



Master Sciences et Techniques : Biotechnologie microbienne  
**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**  
Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

**Evaluation de la qualité hygiénique des  
Arachides au niveau de la ville de Fès**

**Présenté par:**

**Mejrhith Najlae**

**Encadré par:**

**Pr. AARAB Lotfi**

Soutenu Le 21 Juin 2013 devant le jury composé de:

- ❖ Pr. AARAB Lotfi.....FST-Fès
- ❖ Pr. ELGACHTOULI Naima.....FST-Fès
- ❖ Pr. ANANOU Samir.....FST-Fès
- ❖ Pr. HALOTI Saïd.....FST-Fès

Lieu du stage : Faculté des sciences et techniques

Année Universitaire : 2012-2013



Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

**Nom et prénom: Mejrhit najlae**

**Année Universitaire : 2012 - 2013**

**Titre: Evaluation de la qualité hygiénique des arachides au niveau de la ville de Fès.**

### **Résumé**

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer la qualité sanitaire des arachides dans les différentes zones de la ville de Fès. Pour cela, un questionnaire a été préparé afin de mettre en évidence les habitudes alimentaires, les circuits de distribution, et l'hygiène des magasins. Dans un deuxième temps, nous avons collecté des échantillons de différentes zones et à différents niveaux de ventes (grossistes, supermarchés, détaillants) afin d'évaluer la qualité microbiologique des arachides. Ensuite, nous avons étudié leur niveau de contamination par les mycotoxines. Et finalement, nous avons effectué un test liquide dont le but principale est la mise au point d'un test simple et rapide de suivie de la charge microbienne avec une évaluation biochimique colorimétrique visuelle.

Les résultats de cette étude montrent que la majorité des consommateurs achètent les arachides en vrac auprès de l'épicier le plus proche dont les achats sont occasionnels surtout en Ramadan et durant les fêtes religieuses ; L'analyse de l'hygiène a montré que les magasins et les équipements nécessitent une revue profonde pour éviter des contaminations ; L'analyse microbiologique a montré que les grossistes et les détaillants représentent la plus forte non-conformité comparée aux grandes surfaces, cependant le pourcentage de conformité dans tous les échantillons ne dépasser pas 50 à 60% ; Les échantillons analysés ne contiennent pas d'aflatoxine B1, ce qui nous permet de penser que les échantillons ne sont pas contaminés par des espèces de champignons sécréteurs d'aflatoxine. Ce travail nous a permis également de mettre au point une base pour des tests microbiologiques rapides sur milieu liquides.

**Mots clés: Arachide, qualité sanitaire, enquête, hygiène, test liquide, consommateur, vendeur, aflatoxine B1.**



# Sommaire

## Chapitre 1 : Introduction

Introduction générale.....	1
1. Production et consommation des arachides au Maroc.....	3
2. La qualité nutritionnelle des arachides.....	3
3. La qualité sanitaire des arachides.....	4
a. Les germes témoins d'une contamination fécale.....	4
b. Répartition des champignons et des aflatoxines dans les arachides.....	5
4. Les bonnes pratiques d'hygiène alimentaire.....	6
4.1. Hygiène de la récolte et de la production.....	6
4.2. Etablissement : conception et installations.....	7
4.3. Entretien et nettoyage.....	8
4.4. Hygiène du personnel.....	8

## Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

1. Lieu et période d'étude.....	9
2. Enquête.....	9
3. Echantillonnage.....	9
4. Analyses microbiologiques.....	9
5. Dosage des mycotoxines.....	10
6. Evaluation d'un test liquide.....	11
6.1. Composition des milieux de culture.....	11



---

6.2. Les indicateurs colorés.....	12
-----------------------------------	----

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

Résultats.....	13
1. Enquête.....	13
1.1. Enquête auprès les consommateurs.....	13
1.2. Enquête chez les vendeurs.....	17
2. Résultats du dénombrement des contaminants microbiologiques.....	20
2.1. Dénombrement de la flore aérobie totale.....	20
2.2. Dénombrement des champignons.....	21
2.3. Dénombrement des coliformes.....	22
3. Evaluation des contaminants microbiologiques sur milieu liquide.....	23
3.1. Evaluation de FMAT sur milieu liquide.....	23
3.2. Evaluation des champignons sur milieu liquide.....	24
3.3. Evaluation des coliformes sur milieu liquide.....	26
4. Analyse des aflatoxine B1 dans les arachides.....	26
5. Analyse d'amandes emballées.....	28
Discussion.....	29
Conclusion.....	32
Références bibliographiques.....	33
Annexes.....	39



## Introduction

L'arachide est une plante appartenant à la famille des légumineuses (Reese et Lehrer, 1999) dans laquelle la tige centrale de la plante produit des fleurs d'arachide. Le fruit est une gousse contenant un à trois graines qui se développent dans les branches et qui sont poussés sous le sol (Woodroof, 1983). L'arachide possède une valeur nutritionnelle élevée en raison de la présence de protéines, des acides gras, des hydrates de carbone, des fibres, des vitamines, du calcium et du phosphore (Camara, 1998). En plus leur consommation entraîne une augmentation de la dépense d'énergie de sorte qu'il ne contribue pas de manière significative à l'augmentation du poids corporel (Mattes et al, 2008).

L'arachide est originaire d'Amérique du sud, du Mexique et l'Amérique centrale (Dillehay et Tom, 2007) et cultivée dans presque tous les pays tropicaux et subtropicaux du monde dont les plus importants producteurs sont l'Inde, la Chine, les Etats-Unis et l'Afrique de l'Ouest (Krishnappa et al, 1999). Elle a été introduite au Maroc au cours de l'occupation espagnole et elle est actuellement cultivée principalement dans le nord-ouest du pays comme culture d'été sous irrigation avec un rendement de 2 et 3 tonnes/ha (Lorenzo Maggioni, 2002).

Les arachides sont utilisées dans la fabrication des pâtes, des gâteaux et principalement comme matière première dans la production d'huile. Dans la quelle environ 60% de la production mondiale d'arachide sont destinée à l'extraction de l'huile (Santos, 2000) pour l'utiliser dans la fabrication de margarine, des produits cosmétiques, des produits pharmaceutiques et d'agents tensioactifs (Schirack et al, 2006; Plessis et Steiman, 2004).

### Objectif du travail

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer la qualité sanitaire des arachides dans les différentes zones de la ville de Fès. Pour cela un questionnaire a été préparé afin de mettre en évidence les habitudes alimentaires, les circuits de distribution, et l'hygiène des magasins.

Dans un deuxième temps, nous avons collectés des échantillons de différentes zones et à différents niveaux de ventes (grossistes, supermarchés, détaillants) afin d'évaluer la qualité microbiologique des arachides. Ensuite, nous avons regardé le niveau de contamination par les mycotoxines.



---

Finalement, nous avons effectué un test liquide dont le but principale de l'essai est la mise au point d'un test simple et rapide de suivie de la charge microbienne avec une évaluation biochimique colorimétrique visuelle.

La conclusion inclus des plans de recommandations afin d'améliorer la qualité sanitaire des arachides.



## 2. Production et consommation des arachides au Maroc

Dans le monde, la Chine est le plus grand pays producteur d'arachides, avec une récolte annuelle de 15,64 millions de tonnes, suivie par l'Inde avec 5,85 millions de tonnes, et les Etats-Unis avec 1,8 millions de tonnes produites.

Au Maroc, environ 25000 ha des arachides sont cultivés sur la côte atlantique entre Kenitra et Larache. La culture est conduite en irrigué sur des sols sableux. Le semis a lieu en avril-mai et la récolte en septembre-octobre. Les rendements varient en général entre 2 et 3 tonnes/ha. Toutefois, ces faibles niveaux de rendement sont dus à la faible technicité des exploitants. Il existe deux sous espèces d'arachides : *hypogaea* et *fastigiata*. Les semis sont réalisés soit avec la sous espèce *hypogaea* à très grosses gousses et graines, à port rampant et à cycle long (120 à 140 jours et 2 graines par gousse), soit avec la sous espèce *fastigiata* à cycle court (90 à 110 jours et ayant 3-4 graines par gousse) (BTTA, 2011).

La quasi totalité de la production de l'arachide est consommée au Maroc sous diverses formes: arachides crues, cuites ou grillées. La farine d'arachide est utilisée également dans la fabrication des gâteaux.

## 3. La qualité nutritionnelle des arachides

L'arachide à un potentiel nutritionnel intéressant, elle constitue une bonne source de vitamines, d'acides gras, d'hydrates de carbone, de fibres, du calcium, du potassium et du phosphore (Camara, 1998), mais ne contient pas d'acide urique ou de cholestérol (Rogers, 2006). Elle présente également, en l'absence de viande, une bonne source de protéines alimentaires, dans lesquelles les arachides contiennent environ 28 à 32% de protéine et leur teneur oléagineuse varie de 38 à 50% (Encyclopédie de l'Agora, 2012).

Concernant l'intérêt santé des arachides, des études ont mis en avant l'intérêt de consommer des arachides pour réduire le risque de maladies cardiovasculaires et le diabète de type 2 (Kendall et al, 2009). Une autre étude montre que les arachides ont une capacité antioxydante comparable au brocoli et aux tomates (Planetoscope, 2012).



L'arachide présente également de nombreux avantages pour la santé dont l'inhibition du cancer (Awad et al, 2000). Ce bénéfice est principalement attribuable aux micronutriments tels que les  $\alpha$ -tocophérol, l'acide folique, les minéraux et les composés photochimiques favorables à la santé, notamment le resvératrol, l'acide férulique et d'autres composés phénoliques (Yu et al, 2004).

#### 4. La qualité sanitaire des arachides

Si l'arachide constitue un apport lipidique, protéique et glucidique fort appréciable dans l'alimentation, sa consommation et celle de ses produits dérivés, pourraient revêtir des conséquences pathologiques non moins négligeables sur la santé publique, car elle peut être une source de contamination par les microorganismes pathogènes.

Parmi les germes microbiens qui peuvent contaminer les arachides, nous retiendrons particulièrement les champignons, les coliformes et les salmonelles.

##### a. Les germes témoins d'une contamination fécale

De nombreux rapports et études épidémiologiques des aliments ont montré que l'origine des maladies associés à l'alimentation, sont des souches pathogènes qui proviennent essentiellement de l'alimentation humaine et animale (Sokari, 1991). Certaines espèces comme *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Yesinia enter-colitiia*, *Salmonella sp*, levures et moisissures ont été utilisés pour évaluer les conditions d'hygiène et la sécurité microbiologique au cours de processus de conservation de la qualité d'arachide (Owhe-Ureghe et al, 1993 ; Consumer report, 2009).

Owhe-Ureghe et al (1993) ont montré que la présence d'*Escherichia coli*, *Proteus sp*, et *Salmonella sp* dans les échantillons de l'arachide est un signe d'une contamination fécale qui peut représenter un risque potentiel pour la santé humaine et animale. Les coliformes sont considérés comme la flore commensale du tractus intestinal des humains et des animaux. Ils ont été utilisés comme indicateur de la qualité hygiénique de l'eau et des aliments.

Concernant l'espèce *Escherichia coli*, plusieurs études (Okonko et al, 2008a, b, 2009a, b; Adebayo-Tayo et al, 2012a) ont montré que leur présence dans les arachides est une indication de la contamination fécale au cours de la récolte, la manutention et le stockage des arachides qui pourrait avoir des effets nocifs sur la santé des consommateurs. *E. Coli* peut provoquer des troubles gastro-intestinaux (diarrhée, dysenterie), pouvant parfois entraîner la mort, affectant particulièrement les





nourrissons. Il peut également contribuer à une perte économique dans la plupart des parties du monde, y compris les pays à revenu élevé qui ont développé la surveillance et le contrôle des programmes (Nester et al, 1995 ; Ternhag et al, 2008; Adebayo Tayo et al, 2012a).

D'autres espèces comme *Enterococcus sp* de même genre peut causer également une variété de symptômes comme pharyngites, scarlatine et la pneumonie (Adebayo-Tayo et al, 2009 2012c).

Concernant les Salmonelles, Danyluk et al (2007) ont montré que les noix ont été considérées traditionnellement comme des sources de contamination microbiologique sûre en raison de leur activité de l'eau faible (généralement inférieur à 0,7). Toutefois, les noix de macadamia sont fréquemment contaminées par la bactérie *Salmonella*, probablement due à des techniques de récolte (Lumineux, 2011). Des travaux ont permis de savoir que *Salmonella* ne peut pas se multiplier sur les produits de noix, mais elle peut survivre dans ces produits, pendant une période prolongée (plus d'un an), en particulier lorsqu'elle est maintenue dans une chambre froide (Danyluk et al, 2007). Les espèces *Salmonella typhi* et *Salmonella paratyphi* sont l'agent causal de la fièvre typhoïde et paratyphoïde chez les humains, qui sont le seul réservoir de cette bactérie (Nester et al, 1995; Adebayo-Tayo et al, 2006, 2012c).

Scheil et al (1998) ont montré qu'il ya eu un certain nombre d'épidémies causés par *Salmonella* associées à la consommation des noix en Australie et dans d'autres pays. Par exemple, en 1996, une quinzaine de personnes ont été infectées par *Salmonella mbandaka* due à la consommation de beurre d'arachide en Australie du Sud. Il a été signalé également en 2001 lors d'une épidémie internationale causée par *Salmonella stanley* et *S. newport* que cette épidémie était liée à la consommation d'une marque spécifique des arachides importées (Kirk et al, 2004). Plus récemment, des rapports (CDC, 2007) ont notés aux États-Unis qu'il y avait une épidémie causée par *Salmonella* associé à la consommation du beurre d'arachides, qui a causé intoxications alimentaires chez plus de 600 personnes en 2006 et plus de 500 en 2007, dont plus de 100 hospitalisations causant à 8 décès. De plus, de nombreux rappels de pistaches aux Etats-Unis étaient dus à la contamination microbiologique par *Salmonella* (CDC, 2009b).

#### **b. Répartition des champignons et des aflatoxines dans les arachides**

La contamination des arachides par les aflatoxines résulte de la croissance des champignons (Diener et al, 1987) au niveau des graines d'arachide. Ces champignons se trouvent couramment



dans le sol où les arachides sont cultivées, ils peuvent se développer à des valeurs d'humidité relativement élevées comprise entre 70 et 85 % et à des températures relativement basses.

Ils sont adaptés à une vie sans eau libre comprises entre 13 et 18 % (Diener et al, 1982 ; Maeba et al, 1988 ; Pitt, 1989), et peuvent contaminer les graines au cours du stockage, de la manutention et du transport, ce qui entraîne une altération de la qualité des arachides (Frazier et Westhoff, 1988). Des travaux ont montré que la contamination des arachides par les champignons ne réduit pas seulement sa qualité mais peut aussi conduire à la production de mycotoxines dont les « aflatoxines » (Sultan et Magan, 2010).

Les aflatoxines ont été isolées et caractérisées pour la première fois en Angleterre après la mort d'environ 1 million d'indes dans 500 fermes en 1960, suite à l'ingestion d'une farine d'arachide provenant du Brésil (Adams et Moss, 2002 ; Chapeland-Leclerc et al, 2005). Les aflatoxines (AFT) sont des métabolites secondaires hautement toxiques, produites par certains champignons filamenteux (moisissures) dont les principales espèces fongiques liées à leur production sont *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus nomius* et *Aspergillus pseudotamarii* (Erkmen et Bozoglu, 2008a) qui peuvent contaminer les cultures avec des effets conséquents sur la santé publique et l'économie agricole. Elles affectent de nombreux produits agricoles « les céréales » dont le maïs, l'arachide, le coton, pistaches, noix, figes, épices, poivre et huile de coprah (Arrus et al, 2005; Heperkan et Ozlem, 2004 ; Trucksess et Scott, 2008; Reddy et al, 2009). Toutefois, La toxicité majeure de l'AFT B1 est son pouvoir cancérigène. En effet, cette molécule est responsable de l'apparition d'hépatocarcinomes chez les hommes et les animaux. Pour cette raison, elle est classée dans le groupe I des molécules cancérigènes chez l'homme par le IARC (Autrup et al, 1991; Vainio et al, 1992).

## **5. Les bonnes pratiques d'hygiène alimentaire dans la production et la distribution des arachides.**

Le code d'usage en matière d'hygiène des arachides énonce les prescriptions minimales d'hygiène pour la manutention au lieu d'exploitation, le transport, l'entreposage, les opérations portant sur le produit non décortiqué et le décorticage commercial. Il vise tous les types et toutes les formes des arachides non décortiquées et décortiquées, fraîches ou séchées.

### **4.1. Hygiène de la récolte et de la production**



Les méthodes et les techniques de récolte et de production devraient être hygiéniques et, en tant que telles, ne pas constituer un risque potentiel pour la santé, ni entraîner une contamination du produit. Le séchage devrait permettre d'obtenir le plus rapidement possible

un pourcentage d'eau libre inoffensif de manière à empêcher la croissance des micro-organismes, notamment des moisissures qui produisent les aflatoxines. D'une façon générale, seule de l'eau potable correspondant à la définition qui figure dans la dernière édition des "Normes internationales pour l'eau de boisson" (OMS) devrait être utilisée pour la manutention des denrées alimentaires. Pour éliminer efficacement les arachides contaminées par la moisissure, le triage devrait être effectué avant et après la décoloration et la torréfaction. Les arachides rejetées lors du triage (rebut) devraient être détruites ou mises à l'écart des produits comestibles. Toutes les étapes de la production, y compris l'emballage, devraient être exécutées sans retard inutile et dans des conditions de nature à empêcher toute possibilité de contamination, de détérioration et d'altération ou de développement de micro-organismes pathogènes. Les produits finis devraient être contenir des agents de conservation autorisés et / ou emballés dans des récipients hermétiquement fermés (Wareing et al, 2000).

Dans les lieux d'entreposage, il faudrait éviter des taux d'humidité élevés qui favorisent la prolifération des moisissures et l'apparition des aflatoxines, afin de maintenir les arachides à un taux d'humidité inoffensif. Un soin particulier devrait être pris pour le transport des arachides dont le taux d'humidité n'offre pas de garanties de sécurité, afin d'éviter toute avarie ou altération de qualité. Les arachides devraient être transportées dans des conditions de nature à assurer la parfaite protection du récipient et du produit qu'il contient. Les véhicules de transport devraient être propres et secs, à l'épreuve des intempéries, exempt de vermine et fermés hermétiquement pour éviter que l'eau, les rongeurs ou les insectes n'atteignent les arachides.

#### 4.2. Etablissement : conception et installations

Les bâtiments et les installations devraient être conçus de façon à empêcher la pénétration et l'installation de ravageurs, ainsi que l'introduction d'agents de contamination extérieurs tels que fumée, poussière, etc. Dans les aires de manutention des aliments, tous les éléments et les accessoires situés en hauteur devraient être isolés, au besoin, et leur agencement et leurs finitions devraient être de nature à empêcher l'accumulation de saleté et à réduire au minimum la formation



d'eau de condensation, l'apparition de moisissures et l'écaillage. Ils devraient être faciles à nettoyer. Tous les établissements devraient comporter des installations sanitaires pour garantir un degré approprié d'hygiène corporelle et pour éviter la contamination fécale des arachides par les microorganismes pathogènes (*Escherichia coli*, *Proteus sp*, *Salmonella sp...*)

#### 4.3. Entretien et nettoyage

Les bâtiments, l'équipement, les ustensiles et toutes les autres installations matérielles de l'établissement - y compris les canaux d'évacuation devraient être maintenus en bon état et en bon ordre. Dans la mesure du possible, les salles devraient être protégées contre la vapeur, la buée et l'excès d'eau. Afin d'empêcher la contamination des aliments, tout le matériel et les ustensiles devraient être nettoyés aussi souvent que nécessaire et désinfectés chaque fois que les circonstances l'exigent.

#### 4.4. Hygiène du personnel

Toute personne affectée à la manutention des aliments devrait observer, pendant les heures de travail, une très grande propreté personnelle et porter en permanence des vêtements protecteurs - y compris coiffures et chaussures - qui devraient être maintenus dans un état de propreté compatible avec la nature du travail effectué. Il devrait éviter les mauvaises manipulations (non lavage et non désinfection des mains au sortir des sanitaires ou après manipulations d'emballages contaminés, de matières premières, etc.) susceptibles d'entraîner une contamination des arachides par les microorganismes pathogènes (les germes témoins d'une contamination fécale). Il devrait éviter les comportements susceptibles d'entraîner une contamination des aliments, par exemple: fumer; cracher; mâcher ou manger; éternuer ou tousser à proximité d'aliments non protégés.



## 1. Lieu et période d'étude

Notre étude consiste à l'évaluation de la qualité sanitaire des arachides dans les différentes zones de la ville de Fès. La période de cette étude s'est étendue de février 2013 à juin 2013.

## 2. Enquête questionnaire

Cette étude est basée sur une enquête questionnaire faite chez différents vendeurs des arachides de la ville de Fès (grossistes, détaillants, grandes surfaces) dont le premier objectif est d'étudier et évaluer les caractéristiques de vente des arachides (origine d'achat des vendeurs, durée de stockage, les mesures hygiéniques), il permettra aussi d'identifier les canaux de distribution et de commercialisation des arachides (annexe 2).

D'autre part, une enquête a été réalisée également auprès de 72 consommateurs afin de mesurer quantitativement les habitudes, la fréquence et le lieu d'achat des arachides (annexe 1).

Les enquêtes ont été réalisées dans la ville de Fès, la collecte des questionnaires s'est déroulée du février à mars 2013. Le traitement des données et la réalisation des graphiques ont été réalisés grâce à l'Excel.

## 3. Echantillonnage

Notre matériel biologique est constitué des échantillons d'arachides prélevés entre février et avril 2013. Quatre sites de prélèvements ont été ciblés: les marchés, les grossistes, les détaillants et les grandes surfaces. Tous les échantillons ont été acheminés au laboratoire des molécules bioactives de la Faculté des Sciences et Techniques et ont été maintenue à une température de 4°C pour leurs assurer une bonne conservation pour une durée maximale de 7 jours.



#### 4. Analyses microbiologiques

Pour la réalisation de l'analyse microbiologique, 10g de chaque échantillon ont été mises en suspension dans 100 ml d'eau distillée stérile.

Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale a été effectué selon la norme marocaine (NM.08.0.102), dans laquelle on étale 100  $\mu$ l de chacune des dilutions sur la gélose PCA, les boîtes ont été incubées à 30°C pendant 24 à 48 h.

Le dénombrement des champignons a été effectué selon la norme marocaine (NM 08.0.123, 2004) en utilisant le milieu de culture Sabouraud complété au chloramphénicol, les cultures ont été incubées à 37 °C pendant 3-5 jours. Pour le dénombrement des coliformes totaux, la méthode a été déterminée selon la norme marocaine (NM 08.0.124, 2004), dans laquelle 1ml d'échantillon est étalé sur gélose EMB suivi d'une incubation à 37 °C pendant 24 h à 48 h.

#### 5. Dosage des mycotoxines

##### 5.1. Principe du test

Il s'agit d'un test ELISA par compétition. Le principe du test est basé sur la réaction antigène-anticorps, dans laquelle les solutions d'échantillons contaminés par les aflatoxines sont distribuées dans les puits d'une plaque de microtitration, sur laquelle sont fixés les anticorps de capture dirigés contre les anticorps anti-aflatoxine B1. Les aflatoxines (AFT) des échantillons rentrent alors en compétition avec une quantité déterminée d'aflatoxine conjuguée à la peroxydase (AFT-PX) pour un même anticorps anti-Aflatoxine. Le complexe anticorps anti-aflatoxine avec AFT-PX est révélé par l'apparition d'un produit bleu, résultant de la dégradation du substrat qui est le TMB. L'addition de la solution d'arrêt conduit à un changement de couleur du bleu au jaune. La mesure est réalisée par photométrie à 450 nm. L'absorbance est inversement proportionnelle à la concentration d'aflatoxine dans l'échantillon.

##### 5.2. Préparation des échantillons

Cinq grammes d'échantillon sont broyés et solubilisés dans 25 ml de méthanol 70%. La suspension obtenue est homogénéisée pendant 3 mn et filtrée à travers du papier Wattman. Ensuite, 1 ml du



filtrat obtenu est dilué avec 1 ml d'eau distillée ou déminéralisée. Finalement 50 µl du filtrat dilué est distribué dans les puits pour le test du dosage immunoenzymatique.

### 5.3. Mode opératoire

Cinquante microlitres des extraits dilués sont distribués dans les puits d'une plaque de microtitration, puis 50 µl d'AFT-PX et 50µl d'anticorps anti-aflatoxine sont rajoutés à chaque puits. Ensuite, la plaque est incubée pendant 45 mn à température 37°C.

Après incubation, chaque puits de la plaque est alors lavé avec 150µl du tampon de lavage (BBS). La révélation de l'anticorps lié à l'antigène fixé sur la plaque est réalisée par l'addition de 100 µl de substrat / chromogène à chaque puits.

L'ensemble est mélangé doucement en faisant basculer la plaque manuellement et incubé pendant 15 à 30 minutes à la température ambiante dans l'obscurité. 50 µl de la solution d'arrêt est ajoutée par la suite dans chaque puits et l'absorbance mesurée à 450 nm.

Le but principale est la mise au point d'un test simple et rapide de suivie de la charge microbienne avec une évaluation biochimique colorimétrique visuelle.

## 6. Evaluation des contaminants microbiologiques sur milieu liquide

### 1. Composition des milieux de culture

➤ Pour la FMAT, nous avons utilisé le milieu glucosée à l'extrait de levure sans agar (PCA). La composition de ce milieu est la suivante :

- Tryptone .....5,0 g
- Extrait de levure.....2,5 g
- Glucose .....1,0 g
- Eau distillée .....1000 ml

➤ Pour les champignons, nous avons utilisés le milieu Sabouraud qui peut servir de base à la préparation d'un milieu spéciale par l'addition d'antibiotique (chloramphénicol), La composition de ce milieu est la suivante :

- Peptone .....10,0 g



- Glucose .....20,0 g
- Chloramphénicol .....0,5 g
- Eau distillée .....1000 ml

➤ Pour les coliformes, nous avons utilisé le milieu de MacConkey modifié sans agar. La composition de ce milieu est la suivante :

- Peptone.....10,0 g
- Lactose .....10,0 g
- SDS.....0,5 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g
- Citrate de sodium .....2,0 g
- Eau distillée (qsp).....1000 ml

## 2. Les indicateurs colorés

Les indicateurs colorés utilisés pour suivre la prolifération des microorganismes sont :

**MTT**: ajouté à 5mg/ml. Ce test est basé sur l'activité d'une enzyme de la chaîne respiratoire, la succinate déshydrogénase. En présence du substrat MTT (3-[4,5-diméthylthiazol-2yl]-2,5-diphényltétrazolium bromide), les sels de tétrazolium du substrat sont transformés en cristaux insolubles de formazan grâce à l'activité de la succinate déshydrogénase. La quantité de sel formazan produite par les cellules à partir du MTT est mesurée par spectrophotométrie à 570 nm.

**BCP (pourpre de bromocrésol)** : ajouté à 1mg/ml. Le pourpre de bromocrésol, ou BCP, nommé plus complètement « 5',5''-dibromo-o-crésolsulfonephthaléine », est un indicateur de pH. Sa zone de virage s'étend de pH 5,2 à pH 6,8. Le BCP existe sous deux formes : la forme acide jaune dont l'absorbance peut être mesurée à 430 nm et la forme basique pourpre dont l'absorbance peut être mesurée à 590 nm.

**TMB** : ajouté à 5mg/ml. Le 3,3', 5,5'-tétraméthylbenzidine ou TMB est un substrat chromogène de la peroxydase. Le TMB est un cristal incolore ou coloré en bleu-vert pale lorsqu'il est en solution





dans un tampon faiblement acide. Après action de la peroxydase, le TMB prend une coloration bleue dont l'absorbance peut être mesurée à 570 nm.

**PNPP** : ajouté à 1,25mg/ml. Le substrat PNPP est un substrat chromogène utilisé pour la détection de la phosphatase alcaline (AP). Lors de son addition, les phosphatases catalysent l'hydrolyse de PNPP en p-nitrophénol, dans ce cas le PNPP prend une coloration jaune intense dont l'absorbance peut être mesurée à 570nm.

Pour valider ce test, nous avons travaillé sur plusieurs échantillons des arachides afin d'évaluer la charge microbienne de FMAT, des champignons et des coliformes.

## Résultats

Dans ce paragraphe nous exposerons les résultats de l'enquête questionnaire et les analyses microbiologiques des arachides réalisés au laboratoire des molécules bioactives de la faculté des sciences et techniques entre février 2013 et juin 2013.

### I. Enquête

Cette étude est basée sur une enquête questionnaire faite chez différents vendeurs des arachides de la ville de Fès (grossistes, détaillants, grandes surfaces) dont le premier objectif est d'étudier et évaluer les caractéristiques de vente des arachides (origine d'achat des vendeurs, durée de stockage, les mesures hygiéniques), il permettra aussi d'identifier les canaux de distribution et de commercialisation des arachides.

D'autre part, une enquête a été réalisée également auprès de 72 consommateurs afin de mesurer quantitativement les habitudes, la fréquence et le lieu d'achat des arachides.



Les enquêtes ont été réalisées dans la ville de Fès, la collecte des questionnaires s'est déroulée du février à mars 2013. Le traitement des données et la réalisation des graphiques ont été réalisés grâce à l'Excel.

## 1. Enquête auprès des consommateurs

### 1.1. Distribution des achats de fruits secs

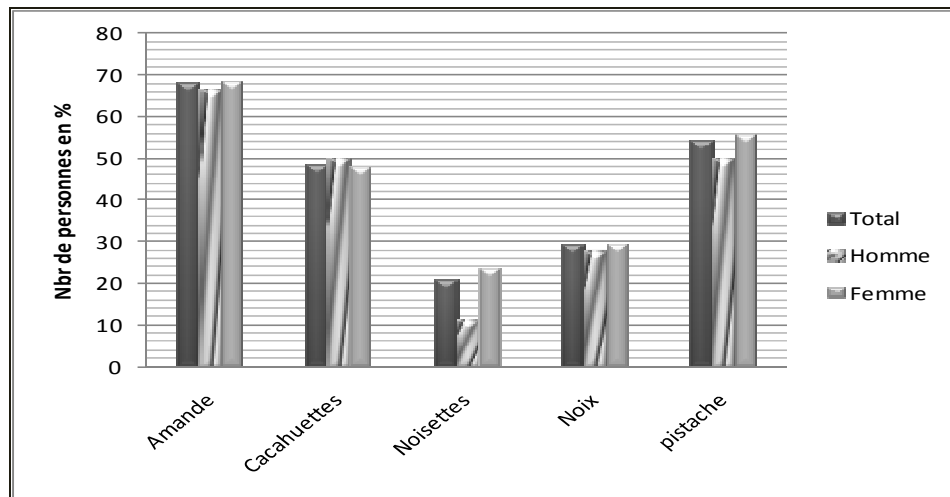


Figure 1 : Distribution des achats de fruits secs

Sur les 72 responsables des achats de fruits secs, la majorité des consommateurs (68%) préfèrent les amandes, tandis que les 48% préfèrent les arachides, les pistaches (54%), les noix (29%) et les noisettes (20%). Nous constatons ainsi que les femmes sont les plus grands consommateurs de fruits secs (69% des amandes, 48% des arachides, 24% des noisettes, 30% des noix et 55% des pistaches) par rapport aux hommes (66% des amandes, 50% des arachides, 11% des noisettes, 28% des noix et 50% des pistaches) (figure 1).

### 1.2. Les habitudes d'achats des arachides

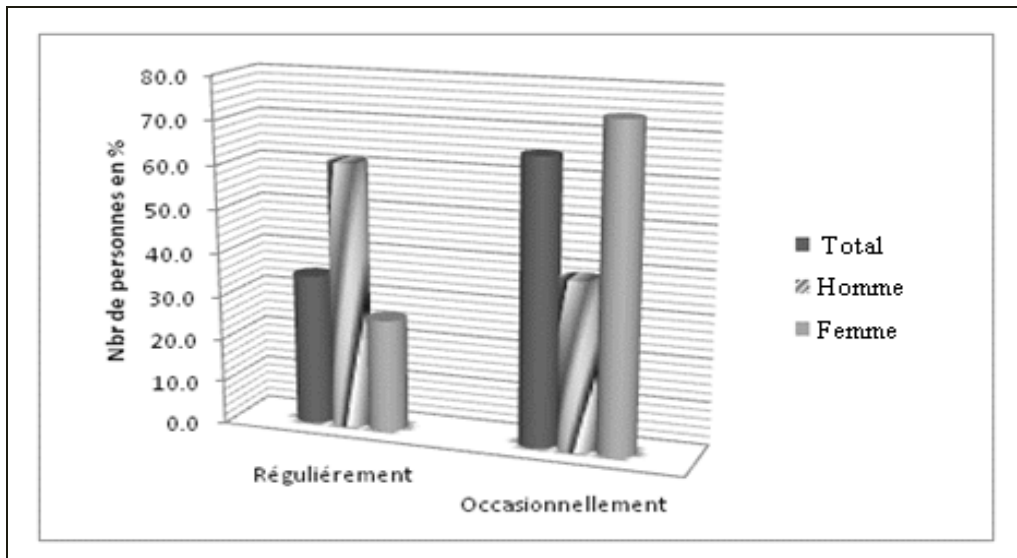


Figure 2 : Habitudes d'achats des arachides

Selon le sondage effectué auprès des consommateurs, on note une plus forte proportion de consommateurs des arachides qui vont acheter occasionnellement (65%), tandis que les 35% achètent régulièrement leurs arachides. On note ainsi, que la majorité des consommateurs qui achètent régulièrement (61%) sont des hommes, et occasionnellement (74%) sont des femmes (figure 2).

### 1.3. Les périodes d'achats des arachides

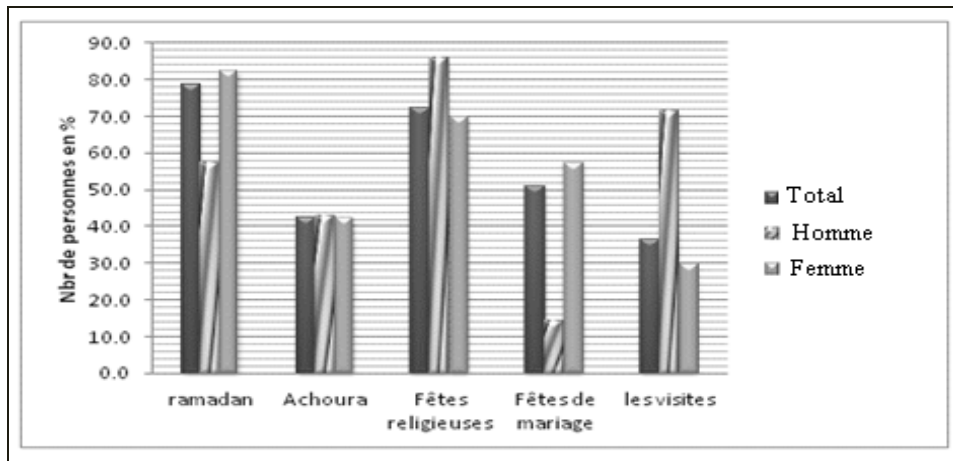


Figure 3 : Période d'achats des arachides

Pour ceux qui achètent occasionnellement leurs arachides, on note que la majorité des acheteurs consomment plus les arachides en Ramadan (79%) et pendant les fêtes religieuses (72%). On note ainsi que les hommes consomment plus les arachides durant les fêtes religieuses (86%) et les visites (71%) par rapport les femmes qui les consomment plus en Ramadan (82%) et durant les fêtes religieuses (70%) (Figure 3).

#### 1.4. La fréquence d'achat des arachides

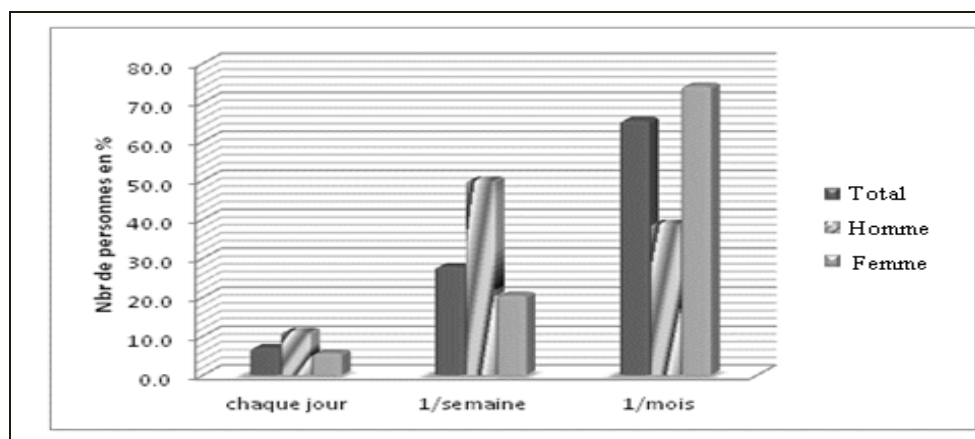


Figure 4 : Fréquence d'achat des arachides

D'après cette figure, nous constatons que 65% des consommateurs achètent des arachides une fois par mois, tandis que les 28% achètent une fois par semaine et 9% achètent chaque jour. Nous constatons ainsi que les hommes (50%) sont d'avantage portés à acheter des arachides une fois par semaine, contre les femmes (74%) qui tendent à l'en acheter une fois par mois (figure 4).

### 1.5. Lieu d'achat des arachides

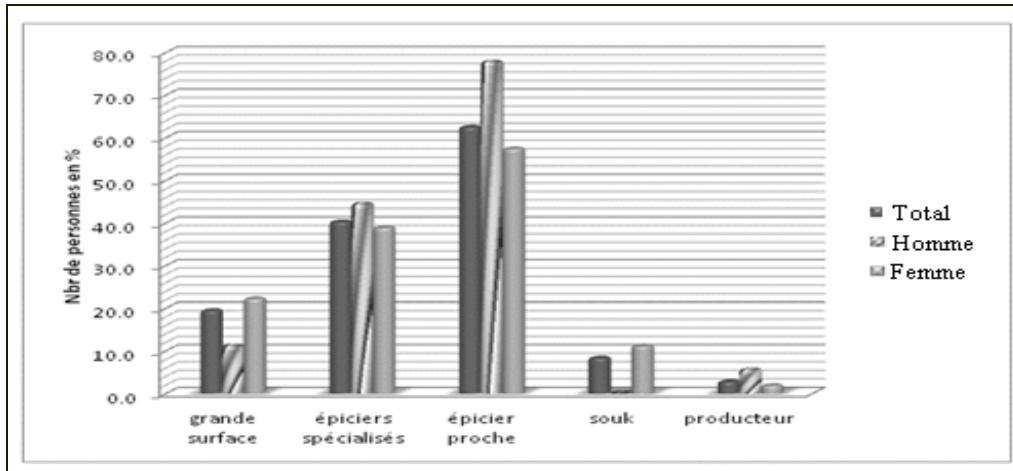


Figure 5 : Lieu d'achat des arachides

Selon le sondage effectué auprès des consommateurs, nous constatons que l'épicier proche représente le principal lieu d'achat des arachides (62%), suivie de l'épicier spécialisé (40%), de la grande surface (19%), du souk (8%) et finalement de producteur (3%). On note ainsi que la proximité incite les hommes (78%) et les femmes (57%) à fréquenter principalement un magasin donné, notons aussi que le souk et le producteur ont été spontanément très peu mentionnés par les hommes (0, 6%) et les femmes (11%, 2%) (Figure 5).

### 1.6. Type d'achat des arachides

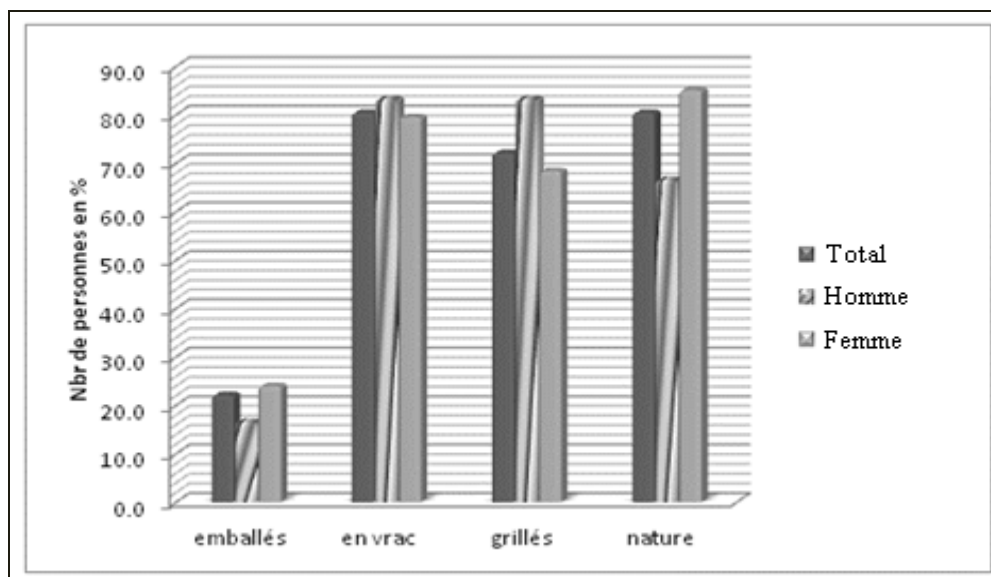


Figure 6 : Type d'achat des arachides



D'après cette figure, nous constatons que la majorité des consommateurs achètent les arachides en vrac (81%) et nature (80%). On note ainsi que les hommes consomment plus les arachides grillés (83%) par rapport les femmes qui tendent à acheter les arachides nature (85%) (Figure 6).

## 2. Enquête chez les vendeurs

### 2.1. Distribution des vendeurs

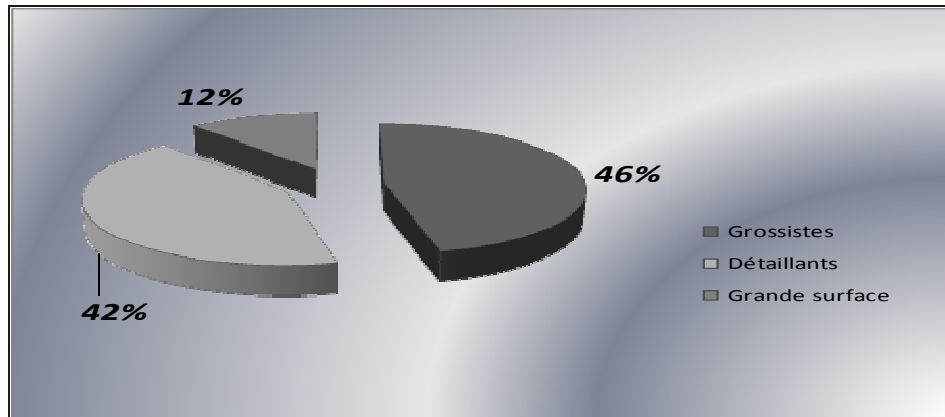


Figure 7 : Distribution des vendeurs

Selon le sondage effectué auprès de 52 vendeurs, 46% des répondants sont des grossistes, 42% sont des détaillants et 12% sont des grandes surfaces (figure 7).

### 2.2. Origine d'achat des grossistes

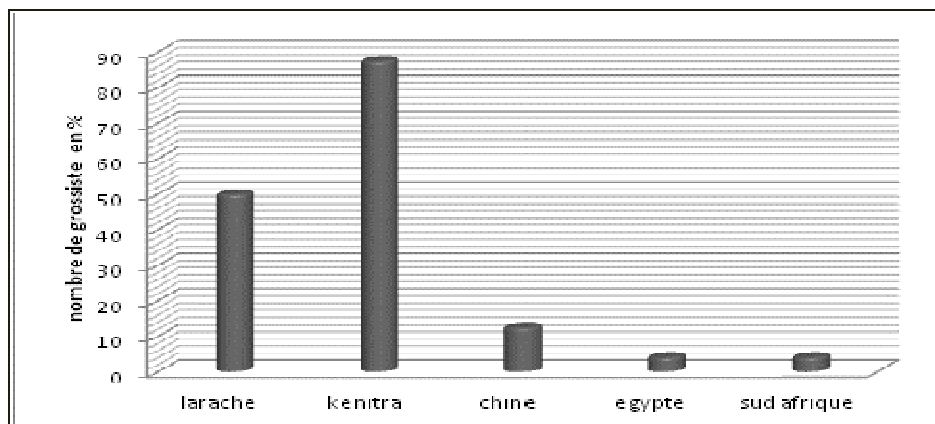


Figure 8: Origine d'achat des grossistes



Parmi 24 grossistes, on note une plus forte proportion de vendeurs qui achètent leurs arachides à partir de la région Kenitra (88%), suivie de Larache (50%), chine (13%), Egypte (4%) et sud Afrique (4%) (Figure 8).

### 2.3. La durée de stockage (grossistes)

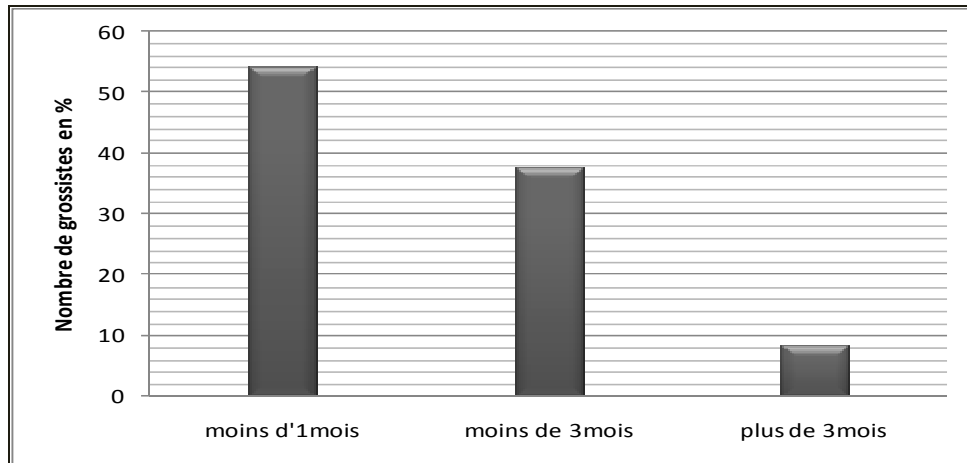


Figure 9 : Durée de stockage (grossistes)

D'après cette figure, nous constatons que plus de la moitié des grossistes (54%) conservent leurs arachides moins d'un mois, tandis que les 38% conservent moins de trois mois. Nous observons ainsi que 8% des grossistes peuvent se conserver les arachides plusieurs mois (voir plus de trois mois) (figure 9).

### 2.4. Origine d'achat des détaillants

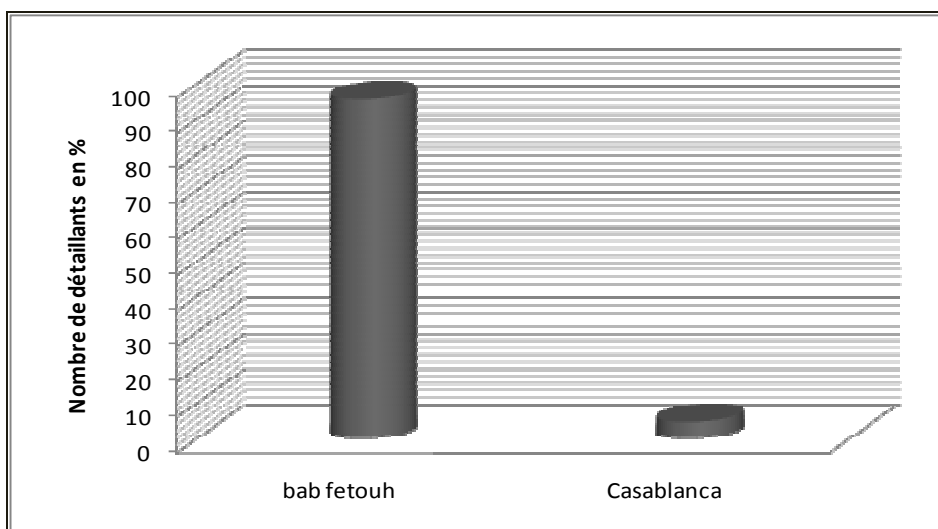




Figure 10 : Origine d'achat des détaillants

Parmi les 22 responsables du commerce de détail, presque tous les détaillants achètent leurs arachides à partir de la zone Bab fetouh (95%). En effet, seulement 5% achètent leurs arachides à partir de la ville Casablanca (figure 10).

## 2.5. La durée de stockage (détaillants)

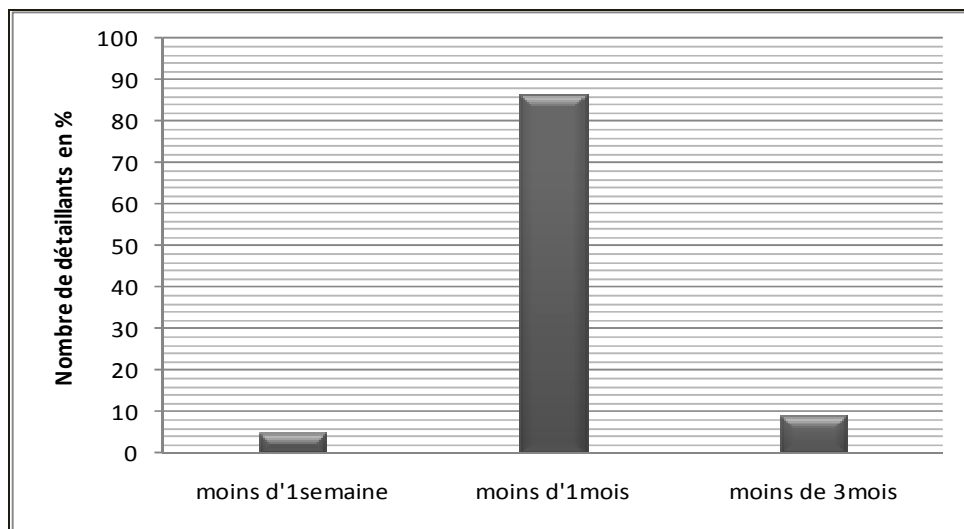


Figure 11 : Durée de stockage (détaillants)

D'après cette figure, nous constatons que presque toutes les détaillants (86%) conservent leurs arachides moins d'un mois, tandis que les 9% conservent leurs arachides moins de trois mois (figure 11).

## 2.6. Pourcentage de conformité aux principes d'hygiène



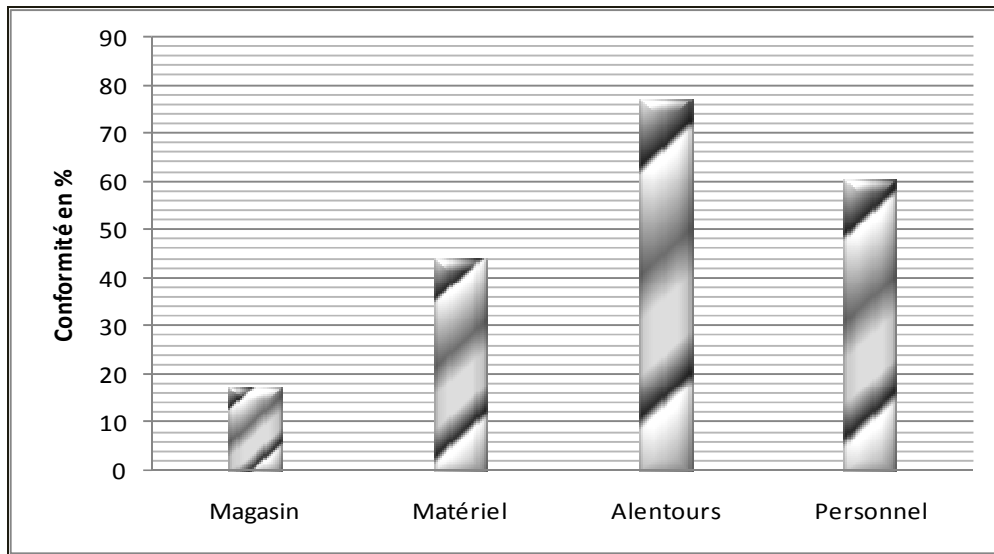


Figure 12 : Conformité aux principes d'hygiène

L'analyse de la conformité montre que le taux de conformité est de 17% pour les magasins, 44% pour le matériel, 77% pour les alentours du magasin et 60% pour le personnel (figure 12).

## II. Résultats du dénombrement des contaminants microbiologiques

### 1. Dénombrement de la flore aérobie totale (FMAT)

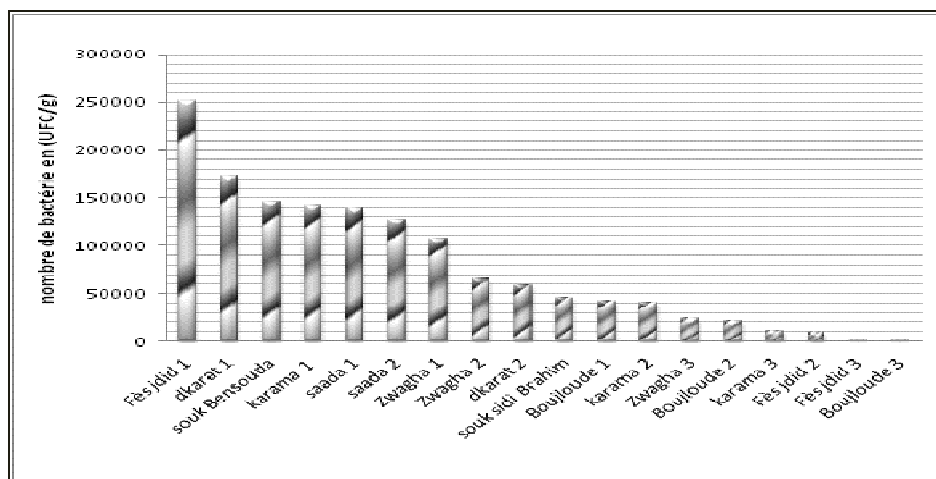


Figure13 : Dénombrement de la FMAT chez les détaillants

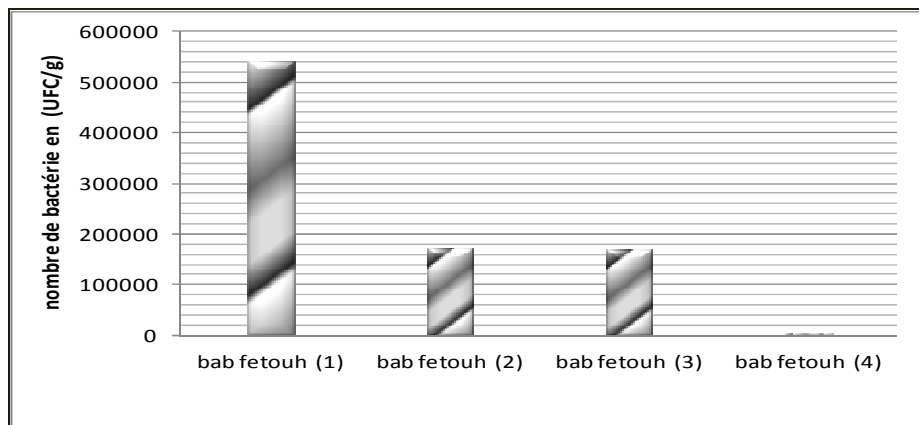


Figure14 : Dénombrement de la FMAT chez les grossistes

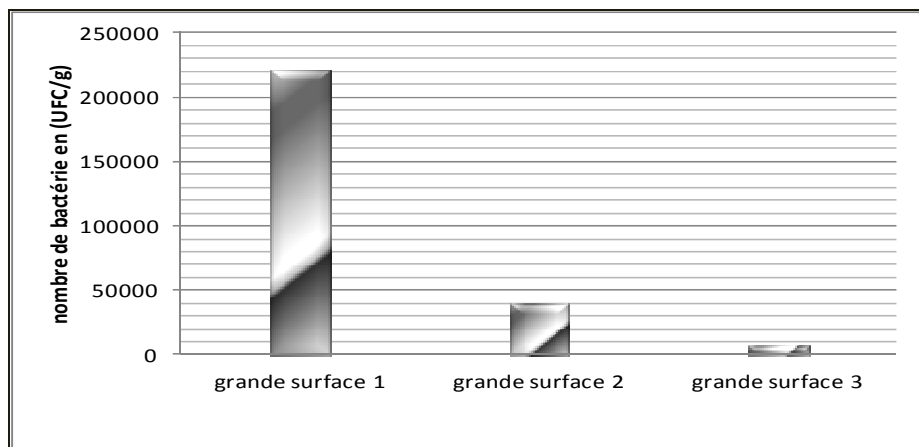


Figure 15 : Dénombrement de la FMAT chez les grandes surfaces

Les résultats représentés dans ces figures montrent que la valeur de FMAT dans les échantillons examinés, chez les différents détaillants, varie entre une valeur maximale de  $252 \cdot 10^3$  UFC/g et une valeur minimale de  $10^3$  UFC/g, cette valeur maximale de FMAT est détectée à Fès jdid, suivie à une valeur de  $173 \cdot 10^3$  UFC/g détectée à Dkarat,  $146 \cdot 10^3$  UFC/g (souk bensouda) et  $142 \cdot 10^3$  UFC/g détectée dans le quartier de karama (figure 13).

Chez les différents grossistes de Bab fetouh, nous avons constaté que le nombre de FMAT dans les échantillons des arachides varie entre une valeur minimale de  $10^3$  UFC/g (Bab fetouh 4) et une valeur maximale de  $54 \cdot 10^4$  UFC/g (Bab fetouh1) (figure 14). Tandis que dans les grandes surfaces, la charge bactérienne de FMAT varie entre une valeur minimale de  $7 \cdot 10^3$  UFC/g et une valeur maximale de  $22 \cdot 10^4$  UFC/g qui est détectée au niveau des arachides (figure15).

## 2. Dénombrement des champignons

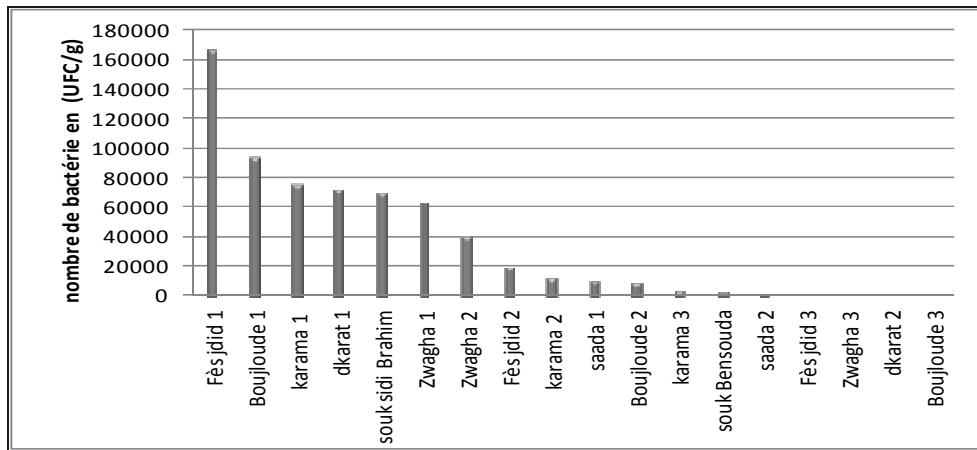


Figure 16 : Dénombrement des champignons chez les détaillants

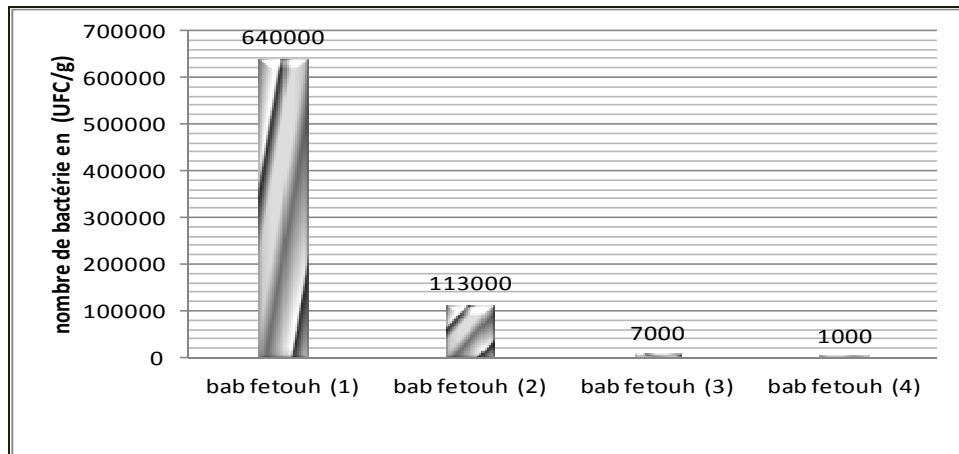


Figure 17 : Dénombrement des champignons chez les grossistes

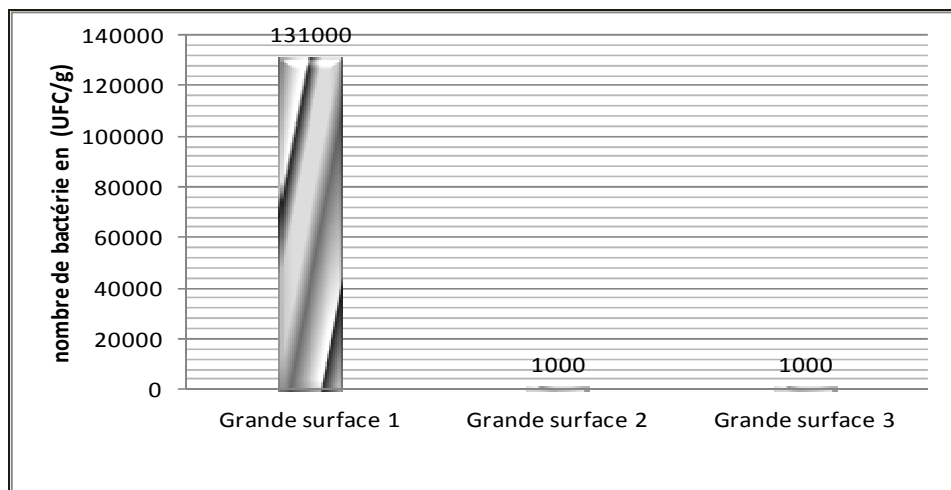


Figure 18: Dénombrement des champignons chez les grandes surfaces



D'après ces figures, nous avons remarqué que la valeur des champignons dans les échantillons examinés, chez les différents détaillants, varie entre une valeur maximale de  $167 \cdot 10^3$  UFC/g et une valeur minimale de  $10^3$  UFC/g, cette valeur maximale est détectée à Fès jdid, suivie à  $94 \cdot 10^3$  UFC/g détectée à boujloude et  $75 \cdot 10^3$  UFC/g détectée dans le quartier de karama (1) (figure 16).

Chez les différents grossistes de Bab fetouh, le nombre de champignons dans les échantillons des arachides varie entre une valeur minimale de  $10^3$  UFC/g (Bab fetouh 4) et une valeur maximale de  $64 \cdot 10^4$  UFC/g (Bab fetouh1) (figure 17). Tandis que chez les grandes surfaces, le nombre des champignons varie entre une valeur minimale de  $10^3$  UFC/g et une valeur maximale de  $131 \cdot 10^3$  UFC/g qui est détecté au niveau des arachides (figure 18).

### 3. Dénombrement des coliformes totaux

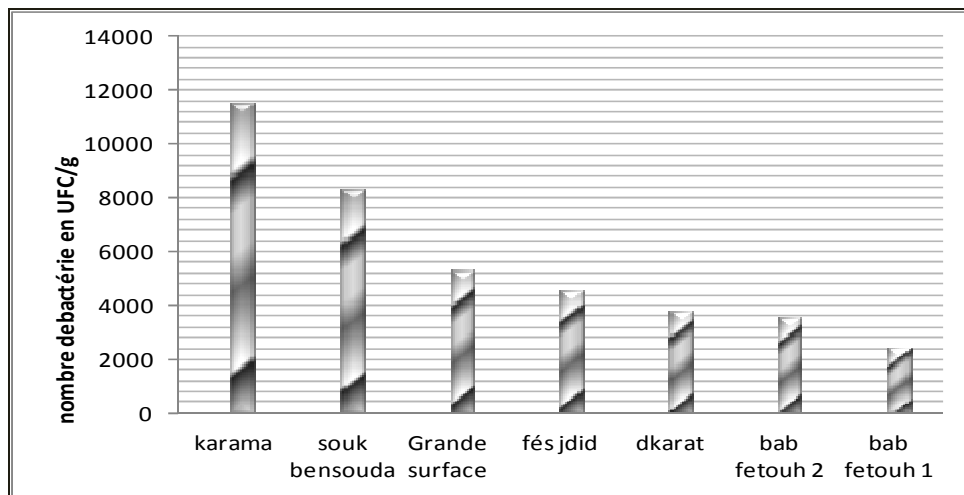


Figure 19: Dénombrement des coliformes chez les détaillants

Le nombre de coliformes dans les échantillons de arachides varie entre une valeur minimale de  $24 \cdot 10^2$  UFC/g détectée à Bab fetouh (1) et une valeur maximale de  $115 \cdot 10^2$  UFC/g qui été détectée dans le quartier de karama (figure 19).

## III. Evaluation des contaminants microbiologiques sur milieu liquide

### 1. Evaluation de FMAT sur milieu liquide

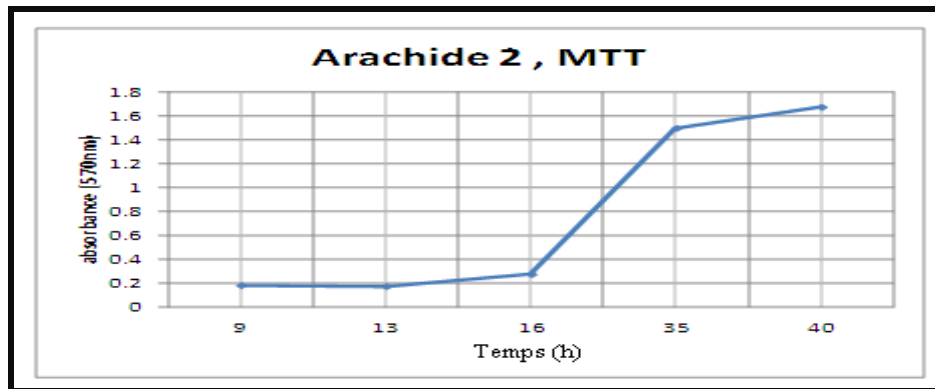


Figure 20 : Evaluation du FMAT avec le MTT

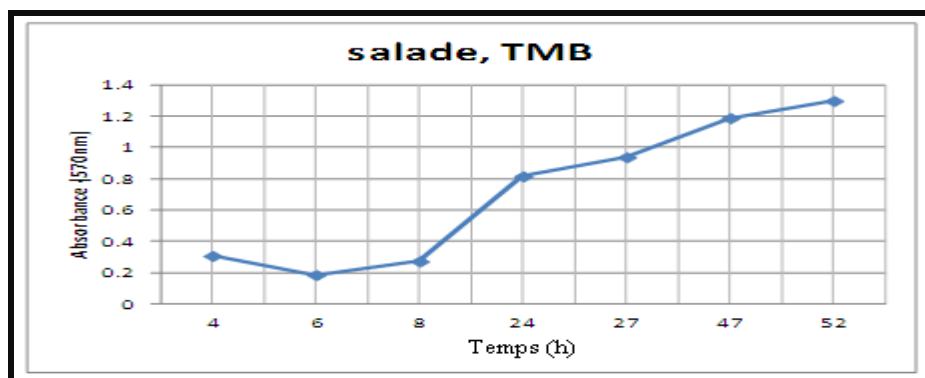


Figure21 : Evaluation de FMAT avec le TMB

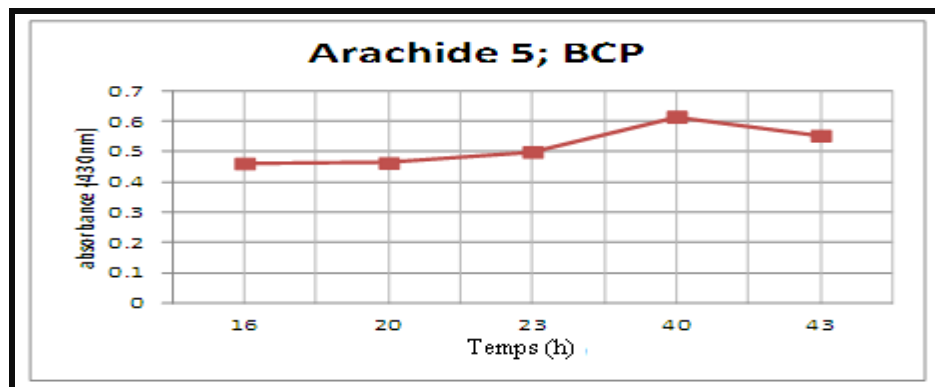


Figure 22 : Evaluation de FMAT avec le BCP

D'après la figure 20, nous avons remarqué après une baisse initiale, une forte augmentation exponentielle de la charge microbienne qui a été signalé à 16h, ce qui correspond à la visualisation de la coloration du MTT indiquant la présence de la flore aérobie dans l'échantillon. En comparant avec le test de dénombrement de FMAT, nous avons trouvé également un nombre très élevé de germes microbiens arrivant à  $46 \cdot 10^3$  UFC/g.



Concernant le substrat TMB, nous avons observé qu'il se colore à partir de 6h avec une augmentation progressive de la charge microbienne qui précède une baisse initiale (figure 21).

A partir de la figure 22, nous avons remarqué que le bromocrésol se colore à partir de 20h avec une augmentation faible de la charge microbienne qui précède une stabilisation, puis un arrêt de germes qui à été observé dans le temps 40h, suivie par une diminution remarquable à 40h.

Concernant le substrat PNPP, nous n'avons remarqué aucun changement de coloration comme pour le BCP, ce qui nous permet de penser que ces substrats ne sont pas efficaces pour ce test.

## 2. Evaluation des champignons sur milieu liquide

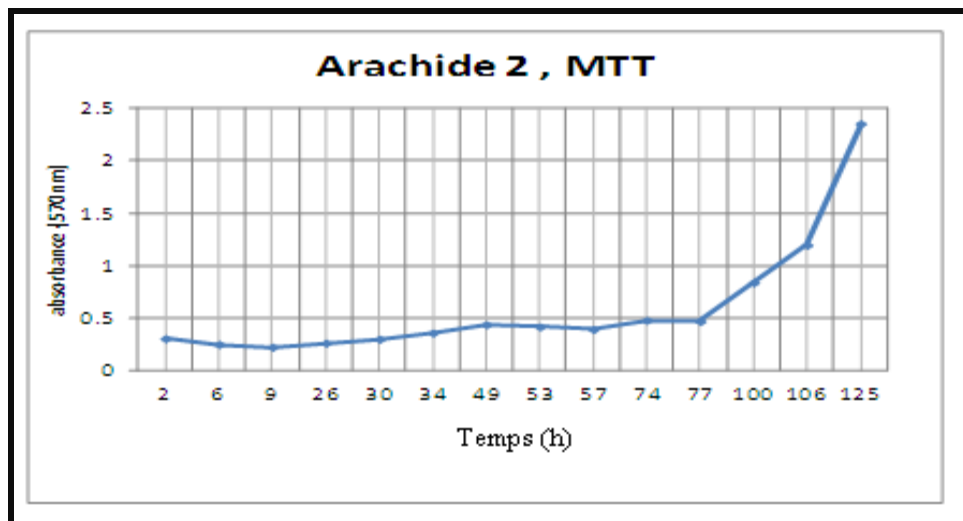


Figure 23 : Evaluation des champignons avec le MTT

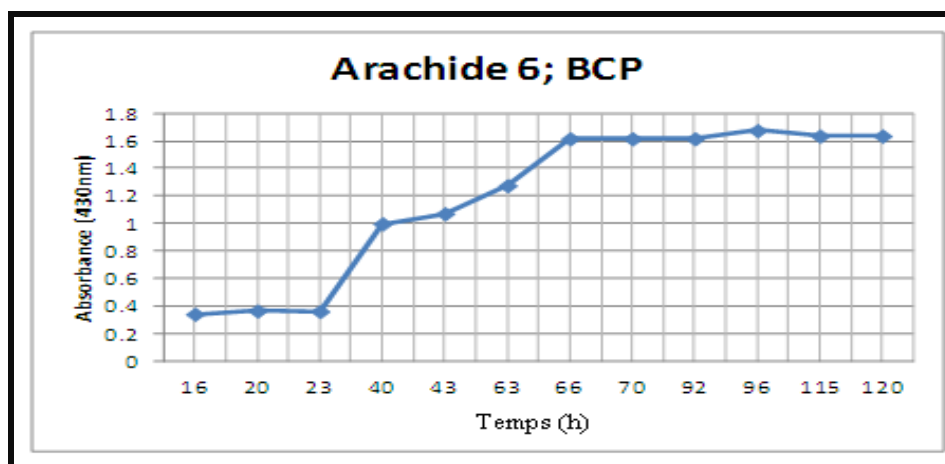


Figure 24 : Evaluation des champignons avec le BCP

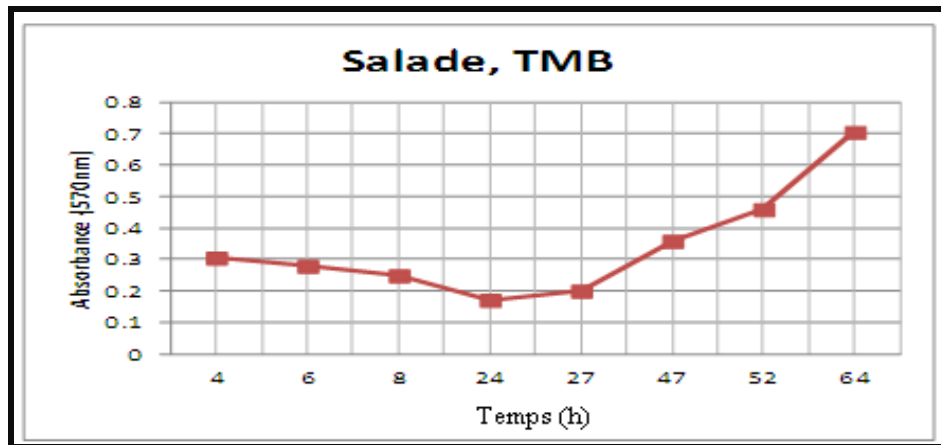


Figure 25 : Evaluation des champignons avec le TMB

D'après la figure 23, nous avons remarqué une forte augmentation de la charge microbienne qui a été signalé dans le temps 77 h, ce qui correspond à la visualisation de la coloration du MTT indiquant la présence des champignons dans l'échantillon. En comparant avec le test de dénombrement de champignons, nous avons trouvé également un nombre très élevé de germes arrivant à  $70 \cdot 10^3$  UFC/g.

A partir de la figure 24, nous avons remarqué que le BCP se colore à partir de 23h avec une augmentation progressive de la charge microbienne qui précède une stabilisation, puis un arrêt de germes à été signalé dans le temps 66h, suivi une stabilisation progressive de la charge microbienne. En comparant avec le test de dénombrement de champignons, nous avons trouvé également un nombre très élevé de germes microbiens arrivant à  $16710^3$  UFC/g.

Concernant le substrat TMB, nous avons observé qu'il se colore à partir de 24h avec une augmentation progressive mais faible de la charge microbienne (figure 25).

### 3. Evaluation des coliformes sur milieu liquide

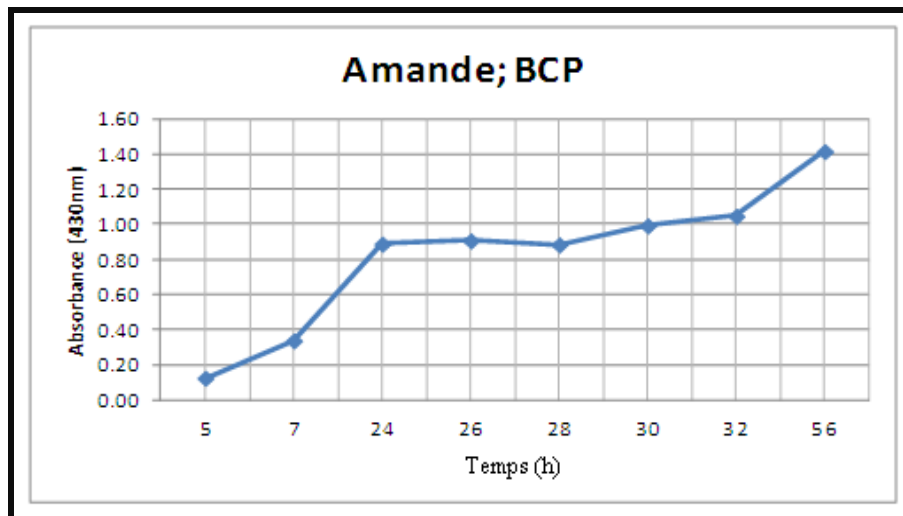


Figure26 : Evaluation des coliformes avec le BCP

A partir de la figure 26, nous avons remarqué une augmentation remarquable à partir de 5h suivie par une stabilisation de la charge microbienne à partir de 24h. La coloration des tubes ne se voit visuellement qu'à partir de 28h. En comparant avec le test de dénombrement de coliformes, nous avons trouvé également un nombre très élevé de germes arrivant à  $2310^2$  UFC/g.

#### IV. Analyse des aflatoxines B1 dans les arachides par la technique d'ELISA

Les analyses ont été faites par un kit spécifique pour la détection des aflatoxines B1 (R-Biopharm, Germany). La méthode utilisée est le test ELISA par compétition qui est basée sur des réactions immunologiques entre l'anticorps et l'antigène. La quantification de ces molécules nécessite l'élaboration d'une courbe d'étalonnage en faisant appel à des standards des aflatoxines contenant différentes concentrations. La lecture des résultats est faite à 450nm. Le traitement et l'analyse des résultats ont été faits par le logiciel Excel.





**Tableau 1 : Analyse des aflatoxines dans les arachides :**

N° d'échantillons	Absorbance (%)	Taux d'aflatoxine
C1	156,52	0
C2	134,78	0
C3	163,77	0
C5	66,67	0
C6	150,72	0
C7	104,35	0
C8	114,49	0
C9	118,84	0
C10	124,64	0
C11	124,64	0
C12	134,78	0
C13	143,48	0
C14	111,59	0
C15	144,93	0
C16	108,70	0
C17	111,59	0
C18	156,52	0
C19	84,06	0
C20	157,97	0
C21	130,43	0
C22	136,23	0
C23	107,25	0
C24	121,74	0
C25	121,74	0

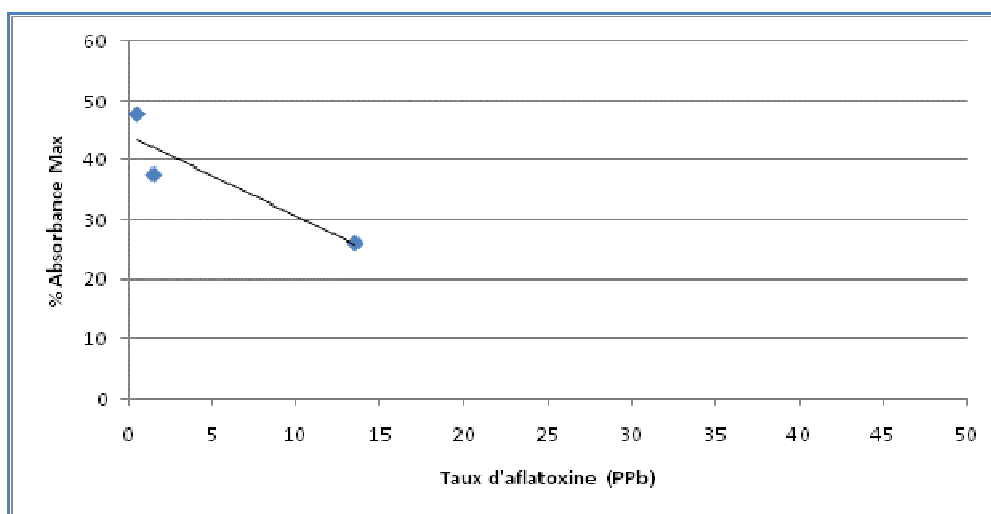




Figure 27 : Courbe d'étalonnage

Les résultats obtenus ont montré que tous les échantillons analysés par la technique ELISA ne contiennent pas d'aflatoxine B1, ce qui nous permet de penser que les champignons n'ont pas les conditions favorables pour produire les aflatoxines (des conditions environnementales notamment de la température et de l'humidité pendant la culture ou le stockage) (tableau 1).

## V. Analyse d'amandes emballées

Un échantillon d'amande emballée a été analysé pour la FMAT et les champignons. Les résultats ont montré l'absence de FMAT et les champignons à 100 UFC/g.

## Discussion

Au Maroc, les arachides sont très consommées crues et grillées, d'où la nécessité d'évaluer la qualité sanitaire de ces produits.



Dans cette étude, nous avons étudié en premier les circuits de vente et les habitudes de consommation de ces produits, ce ci a été réalisé à travers une enquête qui a concerné 72 consommateurs.

Les résultats obtenus montrent que la majorité des consommateurs achètent les arachides en vrac (81%) et nature (80%) dont le principal lieu d'achat constitue l'épicier proche (62%), ce qui montre que les consommateurs recherchent plutôt la proximité du commerce. Nous avons constaté également que toutes 65% achètent des arachides une fois par mois, et occasionnellement surtout en Ramadan (79%) et durant les fêtes religieuses (72%),

Une enquête a été réalisée également chez les différents vendeurs des arachides de la ville de Fès (grossistes, détaillants, grande surface). D'après les résultats obtenus nous avons remarqués :

- Une plus forte proportion des grossistes (88%) qui achètent leurs arachides à partir de la région de Kenitra.
- Presque tous les détaillants (95%) achètent leurs arachides à partir de la zone de Bab fetouh à Fès.
- 50% des grandes surfaces achètent leurs arachides à partir d'une société à Casablanca,
- Plus de la moitié des grossistes (54%) et presque tous les détaillants (86%) conservent les arachides moins d'un mois,
- L'analyse de la conformité montre que le taux de conformité est de 17% pour les magasins, 44% pour le matériel, 77% pour les alentours du magasin et 60% pour le personnel.

Les résultats de cette enquête pourraient nous faire penser que la contamination des arachides par les germes microbiens peut provenir de plusieurs conditions non hygiéniques : la vente en vrac, la contamination croisée, état d'hygiène du lieu de vente, des moyens de transports et des mauvaises conditions de stockage.

D'autre part, les résultats d'analyse de dénombrement montrent que presque tous les échantillons analysés par la méthode classique de numération sur gélose sont largement contaminés par les champignons, la FMAT et les coliformes avec des concentrations qui dépassent les limites fixés par la réglementation européenne chez les différents vendeurs de la ville de Fès.

Les teneurs élevés en FMAT dans les échantillons d'arachide peuvent provenir d'une mauvaise hygiène du magasin, des vendeurs et provient souvent des surfaces et matériels mal nettoyés.



- Concernant les champignons, nous avons trouvé également des valeurs très élevés qui dépassent les limites fixés par la réglementation européenne qui est de l'ordre 1000 UFC/g. Ces valeurs ont été détectées : chez les détaillants dont la valeur maximale est de  $167 \cdot 10^3$  UFC/g, Chez les grossistes principalement dans la zone de bab fetouh ( $64 \cdot 10^4$  UFC/g) et chez les grandes surfaces dont la valeur maximale est de  $131 \cdot 10^3$  UFC/g.

Les arachides peuvent être contaminées au cours du stockage à savoir les conditions et la durée de stockage, de la manutention et du transport du produit qui pourraient augmenter de façon dramatique les teneurs en champignons dans les arachides.

- Concernant les coliformes, nous avons trouvé ainsi un nombre très élevé qui dépasse les limites fixés par la réglementation européenne qui est de l'ordre 10 UFC /g. Ces valeurs ont été détectées chez les grossistes dans la zone de Bab fetouh ( $24 \cdot 10^2$  UFC/g) et chez les détaillants principalement dans le quartier de karama ( $115 \cdot 10^2$  UFC/g).

Les teneurs élevés en coliformes dans les échantillons des arachides, a confirmé la mauvaise pratique de l'hygiène chez les gestionnaires de produits (non lavage et non désinfection des mains ou après manipulations d'emballages contaminés, de matières premières, etc..).

Des études réalisées en Afrique (Adjou et al, 2012 ; Ezekiel et al, 2012) analysant des échantillons de cake à base d'arachide, ont montré un nombre très élevé de contaminants microbiologiques qui dépasse les limites fixés par la réglementation. Les auteurs attribuent cette forte contamination aux arachides qui nécessitent la mise en place de bonnes pratiques d'hygiène depuis la production jusqu'à la consommation.

Des résultats similaires ont été publiés par Odu et Okonko (2012) où la qualité bactériologique du beurre d'arachide des marchés locaux de Nigéria, a montré une forte présence de la FMAT ainsi que des bactéries pathogènes comme *Staphylococcus*, *Salmonella* et autres avec une charge importante de coliformes.

Concernant l'analyse des aflatoxines, nous avons constaté qu'aucune aflatoxine B1 n'a été détectée dans les différents échantillons analysés par la technique ELISA. Ce qui nous permet de penser que



les échantillons ne sont pas contaminés par des espèces de champignons sécréteurs d'aflatoxine. Par contre, d'autres études (adjou et al, 2012) ont montré, pour tous les échantillons d'arachides analysés, une concentration d'aflatoxine B1 élevée qui était variée entre 25.54 et 455.22 g / kg. Ce niveau élevé de contamination est également similaire à ceux obtenus par d'autres travailleurs du Nigeria (Akano et Atanda, 1990; Adebessin et al, 2001).

Des niveaux plus élevés d'aflatoxines ont également été signalés dans d'autres régions du monde (Nigeria: 20 à 455 mg / kg; Mozambique: 3-5500 mg / kg; Pakistan: 24 à 800 mg / kg, et le Brésil: 5-22500 mg / kg) (Hüni et al, 1990). Ces teneurs élevées en aflatoxines peuvent être provenir de plusieurs facteurs qui influencent la croissance des moisissures et la production des mycotoxines pendant la culture et la récolte à savoir les conditions de stockage, de transformation et/ou de transport des arachides.

En dernier, Concernant les résultats obtenus du test liquide, nous avons constaté pour les différents échantillons analysés que pour les champignons, les substrats MTT et BCP sont plus efficace pour la détection des champignons par rapport au TMB dont le signal de coloration reste faible. Pour les coliformes, le substrat BCP est très efficace pour la révélation des coliformes, avec un changement rapide de coloration pour une durée courte à partir de 5h si la charge est importante.

Concernant l'analyse d'amande emballée, les résultats ont montré l'absence de FMAT et les champignons à 100 UFC/g. En effet ces résultats confirment le rôle d'emballage des fruits secs depuis la production jusqu'à la consommation.

## Conclusion

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer la qualité sanitaire des arachides dans les différentes zones de la ville de Fès. Pour cela un questionnaire a été préparé afin de mettre en évidence les habitudes alimentaires, les circuits de distribution, et l'hygiène des magasins.



Dans un deuxième temps, nous avons collectés des échantillons de différentes zones et à différents niveaux de ventes (grossistes, supermarchés, détaillants) afin d'évaluer la qualité microbiologique des arachides. Ensuite, nous avons regardé le niveau de contamination par les mycotoxines. Et finalement, nous avons effectué un test liquide dont le but principale est la mise au point d'un test simple et rapide de suivie la charge microbienne avec une évaluation biochimique colorimétrique visuelle.

L'ensemble de cette étude nous a permis de tirer les constatations suivantes :

- la majorité des consommateurs achètent les arachides en vrac auprès de l'épicier proche. Les achats sont occasionnels surtout en Ramadan et durant les fêtes religieuses.
- Presque tous les échantillons analysés sont largement contaminés par les champignons et les coliformes chez les différents vendeurs (grossistes, détaillants, grandes surfaces) de la ville de Fès, avec des concentrations très élevés qui dépassent les limites fixés par la réglementation européenne.
- la contamination des arachides par les germes microbiens peut provenir de plusieurs conditions non hygiéniques : la vente en vrac, la contamination croisée, mauvaise hygiène des vendeurs, état d'hygiène du lieu de vente, des moyens de transports et des mauvaises conditions de stockage.
- les échantillons analysés par la technique ELISA ne contiennent pas d'aflatoxine B1. Ce qui nous permet de penser que les échantillons ne sont pas contaminés par des espèces de champignons sécréteurs d'aflatoxine.
- Ce travail a permis également de mettre au point une base pour des tests microbiologiques rapides sur milieu liquide.

Il est à recommander à la fin que les arachides soient emballées dans des emballages qui vont éviter leur contamination le long des circuits de vente.

## **Références bibliographiques**



- ❖ Adams, M.R. & Moss, M.O. Toxingenic fungi. In “Food microbiology”, 2002; RSC, UK, 282-301.
- ❖ Adebayo-Tayo AC; Odu NN; Michael MU; Okonko IO. Multi-Drug Resistant (MDR) Organisms isolated from Sea-foods in Uyo, South-Southern Nigeria. *Nature and Science*, 2012a; 10(3): 61-70.
- ❖ Adebayo-Tayo BC, Adegoke AA and Akinjogunla OJ. Microbial and physico-chemical quality of powdered soymilk samples in Akwa Ibom, South Southern Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 2009; 8 (13): pp. 3066-3071.
- ❖ Adebayo-Tayo BC, Odu NN, Okonko IO. Microbiological and physiochemical changes and its correlation with quality indices of tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) sold in Itu and Uyo markets in Akwa Ibom State, Nigeria. *New York Science Journal*, 2012c; (4):38-45.
- ❖ Adebayo-Tayo BC, Onllude AA, Ogunjobi AA. Bacteriological and Proximate Analysis of Periwinkle from two different creeks in Nigeria. *World Applied Science Journal*, 2006; 1 (2) 87-91.
- ❖ Adebessin AA, Saromi OT, Amusa NA, Fagade SO. Microbiological quality of some groundnut products hawked in Bauchi, a Nigerian City. *J. Food Technol. Afr*, 2001; 6(2):53-55.
- ❖ Akano DA, Atanda O. The present level of aflatoxin in peanut. *Lett. Appl. Microbiol*, 1990; 10:187-189.
- ❖ Arrus, K., Blank, G., Abramson, D., Clear, R., Holley, R.A. Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in Brazil nuts. *J. Stored Prod. Res*, 2005; 4, 513–527.
- ❖ Autrup, J.L., Schmidt, J., Seremet, T., Autrup, H. Determination of exposure to aflatoxins among Danish workers in animal-feed production through the analysis of aflatoxin B1 adducts to serum albumin. *Scand. J. Work Environ. Health*, 1991; 17, 436-440.
- ❖ Awad, H. M. – Boersma, M. G. – Vervoort, J. – Rietjens, I. M. Peroxidase catalyzed formation of quercetin quinone methide-glutathione adducts. In *Archives of Biochemistry and Biophysic*, vol. 378, 2000, (2000); p. 224-233.



- ❖ Câmara, G. M. S. Introdução a` cultura do amendoim. Departamento de Agricultura, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, (1998); (21 p).
- ❖ CDC (2007). Multistate outbreak of Salmonella serotype Tennessee infections associated with peanut butter - United States, 2006—2007. MMWR, 56(21). Retrieved 20 July, 2009, from CDC website: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5621a1.htm>
- ❖ CDC (2009b). Salmonella in pistachio nuts, 2009. Retrieved 20 July, 2009, from CDC web site: <http://www.cdc.gov/Salmonella/pistachios/update.html>
- ❖ Chapeland- Leclerc, F., Papon N., Noël T. & Villard J. Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicoses). Revue Française des Laboratoires, (2005); 373.
- ❖ Code d’usages en matière d’hygiène pour les arachides CAC/RCP 22-1979, pages 1-17.
- ❖ Consumer Reports (2009). Peanut Problems in a Nutshell, website <http://blogs.consumerreports.org/health/html>.
- ❖ Danyluk, M.D., Jones, T.M., Abd, S.J., Schlitt-Dittrich, F., Jacobs, M., & Harris. L.J. Prevalence and amounts of Salmonella found on raw California almonds. Journal of Food Protection, (2007); 70(4), 820-827.
- ❖ Diener, U.L., Petrit, R. E. and Cole, R. 1. Aflatoxins and other mycotoxins in peanuts. In Peanut science and technology (chap. 13). APRES, US, 1982.
- ❖ Diener, U.L., Cole, R.J., Sanders, T.H., Payne, G.A., Lee, L.S., Klich, M.A. Epidemiology of aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. Annu. Rev. Phytopathol, 1987; 25, 249–270.
- ❖ Dill hay, Tom D. Earliest known evidence of peanut, cotton and squash farming found. Academic press, New York, (2007); pp 383-426.
- ❖ Erkmen, O., Bozoglu, T.F. Food Microbiology 1: Microorganisms in Foods, Microbial Growth, Foodborne Diseases and Detection of Microorganisms and their Toxins. Ilke Publishing Company, Ankara, 2008a.
- ❖ Euloge S. Adjou, Boniface Yehouenou, Codjo M. Sossou, Mohamed M. Soumanou and Comlan A. de Souza; Occurrence of mycotoxins and associated mycoflora in peanut cake product





(kulikuli) marketed in Benin; African Journal of Biotechnology, Vol. 11(78), 27 September, 2012; pp. 14354-14360.

- ❖ Ezekiel, C. N.; Sulyok, M.; Warth, B.; Odebode, A.C.; Krska, R. Natural occurrence of mycotoxins in peanut cake from Nigeria; Journal Food control, volume 27(2)Elsevier-Oct1,2012; ISSN 0956-7135.
- ❖ Frazier, W.C. and Westhoff, D.C. Food Microbiology. 4th edition. McGraw-Hill Publication Company, NewYork, USA, (1988).
- ❖ Heperkan, D, Ozlem, C.E. Mycotoxins in spices: red pepper. In: Barug, D., van Egmond, H., Lopez-Garcia, R., van Osenbruggen, T., Visconti, A. (Eds.), Meeting the Mycotoxin Menace. Academic Publishers, Wageningen, 2004; pp. 197–219.
- ❖ Kendall C et al. “Longer-term effects of a low glycemic index diet on glycemic control in Type 2 diabetes” 2009 Experimental Biology meeting abstracts, Abstract #563.30; accessed 30-4-09; FASEB Journal 2009; 23:563.30.
- ❖ Kirk, M.D., Little, C.L., Lem, M., Fyfe, M., Genobile, D., Tan, A., et al. An outbreak due to peanuts in their shell caused by Salmonella enterica serotypes Stanley and Newport – sharing molecular information to solve international outbreaks. Epidemiology and Infection, (2004); 132(4), 571 – 577.
- ❖ Krishnappa, N.,Narayanaswamy,S.,Sreerama,R. Role of packaging material on storage mycoflorain groundnut(*Arachis hypogea* L.) seeds.Curr. Res., University of Agricultural Sciences (Bangalore), 1999; 28,132–135.
- ❖ Lorenzo Maggioni,Stanko Georgiev, Elinor Lipman; Arachis Genetic Resources in Europe: Ad Hoc Meeting, Eurppean cooperative Programme for crop genetic rressources networks ECP/GR , 15-16 November 2002; Plovdiv, Bulgaria, page 22.
- ❖ Maeba, H., Takamoto, Y., Kamimura, M. and Miura, T. Destruction and detoxification of aflatoxins with ozone. J. Food science, (1988); 53:667-668.
- ❖ Mattes, R. D., Kris-Etherton, P. M., & Foster, G. D. Impact of peanuts and tree nuts on body weight and health weight loss in adults. The Journal of Nutrition, (2008); 138, 1741Se1745S.



- ❖ Nester, E.W., C.E. Roberts and M.T. Nester. Microbiology, A Human perspective WM.C Brown publishers. Oxford, England, 1995.
- ❖ Odu NN and Okonko IO; Bacteriology quality of traditionally processed peanut butter sold in Port Harcourt metropolis, Rivers State, Nigeria. Researcher 2012; 4(6):15-21.
- ❖ Okonko IO, Donbraye E, Babatunde SOI. Microbiological Quality of Seafood processors and water used in two different sea processing plants in Nigeria EJEAFche, 2009b; 8(8): 621- 629.
- ❖ Okonko IO, Ogun AA, Adejoye OD, Ogunjobi AA, Nkang AO, Adebayo-Tayo BC. Hazards analysis critical control points (HACCP) and Microbiology qualities of Sea-foods as affected by Handler's Hygiene in Ibadan and Lagos, Nigeria. African Journal of Food Science, 2009a; 3(1):035- 050.
- ❖ Okonko IO, Ogunjobi AA, Adejoye OD, Ogunnusi TA, Olasogba MC. Comparative studies and Microbial risk assessment of different water samples used for processing frozen sea-foods in Ijoraolopa, Lagos State, Nigeria. African J. Biotechnolo., 2008b; 7(16): 2902-2907.
- ❖ Okonko IO, Ogunjobi AA, Fajobi EA, Onoja BA, Babalola ET, Adedeji AO. Comparative studies and microbial risk assessment of different Readyto- Eat (RTE) frozen sea-foods processed in Ijoraolopa, Lagos State, Nigeria. African J. Biotech., 2008a; 7(16): 2898-2901.
- ❖ Owhe-Ureghe, U. B., Ekundayo, A.O. Agbonlahor, D.E. Oboh, P.A. and Orhue, P. Bacteriological examination of some ready-to-eat foods marketed in Ekpoma, Edo State of Nigeria. Nig. Food J, (1993); 11:45-52.
- ❖ Pamplona-Rogers, G. D. Encyclopedia of Foods and Healing Power. Editorial Safeliz, Spain, 2006. 59 p.
- ❖ Pitt, J. 1. Field studies on *Aspergillus flavus* and aflatoxins in Australian groundnuts, 1989; ICRISAT 223-234.
- ❖ Plessis, K.D., Steiman,H. Practical aspects of adverse reaction to peanut. Curr. Allergy Clin. Immunol, 2004; 17(1), 10–14.
- ❖ Reddy, K.R.N., Abbas, H.K., Abel, C.A., Shier, W.T., Oliveira, C.A.F., Raghavender, C.R. Mycotoxin contamination of commercially important agricultural commodities. Toxin Rev, 2009; 28 (2–3), 154–168.



- ❖ Reese, G., & Lehrer, S. B. Food allergens. In M. Frieri, & B. Kettelhut (Eds.), Food hypersensitivity and adverse reactions: a practical guide for diagnosis and management. New York: Marcel Dekker, Inc, (1999); pp. 69-97.
- ❖ Santos, R. C. BRS 151 L-7: Nova cultivar de amendoim para as condições do nordeste brasileiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira, (2000); 35(3), 665–670.
- ❖ Scheil, W., Cameron, S., Dalton, C., Murray, C., & Wilson, D. A South Australian Salmonella Mbandaka investigation using a database to select controls. Australia New Zealand Journal of Public Health, (1998); 22(5), 536-539.
- ❖ Schirack, A.V., Drake, M., Sanders, T.H., Sandeep, K.P. Impact of micro-wave blanching on the flavor of roasted peanuts. J. Food Sci, 2006; 71(9), 513–520.
- ❖ Sokari, T. Distribution of enterotoxigenic Staphylococcus aureus in ready-to-eat foods in Eastern Nigeria. Int. J. Food Microbiol, (1991); 12:275-280.
- ❖ Sultan Y, Magan N. Mycotoxigenic fungi in peanuts from different geographic regions of Egypt. Mycotox. Res, (2010); 26:133–140.
- ❖ Techniques de production de l'arachide, Bulletin de Transfert de technologie en agriculture (BTTA), institut agronomique et vétérinaire hassan II, septembre 2011, DL: 61/99, page 1.
- ❖ Ternhag A, Törner A, Svensson Å, Ekdahl K, Giesecke J. Short- and long-term effects of bacterial gastrointestinal infections. Emerging Infectious Diseases, 2008 January [cited 2009 August 18].
- ❖ Trucksess, M.W., Scott, P.M. Mycotoxins in botanicals and dried fruits: a review. Food Addit. Contam, 2008; 25 (2), 181–192.
- ❖ Vainio H., Magee P., McGregor D., McMichael A. Mechanisms of Carcinogens in Risk Identification, IARC Scientific Publications No 116, IARC, Lyon, (1992).
- ❖ Wareing, P.W., Nicolaidis, L., & Twiddy, D.R. Nuts and nut products. In Lund et al. (eds), The microbiological safety and quality of food, (2000); volume 1 – 2 (pp. 919 – 940). Springer: Verlag.
- ❖ Woodroof, J. G. (Ed.), Peanuts: production, processing, products (3rd ed.). Westport, CN: The Avi Publishing Company, Inc, (1983).



- ❖ Yu, J. J. - Chang, P. K.- Ehrlich, K. C. - Cary, J. W. - Bhatnagar, D. - Cleveland, T. E.- Payne, G. A.- Linz, J. E.- Woloshuk, C.P.- Bennett, J.W. 2004. Clustered pathway genes in aflatoxin biosynthesis. In Applied and Environmental Microbiology, vol.70, 2004, p. 1253–1262.

**Web consulté :**

<http://www.planetoscope.com/Autre/1358-production-mondiale-de-cacahuetes.html>

<http://agora.qc.ca/dossiers/Arachide>

**Annexe 1 : Enquête auprès les consommateurs:**

Référence : .....

Date :

Sexe :

Homme

Femme

Age :

Moins de 20 ans

De 20 à 40 ans

Plus de 40 ans

Q1 : Parmi les fruits secs suivants, lesquels vous consommez ?

- Amande
- Cacahuète



- Noisette
- Noix
- Pistache

Q2 : quand vous consommez ces fruits secs ?

- Régulièrement
- Occasionnellement :

Ramadan

Achoura

Fêtes religieuses

Fêtes de mariage

Autres

Q3 : En moyenne, à quelle fréquence achetez- vous ces fruits secs ?

- Par jour
- Par semaine
- Par mois

Q4 : En général, où achetez- vous vos fruits secs ?

- En grande surface
- Chez les épiciers spécialisés
- Chez l'épicier le plus proche
- En souk (lequel)
- Directement chez le producteur
- Autres

Q5 : Achetez-vous ces fruits secs :

- Emballés
- En vrac
- Grillés
- Nature

Q6 : Si ces fruits secs sont grillés, où vous les achetez ?

## **Annexe 2 : Enquête auprès les vendeurs:**



Référence : .....

➤ **Grossistes :**

Q1 : Origine des fruits secs ?

- Importation : pays, ville
- Nationale : Région, grossiste

Q2 : A qui vous vendez vos fruits secs ?

- Magasins : quartier
- Marchands ambulants
- Consommateurs

Q3 : Moyens de transport :

- Voiture personnel
- Camion
- Autres

Q4 : où vous stockez vos fruits secs?

Q5 : Durée de stockage :

< 1 semaine   < 1 mois   < 3 mois   >3 mois

➤ **Détaillants**

Référence.....

Q1 : où vous achetez vos fruits secs ?

Région, grossiste

Q2 : Moyens de transport :

- Voiture personnel
- Camion
- Autres

Q4 : où vous stockez vos fruits secs?

➤ **Grande surface**

Référence : .....

Q1 : où vous achetez vos fruits secs ?

Région, grossiste



Q2 : Moyens de transport :

- Voiture personnel
- Camion
- Autres

Q4 : où vous stockez vos fruits secs?

- **Hygiène de magasin :**

Le magasin :

- Bonne hygiène
- Moyenne
- A amélioré

Le vendeur :

- Propreté
- Vêtement
- Comportement

Matériels :   0 Propre   0 sale

alentours :

- Pollué
- Acceptable