les différentes moisissures d'altération.

2. Partie bibliographique

2.1. Généralité sur les moisissures :

Les moisissures sont des champignons microscopiques eucaryotes, filamenteux et pluricellulaires appartenant au règne des mycètes (Chasseur et Nolard, 2003).

Ce sont des thallophytes hétérotrophes (dépourvus de chlorophylle) et immobiles ; qui peuvent vivre en symbiose avec les végétaux ou comme des parasites (Leclerc et *al.*, 1995).

Les moisissures ont des actions à la fois bénéfiques et néfastes pour l'homme (Cahagnier et *al.*, 1998). Elles produisent un large éventail de produits naturels souvent appelés métabolites secondaires (Calvo et *al.*, 2002). Les métabolites secondaires fongiques présentent un intérêt intense pour leurs propriétés pharmaceutiques (antibiotiques) et / ou toxiques (mycotoxines) .

Les aliments sont généralement des milieux très favorables à leur développement. Plusieurs moisissures notamment les genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium* se considèrent comme des contaminants des produits agricoles à cause de leur capacité à produire des métabolites secondaires toxiques (Cahagnier et *al.*, 1998).

2.2. Les moisissures d'altération du pain :

Le pain est l'un des aliments de base les plus importants au monde. Il est très utilisé dans notre culture, peut être produit à la maison ou industriellement. Le pain traditionnel a une recette qui a traversé plusieurs générations sans jamais vraiment changer. Elle est basée sur l'utilisation de la farine et/ou la semoule, l'eau, le sel, l'huile végétale et la levure de boulangerie (Chung et Pomeranz, 1983).

Le pain est souvent altéré par des champignons qui entraînent sa perte. Parmi les moisissures les plus fréquentes, nous avons :

2.2.1. *Aspergillus* :

Ce genre appartient aux Deutéromycètes (champignons imparfaits) c'est-à-dire qu'il est incapable d'effectuer la reproduction sexuée.

Les espèces du genre *Aspergillus* sont reconnaissables à l'examen microscopique par leurs filaments septés portant des têtes aspergillaires (spécifiques du genre *Aspergillus*) qui sont des vésicules à l'extrémité de conidiophores qui donnent naissance à des cellules externes allongées (metules et/ou phialides) qui à leur tour donnent des conidies (Figures 1) (Botton et *al.*, 1990).

2. Partie bibliographique

Parmi les espèces responsables de la bio-détérioration du pain, nous pouvons citer :

**Aspergillus niger* : Cette moisissure se forme sur le pain sec conservé dans une atmosphère humide. Elle forme alors un mycélium blanc, tacheté de points noirs. Il est poudreux et moyennement haut (Figure 2) (Lavermicocca et al., 2000).

* *Aspergillus penicillioides* : Selon la constitution du pain et le stade de développement de l'espèce, l'altération se présente sur le pain moisi sous forme de taches jaunes, vert brunâtre ou noirs (Figure 3). Quand elle est de couleur vert brunâtre, une diffusion de pigment jaune est souvent observée. Cette moisissure se développe rapidement sur le pain quand l'atmosphère est humide (Lavermicocca et al., 2000).

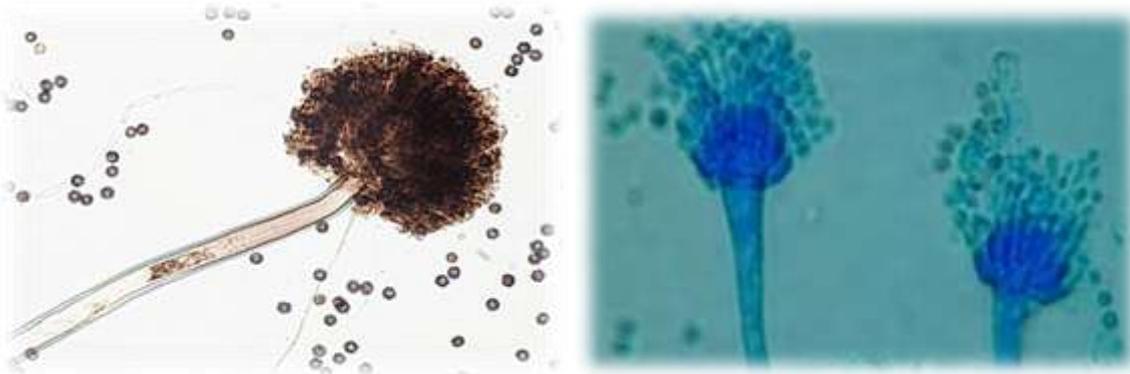


Figure 1 : Observation microscopique d'*Aspergillus niger* et d'*Aspergillus penicillioides* (Lavermicocca et al., 2000).



Figure 2 : Altération du pain par *Aspergillus niger* (Lavermicocca et al., 2000).



Figure 3 : Altération du pain par *Aspergillus penicillioides* (Lavermicocca et al., 2000).

2. Partie bibliographique

2.2.2. *Rhizopus* :

Rhizopus nigricans (dit aussi :*R. stolonifer*) est un champignon microscopique qui se développe sur le pain très humide, voir carrément mouillé formant un mycélium aérien cotonneux, très haut, qui se caractérise par une croissance très rapide. Il est fixé grâce à des rhizoïdes et portent à sa surface un grand nombre de points noirs qui correspondent aux sporocystes (Figure 4) (Legan, 1993).



Figure 4 : Observation macroscopique et sous binoculaire de *R. nigricans* sur le pain (Legan, 1993).

2.2.3. *Penicillium* :

Les *Penicillium* font partie d'un genre de champignon imparfait : les *Deutéromycètes*, C'est-à-dire des champignons incapables d'effectuer la reproduction sexuée.

Penicillium est constitué de conidiophores dressés plus ou moins ramifiés et de phialides aux extrémités. Ces dernières sont disposées en verticilles et insérées soit directement (*Penicillium* monoverticillés), soit par l'intermédiaire d'une ou de deux rangées de métules. Elles sont serrées les unes contre les autres donnant une forme de pinceau (ou pénicille) au champignon. Les phialides produisent un grand nombre de conidies qui restent en chaînettes et maintiennent la forme de pinceau caractéristique de ce genre (Botton et *al.*, 1990).

Plusieurs espèces de ce genre sont responsables de la bio-détérioration du pain, principalement : *Penicillium notatum*, *P. chrysogenum*, *P. expansum* et *P. brevicompactum* (Figure 5).

D'autres espèces contaminent le pain qui se trouve à proximité des agrumes moisis, comme : *Penicillium italicum* et *Penicillium digitatum* . Les *Penicillium* ont sur le pain un aspect poudreux, très

2. Partie bibliographique

aplatis, de bleu-vert à vert-jaune. Elles se développent dans les milieux un peu humides (Figure 6 et 7) (Vagelas et al., 2011).



Figure 5 : Observation microscopique de *P. notatum* (Botton et al., 1990).



Figure 6 : Présentation de *P. Notatum* sur le pain (Vagelas et al., 2011).



Figure 7 : Présentation de *P. brevicompactum* sur le pain (Vagelas et al., 2011).

2.2.4. *Mucor* :

Ce genre appartient aux Zygomycètes, il est capable d'effectuer la reproduction sexuée par formation des zygospores. Le mycélium de *Mucor* n'est pas cloisonné, il est siphonné et porte des rhizoïdes et des sporocystes comme le genre *Rhizopus*. Mais, il se différencie de ce dernier par des sporocystes qui ont une paroi régulière et laisse apparaître une columelle à l'intérieur (Figure 8) (Weber, 2015).

Parmi les espèces responsables de la bio-détérioration du pain, nous avons : *Mucor mucedo*, *M.artocarp*, *M. indicus* et *M. stolonifer* (Weber, 2015).

Ces espèces donnent un mycélium non, dense et aéré, sous forme de fils argent-blanc, surmontés de petites boules noires ou blanches (Figure 9) (Botton et al., 1990).

2. Partie bibliographique



Figure 8 : Observation microscopique de *M.ucedo* (Weber, 2015)



Figure 9 : Présentation de *M.ucedo* sur le pain (Botton et *al.*, 1990).

2.2.5. *Cladosporium* :

Cette moisissure est un Deutéromycète très répandu dans l'air, ce qui facilite la contamination du pain laissé à l'extérieur sur la table ou autre (Fradkin et *al.*, 1987 ; Flannigan, 2001 ; Horner et *al.*, 2004). Sa croissance sur dernier laisse apparaitre un mycélium vert foncé à noir, très aplati, dense et très localisé. *Cladosporium cladosporioides* est souvent accompagnée par d'autres moisissures de détérioration sur le pain (Figure 10). Sous microscope, l'espèce sa caractérise par un thalle septé, vert, qui porte des conidies de différentes tailles et formes, produites directement sur le mycélium ou sur des sporophores septés et ramifiés (Figure 11) (Bensch et *al.*, 2012).

2. Partie bibliographique



Figure 10 : Présentation de *Cladosporium cladosporioides* sur le pain (Bensch et al., 2012).

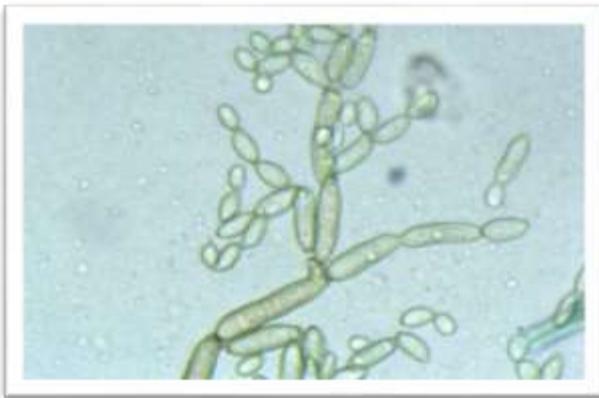


Figure 11: Observation microscopique de *Cladosporium cladosporioides* (Bensch et al., 2012).

2.3. Facteurs d'altération des aliments :

Les moisissures sont agressives et dégradantes seulement sous leur forme mycélienne. Elles se développent quand les conditions environnementales leurs sont favorables et peuvent se disperser très largement, contaminant ainsi une grande variété de denrées alimentaires. Comme tout micro-organisme, la croissance fongique est dépendante d'un certain nombre de paramètres intrinsèques et extrinsèques du milieu externe.

2.3.1. Les paramètres intrinsèques :

- **La quantité d'eau présente dans le substrat (ou activité de l'eau : A_w)** : Plus l' A_w est faible, moins il y'aura d'eau disponible pour la croissance du champignon (Cahangier et al., 1998).

Les moisissures sont beaucoup plus xéro-tolérantes que les bactéries et les levures. Pour la grande majorité, elles se développent correctement sur des activités en eau voisines de 0,85.

2. Partie bibliographique

Les moisissures appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont généralement capables de se développer à des A_w voisines de 0,7 à 25°C ; elles peuvent donc se développer dans les aliments pauvres en eau comme les céréales au cours de stockage, les fruits secs, le pain, les produits dont l'activité hydrique a été réduite (produits de salaison sèche, confitures, etc.) (Gock et al., 2003).

- **Les interactions microbiennes** : Au niveau de la denrée alimentaire elle-même, une espèce fongique peut se trouver confrontée à d'autres microorganismes, comme d'autres moisissures plus ou moins compétitives : qui produisent des toxines, des acides, des arômes et autres éléments de défense.

Des bactéries, dont la vitesse de multiplication est plus rapide dans la mesure où les conditions physico-chimiques, notamment l'activité en eau, leur sont favorables. Ces bactéries vont donc occuper le terrain et empêcher le développement des moisissures, des acariens et des insectes, qui ont une forte dissémination et altèrent par leurs défenses naturelles les microorganismes présents dans le même substrat (Basset et Laffront, 2011).

- **Le pH** : Les moisissures tolèrent une large gamme de pH du substrat (entre 4,5 et 8), mais leur optimum se situe dans les valeurs légèrement acides (entre 5,5 et 6,5). De ce fait, plusieurs aliments comme les légumes et les fruits sont beaucoup plus exposés à une altération fongique que les autres aliments, comme le pain, le riz, les pâtes, ...etc) (Gock et al., 2003).

2.3.2. Les paramètres extrinsèques :

- **L'humidité** : Toutes les phases du développement des moisissures nécessitent un apport d'eau qui est disponible dans le substrat et dans l'air environnant. S'il y'a une baisse d'humidité relative, la croissance de la moisissure ralentit et s'arrête aux environs de 30 % d'humidité relative. Dans ce cas, la moisissure ne meurt pas, elle entre en phase de dormance en attendant que les conditions redeviennent favorables pour germer. Le développement des moisissures sur le pain nécessite au moins 80% d'humidité relative de l'atmosphère entre la sortie du four et la consommation (Vagelas et al., 2011).

- **La température** : La température est un facteur qui a une influence sur la vitesse de croissance des moisissures. Une température inférieure à 15°C ralentit la vitesse de croissance et la majorité des réactions biochimiques sont arrêtées à 0°C. La température négative, même si elle arrête la croissance et peut détruire les formes végétatives, n'éradique pas une contamination.

La croissance optimale des moisissures est située entre 20 et 25°C. En dehors de cet intervalle de température les hyphes se développent plus (Basset et Laffront, 2011).

2. Partie bibliographique

-La présence d'oxygène : Les champignons sont des aérobies ; ils ont besoin d'oxygène pour une croissance normale. Toutefois, leur développement est peu affecté par des teneurs de 10 fois plus faibles que celle de l'atmosphère. En d'autres termes, il supporte une teneur en oxygène de 2,1% de l'air. En conséquence, certaines espèces de moisissures pourront se développer sur les denrées alimentaires conservées dans une atmosphère pauvre en oxygène (Cahangier et al., 1998).

- La lumière : Elle n'agit pas directement sur la croissance et la dissémination des moisissures. Ces dernières étant non photosynthétiques, elles peuvent se développer en absence totale de lumière. Néanmoins, la lumière favorise la maturation des conidies et la germination des spores chez certaines espèces (Botton et al., 1990).

2.4. Conséquences de la présence des mycotoxines dans les aliments :

Les champignons microscopiques ou moisissures sont des organismes saprophytes pouvant se développer sur un large éventail de matrices alimentaires (céréales, pain, fruits, etc.). Leur prolifération conduit non seulement à des pertes économiques mais aussi à la détérioration des denrées alimentaires en question comprenant entre autres, une décoloration, production d'odeurs nauséabondes et production de mycotoxines (Tahani et Elamrani, 2008).

Par définition, les mycotoxines sont des contaminants biochimiques élaborées par diverses espèces de champignons toxigènes dans les produits alimentaires. Leur présence dans les aliments peut engendrer des effets néfastes sur la santé humaine et animale (Tahani et Elamrani, 2008).

L'action de ces mycotoxines est polymorphe et une même mycotoxine donne des effets variés selon la concentration, la durée d'exposition, l'influence d'infections virales, parasitaires ou bactériennes simultanées, l'état de carence alimentaire, de stress, de susceptibilité génétique individuelle, etc.

Ces mycotoxines provoquent des mycotoxicoses qui sont des intoxications résultant de l'ingestion de grandes quantités de ces toxines. Les effets des mycotoxicoses sur la santé sont dus à la présence de mycotoxines ou de moisissures allergéniques. De part leur grande stabilité thermique, les mycotoxines constituent un danger pour la santé de l'homme et des animaux. Elles constituent un groupe de substances toxiques présentant notamment des activités mutagènes, cancérigènes, tératogènes, immuno-toxinogènes, et des perturbateurs endocriniens (Reboux, 2006).

2.5. Effets des mycotoxines sur la santé :

Deux types d'effets peuvent être observés selon qu'ils soient provoqués par les moisissures ou par leur(s) métabolite(s) :

2. Partie bibliographique

- Les effets directs : Certaines espèces fongiques sont responsables de mycoses et de réactions allergiques chez l'homme et l'animal. Les effets les mieux connus sont ceux provoqués par *A. fumigatus* qui est connue pour être responsable des aspergilloses broncho-pulmonaires, des aspergilloses allergiques et des mammites chez les animaux (Richard et al., 1999).

- Les effets indirects : L'ingestion à long terme de faibles doses de mycotoxines présentes dans les aliments peut entraîner des effets insidieux comme la baisse des performances physiques et la prédisposition accrue à des maladies par suite d'une déficience du système immunitaire (Galtier et al., 2006).

2.6. Les huiles végétales

2.6.1. Définition de l'huile végétale :

L'huile végétale est un mélange liquide ou semi-liquide à température ambiante, de substances hydrophobes, non volatiles et solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires. Elle est constituée d'acides gras insaturés. Selon son origine, elle peut avoir différentes couleurs et différentes odeurs (Petrović, 2008).

Elles appartiennent à la classe des lipides. Ces derniers se retrouvent dans des cellules spéciales localisées principalement dans les graines ou le noyau et se trouvent enfermées dans les cellules oléifères sous forme de petites gouttes. Chez les plantes, elles jouent le rôle de réserves pour la germination et également dans la synthèse du péricarpe de certains fruits (Salas et al., 2009). Les huiles végétales sont localisées aussi dans l'enveloppe charnue des fruits. Elles sont présentes dans plusieurs plantes notamment les olives, les arachides, le tournesol, le colza, le lentisque, la nigelle, le romarin, les amandes et le ricin.

Au-delà du secteur agro-alimentaire, les huiles végétales sont utilisées dans différents domaines de l'industrie tels que les secteurs cosmétiques, pharmaceutiques ou chimiques. On les différencie généralement par leur point de fusion. En effet, les huiles sont des corps gras liquides à la température de 15°C, alors que les graisses sont plus ou moins solides à cette température (Lecerf, 2011). Les huiles végétales sont le complément indispensable des huiles essentielles en aromathérapie, en cosmétologie et dans le domaine alimentaire.

Nous avons utilisé certaines huiles par ce qu'elles sont connues pour leurs activité antimicrobiennes ou antifongiques. Les huiles qui nous intéressaient particulièrement dans ce travail étaient :

l'huile de nigelle car elle a fait l'objet de plusieurs études qui ont démontré sa capacité à inhiber les moisissures pathogènes pour l'homme (Fawzy Ramadane, 2015). l'huile de coco qui est déjà utilisée pour la préparation du pain et qui à différentes concentrations joue un rôle protecteur (Shino et al.,

2. Partie bibliographique

2016). l'huile d'olives et l'huile de pistachier car elles sont très réputées dans notre cultures pour leurs vertus médicinales, y compris les vertus antimicrobiennes (Mezni et *al.*, 2015) , et enfin l'huile de romarin car elle est facile à obtenir, de plus la plante productrice (le romarin) a de très grandes activités antimicrobiennes (Fadil et *al.*, 2015).

2.6.1.1. Huile de nigelle : La nigelle ou de son nom botanique (*Nigella sativa L*), est une plante qui est plus connue sous le nom de cumin noir ou encore de nigelle cultivée (Aljabre et *al.*, 2015).L'huile de nigelle est constituée d'environ 50 à 60% d'acide linoléique, 20 à 25% d'acide oléique, 13,1% d'acide palmitique (Asdadi et *al.*, 2014). Elle contient aussi le β -sitostérol et le stigmastérol qui figurent parmi les principaux composants et d'acides gras saturés, les vitamines A, B1, B2, C, D, E et les phytostérols (Gupta et *al.*, 2012).

L'huile de nigelle est connue pour sa forte activité antifongique par rapport aux fongicides classiques. Des études précédentes ont montré que différents composants de cette huile avaient une activité importante contre les champignons pathogènes pour l'homme, notamment *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger* (Asdadi et *al.*, 2014).

Parmi les autres bienfaits de cette huile nous pouvons citer :

- Anti-inflammatoire : Cette huile végétale est utilisée contre les douleurs articulaires et soulagera les inflammations musculaires, l'eczéma et le psoriasis (Spanoudi-kitrimi et *al.*, 2013).

- Antimicrobienne : Elle permet une forte résistance contre les bronchites, la grippe et le rhume et les infections dues à *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*. La teneur élevée en polyphénols de cette huile peut être responsable de son efficacité sur l'inhibition de la croissance de certaines bactéries et levures, y compris *Candida albicans* (Fawzy Ramadane, 2015).

- Digestive : Elle contient de la nigelline qui stimule les systèmes digestif et intestinal. Elle est donc toute indiquée en cas de troubles digestifs. Elle a également une action gastro et hépatoprotectrice seule ou en synergie avec des huiles essentielles (Kooti et *al.*, 2016).

- Broncho-dilatatrice : Cette huile végétale contient aussi de la nigellone qui agit en dilatant les bronches soulageant ainsi les crises d'asthme et aidant à lutter contre la coqueluche (Forouzanfare et *al.*, 2014).

- Immunostimulante : Elle augmente les défenses naturelles de l'organisme face aux germes pathogènes et redonne un tonus général (Bourgou et *al.*, 2010).

- Régénératrice cutanée : Elle peut être utilisée en huile de beauté pour le visage car elle favorise la régénérescence cellulaire (Forouzanfar et *al.*, 2014).

2. Partie bibliographique

2.6.1.2. Huile de coco :

La noix de coco (*Cocos nucifera*) est la source de divers produits naturels utiles au développement de médicaments contre diverses maladies. Les parties de ses fruits comme la noix de coco et l'eau tendre de noix de coco ont une grande valeur médicinale en raison de leurs propriétés antimicrobiennes et anti-oxydantes (Shino et *al.*, 2016).

2.6.1.3. Huile de romarin :

Le romarin (*Rosmarinus officinalis L*) une plante commune de maison cultivée dans de nombreuses régions du monde. Il est utilisé dans la préparation de certains plats culinaires, mais aussi dans la guérison traditionnelle et l'aromathérapie (Fadil et *al.*, 2015). L'isolement et la caractérisation des composés actifs de l'huile de romarin a permis de lutter contre certaines infections bactériennes à Gram positif et des infections fongiques résistantes aux médicaments (Luqman et *al.*, 2007).

L'huile de romarin est aussi connue pour ses activités :

- Antivirales : l'évaluation de l'activité antivirale de l'extrait commercial du romarin a indiqué une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) et ce à très basses concentrations (Vijayan et *al.*, 2004).
- Anti-cancérogènes : grâce à certains composants (carnosol, rosmaridiphénol, rosmanol et l'acide rosmarinique), le romarin est considéré comme une thérapie contre plusieurs types de cancers (Cheung et Tai, 2007).

2.6.1.4. Huile d'amandes douces :

L'amandier (*Prunus amygdalus dulcis*) est utilisé dans la médecine traditionnelle pour guérir de nombreuses maladies (Merikli et *al.*, 2017). Les feuilles et les coques de cette plante exercent plusieurs activités biologiques, en particulier une puissante capacité de piégeage des radicaux libres (Bottone et *al.*, 2018).

L'huile d'amandes douces est utilisée dans les thérapies traditionnelles et complémentaires pour ses nombreux bienfaits pour la santé en raison de sa teneur élevée en acides gras insaturés (Merikli et *al.*, 2017). Certaines études suggèrent qu'elle peut avoir aussi des effets anticancéreux et antiprolifératifs sur les cellules cancéreuses du côlon (Esfahlan et *al.*, 2010).

2.6.1.5. Huile d'olives :

L'huile d'olive est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europea L.*) à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de ré-estérification et de tout mélange avec les huiles d'autres natures (Rugini et Fedeli, 1990). Elle provient des fruits (d'*Olea europaea L.*). Chaque huile d'olive a une composition particulière en acide gras et en plusieurs micronutriments

2. Partie bibliographique

responsables de son caractère sensoriel particulier et ses caractéristiques nutritionnelles (Boskou, 2006).

Les acides gras (comptant pour environ 98% du poids de l'huile d'olive) sont principalement sous forme de triglycérides et de diglycérides (Boskou et *al.*, 2006). Parmi ses composants mineurs, nous pouvons citer les pigments (chlorophylles et carotènes), les tocophérols (sont des composés importants de l'huile d'olive en raison de leur contribution à la stabilité oxydative et aux qualités nutritionnelles) et les composés phénoliques (Visoli et *al.*, 2002). L'activité antifongique de cette huile est très puissante. Plusieurs chercheurs révèlent qu'elle est due à ses acides gras majoritaires tels que l'acide linoléique, oléique et linoléique (Kesari et *al.*, 2010).

2.6.1.6. Huile de pistachier :

(*Pistacia lentiscus L.*) est connue pour son huile végétale utilisée en médecine traditionnelle comme produit antiseptique (Mezni et *al.*, 2015). Cette huile a une très bonne activité anti-oxydante et une activité inhibitrice de la croissance mycélienne d'*Aspergillus flavus* (Barra et *al.*, 2007). L'activité antifongique de l'huile de lentisque peut être utilisée aussi pour aider à contrôler la résistance des espèces de *Candida* (D'Arrigo et *al.*, 2019).

3. Matériel et méthodes

Objectif

Le but de ce travail était de tester la capacité des huiles végétales à protéger et donc conserver le pain traditionnel contre les altérations des moisissures.

Matériel utilisé :

- Bec bunsen
- Anse de platine
- Bain-marie
- Boîtes de Pétri
- Pipettes Pasteur
- Bouillon nutritif
- Seringues stériles à 1 ml
- Gélose Sabouraud
- Gélose à l'extrait de Malt
- Etuve
- Microscope optique à caméra
- Lames
- Lamelles
- Pince
- Eau physiologique stérile
- Verres à montre
- Ecouvillon.
- Solution de terbinafine chlorhydrate à 10 µg/ml.

Origine des huiles végétales :

Les huiles d'amande douce, de coco, de nigelle, de romarin ont été achetées chez des marchands spécialisés (بائع الاعشاب). Elles ont été certifiées comme étant «naturelles » et commercialisées « sans additifs ». L'huile d'olives et celle de lentisque ont été achetées chez des producteurs de la région de Jijel et nous avons acheté aussi l'huile de tournesol de la marque Fleurial d'une supérette pour l'utiliser comme témoins.

3. Matériel et méthodes

3.1. Isolement et purification des moisissures d'altération du pain :

Différents morceaux de pain moisi ont été utilisés pour récupérer les moisissures d'altération. L'isolement s'est fait à l'aide d'une anse de platine correctement flambée au bec bunsen ou avec pince stérile, selon la localisation de taches de moisissures. Plusieurs prélèvements ont été effectués (Figure 12). L'ensemencement s'est fait par touches sur gélose Sabouraud et l'incubation à 25°C pendant 72 heures (Meena et *al.*, 2017).

Après l'apparition des mycéliums, chacun a été repiqué plusieurs fois à l'aide d'une anse de platine jusqu'à l'obtention de moisissures pures. Les milieux utilisés étaient la gélose Sabouraud ou la gélose à l'extrait de Malt selon la disponibilité. L'incubation était toujours faite à 25°C pendant 72 heures (Meena et *al.*, 2017).

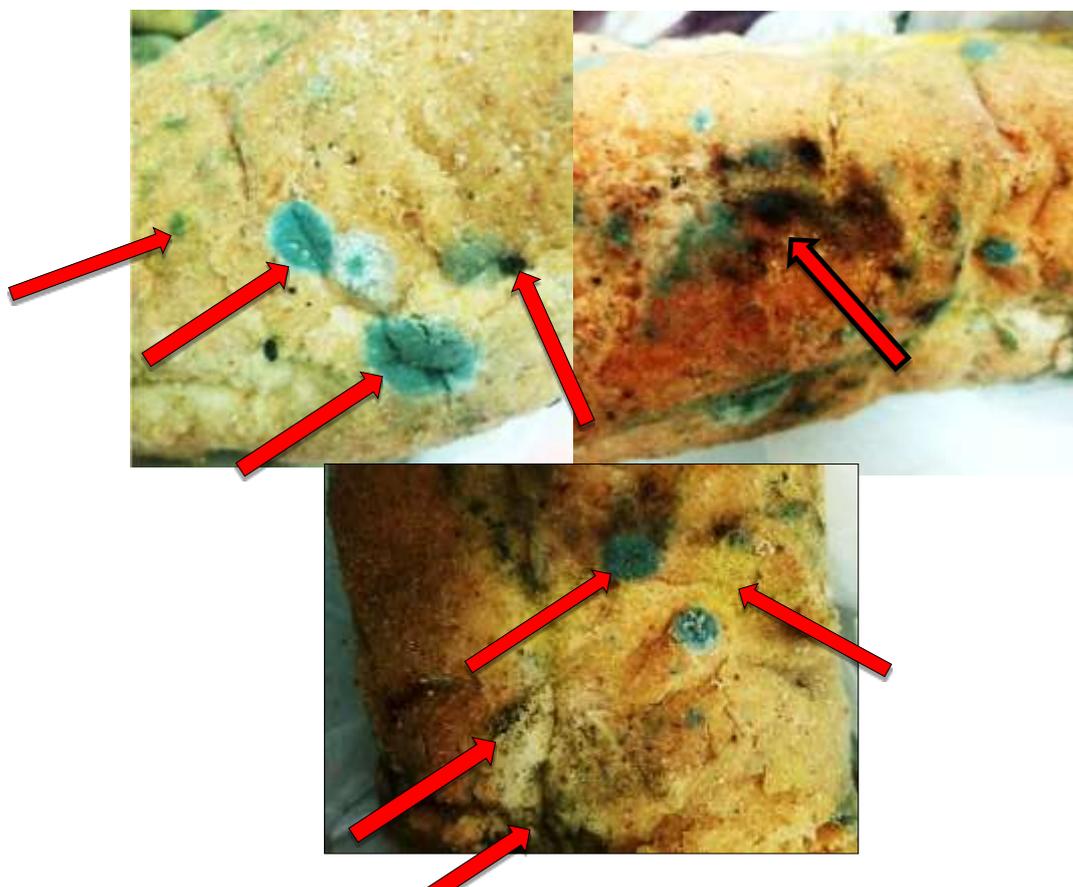


Figure 12 : Exemples de quelques morceaux de pain moisi utilisés pour le prélèvement des moisissures.

- Les flèches indiquaient les endroits où ont été effectués les prélèvements.

3. Matériel et méthodes

3.2. Identification des moisissures :

L'identification des espèces fongiques isolées à partir du pain s'est fait par caractérisation microscopique et macroscopique des mycéliums obtenus.

3.2.1. Observation macroscopique :

Les boîtes de Pétri contenant les moisissures isolées ont été observées tout au long de l'incubation afin de caractériser le mycélium au recto et au verso des boîtes. Les critères observés à trois jours d'incubation et moins, permettaient la caractérisation du thalle à l'état jeune. Puis au delà de cette période, les caractéristiques du stade adulte commençaient à apparaître. Pour réaliser cette étape, il fallait donc incuber les boîtes jusqu'à ce que la surface de la gélose soit entièrement recouverte du mycélium : 10 à 15 jours selon les espèces.

L'observation macroscopique permettait de déterminer la couleur du mycélium au centre et aux marges, son aspect au recto et au verso des boîtes, la présence ou l'absence de l'exsudat et des sclérotés et les changements d'aspect tout au long de l'incubation (Botton et *al.*, 1990 ; Bessadat et *al.*, 2014).

3.2.2. Observation microscopique :

Une goutte d'eau physiologique stérile a été déposée sur une lame, suivie d'une petite quantité du mycélium prélevée au côté externe de la moisissure. Après un léger étalement, la lamelle a été déposée sur la lame. L'observation microscopique s'est faite aux grossissements x10 et x40, afin de spécifier la forme, la couleur et la disposition de toutes les structures qui y apparaissent : mycélium, hyphes, spores, sporocystes, sporophores, phialides, métules, rhizoïdes, etc. (Bessadat et *al.*, 2014).

3.3. Activité antifongique *in vitro* des huiles végétales :

L'activité antifongique *in vitro* a été testée selon deux méthodes :

- La méthode des puits qui nous a permis d'utiliser deux volumes d'huiles différents : 0,05 et 0,1 ml ; afin de déterminer l'activité antifongique des huiles à faible concentration et effectuer une comparaison entre elles.
- La méthode de culture sur gélose additionnée d'huile. Cette dernière nous a permis de comparer l'activité antifongique des huiles entre elles à un volume un peu plus élevé : 0,3 ml.

3.3.1. La méthode des puits :

A l'aide d'un écouvillon, nous avons prélevé les moisissures pures des boîtes de Pétri obtenues après la purification, nous avonsensemencé de nouvelles boîtes contenant la gélose Sabouraud par

3. Matériel et méthodes

écouvillonnage, puis, nous avons formé des puits à la surface de la gélose avec l'extrémité large d'une pipette Pasteur flambée au bec bunsen. Les puits obtenus avaient un diamètre de 5 mm. La pipette Pasteur a été utilisée à défaut de l'emporte-pièces qui n'était pas disponible au laboratoire.

Les huiles ont été prélevées à l'aide de seringues stériles. Pour chacune, un volume de 0,5 ml a été déposé dans un puits et un deuxième de 0,1 ml dans un autre puits. Les boîtes ont ensuite été fermées minutieusement afin d'éviter de renverser les huiles et ont été incubées à 25°C pendant 72 heures (Balouiri et *al.*, 2016).

L'expérience a été répétée deux fois et les résultats étaient déterminés en calculant la moyenne et l'écart type pour chaque volume d'huile.

Afin de vérifier l'efficacité de cette méthode, nous avons rempli des puits avec les mêmes volumes d'eau distillée stérile (témoin négatif). Et aussi avec les mêmes volumes d'une solution de terbinafine chlorhydrate à 1 mg/ml (témoin positif).

3.3.2. La méthode de culture sur gélose additionnée d'huile :

Dans une boîte de Pétri, 0,3 ml de l'huile testée a été déposé, puis la gélose à l'extrait de Malt liquéfiée au bain marie à été coulée en une fine couche. Après avoir mélangé les boîtes manuellement avec de légers mouvements circulaires, la gélose a été laissée quelques minutes afin de se solidifier. L'ensemencement des moisissures s'est fait à la surface de la gélose par touche à l'aide d'une anse de platine. L'incubation s'est faite à 25°C pendant 72 heures (Cheruiyot et *al.*, 2015).

Comme témoin négatif de cette méthode, nous avons utilisé 0,3 ml d'eau distillée stérile et comme témoin positif, 0,3 ml de terbinafine chlorhydrate à 1 mg/ml.

Nous avons deux répétitions pour cette activité antifongique et les résultats étaient exprimés en moyennes et en écarts types.

3.4. Activité antifongique des huiles végétales testée sur le pain :

3.4.1. Préparation du pain traditionnel :

Pour la préparation du pain traditionnel (خبز الدار), nous avons utilisé les ingrédients suivants :

- 1 kg de farine
- 32 g de levure de bière
- 10g de sucre

3. Matériel et méthodes

- 1.6g de sel
- 2 œufs
- 200 ml de l'huile végétale testée
- 400 ml de lait (Keshri *et al.*, 2010)

Ces ingrédients ont été ajoutés un à un, puis mélangés convenablement à la main jusqu'à l'obtention d'une pâte homogène. Nous avons évité d'ajouter les grains de nigelle et de sésame à la pâte pour ne pas fausser les résultats ; sachant qu'ils sont doués d'une activité antifongique (Hojjatollah, 2016 ; Vsdna-Nagesh *et al.*, 2018). La pâte obtenue a été laissée au repos pendant 2 heures, puis cuite à 35 mn à 180°C.

3.4.2. Activité antifongique testée sur le pain :

Les pains préparés avec les huiles végétales sélectionnées (une huile par pain), ont été ramenés au laboratoire, et dans des conditions aseptiques ont été coupés en petits morceaux et infectés par les moisissures. Le prélèvement des moisissures s'est fait à l'aide d'une anse de platine puis l'ensemencement a été effectué à la surface du pain par touches (Figure 13). Les pains ainsi infectés ont été mis dans du papier cellophane, puis incubés dans des boîtes en plastique à 25°C pendant 5 jours (Fustier *et al.*, 1998). Comme témoin négatif, nous avons utilisé un pain à base de l'huile de tournesol.

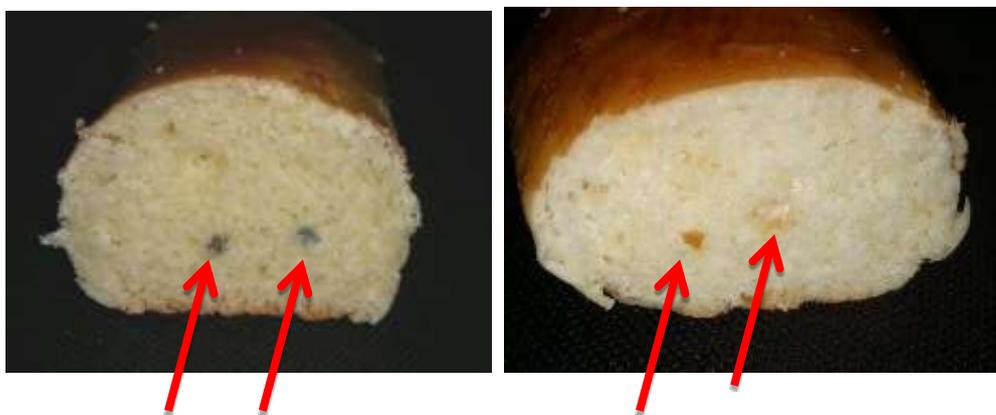


Figure 13 : Photos du pain infecté avant l'incubation.

- Les flèches représentaient les endroits où les moisissures ont été inoculées.

4. Résultats

4. 1. Isolement et purification des moisissures d'altération du pain :

L'isolement nous a permis d'avoir divers aspects de mycéliums (Figure 14). La purification de ces derniers a donné six moisissures dont les caractéristiques macroscopiques étaient :



Figure 14 : Exemples des mycéliums obtenus après l'isolement des moisissures.

Moisissure 1 :

Cette espèce possédait un thalle à croissance rapide. Le mycélium était poudreux, blanc au début, puis devenant noir (Figure 15).



Figure 15 : observation macroscopique de la moisissure 1 après 3 jours d'incubation.

4. Résultats

Moisissure 2 :

Cette espèce avait un mycélium de couleur verte, aplati, compact, velouteux, à croissance très rapide et une forte dissémination (Figure 16).



Figure 16 : observation macroscopique de la moisissure 2 après 3 jours d'incubation.

Moisissure 3 :

La moisissure 3 avait une croissance plutôt lente. Elle avait un mycélium blanc au début, puis devenait vert-bleu au centre avec une marge blanche. Il était aplati et velouteux et avait une forte dissémination (Figure 17).



Figure 17 : observation macroscopique de la moisissure 3 après 3 jours d'incubation.

Moisissure 4 :

Les mycéliums avaient une texture cotonneuse, de couleur gris clair et vert au centre. Il était fasciculé comme le montre la (Figure 18).

4. Résultats

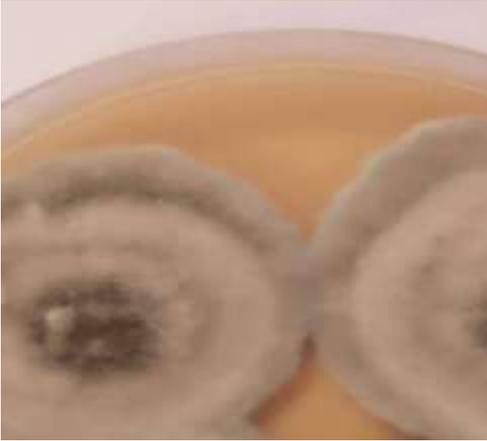


Figure 18 : observation macroscopique de la moisissure 4 après 3 jours d'incubation.

Moisissure 5 :

Cette moisissure avait un mycélium poudreux, noir et avec une marge jaune. Il était divisé radialement (Figure 19).



Figure 19 : observation macroscopique de la moisissure 5 après 3 jours d'incubation.

Moisissure 6 :

L'aspect macroscopique de cette espèce était : un mycélium aérien, très haut, laineux, avec des points noirs aux extrémités qui a recouvert toute la surface de la boîte et même le couvercle (Figure 20).



Figure 20 : Observation macroscopique de la moisissure 6 après 3 jours d'incubation.

4. Résultats

4.2. Identification des moisissures :

- La moisissure 1 :

Comme ça a été décrit auparavant, le mycélium de cette espèce était vert, poudreux. Il avait un Au revers blanc cassé à beige. Cette moisissure avait des pénicilles asymétriques, de différentes tailles, des métules cylindriques et des phialides ampuliformes. Les conidies étaient ovoïdes et disposées en chainettes très longues (Figure 21). Cette espèce était identifiée comme étant *Penicillium chrysogenum*.

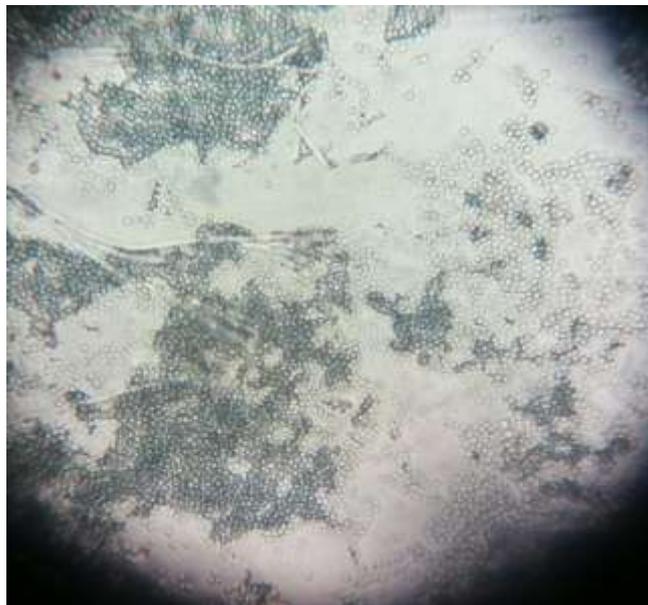


Figure 21 : Observation microscopique de la moisissure 1 au grossissement x 40.

- La moisissure 2 :

La moisissure 2 avait un mycélium très fin, hyalin et septé. Les sporocystes étaient marron à noirs, bisériés, contenant une columelle à l'intérieur et portant des conidies en chainettes. Ces dernières étaient globuleuses et ornementées (Figure22). Cette moisissure correspondait à *Aspergillus niger*.

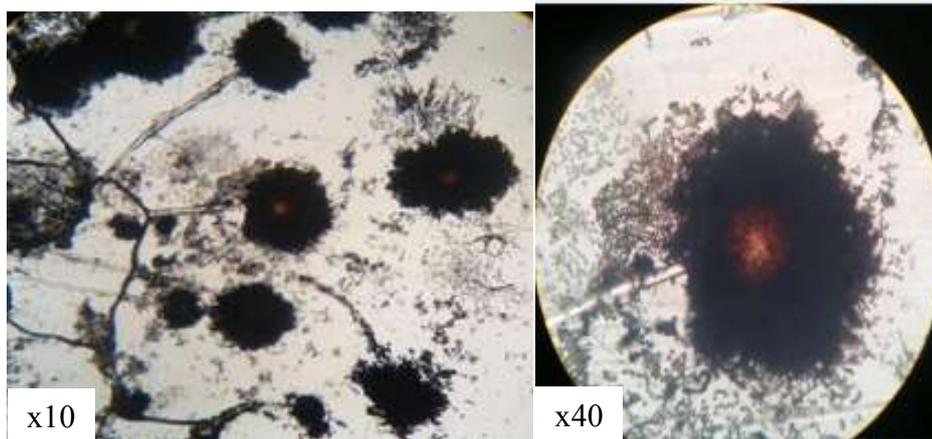


Figure 22 : Observation microscopique de la moisissure 2.

- **La moisissure 3 :**

Cette moisissure avait un mycélium vert velouteux entouré par une marge blanche. Elle avait un fort pouvoir de dissémination sur le milieu utilisé . Sous microscope, cette espèce a montré un mycélium septé, vert, portant des pénicilles généralement tri-verticillés et parfois irréguliers. Les phialides étaient grandes, ampuliformes et les métules cylindriques et très allongées. Les conidies étaient lisses, globuleuses et disposées en courtes chainettes (Figure23). Cette espèce correspondait à *Penicillium italicum*.



Figure 23 : Observation microscopique de la moisissure 3 au grossissement x 40.

4. Résultats

- La moisissure 4 :

Cette espèce avait un thalle jaune poudré de noir et un revers jaune à beige. Sous microscope, nous avons observé un cleistothèque (sporocyste) marron orangé, globuleux, qui portait des asques allongés bien distincts et contenait une columelle arrondie à l'intérieur. Les spores étaient globuleuses, marron et séparés (non en chainettes). Le mycélium de cette espèce était septé, fin et de couleur beige à jaune (Figure24). Cette espèce correspondait à *Eurotium herbariorum*.



Figure 24 : Observation microscopique de la moisissure 4 au grossissement x 40.

- La moisissure 5 :

Sous microscope, nous avons observé des filaments septés, marron et ramifiés. Ils formaient comme cellules de reproduction des dictyospores cloisonnées transversalement et longitudinalement. Ces cellules avaient des rostrés apicales et étaient soit regroupées ou disposées en chainettes (Figure25).

Ces caractéristiques, en plus de celles cités précédemment, nous ont indiqué que cette espèce était *Alternaria alternata*.

4. Résultats

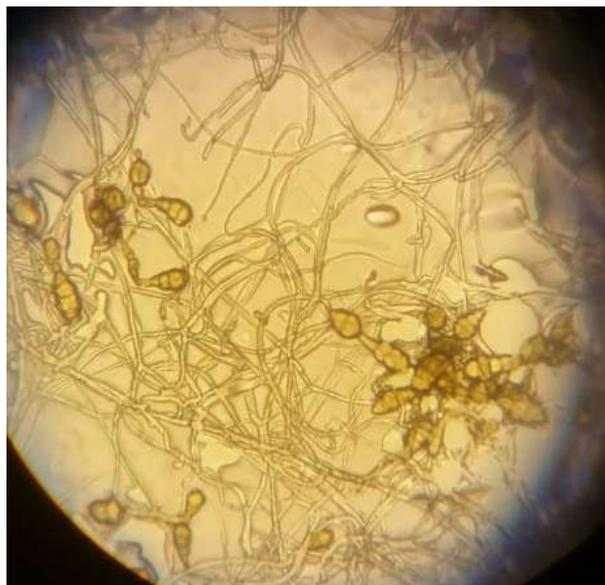


Figure 25 : Observation microscopique de la moisissure 5 au grossissement x 40.

Cette espèce avait un thalle siphonné, marron, portant des rhizoïdes et des porophores non ramifiés. Ces derniers étaient surmontés de sporocystes noirs contenant des columelles de différentes formes. Les spores produites étaient de formes irrégulières, souvent ovoïdes. Elles avaient une couleur marron (Figure 26). La moisissure 6 était identifiée comme étant *Rhizopus nigricans*.



Figure 26 : Observation microscopique de la moisissure 6 au grossissement x 10.

4. Résultats

4.3. Activité antifongique *in vitro* des huiles végétales :

4.3.1. Résultats obtenus pour la méthode des puits :

Les résultats obtenus dans le **Tableau 1** ont indiqué que les huiles utilisées avaient différentes capacités à inhiber la croissance mycélienne des moisissures. L'activité antifongique a été estimée par la mesure des diamètres d'inhibition autour des puits. Les moyennes des diamètres obtenus étaient exprimées en cm (Tableau 1).

Tableau 1 : Diamètres des zones d'inhibition obtenus par la méthode des puits (en cm).

NT : non testé. En gras : les CMI qui ont pu être déterminées. En blanc sur fond noir : les diamètres les plus grands pour chaque espèce.

Huiles	Volume de l'huile	<i>P. chrysogenum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>P. italicum</i>	<i>E. herbariorum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>R. nigricans</i>
Huile de nigelle	0,05 ml	1,85±0,03	1,35±0,07	1,10±0,03	0,00± 0,00	0,55±0,07	1,15±0,07
	0,10 ml	2,15±0,04	1,65±0,07	1,40±0,05	0,60±0,04	0,85±0,07	1,4±0,03
Huile de coco	0,05 ml	1,55±0,07	0,00±0,00	1,50±0,03	0,00±0,00	0,57±0,00	1,15±0,06
	0,10 ml	1,75±0,07	0,57±0,00	1,70±0,02	0,65±0,04	0,80 ±0,00	1,30±0,03
Huile de romarin	0,05 ml	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
	0,10 ml	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Huile d'amandes douces	0,05 ml	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
	0,10 ml	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00± 0,00	0,00 ±0,00
Huile d'olives	0,05 ml	0,75±0,35	0,00±0,00	0,70±0,14	0,00±0,00	0,55±0,07	0,97±0,03
	0,10 ml	1,85±0,07	0,60±0,07	1,70±0,14	0,00±0,00	0,75±0,07	1,15±0,04
Huile de pistachier	0,05 ml	1,60±0,14	0,80±0,00	0,82±0,02	0,97±0,35	0,00±0,00	1,50±0,03
	0,10 ml	2,05± 0,14	1,01±0,01	1,08±0,03	1,15±0,07	0,00 ±0,00	1,90±0,04
Eau distillée	0,05 ml	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
	0,10 ml	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
Terbinafine chlorhydrate	0,05 ml	0,90±0,10	0,70±0,21	0,90±0,10	1,00±0,15	1,50±0,21	0,90±0,22
	0,10 ml	2,30±0,05	1,95±0,14	1,50±0,25	NT	2,00±0,10	NT

Nous avons constaté ainsi que l'action des huiles utilisées a donné des résultats variables contre les différentes espèces testées :

4. Résultats

Pour l'huile d'amandes douces et l'huile de romarin, nous avons remarqué qu'il n'y avait aucune zone d'inhibition autour des puits, cela indiquait que ces 2 huiles n'avaient aucune activité sur toutes les espèces testées (Figure 27).

Pour les autres huiles, les espèces les plus sensibles différaient : l'huile de nigelle était plus active sur *P. chrysogenum*, *Alternaria alternata* et *P. italicum* au volume 0,5 ml (Figure 28). L'huile de pistachier était plus active sur *E. herbariorum* et *R. nigricans*. Et l'huile d'olives sur *P. italicum* au volume 0,10 ml (Tableau 1).

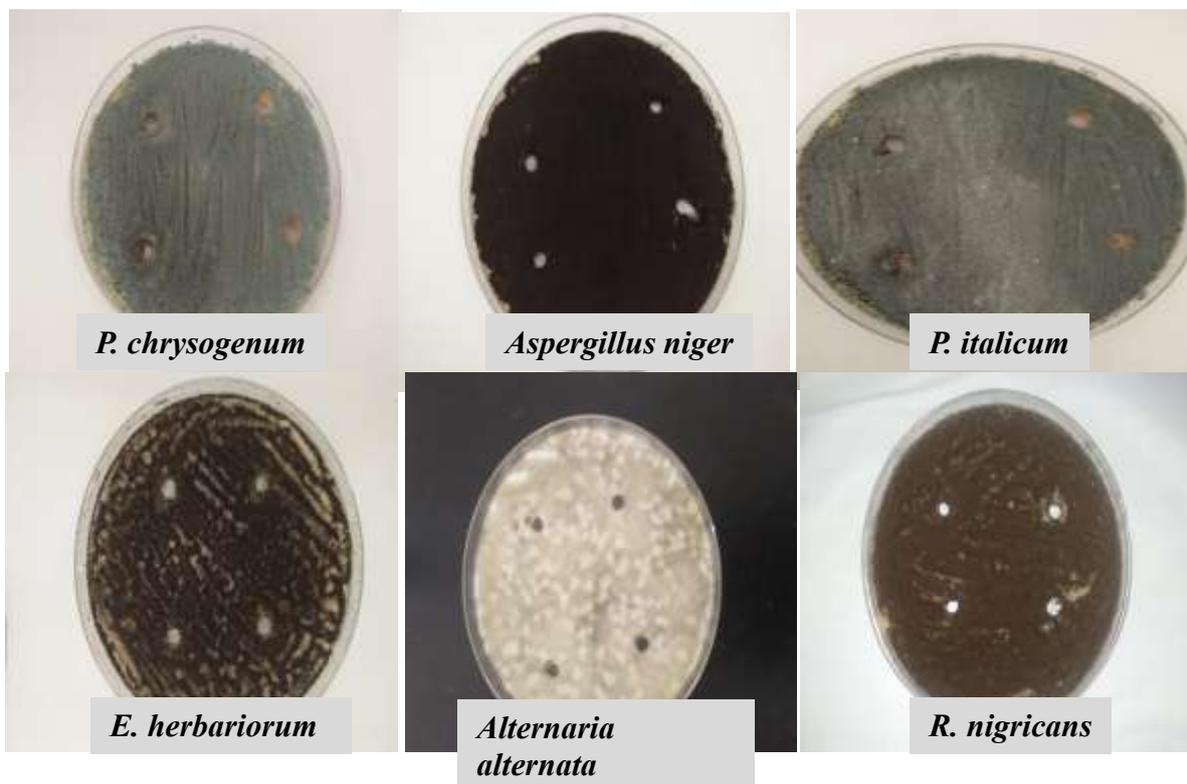


Figure 27 : Absence d'activité de l'huile de romarin et de l'huile d'amandes douces aux volumes 0,05 et 0,10 ml.

Pour chaque boîte, les deux puits à droite représentaient l'huile d'amandes douces, et les deux puits de gauche, l'huile de romarin.

P. chrysogenum s'est avéré comme étant la moisissure la plus sensible aux huiles végétales. En effet, les diamètres d'inhibition enregistrés pour cette espèce étaient plus importants (Tableau 2).

4. Résultats

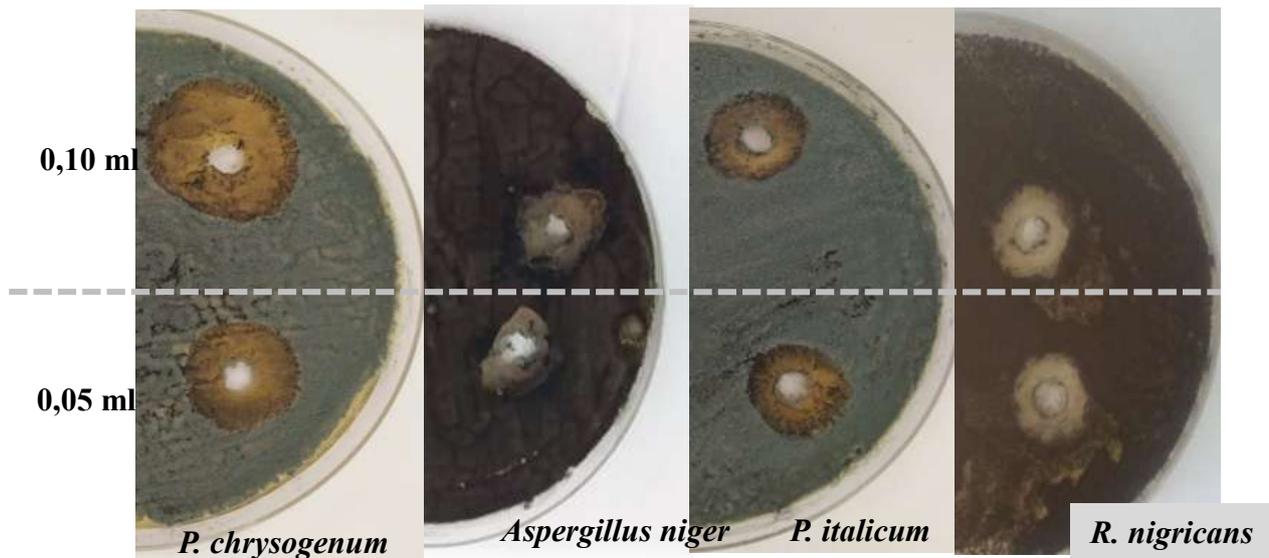


Figure 28 : Quelques zones d'inhibition obtenues avec l'huile de nigelle aux volumes 0,05 et 0,10 ml.

4.3.2. Résultats obtenus pour la méthode de culture sur gélose additionnée d'huile

Dans cette méthode, les résultats ont été représentés dans le **Tableau 2**. L'huile de nigelle a donné les meilleurs résultats sur *Aspergillus niger*, *P. chrysogenum*, *P. italicum* et *R. nigricans* (Figure 29 et 30). Elle s'est avérée de ce fait comme étant l'huile végétale la plus active. L'huile de pistachier et l'huile de coco avaient aussi une bonne activité antifongique, mais inférieure à celle de l'huile de nigelle.

P. chrysogenum était la moisissure la plus sensible aux huiles utilisées, notamment à l'huile de nigelle, l'huile coco, l'huile d'olives et l'huile de pistachier (Figures 31). Par contre, *E. herbariorum* et *Alternaria alternata* avaient donné les plus grands diamètres, surtout sur l'huile d'amandes douces. Elles étaient donc considérées comme étant les espèces les plus résistantes (Figure 32).

Tableau 2 : Résultats de la méthode de culture sur gélose additionnée d'huile (exprimés en cm).

En gras : les espèces les plus sensibles.

4. Résultats

Huiles	<i>P. chrysogenum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>P. italicum</i>	<i>E. herbariorum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>R. nigricans</i>
Huile de nigelle	0,30±0,00	0,45±0,02	0,50±0,00	1,01±0,00	0,80±0,00	0,55±0,00
Huile de coco	0,50±0,00	1,04±0,01	0,54±0,00	0,88±0,00	0,81±0,00	0,60±0,00
Huile de romarin	0,75±0,04	1,25±0,05	0,70±0,01	1,50±0,00	1,60±0,04	1,25±0,02
Huile d'amandes douces	1,05±0,01	1,32±0,01	0,81±0,03	1,75 ±0,03	1,75±0,04	1,25±0,05
Huile d'olives	0,65±0,00	1,20±0,00	0,70±0,01	1,25±0,03	1,00±0,01	0,60 ±0,00
Huile de pistachier	0,50±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	0,75±0,01	1,25±0,02	0,60 ±0,00
Eau distillée	3,00±0,05	03,50±0,02	2,50±0,01	2,00±0,00	2,55±0,05	6,50±0,05
Terbinafine chlorhydrate	0,30±0,00	0,00±0,00	0,65±0,05	0,40±0,05	0,00±0,00	0,00±0,00

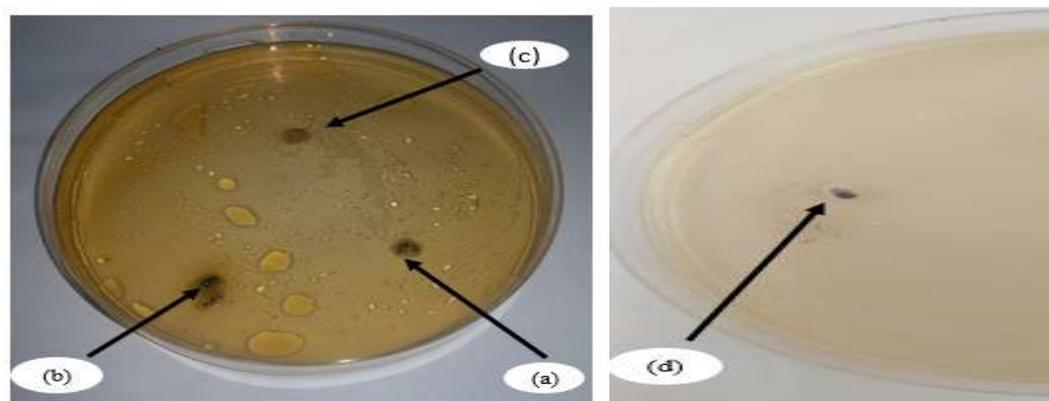


Figure 29 : Exemples des résultats obtenus pour l'huile de nigelle.

A : *P. chrysogenum*. B : *Aspergillus niger*. C : *P. italicum*. D : *R. nigricans*

4. Résultats



Figure 30 : Absence de croissance de *P. chrysogenum* sur le milieu contenant l'huile de nigelle.

P. chrysogenum



Figure 31 : La croissance de *P. chrysogenum* sur les milieux contenant l'huile de coco, l'huile d'olives et l'huile de pistachier

4. Résultats

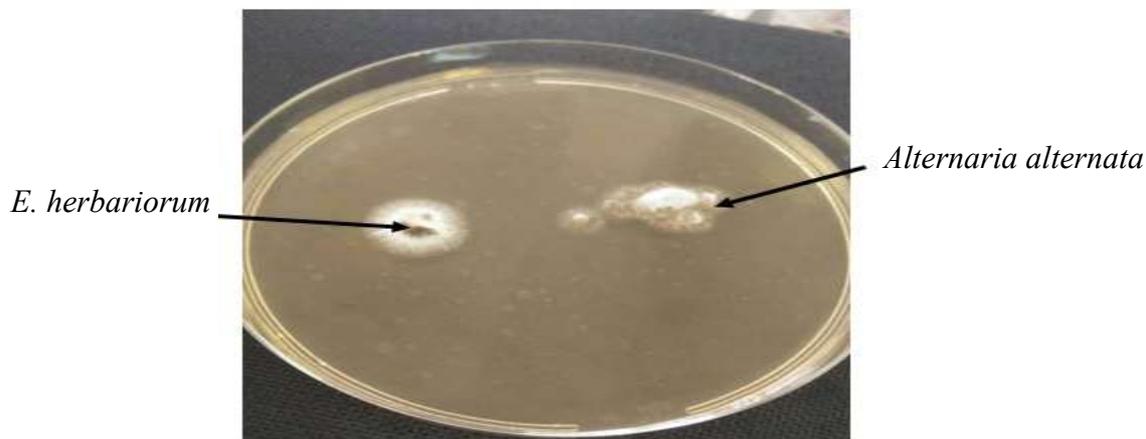


Figure 32 : La croissance d'*E. herbariorum* et *Alternaria alternata* sur le milieu contenant l'huile d'amandes douces.

4.4. Activité antifongique des huiles végétales testées sur le pain :

Les résultats indiqués dans le **Tableau 3** ont montré l'activité antifongique des huiles végétales testée sur le pain, elle était déterminée par la mesure des diamètres de croissances mycéliennes sur le pain.

Tableau 3 : Diamètres de croissance des moisissures sur le pain préparé avec les huiles végétales (exprimés en cm).

Huiles	<i>P. chrysogenum</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>P. italicum</i>	<i>E. herbariorum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>R. nigricans</i>
Huile de nigelle	0,35±0,00	0,48±0,00	0,50±0,00	1,00±0,00	0,81±0,00	0,53±0,00
Huile de coco	0,50±0,00	1,05±0,01	0,55±0,00	0,87±0,00	0,82±0,00	0,70±0,00
Huile de romarin	0,80±0,00	1,30±0,02	0,70±0,00	1,50±0,00	1,62±0,01	1,25±0,00
Huile d'amandes douces	1,05±0,00	1,30±0,00	0,80±0,02	1,73±0,00	1,75±0,00	1,25±0,00
Huile d'olives	0,64±0,00	1,10±0,00	0,70±0,00	1,25±0,00	1,00±0,00	0,60±0,00
Huile de pistachier	0,50±0,00	1,01±0,01	1,02±0,01	0,75±0,00	1,25±0,00	0,60±0,01
Huile de tournesol	2,00± 0,00	3 ,00±0,00	2,50±0,00	2,50 ±0,00	2,25±0,00	3,50±0,00

Les résultats obtenus ont montré que *P. chrysogenum* avait une grande sensibilité à l'huile de nigelle, l'huile de coco, l'huile d'olives et à l'huile de pistachier (Figure 33). Cette espèce était considérée comme étant la plus sensible.

4. Résultats

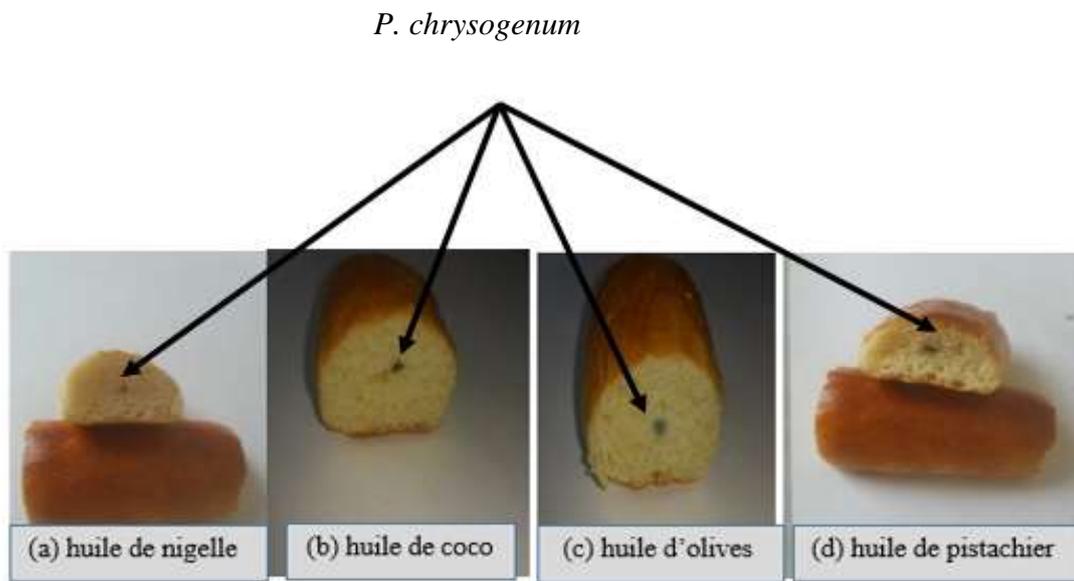


Figure 33 : Les diamètres de croissance les plus faibles donnés par *P. chrysogenum*

Nous avons pu considérer les deux espèces *E. herbariorum* et *Alternaria alternata* comme étant les espèces les plus résistantes, et ce car elles avaient les plus grands diamètres de croissance, surtout sur le pain préparé avec l'huile d'amandes douces (Figure 34).

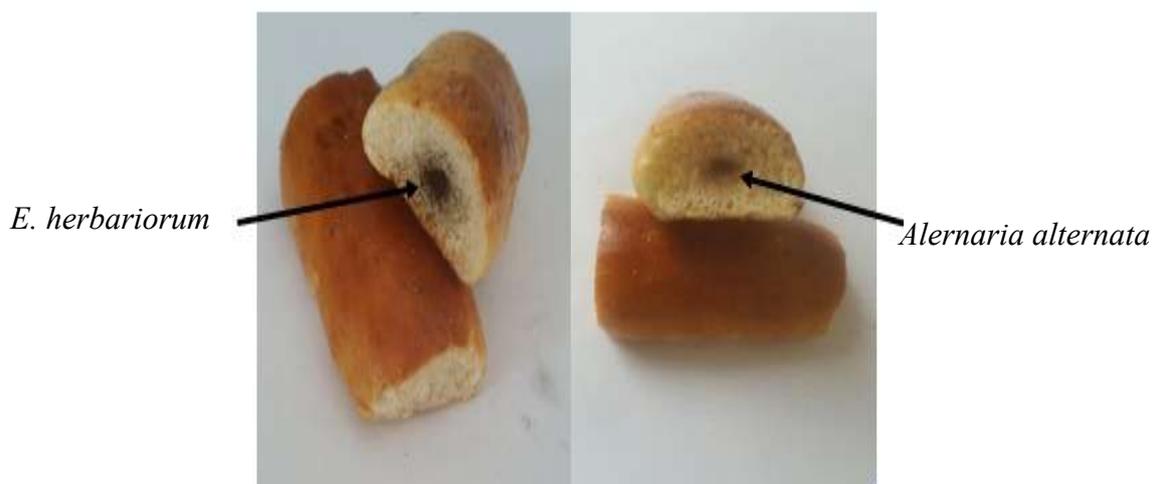


Figure 34 : La croissance des moisissures les plus résistantes sur le pain préparé avec l'huile d'amandes douces

4. Résultats

Les résultats obtenus ont aussi montré que les diamètres des moisissures sur le pain témoin, préparé avec l'huile de tournesol de la marque Fleurial (Figure 35) étaient largement supérieurs aux diamètres obtenus sur les pains contenant les différentes huiles. Ceci indiquait que toutes les huiles avaient une activité antifongique comparées à l'huile de tournesol, même si cette activité différait d'une huile à une autre.

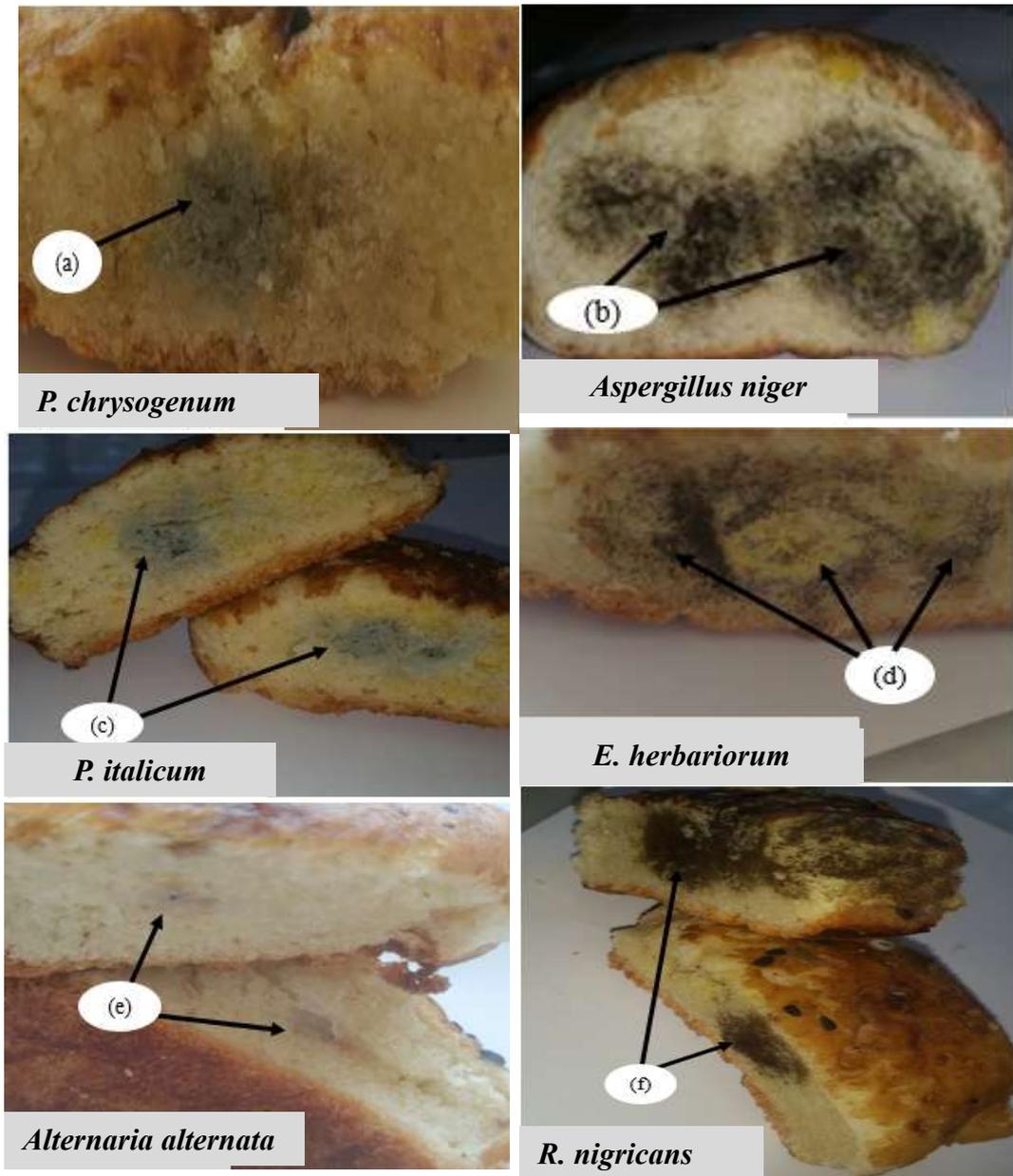


Figure 35 : La croissance des moisissures sur le pain préparé avec l'huile de tournesol.

5. Discussion

Notre travail a porté essentiellement sur l'étude de l'activité antifongique des huiles végétales contre les différentes moisissures qui peuvent contaminer le pain traditionnel. L'isolement et l'identification de ces moisissures ont permis d'affirmer que le pain pouvait être infecté par *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *P. italicum*, *E. herbariorum*, *Alternaria alternata* et *R. nigricans*.

Ces résultats étaient en accord avec ceux des chercheurs suivants qui ont tous isolé les mêmes moisissures à partir du pain : Lavermicora et al., (2000) ont pu isoler *Aspergillus niger*. L'espèce *P. chrysogenum* était isolée par Vagelas et al. (2011). Les travaux de Vagelas et al., (2011) ont confirmé que *P. italicum* pouvait infecter le pain, même si à la base c'était une moisissure courante chez les tomates et les agrumes. Williams (1990) a également isolé différentes souches d'*E. herbariorum* à partir du pain moisi. Les travaux de Legan (1993) ont aussi affirmé que *R. nigricans* était un pathogène commun du pain. Cette moisissure était considérée comme étant le champignon le plus rencontré sur le pain. Et ce qu'il soit humide ou sec (Unachukwu et al., 2018).

Legan (1993) a aussi signalé que les espèces du genre *Aspergillus* étaient néanmoins les plus dominantes. En se développant sur le pain, elles pouvaient bloquer la croissance des autres espèces, par leur grand pouvoir de dissémination, leur rapidité de croissance et leur production des mycotoxines. D'après ces travaux, *Aspergillus sp.* et *R. nigricans* étaient donc les espèces les plus importantes du pain.

Notre étude a démontré qu'*Aspergillus niger* avait une croissance assez importante en présence de toutes les huiles, sauf l'huile de nigelle ; et que *R. nigricans* était résistante aux huiles de romarin et d'amandes douces particulièrement. Nos résultats convergeaient sur le fait que l'huile la plus indiquée pour limiter les altérations causées par ces moisissures était l'huile de nigelle.

En réalité, l'huile de nigelle était la plus active sur les espèces *Aspergillus niger*, *P. chrysogenum*, *P. italicum* et *R. nigricans*. L'huile de pistachier l'huile d'olives et l'huile de coco avait aussi de bonnes activités antifongiques contre au moins une espèce.

Les études d'Asdali et al., (2014) ont montré que différents composants de l'huile de nigelle avaient une activité importante contre les champignons pathogènes pour l'homme, notamment *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus*. Certaines études ont démontré que les principaux composants actifs étaient le β -sitostérol et le stigmastérol. Mais aucun travail n'a été trouvé sur l'activité antifongique de cette huile végétale sur les moisissures d'altérations alimentaires. Néanmoins, des études menées sur l'huile essentielle de nigelle ont élucidé que le carvacrol qu'elle contenait était très puissant sur *P. italicum* et *R. nigricans* (Fawzy Ramadane, 2015).

5. Discussion

D'autres études de Bouchenak et *al.*, (2018) ont constatée que l'huile d'olives n'avait aucune action inhibitrice sur la croissance d'*Aspergillus niger* conformément à nos résultats. En effet, l'huile d'olives avait une activité antifongique moyenne, mais pas très importante. Ces conclusions étaient importantes car cette huile est considérée comme étant la plus utilisée dans notre région.

L'huile de romarin n'avait pas d'activité significative sur les espèces que nous avons isolées. Les chercheurs Satyal et *al.*, (2017) ont effectué des analyses sur le rôle de l'huile de romarin comme antifongique en se basant sur sa composition, et ils ont confirmé que les résultats de étaient très minimes, ce qui confirmait que cette huile ne pouvait être utilisée comme antifongique. Dans une autre étude, les chercheurs Jiang et *al.*, (2011) ont testé l'activité antifongique de l'huile essentielle de romarin, par rapport à ses composants : le 1,8-cinéole et l' α -pinène, et n'ont pas remarqué une activité antifongique considérable non plus.

L'huile de pistachier a montré qu'elle était plus active sur *E. herbariorum* et *R. nigricans*. Les investigations de Mezni et *al.*, (2015) qui ont montré que cette huile avait une activité antifongique contre la moisissure *Aspergillus niger*. Mais aucun autre travail n'a été trouvé concernant les autres espèces.

Nos résultats ont démontré que *P. chrysogenum* était l'espèce la plus sensible à toutes les huiles testées, mais notamment à l'huile de nigelle. Aucun travail n'a été trouvé sur ce point, certaines recherches ont démontrée que cette huile engendrait une grande modification en minéraux, notamment une augmentation en Fe, Zn, Cu, Mg, K et Ca, ce qui pouvait bloquer les moisissures sensibles à ces composés, comme c'était le cas pour *P. chrysogenum* (Basheer et Qureshi, 2018).

Aussi, certains travaux ont démontré que les omégas étaient particulièrement actifs sur les moisissures et les bactéries. De ce fait, les huiles végétales qui en contenaient, pouvaient être utilisées comme conservateurs contre les altérations fongiques et bactériennes (Thakur et *al.*, 2018). Ceci expliquait les résultats obtenus pour l'huile de nigelle, de pistachier, de coco et d'olives.

Par contre, *Eurotium herbariorum* et *Alternaria alternata* étaient les espèces les plus résistantes. Certaines études ont démontré que les espèces d'*Eurotium* et d'*Alternaria* étaient particulièrement résistantes aux agents de conservation, comme aux augmentations de températures induites souvent pour conserver certains aliments (Vytrasová et *al.*, 2002). Selon Nepomuceno et *al.*, (2018), le meilleur moyen de lutter contre ces pathogènes étaient d'y ajouter une faible concentration en bicarbonate de sodium ou en vinaigre pour les aliments dont le goût se serait pas altéré. Pour le pain, il ne faudrait donc pas compter sur les huiles végétales, mais opter plutôt pour le bicarbonate de sodium.

6. Conclusion

Notre travail était basé sur l'isolement des moisissures à partir du pain traditionnel duquel on a pu isoler et purifier six espèces fongiques : *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *P. italicum*, *Alternaria alternata*, *Rhizopus nigricans* et *Eurotium herbariorum*.

Ces dernières étaient testées dans le but de déterminer leurs sensibilités vis-à-vis des huiles végétales.

Certaines huiles testées pour leurs activités antifongiques, ont prouvé une efficacité notable. C'est le cas de l'huile de nigelle qui a montré le plus fort pouvoir inhibiteur pour l'activité *in vitro* testée sur la gélose additionnée et l'activité testée sur le pain. L'huile de nigelle était de ce fait considérée comme étant la plus active sur les moisissures d'altérations du pain.

La méthode des puits a aussi révélé que l'huile de nigelle, l'huile de coco, l'huile d'olives et l'huile de pistachier possédaient des activités antifongiques considérables, notamment sur les deux espèces *Penicillium chrysogenum* et *Rhizopus nigricans*.

D'un autre côté, l'huile de romarin et l'huile d'amandes douces ne présentaient pas une bonne activité antifongique, elles ont donné les plus faibles résultats, surtout contre *Eurotium herbariorum* et *Alternaria alternata*.

Penicillium chrysogenum était l'espèce la plus sensible aux huiles testées. Par contre, *Eurotium herbariorum* et *Alternaria alternata* étaient les espèces les plus résistantes.

Les résultats obtenus dans cette étude démontraient que certaines huiles végétales pouvaient effectivement jouer un rôle dans la protection et donc la conservation du pain traditionnel contre les altérations causées par les moisissures. Néanmoins, il est important de prendre en compte que chaque huile est active sur une ou quelques espèces particulières.

Ces résultats ouvrent d'autres perspectives qui consistent à essayer d'utiliser un mélange d'huiles végétales les plus actives pour améliorer encore davantage la conservation du pain. Ceci dit, des études supplémentaires demeurent nécessaires, notamment pour déterminer l'influence qu'auront ces huiles sur les caractéristiques organoleptiques du pain traditionnel.

7. Reference bibliographique

A

Aljabre, S. H., Alakloby, O. M., & Randhawa, M. A. (2015). Dermatological effects of *Nigella sativa*. *Journal of Dermatology and Dermatologic Surgery*, 19(2), 92-98.

Asdadi, A., Harhar, H., Gharby, S., Bouzoubaâ, Z., Yadini, A. E., Moutaj, R., & Hassani, L. M. I. (2014). Chemical composition and antifungal activity of (*Nigella Sativa L*) oil seed cultivated in Morocco. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 3, 9-15.

B

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity, A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79.

Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P., & Angioni, A. (2007). Characterization of the volatile constituents in the essential oil of (*Pistacia lentiscus L*). from different origins and its antifungal and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(17), 7093-7098.

Basheer, I., & Qureshi, I. Z. (2018). Short and long term modulation of tissue minerals concentrations following oral administration of black cumin (*Nigella sativa L*) seed oil to laboratory rats. *Phytomedicine*, 39, 56-65.

Basset, T., & Laffont, C. (2011). Les contaminations fongiques. *La Lettre de l'OCIM. Musées, Patrimoine et Culture Scientifiques et Techniques*, (138), 48-54.

Bensch, K., Braun, U., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2012). The genus *Cladosporium*. *Studies In Mycology*, 72, 1-401.

Bessadat, N., Simoneau, P., Benichou, S., Setti, B., Kihal, M., & Henni, D. E. (2014). Morphological, physiological and pathogenic variability of small-spore *Alternaria sp.* Causing leaf blight of Solanaceous plants in Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 8(37), 3422-3434.

Boskou, D. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends Food Science Technology*, 17, 505-512.

Boskou, D., Blekas, G., & Tsimidou, M. (2006). Olive oil composition. American oil chemists' society. *Press*, 41-72.

Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, P.H., Larpent, J.P., Reymond, P., Sanglier, J.J., Vassier, Y., & Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles : Importance industrielle. 2^e Edition Paris-Masson, 25-288.

7. Reference bibliographique

Bottone, A., Montoro, P., Masullo, M., Pizza, C., & Piacente, S. (2018). Metabolomics and antioxidant activity of the leaves of *Prunus dulcis* Mill. (Italian cvs. Toritto and Avola). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 158, 54-65.

Bouchenak, O., Yahiaoui, K., Benhabyles, N., Laoufi, R., Chaouche, T. A., & Arab, K. (2018). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne de deux variétés de l'olivier. *African Review of Science, Technology and Development*, 3(2), 1215-1217.

Bourgou, S., Pichette, A., Marzouk, B., & Legault, J. (2010). Bioactivities of black cumin essential oil and its main terpenes from Tunisia. *South African Journal of Botany*, 76(2), 210-216.

C

Cahagnier, B., Dragacc, S., Frayssinet, C., J.M. Frémy, Hennebert, G.L., Lesage-meessen, L., Multon, J.L., Richard-Molard, D. & 104 Roquebert, M.F. (1998). Moisissures des aliments peu hydratés. *Edition Lavoisier Tec & Doc*, 140-158.

Calvo, A.M., Wilson, R.A., Bock, J.W & Keller, N.P. (2002). Relationship between secondary metabolism and fungal development. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66, 447-459.

Chasseur, C., & Nolard, N. (2003). Les champignons de l'habitat 1ère partie : introduction à la mycologie ,risques pour la santé. *Expertises*, 3.4.7.8.

Cheruiyot, S.E., Muturi, M., & Bii, C. (2015). Antifungal activities of *Camellia sinensis* crude extract on selected pathogenic and mycotoxic Fungi. *Journal of Bacteriology and Mycology*, 2, 1070-1080.

Cheung, S., & Tai, J. (2007). Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary *Rosmarinus officinalis*. *Oncology Reports*, 17(6), 1525-1531.

Chevalier, A. (1948). L'origine de l'olivier cultivé et ses variations. *Journal d'Agriculture Traditionnelle et de Botanique Appliquée*, 28(303), 1-25.

Chung, O. K., & Pomeranz, Y. (1983). Recent trends in usage of fats and oils as functional ingredients in the baking industry. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 60(11), 1848-1851.

D

D'Arrigo, M., Bisignano, C., Irrera, P., Smeriglio, A., Zagami, R., Trombetta, D., & Mandalari, G. (2019). *In vitro* evaluation of the activity of an essential oil from (*Pistaci avara* L) variety Bronte hull against *Candida* sp. *Journal of Biomedical Science Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 6.

E

7. Reference bibliographique

Esfahlan, A. J., Jamei, R., & Esfahlan, R. J. (2010). The importance of almond (*Prunus amygdalus L.*) and its by-products. *Food Chemistry*, 120(2), 349-360.

F

Fadil, M., Farah, A., Ihssane, B., Haloui, T., & Rachiq, S. (2015). Optimization of parameters influencing the hydrodistillation of (*Rosmarinus officinalis L*) by response surface methodology. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6, 2346-2357.

Fawzy Ramadan, M. (2015). Nutritional value and applications of Nigella sativa essential oil: a mini review. *Journal of Essential Oil Research*, 27(4), 271-275.

Flannigan, B. (2001). Microorganisms in indoor air. Microorganisms in Home and Indoor Work Environments: Diversity Health Impacts. *Investigation and Control*, 2, 17-31.

Forouzanfar, F., Bazzaz, B. S. F., & Hosseinzadeh, H. (2014). Black cumin (*Nigella sativa L*) and its constituent (thymoquinone): a review on antimicrobial effects. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 17(12), 929.

Fradkin, A. R. S. S. M. M. D., Tobin, R. S., Tarlo, S. M., Tucic-Porretta, M., & Malloch, D. (1987). Species identification of air borne molds and its significance for the detection of indoor pollution. *The International Journal of Air Pollution Control and Hazardous Waste Management*, (1), 51-53.

Fustier, P., Lafond, A., Champagne, C. P., & Lamarche, F. (1998). Effect of inoculation techniques and relative humidity on the growth of molds on the surfaces of yellow layer cakes. *Applied Environmental Microbiology*, 64(1), 192-196.

G

Galtier, P., Loiseau, N., Oswald, I. P., & Puel, O. (2006). Toxicologie des mycotoxines: dangers et risques en alimentation humaine et animale. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 159, 5-13.

Gock, M. A., Hocking, A. D., Pitt, J. I., & Poulos, P. G. (2003). Influence of temperature, water activity and pH on growth of some xerophilic fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 81(1), 11-19.

Gupta, S., Satishkumar M.N., Duraiswamy B., Das S., & Chhajed M.(2012). Potential herbs and its phytoconstituents against fungal infection: A systematic review., *World Journal of Pharmaceutical Research*, 1,1-20.

7. Reference bibliographique

H

Hojjatollah, S. (2016). A review on the inhibitory potential of (*Nigella sativa* L) against pathogenic and toxigenic fungi. *Avicenna journal of phytomedicine*, 6(1), 21–33.

Horner, W. E., Worthan, A. G., & Morey, P. R. (2004). Air-and dust borne mycoflora in houses free of water damage and fungal growth, *Applied and Environmental Microbiology*, 70(11), 6394-6400.

J

Jiang , Y ., Wu, N ., Fu, Y.J ., Wang , W ., Luo, M ., juge en chef Zhao , Zu, Y.G & Liu, X.L.(2011). Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de romarin. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 32 (1), 63-8.

K

Kesari , V., Das, A. & Rangan, L., (2010). Pysico-chemical characterization and antimicrobial activity from seed oil of *Pongamia pinnata*, apotential biofuel crop. *Biomass and Bioenergy*, 34,108-115.

Kooti, W., Hasanzadeh-Noohi, Z., Sharafi-Ahvazi, N., Asadi-Samani, M., & Ashtary-Larky, D. (2016). Phytochemistry, pharmacology, and therapeutic uses of black seed (*Nigella sativa* L). *Chinese Journal of Natural Medicines*, 14(10), 732-745.

L

Lavermicocca, P., Valerio, F., Evidente, A., Lazzaroni, S., Corsetti, A., & Gobbetti, M. (2000). Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B.*Applied and Environmental Microbiology*, 66(9), 4084-90.

Lecerf, J. M. (2011). Les huiles végétales: particularités et utilités (Vegetable oils: Particularities and usefulness). *Médecine des Maladies Métaboliques*, 5(3), 257-262.

Leclerc, H., Meyer, A & Deianu, J. (1955).Cours de microbiologie générale (nouveau programme).*Editions Doin* , 77 .

Legan, J.D. (1993). Mould spoilage of bread: The problem and some solutions. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 32, 33–53.

Luqman, S., Dwivedi, G. R., Darokar, M. P., Kalra, A., & Khanuja, S. P. (2007). Potential of rosemary oil to be used in drug-resistant infections. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 13(5), 54-9.

M

7. Reference bibliographique

Meena, M., Swapnil, P., & Upadhyay, R. S. (2017). Isolation, characterization and toxicological potential of *Alternaria*-mycotoxins in different *Alternaria* species from various regions of India. *Scientific Reports*, 7(1), 8777.

Merikli, F., Becer, E., Kabadayi, H., Hanoglu, A., YigitHanoglu, D., OzkumYavuz, D., & Vatansever, S. (2017). Fattyacid composition and anticancer activity in colon carcino macellines of *Prunus dulcis* seed oil. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 1239-1248.

Mezni, F., Aouadhi, C., Khouja, M. L., Khaldi, A., & Maaroufi, A. (2015). *In vitro* antimicrobial activity of (*Pistacia lentiscus* L) edible oil and phenolic extract. *Natural Product Research*, 29(6), 565-570.

N

Nepomuceno, D. B., Lima, D. V., Silva, M. O., Porto, J. C. S., & Mobin, M. (2018). Evaluation of disinfectants in order to eliminate fungal contamination in computer keyboards of an integrated health center in Piauí, Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190(10), 608.

P

Petrović, Z. S. (2008). Polyurethanes from vegetable oils. *Polymer Reviews*, 48(1), 109-155.

R

Reboux, G. (2006). Mycotoxines: effets sur la santé et interactions avec d'autres composants organiques. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 46(3), 208-212.

Richard, J.L., Plattner, R.D., May, J., & Liska, S.L. (1999). The occurrence of ochratoxin A in dust collected from a problem house hold. *Mycopathologia*, 146, 99–103.

Rugini, E., & Fedeli, E. (1990). Olive (*Olea europaea* L.) as an oilseed crop. *Edition Springer, Berlin, Heidelberg*, 593-641.

S

7. Reference bibliographique

Salas, J. J., Bootello, M. A., Martinez-Force, E., & Garces, R. (2009). Tropical vegetable fats and butters. *Properties and new alternatives, Oilseeds and Fats, Crops and Lipids* , 16, 254-258.

Satina, S., & Blakeslee, A. F. (1929). Criteria of male and female in bread moulds (*Mucor*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 15(9), 735.

Satyral, P., Jones, T.H ., Looez, E.M ., Mc Feeters, R.L. , Ali, N.A ., Mansi, I. , Al-Kaf, A.G., & Setzer,W.N. (2017).Caractérisation chimotypique et activité biologique de *Rosmarinus officinalis*. *Nourriture*, 6(3), 20.

Shino, B., Peedikayil, F. C., Jaiprakash, S. R., Ahmed Bijapur, G., Kottayi, S., & Jose, D. (2016). Comparison of antimicrobial activity of chlorhexidine, coconut oil, probiotics, and ketoconazole on *Candida albicans* isolated in children with early childhood caries: an *in vitro* study. *Scientifica*, 5.

Spanoudi-Kitrimi, I., Duriez, A. L., & Modiano, P. (2013). Érythème polymorphe de contact à l'huile de Nigelle. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 140, 438-439.

T

Tahani, N., & Elamrani, A. (2008). Utilisation des Produits de boulangerie rassis comme aliments pour animaux: Risques et dangers. *Les Technologies de Laboratoire*, 3(10), 1114-9981.

Thakur, A., Ranote, S., Kumar, D., Bhardwaj, K. K., Gupta, R., & Chauhan, G. S. (2018). Synthesis of a PEGylated dopamine ester with enhanced antibacterial and antifungal activity. *American Chemical Society Omega*, 3(7), 7925-7933.

U

Unachukwu, M. N., & Nwakanma, C. (2018). The fungi associated with the spoilage of bread in Enugu state. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(1), 989-995.

V

Vagelas, I., Gougoulas, N., Nedesca, E. D., & Liviu, G. (2011). Bread contamination withfungus. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 3(2), 1-6.

Vijayan, P., Raghu, C., Ashok, G., Dhanaraj, S. A., & Suresh, B. (2004). Antiviral activity of medicinal plants of Nilgiris. *Indian Journal of Medical Research*, 120, 24-29.

Visioli, F., Poli, A., & Gall, C. (2002). Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Medicinal Research Reviews*, 22(1), 65-75.

7. Reference bibliographique

Vsdna-Nagesh, S., Muniappan, M., Kannan, I., & Viswanathan, S. (2018). Erratum for Nagesh et al., phytochemical analysis and docking study of compounds present in a polyherbal preparation used in the treatment of dermatophytosis. *Current Medical Mycology*, 4(1), 34.

Vyřasová, J., Přibáňová, P., & Marvanova, L. (2002). Occurrence of xerophilic fungi in bakery gingerbread production. *International Journal of Food Microbiology*, 72(1-2), 91-96.

W

Williams, A. P. (1990). *Penicillium* and *Aspergillus* in the food microbiology laboratory. *Modern Concepts in Penicillium and Aspergillus Classification*, 185, 67-71.

Weber, R.W. (2015). Allergen of the Month—*Mucor*. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 115(2), 15.

Résumé :

Les huiles végétales deviennent de plus en plus utilisées afin de lutter contre les infections fongiques et les altérations alimentaires causées par les champignons. Dans ce travail, nous avons testé six huiles végétales sur des moisissures isolées du pain moisi. L'activité antifongique a été testée par la méthode des puits, puis par culture sur gélose additionnée d'huile et enfin sur le pain traditionnel préparé avec les huiles végétales testées.

Les résultats ont montré que l'huile de nigelle, l'huile de coco, l'huile d'olives et l'huile de pistachier avaient une bonne activité antifongique. L'huile de nigelle était la plus active pour inhiber la croissance des moisissures. *Penicillium chrysogenum* était la moisissure la plus sensible à toutes les huiles ; tandis qu'*Eurotium herbariorum* et *Alternaria alternata* étaient les plus résistantes.

Mots clés : Pain traditionnel, moisissures, altération, huiles végétales, activité antifongique.

Abstract :

Vegetable oils are becoming more and more used to fight against fungal infections and food damage caused by fungi. In this work, we tested six vegetable oils on mold isolated from moldy bread. The antifungal activity was tested by the well method, then by agar culture supplemented with oil and finally on the traditional bread prepared with the vegetable oils tested.

The results showed that Nigel oil, coconut oil, olive oil and pistachio oil had a good antifungal activity. Nigel oil was the most active in inhibiting the growth of molds. *Penicillium chrysogenum* was the most sensitive mold for all oils; while *Eurotium herbariorum* and *Alternaria alternata* were the most resistant.

Keywords: Traditional bread, molds, alterations, vegetable oils, antifungal activity.

المخلص

اصبحت الزيوت النباتية تستخدم بكثرة لمكافحة الالتهابات الفطرية والتلوثات الغذائية الناتجة عن الفطريات. في عملنا هذا قمنا باختبار ستة زيوت نباتية على الفطريات المعزولة من الخبز المتعفن. كان اختبار النشاط المضاد للفطريات على طريقة البئر ثم على طريقة النمو بالجيلوز والزيوت وأخيرا على الخبز المحضر بالزيوت النباتية التي تم اختبارها. اظهرت النتائج أن زيت الحبة السوداء, زيت جوز الهند, زيت الزيتون وزيت الصنوبر كانت تتميز بنشاط حسن مضاد للفطريات. كان زيت الحبة السوداء هو الأكثر نشاطا لمنع نمو الفطريات. و كان الفطر *Penicillium chrysogenum* هو الأكثر حساسية لكل الزيوت. بينما *Eurotium herbariorum* و *Alternaria alternata* كانت هي الأكثر مقاومة.

كلمات-المفتاح : الخبز التقليدي, الفطريات, التلوثات, الزيوت النباتية, النشاط المضاد للفطريات.