

N° d'ordre : 3369

THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Centre de Recherche : Biotechnologie Végétale et Microbienne, Biodiversité et Environnement

Structure de Recherche : Botanique et Valorisation des Ressources Végétales et Fongiques (BOVAREF)

Discipline : Biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présentée et soutenue le 21/11/2020 par :

Jihane ENNADIR

Caractérisation microbiologique et biotechnologique des farines de quelques variétés nationales de blé dur : identification moléculaire de la flore lactique et évaluation du pouvoir antibactérien de deux additifs naturels (*Nigella sativa* L. et *Foeniculum vulgare* Mill.)

JURY

Mustapha ARAHOU	PES, Faculté des Sciences, Université Mohammed V, Rabat	Président
Laila SBABOU	PES, Faculté des Sciences, Université Mohammed V, Rabat	Examineur/Rapporteur
Amina OUZZANI TOUHAMI	PES, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kénitra	Examineur/Rapporteur
Rachid BENKIRANE	PES, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, Kénitra	Examineur/Rapporteur
Khadija KHEDID	Expert-Docteur, Institut National d'Hygiène, Rabat	Co-directeur
Rachida HASSIKOU	PES, Faculté des Sciences, Université Mohammed V, Rabat.	Directeur de thèse

Année Universitaire : 2019-2020

Dédicaces

Je dédie ce travail à

♥ *Mes très chers Parents*

Quelques soient mes expressions en ce moment, aucun mot ne pourrait exprimer l'estime, le respect et le profond amour que je vous porte.

Vous êtes le modèle de la sincérité, d'intégrité et de dévouement.

Vos prières et vos immenses sacrifices m'ont toujours poussée à donner le meilleur de moi-même.

Puisse Dieu tout puissant, vous prête longue vie afin que je puisse vous combler à mon tour.

Que ce travail soit pour vous le gage de ma profonde reconnaissance et de ma tendre affection.

♥ *Mon très cher frère Hicham, son épouse Fatima Ezzehra et leur petit fils Mohammed Ali*

Mon cher frère qui m'est le père et la mère, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

Mon ange gardien et mon fidèle compagnon dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse.

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

♥ *Mon très cher frère Aissam et ma très chère sœur Nezha*

Aucune dédicace ne pourrait traduire ma gratitude et ma profonde reconnaissance et mon amour.

Je vous dédie ce travail comme témoignage de mon respect et mon amour éternel

♥ *Mon très cher mari Issam*

*Pour son soutien et sa contribution à la réalisation de ce travail.
Que dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein et que ce travail soit
témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.*

♥ *Mes très chers amis : Amina, Lamaie, Ikram, Fatima,
Naila, Kawtar, Khadija, Shama, Jamila, Galal.....*

*Vous trouverez ici l'expression de mes sentiments les plus sincères.
Avec tout mon amour, je vous souhaite un avenir souriant.
A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

♥ *Tous les membres de ma famille*

Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection la plus sincère.

Avant-propos

Je souhaite, avant tout, remercier Dieu de m'avoir soutenu et permis l'achèvement de cette thèse.

La réalisation de cette thèse de doctorat a été une occasion en or de rencontrer et d'échanger avec de nombreuses personnes. Ce travail n'aurait pas pu être réalisé sans l'intervention d'un certain nombre de personnes qui m'ont apporté une assistance précieuse.

Les travaux présentés dans cette thèse ont été effectués au Laboratoire de Botanique, Mycologie et Environnement de la Faculté des Sciences de Rabat en collaboration avec le Laboratoire de Bactériologie relevant de l'Institut National d'Hygiène (INH) Rabat.

L'encadrement scientifique de ce travail a été assuré par **Mme Rachida HASSIKOU**, Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat et **Mme Khadija KHEDID**, Expert-Docteur au département de Bactériologie à l'Institut National d'Hygiène de Rabat.

Au terme de ce travail, je tiens particulièrement à exprimer ma profonde gratitude au Professeur **Rachida HASSIKOU**, **mon Directeur de thèse** qui malgré ses nombreuses activités, elle a toujours réservé un accueil chaleureux, en me donnant l'avantage de bénéficier de son esprit élevé de compréhension et d'analyse, de ses conseils et de son encouragement. Qu'elle soit assurée de ma gratitude et qu'elle sache le réel plaisir que j'ai pris à travailler à ses côtés.

Tous mes sincères remerciements vont également à l'**Expert-Docteur Khadija KHEDID**, en tant que co-directeur de ma thèse, pour m'avoir accueilli au laboratoire de Bactériologie et m'avoir donné les moyens de mener à bout cette étude, pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension et l'intérêt porté pour mon sujet de recherche.

Mes remerciements les plus chaleureux et respectueux au président du jury, le **Professeur Moustapha ARAHOU**, Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, pour le grand honneur qu'il m'a fait en acceptant la présidence de ma thèse. Je lui demande de trouver ici, l'expression de mon profond respect et le témoignage de ma reconnaissance.

Je tiens également à présenter mes plus vifs remerciements au **Professeur Laila SBABOU**, Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, d'avoir pris de son temps malgré les responsabilités qui lui incombent pour juger et critiquer ce travail. Je suis particulièrement reconnaissante et honorée par sa participation au jury de ma thèse.

Je tiens à remercier infiniment le **Professeur Amina OUAZZANI TOUHAMI**, Professeur à la Faculté des Sciences de Kénitra, d'avoir eu l'amabilité d'accepter volontairement et aimablement de critiquer et de juger ce travail.

J'adresse de sincères remerciements au **Professeur Rachid BENKIRANE**, Professeur à la Faculté des Sciences de Kénitra, pour avoir accepté d'examiner mon travail.

Mes sentiments les plus profonds et remerciements infinis à l'ensemble du personnel du Laboratoire de Bactériologie à l'Institut National d'Hygiène pour les relations amicales, conviviales, fraternelles et professionnelles qu'ils ont su tisser au sein du laboratoire.

Mes très spéciaux remerciements reviennent à mes amis : **Ikram ERRIHANI, Lamaie AMALLAH, Fatima BOUAZZA, Naila BEL FAKIH, Kawtar El Maaroufi, Khadija AHANSAL, Galal ALASKARI, Shama HMIRI**, pour tous les moments partagés ensemble, pour leur soutien et leurs mots encourageants et pour leur amitié sincère.

Enfin, je remercie du fond du cœur et avec un grand amour mes parents qui n'ont jamais cessé de croire en moi pendant toutes mes années d'études. Merci pour les sacrifices consentis à mon éducation, pour leur soutien et surtout leur patience. Merci aussi à mes frères Hicham et Aissam et ma sœur Nezha et qui m'ont toujours encouragé.

Résumé

Notre recherche vise l'étude de la qualité physicochimique, technologique et microbiologique des variétés nationales du blé, l'étude ethnobotanique et l'évaluation de l'activité antibactérienne de deux plantes médicinales et aromatiques *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill., souvent utilisées comme additif dans la préparation du pain marocain.

Les résultats des analyses physicochimiques et technologiques, ont montré que les variétés nationales étudiées présentent des taux en eau, en acidité titrable et en cendres satisfaisants tout en possédant une valeur meunière appréciable et une faible force boulangère.

Du point de vue sanitaire, les résultats des analyses microbiologiques des variétés étudiées sont généralement acceptables. Les espèces bactériennes et fongiques isolées appartiennent successivement à la famille des entérobactéries et au genre *Aspergillus*.

Sur un autre plan, la caractérisation génotypique de la flore lactique, a permis l'individualisation de 5 groupes de bactéries lactiques avec une prédominance du genre *Pediococcus*. En outre, l'évaluation du pouvoir antimicrobien de ces bactéries lactiques a montré qu'elles présentent une activité inhibitrice contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

L'étude ethnobotanique a mis en évidence l'importance de *Nigella sativa* L. et *Foeniculum vulgare* Mill. dans la médecine traditionnelle marocaine. L'étude du pouvoir antimicrobien des extraits aqueux et organiques a révélé une activité antibactérienne exercée par les extraits organiques sur les espèces bactériennes testées. S'agissant de la détermination du profil bactéricide/bactériostatique, les CMI enregistrés chez les extraits des deux plantes étudiées ont montré un effet bactéricide à l'exception de l'extrait hexanique de *Foeniculum vulgare* Mill. qui a présenté un effet bactériostatique sur *Enterobacter agglomerans* et sur SARM.

Mots clés : Blé dur, farine, qualité technologique, qualité microbiologique, Activité antibactérienne.

Abstract

Our research aims to study the physicochemical, technological and microbiological quality of wheat varieties, the ethnobotanic study and the evaluation of the antibacterial activity of two medicinal and aromatic plants *Nigella sativa* L. and *Foeniculum vulgare* Mill., often used as an additive in the preparation of Moroccan bread.

The results of physicochemical and technological analyzes has been shown that the national varieties studied have satisfactory levels of water, titratable acidity and ash with an appreciable milling value and a low baking strength.

From a health point of view, the results of the microbiological analyzes of the varieties studied are generally accepted. The isolated bacterial and fungal species belong successively to the family of Enterobacteriaceae and of the genus *Aspergillus*.

In addition, the genotypic characterization of the lactic flora allowed repartition in 5 groups with a predominance of *Pediococcus* genus. Antimicrobial activity lactic acid bacteria obtained has been shown to exhibit inhibitory activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria.

The ethnobotanical study highlighted the importance of *Nigella sativa* L. and *Foeniculum vulgare* Mill. in traditional Moroccan medicine. The antimicrobial activity of aqueous and organic extracts revealed an antibacterial activity exerted by the organic extracts on the bacterial species tested. Concerning the determination of the bactericidal / bacteriostatic profile, the MICs recorded in the extracts of the two studied plants showed a bactericidal effect with the exception of the hexane extract of *Foeniculum vulgare* Mill. Which had a bacteriostatic effect on *Enterobacter agglomerans* and MRSA.

Key words: Durum wheat, flour, technological quality, microbiological quality, Antibacterial activity.

المستخلص

يهدف هذا البحث إلى دراسة الجودة الفيز وكيميائية والتكنولوجية والمكروبيولوجية لأصناف القمح (كريم ومرزاق وكريفة البيضاء) ودراسة مسحية وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لأنواع من مستخلصا نباتي الحبة السوداء (*Nigella sativa* L.) و الينسون (*Foeniculum vulgare* Mill.) والتي غالبا ما تستخدم كإضافات في إعداد الخبز المغربي. أظهرت التحاليل الفيز وكيميائية والتكنولوجية أن الأصناف الوطنية المدروسة مقبولة من حيث المحتوى المائي والحموضة والرماد مع قيمة طحن كبيرة وقوة خبز ضعيفة.

من الناحية الصحية، تعتبر نتائج التحليل الميكروبيولوجي للأصناف المدروسة مقبولة عموما. تنتمي الأنواع البكتيرية المعزولة إلى العائلة المعوية و بالنسبة للأنواع الفطريات، اظهرت النتائج عن هيمنة واضحة لجنس *الاسبرجلس*.

وعلاوة على ذلك، اظهرت نتائج الكشف عن بكتريا حامض اللاكتيك باستخدام الطريقة الجينومية من ان عزلات بكتيريا حمض اللاكتيك المعزولة من الطحين المغربي تنتمي إلى 5 اجناس واكثرها تكراراً جنس *البديوكوكس* (63%). الفعالية المضادة للميكروبات، لبكتيريا حمض اللاكتيك المعزولة أظهرت نشاطاً مثبطاً ضد البكتيريا الموجبة لصبغة جرام والسالبة لصبغة جرام.

اظهرت الدراسة المسحية اهمية كلاً من نباتي الحبة السوداء و الينسون في الطب المغربي التقليدي. أظهر النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات المائية والعضوية لهذين النباتين نشاط مضاد للجراثيم من قبل المستخلصات العضوية على الأنواع البكتيرية التي تم اختبارها. وفيما يتعلق بتحديد التأثير القاتل/ المثبط للمستخلصات المدروسة أظهرت النتائج تأثيراً قاتل لهذه المستخلصات ضد الجراثيم باستثناء مستخلص الهيكسان من نبات الينسون الذي كان له تأثير مثبطاً ضد البكتيريا المعوية والعنقودية.

الكلمات المفتاحية : القمح الصلب ، الدقيق ، الجودة التكنولوجية، الجودة الميكروبية ، الفعالية المضادة للبكتيريا.

Publications et Communications

Articles Scientifiques

Jihane Ennadir, Rachida Hassikou, Farida Ohmani, Jamila Hammamouchi, Fatima Bouazza, Aicha Qasmaoui, Zakaria Mennane, Amina Ouazzani Touhami, Reda Charof et Khadija Khedid. 2012. Qualité microbiologique des farines de blé consommées au Maroc. *Rev. can. Microbiol.*, 58(2): 145-150, 10.1139/w11-139.

Jihane Ennadir, Rachida Hassikou, Fatima Bouazza, Moustapha Arahou, Galal Al Askari et Khadija Khedid. 2014. Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques des graines de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. *Phytothérapie*, 12:302-308.

Jihane Ennadir, Rachida Hassikou, Galal Al Askari, Moustapha Arahou, Fatima Bouazza, Lamiae Amallah, Sanaâ Alaoui amine, Khadija Khedid. 2014. Caractérisation phénotypique et génotypique des bactéries lactiques isolées des farines de blé d'origine marocaine. *J. Mater. Environ. Sci.*, 5 (4) : 1125-1132

Jihane Ennadir, Thami Alami Imane, Hassikou Rachida, Ouazzani Touhami Amina. 2011. Charge microbienne de plantes médicinales séchées à l'air libre. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 150 :31-46.

Amallah L , Hassikou R, Rhrib K, Gaboun F , **Ennadir J** , Bouazza F , Rochdi A, Arahou M , Diria G , Taghouti M . Analyse de la diversité génétique d'une collection de blé dur par les marqueurs agro-morphologiques et biochimiques. 2016. *J. Mater. Environ. Sci.*, 7 (7) : 2435-2444.

Fatima Bouazza, Rachida Hassikou, **Jihane Ennadir**, Mohamed Mouncif, Zakaria Mennane, Khadija Khedid. 2015. Microbiological and Physico-chemical Properties of Raw Sheep Milk from Sardi Breed. *Global Advanced Research Journal of Agricultural Science.*, 4(7): 302-308.

Fatima Bouazza, Rachida Hassikou, Badr Satrani, Mohamed Ghanmi, **Jihane Ennadir**, Youssef El Hani, Khadija Khedid. 2014. *In Vitro* Antibacterial Activity of *Thymus satureioides*, *Mentha pulegium*, and *Origanum vulgare* Essential Oils Against *Escherichia coli* Isolated from Raw Sheep Milk. *International Journal of Agriculture Innovations and Research.*, 3: 210-217.

Fatima Bouazza, Rachida Hassikou, Farida Ohmani, Jamila Hmamouchi, **Jihane Ennadir**, Aicha Qasmaoui, Zakaria Mennane, Reda Charof, Khadija Khedid. 2012. Hygienic quality of raw milk at Sardi breed of sheep in Morocco. *African Journal of Microbiology Research.*, 6(11): 2768-2772.

Communications :

Jihane Ennadir, Rachida Hassikou Fatima Bouazza, Khadija Khedid. 2011. Qualité microbiologique des farines céréalières au Maroc. 3^{ème} édition du Congrès International « Amélioration de la Production Agricole (APA3) », Jeudi-Vendredi-17-18 Mars 2011- Settat-Maroc. (Communication orale)

Jihane Ennadir, Rachida Hassikou Fatima Bouazza, Khadija Khedid. 2011. Caractérisation microbiologique des farines céréalières au Maroc. Congrès international « La Recherche, la Biotechnologie et le Consommateur au service de l'Environnement et de l'Industrie Agroalimentaire », 19 et 20 mai 2011, Faculté des Sciences, Kenitra. (Communication orale)

Jihane Ennadir, Khadija Khedid, Fatima Bouazza, Galal Al Askari, Rachida Hassikou. 2012. Etude de l'activité antibactérienne de divers extraits de *Nigella sativa* L. et *Foeniculum vulgare* Mill. Journées Internationales les 22 et 23 Juin 2012, FSR, Rabat, Maroc. (Communication affichée)

Jihane Ennadir, Rachida Hassikou, Fatima Bouazza, Moustapha Arahou, Galal Al Askari et Khadija Khedid. 2014. Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill., International Congress of Plant Diversity les 27-29 Mars 2014, Marrakech. (Communication affichée)

Jihane Ennadir, Rachida Hassikou, Khadija Khedid. 2010. Valorisation microbiologique et biotechnologique des variétés nationales du blé. 1^{ère} édition de la Journée des Doctorants (J-DOC), Vendredi 31 Décembre 2010, Centre d'Etudes Doctorales en Sciences et Technologies, faculté des Sciences, Université Mohamed V, Rabat. (Communication affichée)

Jihane Ennadir, Thami Alami Imane, Hassikou Rachida, Ouazzani Touhami Amina. 2010. Contribution à l'étude de la mycoflore des plantes médicinales séchées au Maroc. 7^{ème} congrès de l'AMPP les 26 et 27 Mai 2010, Rabat, Maroc. (Communication affichée)

Table des matières	
Liste des figures.....	V
Liste des tableaux.....	VII
Abréviations.....	IX
Unités des mesures.....	XI
Introduction générale.....	1
Synthèse bibliographique.....	4
I. Importance économique du blé.....	4
➤ Au niveau mondial.....	4
➤ Au niveau national.....	5
II. Le blé.....	6
1. Historique.....	6
2. Description botanique.....	7
3. Structure et composition du blé.....	8
4. Procédés de transformation des céréales en farines.....	10
5. Propriétés des farines.....	17
III. Microflore des farines.....	21
1. Les champignons microscopiques.....	22
2. Les bactéries.....	22
2.1 Les bactéries non lactiques.....	22
2.2 Les bactéries lactiques.....	24
IV. Flore lactique des farines.....	25
1. Bactéries lactiques.....	25
1.1 Définition.....	25
1.2 Principales caractéristiques.....	26
2. Classification des bactéries lactiques.....	28
2.1 Les caractères morphologiques.....	29
2.2 Les caractères physiologiques et biochimiques.....	29
3. Identification des bactéries lactiques.....	30
3.1 Méthodes phénotypiques.....	30
3.2 Méthodes génotypiques.....	31
V. Technologique des farines.....	32
1. Principaux paramètres mesurés de la qualité du blé dur.....	32
1.1 Le taux de pigments jaunes : Les caroténoïdes.....	32
1.2 La teneur en protéines.....	32
1.3 Le taux de vitrosité et de mitadinage.....	34
2. Méthodes d'appréciation de la qualité technologique du blé dur	34
2.1 Test de sédimentation au sodium dodécyl sulfate (SDS).....	34
2.2 La spectroscopie infrarouge pour l'analyse quantitative.....	35

VI. Aspects ethnobotanique et pouvoir antimicrobien des plantes aromatiques et médicinales utilisées comme additifs dans la préparation du pain marocain.....	36
1. <i>Nigella sativa</i> Carl Von Linné (1753).....	37
2. <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.....	39
Chapitre I : Etude de la qualité biotechnologique de quelques variétés marocaines du blé dur	
I. Introduction.....	42
II. Matériel et méthodes.....	43
1. Matériel végétal.....	43
2. Analyses physicochimiques et technologiques du blé dur.....	43
2.1 Analyses physicochimiques du blé dur.....	43
2.1.1 Détermination de l'humidité.....	43
2.1.2 Détermination de l'acidité totale titrable.....	44
2.1.3 Détermination des cendres.....	44
2.2 Analyses technologiques du blé dur.....	45
2.2.1 Détermination de l'indice de sédimentation (SDS).....	45
2.2.2 Détermination du poids de mille grains et du taux de vitrosité des grains.....	45
2.2.3 Détermination de la teneur en pigment caroténoïdes.....	46
2.2.4 Détermination de la Teneur en protéines.....	46
III. Résultats et interprétations.....	47
1. Analyses physicochimiques du blé dur.....	47
2. Analyses technologiques du blé dur.....	47
2.1 Indice de sédimentation au SDS.....	47
2.2 Poids de mille grains.....	48
2.3 Taux de vitrosité.....	49
2.4 Teneur en pigment jaune : caroténoïdes.....	50
2.5 Teneur en protéines.....	50
IV. Discussion et Conclusion.....	51
Chapitre II : Evaluation de la qualité microbiologique des farines issues des foyers et du commerce	
I. Introduction.....	56
II. Matériel et méthodes.....	57
1. Échantillonnage.....	57
2. Analyse microbiologique des farines.....	57
2.1 Dénombrement de la flore d'intérêt hygiénique.....	57
2.2 Dénombrement de la flore d'intérêt sanitaire.....	58

2.3 Dénombrement de la flore d'intérêt biotechnologique.....	59
3. Caractérisation de la microflore isolée des farines.....	59
III. Résultats et interprétations.....	59
1. Analyse microbiologique de farines étudiées.....	60
1.1 Détermination de la flore d'intérêt hygiénique des farines.....	60
1.2 Détermination de la flore d'intérêt sanitaire des farines.....	61
1.3 Détermination de la flore d'intérêt biotechnologique des farines.....	61
2. Caractérisation de la microflore isolée des farines.....	62
IV. Discussion et conclusion.....	63
Chapitre III : Etude de la flore lactique	
I. Introduction.....	66
II. Matériel et méthodes.....	67
1. Isolement des bactéries lactiques.....	67
2. Identification des isolats de bactéries lactiques.....	68
2.1 Identification morphologique.....	68
2.2 Identification biochimique.....	68
2.3 Identification génotypique par la technique 16S d'ARNr.....	70
3. Détection du pouvoir antibactérien des bactéries lactiques.....	77
3.1 Microorganismes testés.....	77
3.2 Caractérisation du pouvoir antibactérien des bactéries lactiques.....	77
3.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice et de la concentration minimale bactéricide des bactéries lactiques.....	78
III. Résultats et interprétations.....	79
1. Dénombrement des bactéries lactiques.....	79
2. Identification des bactéries lactiques.....	79
2.1 Caractérisation phénotypique.....	79
2.2 Caractérisation moléculaire.....	81
3. Etude de l'activité antibactérienne de bactéries lactiques isolées.....	84
IV. Discussion et conclusion.....	86
Chapitre IV : Enquête ethnobotanique et évaluation in vitro de l'activité antibactérienne de <i>Nigella sativa</i> L. et de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	
I. Introduction.....	90
II. Matériel et méthodes.....	90
1. Etude ethnobotanique.....	90
1.1 Lieux d'étude.....	90

1.2 Points d'enquêtes dans les villes de Rabat et Salé.....	91
1.3 Collecte des données.....	92
1.4 Types d'informateurs.....	92
1.5 Analyse des données.....	93
2. Etude <i>in vitro</i> de l'activité antibactérienne des extraits de <i>Nigella sativa</i> L. et de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.....	93
2.1 Collecte du matériel végétal.....	93
2.2 Préparation des extraits des graines de <i>Nigella sativa</i> L. et de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.....	93
2.3 Criblage de l'activité antimicrobienne des extraits de <i>Nigella sativa</i> L. et de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.....	94
III. Résultats et interprétations.....	95
1. Etude ethnobotanique.....	95
1.1 Enquêtes ethnobotaniques dans différentes régions du Maroc.....	95
1.2 Enquêtes ethnobotaniques dans la ville de Rabat et régions.....	99
2. Etude de l'activité antimicrobienne.....	105
2.1 Rendements des extractions de <i>Nigella sativa</i> L. et de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.....	105
2.2 Activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques de <i>Nigella sativa</i> L. et de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.....	105
IV. Discussions et conclusion.....	110
Conclusion générale et perspectives.....	113
Références bibliographiques.....	116
Annexes.....	137

Liste des figures

Figure 1 : Production céréalière, utilisation et stocks

Figure 2: coupe schématique d'un grain de blé

Figure 3: Diagramme type de nettoyage des blés avant leur envoi sur le premier broyeur

Figure 4 : Dégradation du glucose par les bactéries lactiques

Figure 5 : Graines de *Nigella sativa* L.

Figure 6 : Schéma illustré de *Nigella sativa* L.

Figure 7: Schéma de *Foeniculum vulgare* Mill.

Figure 8: Volume de sédimentation au SDS des différentes variétés de blé dur étudiées (ml)

Figure 9: Poids de mille grains des différentes variétés de blé dur étudiées (g)

Figure 10: Taux de vitrosité des différentes variétés de blé dur étudiées (%)

Figure 11: Teneur en pigment jaune des différentes variétés de blé dur étudiées (ppm)

Figure 12: Teneur en protéines des différentes variétés de blé dur étudiées (%)

Figure 13: Schématisation de la purification des produits PCR par l'enzyme ExoSAP-IT

Photo4 : Appareil de séquençage 16 capillaires : ABI 3130xl d'Applied Biosystems

Figure 14 : Migration électrophorétique des séquences et formation d'un électrophorégramme (les quatre courbes correspondent à la détection de la fluorescence des fragments d'ADN obtenus. Un "pic" correspond donc à la détection d'un nucléotide donné dans la séquence. En bleu : Cytosine. En vert : Adénine. En jaune : Guanine. En rouge : Thymine)

Figure 15: Illustration de l'interface Blast de NCBI

Photo 5 : Electrophorèse sur gel d'agarose des fragments d'ARNr 16S amplifiés par PCR.

Figure 16 : Carte de répartition des points d'enquêtes réalisées au Maroc

Figure 17 : Carte de répartition de quelques points d'enquêtes réalisées dans les villes de Rabat et Salé

Figure 18: Répartition de la fréquence d'utilisation du *Foeniculum vulgare* Mill. selon l'origine de l'information

Figure 19: Répartition de la fréquence d'utilisation du *Foeniculum vulgare* Mill. selon le lieu d'acquisition

Figure 20: Répartition de la fréquence d'utilisation du *Foeniculum vulgare* Mill. selon la partie utilisée

Figure 21: Répartition de la fréquence d'utilisation du *Foeniculum vulgare* Mill. selon le mode de préparation

Figure 22: Répartition de la fréquence d'utilisation du *Nigella sativa* L. selon l'origine d'information

Figure 23: Répartition de la fréquence d'utilisation du *Nigella sativa* L. selon le lieu d'acquisition

Figure 24: Répartition de la fréquence d'utilisation du *Nigella sativa* L. selon la partie utilisée

Figure 25: Répartition de la fréquence d'utilisation du *Nigella sativa* L. selon le mode de préparation

Figure 26: Concentration minimale inhibitrice des extraits organiques et aqueux de *Nigella sativa* L. sur la croissance de dix souches bactériennes

Figure 27: Concentration minimale inhibitrice des extraits organiques et aqueux de *Foeniculum vulgare* Mill. sur la croissance de dix souches bactériennes.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques anatomiques des graines de blé

Tableau 2 : Composition chimique du grain de blé (en %)

Tableau 3 : Principaux produits formés au cours de la mouture du grain de blé

Tableau 4 : Principales machines de nettoyage des blés avant broyage

Tableau 5 : Principaux matériels utilisés en meunerie

Tableau 6 : Principales opérations effectuées dans un moulin

Tableau 7 : Profil granulométrique des farines de blé

Tableau 8 : Taux d'extraction et couleur des farines

Tableau 9 : Profil granulométrique des farines de blé

Tableau 10 : Liste des variétés de blé dur utilisées

Tableau 11 : Analyse physicochimique des variétés étudiées

Tableau 12 : Charge de la flore d'intérêt hygiénique des farines étudiées (ufc/g)

Tableau 13 : Charge de la flore d'intérêt sanitaire des farines étudiées (ufc/g)

Tableau 14 : Charge de la flore d'intérêt biotechnologique des farines étudiées (ufc/g)

Tableau 15 : Distribution en espèces des Entérobactéries isolées des farines étudiées (%)

Tableau 16 : Milieux utilisés et conditions d'incubation pour l'isolement des bactéries lactiques

Tableau 17 : Mélange réactionnel de la PCR

Tableau 18 : Programme établi pour l'amplification PCR par le thermocycleur Verity

Tableau 19 : Réactifs utilisés pour PCR

Tableau 20 : Caractéristiques biochimiques des bactéries lactiques isolées des farines marocaines

Tableau 21 : Identification des bactéries lactiques isolées de la farine de blé dur par la technique de l'ARNr16S

Tableau 22 : Répartition en genres et en espèces des isolats de bactéries lactiques identifiées par le séquençage de l'ARNr16S

Tableau 23 : Concentration minimale bactéricide des bactéries lactiques sur la croissance de 11 bactéries indicatrices (UA/ml)

Tableau 24 : Origine des échantillons de plantes médicinales étudiées

Tableau 25 : Usage traditionnel de *Foeniculum vulgare* Mill. dans différentes villes du Maroc

Tableau 26 : Usage traditionnel de *Nigella sativa* L. dans différentes villes du Maroc

Tableau 27 : Rendement de graines de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill.

Tableau 28 : Concentration minimale bactéricide des extraits organiques et aqueux de *Nigella sativa* L. sur la croissance de dix souches bactériennes (µg/ml)

Tableau 29 : Concentration minimale bactéricide des extraits organiques et aqueux de *Foeniculum vulgare* Mill. sur la croissance de dix souches bactériennes (µg/ml)

Abréviations

ADH: Arginine dihydrolase

ADN : Acide DéoxyriboNucléique

ADNr: ADN ribosomal

AFNOR: Association Française de Normalisation

API: Analytic Programme Index

ARN : Acide RiboNucléique

BHI : Brain Heart Infusion

CO2: Dioxyde de carbone

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CSR : Clostridium sulfito-réducteurs

dNTP: deoxyribonucléoside triphosphate

DMSO: Diméthyl Sulfoxy

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (Food and Agriculture Organization of the United Nations)

FMAT: Flore mésophile aérobique totale

GRAS: Generally Recognized As Safe

INH : Institut National d'Hygiène

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

ITA : Institut de Technologie Alimentaire

ITS : Internal transcribed spacer

MRS : Man Rogosa et Sharpe

MTT : tétrazolium (tétrazolium (MTT : 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium bromide

NaCl : Chlorure de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

OMC : Organisation mondiale de commerce

PCR : Polymerase chain reaction ou réaction de polymérisation en chaîne

PDA : Potato Dextrose Agar

pH : Potentiel hydrogène

RV : Rapport Vassiliadis

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

SDS : Sodium dodécyl sulfate

SDS-PAGE : Sodium Dodecyl Sulfate- PolyAcrilamide Gel Electrophoresis

SNP: Single Nucleotide Polymorphism

Spp. : Plusieurs espèces non précisée

SP ATCC6305: *Streptococcus pneumoniae* ATCC6305

SPS : Sulfite de Sodium –Polymixine - Sulfite de Cystéine

Subsp : Sous espèce

VP : Voges- Proskauer positives

YE ATCC9610 : *Yersinia enterocolitica* ATCC9610

Unités de mesure

°C : Degré Celsius

mL : Millilitre

nm : Nanomètre

h : Heure

ppm : Micro grammes de b-carotène par gramme de matière sèche

Ufc : Unité formant colonie

g : Gramme

rpm : Rotation par minute

kg : Kilogramme

Pb : Paire(s) de bases

µl : microlitre

µm : micromètre

mM : millimolaire

ng : nanogramme

min : minute

pmol : picomole

M : mole par litre

mg : milligramme

UA/ml : unités arbitraires par millilitre



INTRODUCTION GENERALE

La filière des céréales représente la première spéculation au Maroc. Cette place de choix est révélée par l'importance des superficies qu'elle couvre et qui atteignent $5,3 \times 10^6$ ha. Actuellement, les céréales occupent 70 % des superficies cultivées par an (Ait El Mekki, 2006). Cette filière, à elle seule, donne lieu à 40 % des opportunités de travail offertes par le secteur de la production végétale. A l'évidence, le commerce des céréales et de leurs dérivés contribue, dans une forte proportion, à l'expansion de l'activité économique générale du pays (MADRPM, 2000).

A l'échelle planétaire, les céréales constituent la ressource alimentaire la plus importante pour l'alimentation humaine et animale (Choueiri, 2003). Grâce à son important pouvoir nutritionnel, le blé (*Triticum spp*), demeure la principale ressource alimentaire de l'Homme (Multon, 1982). C'est par excellence une denrée alimentaire qui joue un rôle vital et stratégique pour la sécurité alimentaire des pays (Molinité et Pfohl-Leszkowicz, 2003).

Au Maroc, les produits céréaliers constituent l'épine dorsale du système alimentaire marocain. En témoigne l'importance de la consommation moyenne annuelle par habitant évaluée à 320 kg (Bartali, 1995).

Bien que les produits céréaliers dont le blé, ne soient pas considérés comme denrées périssables, les mauvaises conditions de stockage favorisent le développement de plusieurs types de microorganismes pouvant avoir des effets néfastes sur la qualité des farines et sur la santé du consommateur (Deibel et Swanson, 200 ; Berghofer et *al.*, 2003). D'où l'utilité des contrôles physicochimiques et microbiologiques des farines produites avant leur distribution. Ainsi, pour améliorer davantage la qualité du blé et lutter contre les bactéries nuisibles contaminant les farines marocaines, nous avons pensé à enrichir notre aliment de base par un apport assez conséquent en plantes médicinales dont les effets bénéfiques sont avérés (Bellakhdar, 1997 ; Fleurentin, 2007), ceci permettra en outre de faire réhabiliter et de préserver un usage traditionnel alimentaire et thérapeutique. Parmi ces plantes, figurent *Nigella sativa* L. (Nigelle) et *Foeniculum vulgare subsp.vulgare var.dulce* (Mill.) Batt. (Fenouil) dont l'usage commun à plusieurs régions du Maroc, remonte à des temps immémoriaux (Khetouta, 1978). La lutte contre les maladies infectieuses est basée principalement sur l'utilisation de produits chimiques classiques. Cependant, nous constatons de plus en plus une multirésistance des microorganismes à ces produits chimiques qui, parfois, s'avèrent inefficaces (Miliaire, 1982 ; Brucker et *al.*, 2000). Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan et connaissent un renouveau

exceptionnel en occident grâce à leurs vertus thérapeutiques qui contiennent des principes actifs agissant directement sur l'organisme.

Par ailleurs, parmi les microorganismes associés aux farines, les bactéries lactiques jouent un rôle très important dans la préservation de l'équilibre de la flore microbienne et la stabilisation des produits finaux de la fermentation (Mensah, 1991; Caplice, 1999). Les bactéries lactiques contribuent à la texture, à la saveur des aliments et à la production de composés aromatiques. A l'heure actuelle, les bactéries lactiques sont recherchées pour leurs qualités nutritionnelle et thérapeutique dans des préparations probiotiques et pour la production de bactériocines.

Aussi, la connaissance des caractéristiques physico-chimiques du blé produit dans les conditions environnementales marocaines représente un maillon incontournable pour une meilleure utilisation. Toutefois, les caractéristiques technologiques impliquées dans la fabrication des produits céréaliers sont nombreuses et les constituants les plus explicatifs des différences variétales se situent au niveau des protéines constitutives de réserve existant au niveau du gluten. La connaissance de certaines caractéristiques technologiques du blé présente donc un grand intérêt.

Notre travail de recherche se base principalement sur l'étude des paramètres microbiologiques, physicochimiques et technologiques des farines céréalières. En effet, une meilleure connaissance de ces propriétés clefs permet de moduler les procédés pour optimiser la valeur nutritionnelle des produits céréaliers. Par ailleurs, les travaux au Maroc n'ont jamais fait l'objet d'une investigation sur la biodiversité de la flore lactique des farines. Il est donc nécessaire d'entreprendre une étude pour la caractérisation de la flore lactique des farines marocaines qui sont restées, sur ce plan, pratiquement absentes dans la littérature.

Une partie importante de ce travail a été donc consacrée à l'étude de la flore lactique. Aussi, une caractérisation génotypique de cette flore a été réalisée par la technique de séquençage de la région variable du gène codant pour l'ADNr 16S.

Dans le même contexte, nous nous sommes intéressés à l'étude ethnobotanique et à l'activité antimicrobienne des deux plantes aromatiques et médicinales *Nigella sativa* L. et *Foeniculum vulgare* Mill. souvent utilisées comme additif dans la préparation du pain marocain.

C'est dans cette optique que se situe notre recherche dont les objectifs principaux se résument dans les volets suivants :

- Evaluer certains paramètres technologiques à travers des tests physico-chimiques.

- Etudier la qualité microbiologique des farines des foyers et du commerce et comparer les niveaux de contamination de deux types de production.
- Etudier les caractéristiques phénotypiques et génotypiques des bactéries lactiques isolées ainsi que leur pouvoir antibactérien vis-à-vis des bactéries pathogènes
- Réaliser des enquêtes ethnobotaniques sur l'usage traditionnel de deux espèces : *Foeniculum vulgare* Mill. et *Nigella sativa* L. dans 30 villes du Maroc et étudier aussi leur activité antibactérienne contre les bactéries isolées des farines étudiées.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Importance économique du blé

➤ Au niveau mondial

La production mondiale du blé, en progression constante, et les échanges qui se multiplient entre les régions du monde font de cette céréale l'un des principaux acteurs de l'économie mondiale.

En 2018, la production mondiale du blé était de l'ordre de 758 millions de tonnes selon la FAO (FAO, 2019).

En 2019 et d'après les statistiques du Conseil international des céréales (CIC), la production a connu une baisse sensible à cause de rendements moins importants que prévu dans l'Union européenne et en Russie soit une baisse de 3,2%,

Les principaux pays producteurs de céréales sont la Chine, les États Unis, l'Union européenne, l'Inde, les pays de la mer Noire (Russie, Ukraine), le Canada et certains pays d'Amérique du Sud (Brésil, Argentine) (FAO, 2019).

Les prévisions de la FAO concernant la production céréalière mondiale en 2020 ont été revues à la baisse, les récoltes de toutes les principales céréales devant être moins importantes qu'escompté.

L'utilisation mondiale de céréales en 2020-2021 devrait atteindre un record de 2 744 millions de tonnes, soit un niveau presque identique aux prévisions du mois dernier et 1,9 pour cent de plus qu'en 2019-2020. En 2020-2021, l'utilisation mondiale de blé devrait s'établir à 757,6 millions de tonnes et dépasser le niveau estimé de 2019-2020 de 1,1 pour cent, en grande partie sous l'effet de l'augmentation attendue de la consommation alimentaire.

Les prévisions concernant les stocks mondiaux de céréales à la clôture des campagnes de 2021 ont reculé de 9,6 millions de tonnes depuis novembre pour atteindre 866,4 millions de tonnes, soit 0,7 pour cent en dessous de leur niveau d'ouverture. Le rapport stocks/utilisation de céréales à l'échelle mondiale chuterait ainsi de 31,8 pour cent en 2019-2020 à 30,7 pour cent en 2020-2021, ce qui représenterait le ratio le plus faible en cinq ans mais resterait relativement confortable (FAO, 2019).



Figure 1 : Production céréalière, utilisation et stocks (FAO, 2019)

➤ Au niveau national

La filière céréalière occupe une place importante dans l'économie agricole nationale. Les principaux indicateurs socio-économiques de cette filière sont :

- 10 à 20 % du PIB agricole avec de fortes fluctuations en fonction de la pluviométrie ;
- 75% de la SAU : les céréales d'automne occupent en moyenne 5 millions d'hectares avec interdépendances majeures avec les filières animales, en raison de l'importance des céréales destinées à l'alimentation animale (orge et sous-produits);
- 20% des emplois ;
- Culture prédominante pour la quasi-totalité des exploitations agricoles.

Les céréales sont pratiquées dans les différentes zones agro-climatiques du pays en assolement avec d'autres cultures annuelles représentées essentiellement par les légumineuses, les cultures industrielles et les cultures fourragères. Les principales régions de production se situent dans les zones pluviales des plaines et plateaux de Chaouia, Abda, Haouz, Tadla, Gharb et Saïs, où la grande majorité des exploitations pratiquent la céréaliculture quelle que soit leur taille (ONICL, 2019).

Au cours des dix dernières années (2010-2019), la production moyenne se situe à 77 millions de quintaux. Pour la campagne agricole 2018-2019, la production des céréales était de l'ordre de 52 millions de quintaux, soit une baisse de 30% en comparaison avec la moyenne annuelle des dix dernières années. Par espèce, la production céréalière est composée de blé tendre (26,8 millions qx), de blé dur (13,4 millions qx) et d'orge (11,6 millions qx) (ONICL, 2019).

Durant cette dernière décennie, et à la veille de l'échéance du Plan Maroc Vert (PMV), la productivité des céréales a connu des records historiques (114 et 102 millions de quintaux respectivement en 2015 et 2018). Les rendements annuels ont aussi connu une nette progression. Ce résultat témoigne de la percée et l'étendue des progrès techniques généralisés au niveau des exploitations agricoles céréalières, après une dizaine d'années de mise en oeuvre du PMV ainsi que les grandes capacités d'intervention développées pendant cette période chez les agriculteurs, en raison, notamment, de l'utilisation des intrants de qualité (semences sélectionnées et engrais), et l'amélioration enregistrée au niveau de la mécanisation. Mais malgré ces progrès, les besoins en blés du Maroc restent d'ordres quantitatif et qualitatif (ONICL, 2019).

II. Le blé

1. Historique

L'histoire des céréales est étroitement liée à l'histoire de l'humanité. Depuis la plus lointaine antiquité, elles constituent la base de l'alimentation en raison de sa haute valeur nutritive. Il y a 3 millions d'années, l'homme était nomade, pratiquait la chasse et la cueillette des fruits pour assurer sa nourriture. Le nomadisme a progressivement cédé de l'espace à la sédentarité qui permit la culture des céréales. C'est 3000 ans avant Jésus-Christ que les premiers procédés de panification ont été élaborés par les Egyptiens : ce sont les premières galettes à base de blé !

L'homme sait alors produire sa propre nourriture. En même temps qu'il acquiert son autosuffisance alimentaire, apparaissent les premiers échanges commerciaux. Puis les techniques de panification s'améliorent grâce aux Hébreux, Grecs et enfin les Romains qui en répandent l'usage à travers l'Europe. C'est ainsi que sous des formes très variées (pain,

biscuits, semoule, couscous, pâtes, ...), le blé devient l'aliment essentiel du monde (FIMARC, 2005).

2. Description botanique

Les principales espèces cultivées appartiennent à la famille des graminées (blé tendre, blé dur, riz, maïs, seigle, avoine, millet, sorgho) ou de polygonacées (sarrasin) (Molinité et Pfohl-Leszkowicz, 2003), dont les caractéristiques principales sont les suivantes :

- Plantes phanérogames, angiospermes et monocotylédones.
- Elles possèdent un double système de racines, le premier se développe lors de la germination du grain semé ; le second se développe alors en faisceau à partir des nœuds situés à la base de la plante
- Elles poussent leur tige creuse ou chaume à partir d'un plateau de tallage situé à quelques centimètres du sol.
- La montée de leur tige est télescopique. Un nœud marque une étape de la montaison
- Leurs feuilles naissent de part et d'autre d'un nœud et forment à la maturité une gaine autour de la tige.
- Leurs fleurs sont enveloppées dans de petites feuilles ou glumelles. Ces groupes de fleurs sont rassemblés par des glumes pour former des épis
- Absence de périanthe
- Ovaire uniloculé, uniovulé (ITA, 1972).

On désigne sous l'appellation « céréales » différentes espèces appartenant à l'embranchement des phanérogames renfermant des plantes dont les organes reproducteurs sont apparents, au sous-embranchement des angiospermes regroupant les plantes à fruits typiques.

- Famille : Graminées ou Poacées
- Espèces : Blé tendre : *Triticum vulgare* ou *Triticum aestivum*
Blé dur : *Triticum durum* (Doumandji et al., 2003)

Tableau 1 : Caractéristiques morphologiques des grains de blé

Graines	Type	Forme	Couleur	Dimensions (mm)	Poids de 1000 grains (en g)
Blé	Caryopse	Ovoïde, bombé	Pâle, roux	6 x 3	37

L'espèce la plus cultivée, le *Triticum vulgare* ou froment (Prats et Clément-Grandcourt, 1971) (3x14 chromosomes) est essentiellement utilisé par l'industrie meunière pour la fabrication de farines destinées à l'alimentation humaine (panification) et animale (Duron, 1999), ainsi que la pâte utilisée en biscuiterie et en pâtisserie (Cheftel et Cheftel, 1977). Tandis que l'espèce *Triticum durum*, « blé améliorant » ou blé dur (2x14 chromosomes), contient une forte teneur en protéines (Duron, 1999 ; Cheftel et Cheftel, 1977). Cette espèce est utilisée, d'une part, par les semouleries et les industries de pâtes alimentaires et, d'autre part, pour en faire des aliments pour les animaux (Duron, 1999).

3. Structure et composition du blé

Les grains se caractérisent par une diversité considérable de formes, de couleurs et de dimensions, mais présentent une analogie structurale notoire. En effet, leur structure de base est celle d'un caryopse propre à la famille des Graminacées. Ils présentent donc, de l'extérieur vers l'intérieur, quatre parties disposées comme suit (Eliasson, 1993 ; Anne et Cécile, 2005 ; Feillet, 2000) :

Le péricarpe : se compose de trois sous couches.

a. L'épicarpe : est divisé en épiderme et en hypoderme.

- **L'épiderme** : est constitué de cellules épaisses, allongées et rectangulaires dont la surface extérieure est revêtue de cutine.
- **L'hypoderme** : est formé de cellules légèrement plus petites que celles de l'épiderme. Son épaisseur varie entre une et trois couches de cellules

b. Le mésocarpe : est la couche la plus épaisse, elle joue un rôle intermédiaire.

c. L'endocarpe : composé de cellules transversales et cellules tubulaires.

L'enveloppe de la graine ou testa : Elle est constituée de cellules et d'épaisseur variable (épaisse près de la couronne et fine aux alentours de l'embryon). La présence de pigments est fonction du génome de l'espèce considérée.

Le péricarpe et la testa sont les téguments externes et sont riches en fibres cellulosiques et hémicellulosiques, en sels minéraux et en acide phytique qui complexe le calcium et le fer, diminuant ainsi leur disponibilité nutritionnelle.

L'endosperme : est l'élément le plus volumineux du grain. Il comporte deux parties :

- **La couche d'aleurone ou assise protéique** : est constituée d'une couche de cellules situées juste en dessous de l'enveloppe de la graine ou de spermodermes. Les cellules d'aleurone sont particulièrement riches en protéines, en sels minéraux et en vitamines.
- **L'albumen** : se distingue par de longues cellules transversales et d'une couche de cellules tubulaires qui transportent l'humidité du grain. L'albumen contient la part la plus importante des protéines qui sont surtout localisées dans sa partie périphérique, contenant par ailleurs, la totalité de l'amidon sous forme de granules intracellulaires.

Le germe : se compose de l'axe embryonnaire et du scutellum. Ce dernier est un tissu de réserve riche en lipides, en protéines, en enzymes et en sels minéraux (Figure 2).

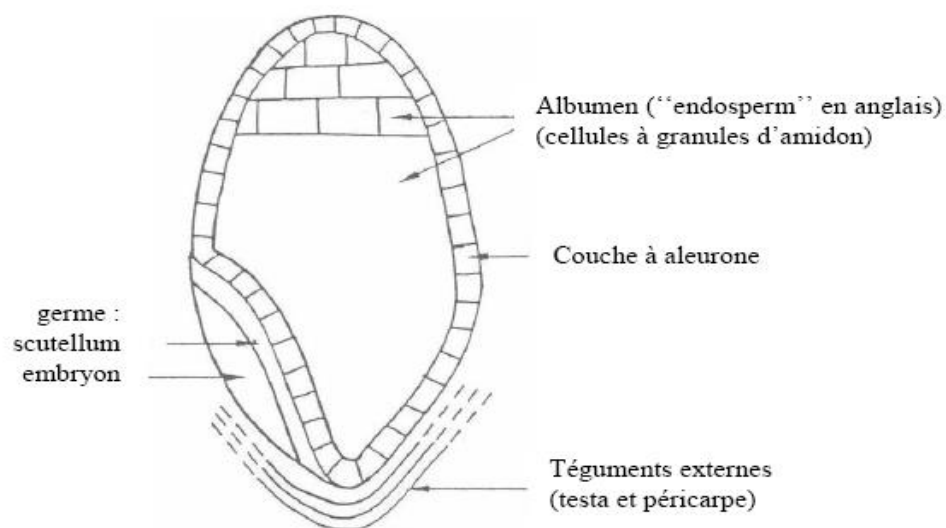


Figure 2: coupe schématique d'un grain de blé (Cheftel et Cheftel, 1977)

La composition des grains céréaliers varie selon les pratiques culturales, les types de semences, les conditions climatiques, etc... (Tableau 2).

Tableau 2 : Composition chimique du grain de blé (en %) (Feillet, 2000)

	Grain	Péricarpe	Aleurone	Albumen	Germe
Protéines	13,7	4,4	15,3	73,5	6,8
Lipides	2,7	0	23,6	62,9	13,5
Amidon	68,9	0	0	100	0
Pentosanes	7,4	35,1	43,8	18,3	2,9
Cellulose	2,8	87,1	7,6	3,1	2,2
Minéraux	1,9	22,6	43,6	22,6	9,7

Diverses vitamines, surtout du groupe B (B1, B2, B6), sont présentes dans les grains mais à des concentrations beaucoup plus faibles que dans les organes végétatifs. Le germe présente une richesse plus élevée surtout en vitamine E et B (Godon, 1991).

On peut considérer que les grains sont des formes naturelles de préservation, fortement protégées des agressions extérieures par les enveloppes du grain, mais également par d'autres fonctions physiologiques comme certaines protéines ayant une action antifongique ou la production de composés volatils, bactéricides et fongicides. Les grains cassés, fissurés ou morts perdent ces défenses naturelles et sont plus vulnérables aux agressions et en particulier aux microorganismes (Boudreau et Ménard, 1992 ; Bourgeois, 1996).

4. Procédés de transformation des céréales en farines

L'art de la meunerie est d'isoler l'albumen amylicé du grain exempt des parties périphériques (enveloppes et couches à aleurone) et du germe avec le meilleur rendement possible et au moindre coût, tout en maîtrisant les propriétés d'utilisation des produits obtenus. A l'issue de la mouture, quatre produits principaux sont obtenus (Tableau 3) :

- La farine, dont la taille des particules est comprise entre 30 et 200 μm (on parle de semoule quand les particules sont plus grosses), constituée de l'albumen légèrement contaminé par les parties périphériques du grain, d'autant plus que l'extraction des farines est plus poussée ;
- Les remoulages, fines particules constituées des enveloppes du grain et comprenant une importante proportion d'amidon originaire de l'albumen ;

- Les fins sons ;
- Les gros sons (Feillet, 2000).

Tableau 3 : Principaux produits formés au cours de la mouture du grain de blé

Farines	Fines particules d'albumen (30 à 200 µm)
Semoules	Grosses particules d'albumen exemptes d'enveloppes adhérentes (150 à 500 µm)
Semoules bises	Grosses particules d'albumen auxquelles adhèrent des fragments d'enveloppe
Remoulages	Fines particules d'enveloppes auxquelles adhèrent des particules d'albumen. Les remoulages blancs se différencient des remoulages bis par leur teneur plus élevée en produits issus de l'albumen
Les fins sons	Petits morceaux d'enveloppe exempts d'albumen
Les gros sons	Gros morceaux d'enveloppe exempts d'albumen

Au Maroc existe deux types de procédés de transformation des céréales en farine :

- Un procédé traditionnel
- Un procédé industriel

a. Procédé traditionnel de transformation des céréales en farines

Une très grande partie de la production de blé étant autoconsommée, le procédé traditionnel de transformation primaire subsiste principalement en zone rurale, malgré l'extension de la mécanisation.

Les meules familiales traditionnelles sont encore nombreuses en milieu rural où elles assurent une part importante de l'approvisionnement en farine. Les minoteries artisanales, équipées de meules de pierre ou d'un broyeur à cylindres mus par un moteur (électrique ou diesel), sont également fréquentes. Fonctionnant pour l'essentiel en tant que prestataires de services, elles effectuent dans certains cas la transformation de grains acquis par leurs propriétaires (ONICL, 2004).

Les minoteries artisanales doivent limiter leur activité (UNIFEM, 1994) :

- Au moulage des grains que les particuliers leur apportent
- Et à la production de farine destinée à la consommation familiale de leur clientèle

b. Procédé industriel de transformation des céréales en farines

Le procédé industriel de transformation des céréales diffère du procédé artisanal du point de vue quantitatif et qualitatif. En effet, on entend par procédé industriel, celui effectué par des unités utilisant des équipements très sophistiqués et de grande capacité (Khaly, 1998). La transformation industrielle des blés en farine se déroule en trois étapes (Feillet, 2000):

- Le nettoyage des blés, dans le but d'éliminer les produits et graines contaminants ;
- Le conditionnement qui permet d'augmenter l'élasticité des enveloppes et d'accroître les différences de friabilité entre les tissus du grain ;
- La mouture proprement dite qui assure la séparation de l'albumen et des enveloppes et réduit l'albumen en fines particules ;

➤ Nettoyage des blés

Les grains de blé doivent être débarrassés de toutes leurs impuretés avant d'être envoyés sur le premier broyeur : graines étrangères, pailles, pierres, déchets d'animaux (rongeurs, insectes). Il est également souhaitable d'éliminer les blés mal venus (grains échaudés, ergotés et fusariés) dont la présence pourrait nuire à la qualité des farines. La décontamination microbiologique de la surface des grains, y compris celle des enveloppes enfouies au sein du sillon, est un autre objectif parfois recherché (un nettoyage standard permet de réduire de 40 à 60 % la flore bactérienne du grain). L'ensemble de ces opérations doit être effectué en évitant de blesser ou de casser les grains. Le nettoyage des blés durs doit être effectué avec un soin particulier sous peine de voir apparaître des piqûres colorées dans les semoules, très préjudiciables à la qualité des pâtes alimentaires (Feillet, 2000). Les principales machines de nettoyage des blés sont énumérées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Principales machines de nettoyage des blés avant broyage

Type de machine	Impuretés éliminées
Aimant	Métaux
Aspirateur	Pailles, glumes
Nettoyeur-séparateur et trieur	Grosses et petites impuretés
Épierreur	Pierres
Brosse, époinçuse, lavage	Poussières adhérentes
Table densimétrique	Pierres, blés ergotés
Toboggan	Petites graines
Trieur de couleur	Graines avariés

Leur fonctionnement repose sur l'un ou l'autre des principes suivants : séparation dimensionnelle ou densimétrique, nettoyage des surfaces, triage colorimétrique, magnétisme. Les systèmes de nettoyage diffèrent d'un moulin à l'autre par la nature des machines mises en œuvre et l'ordre des opérations ; néanmoins, ils possèdent en commun un régulateur de flux destiné à assurer un débit constant des produits arrivant sur la première machine, un système d'aspiration pour éliminer les impuretés les plus légères (pailles), des machines de calibrages et de triage afin de séparer les blés des grosses et petites graines étrangères, d'époinçuses ou de brosses pour nettoyer la surface des blés et enfin d'une épierreuse et d'un séparateur magnétique. Un diagramme type de nettoyage est retracé sur la figure 3 (Feillet, 2000).

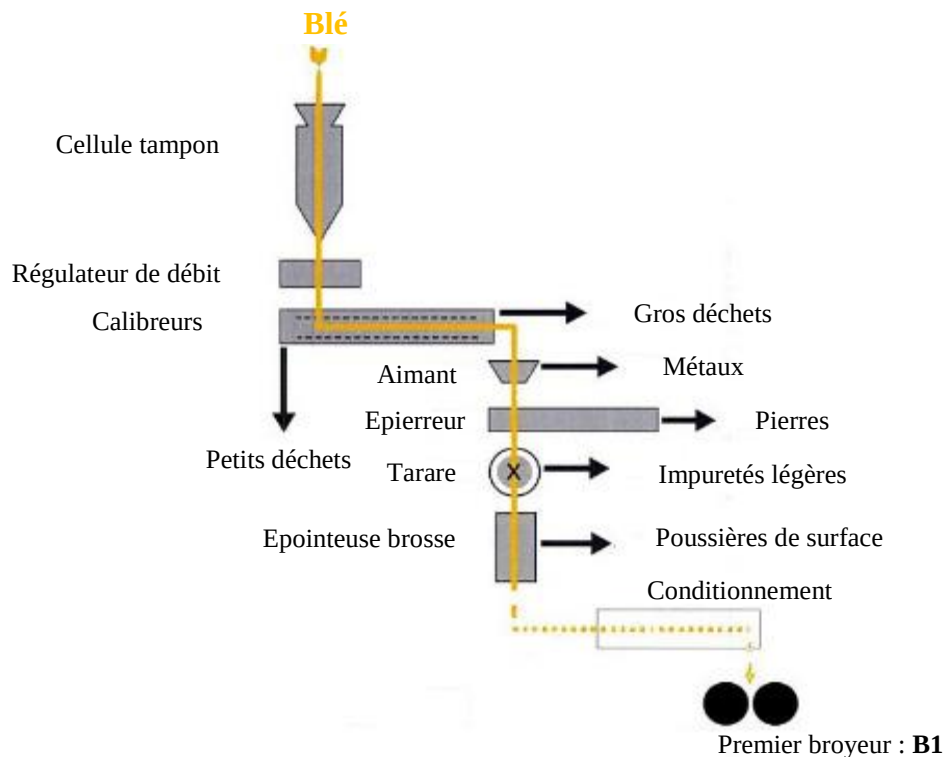


Figure 3: Diagramme type de nettoyage des blés avant leur envoi sur le premier broyeur (Feillet, 2000)

➤ Conditionnement des blés

Après nettoyage, le blé doit être conditionné de manière à faciliter la séparation du son et de l'amande et le broyage de celle-ci. Un blé humide sera difficile à travailler, notamment à bluter ; un blé sec se prêtera mal à la séparation des enveloppes du cœur de l'albumen. Le conditionnement crée un gradient de teneur en eau entre la périphérie et le centre du grain en jouant sur trois paramètres : quantité d'eau ajoutée, température du traitement, durée de repos du blé. Il doit atteindre les objectifs suivants :

- Assouplissement des enveloppes afin d'éviter leur fragmentation et de faciliter leur séparation ;
- Réduction de la dureté de l'albumen pour favoriser sa réduction en farine sans endommager les granules ;
- Conservation de la valeur boulangère des farines.

Dans la pratique, la préparation des grains avant mouture consiste en une hydratation ménagée (16 à 17 %) et un repos de 12 à 48 heures (Feillet, 2000).

➤ La mouture

Opération centrale de la transformation des blés en farines et en semoules, la mouture repose sur la mise en œuvre de deux opérations unitaires : opération de fragmentation-dissociation des grains et une opération de séparation des constituants. La première permet de dissocier l'amande et les enveloppes (broyage), de fractionner les semoules vêtues (désagréage) et de réduire l'amande en farine (convertissage) ; la seconde assure la séparation des sons et des enveloppes sur la base de leur granulométrie (division par tamisage) et de leurs propriétés aérodynamiques (épuration des semoules par sassage). Les équipements utilisés pour effectuer ce travail sont présentés dans le tableau 5 et les principales opérations sont résumées dans le tableau 6 (Feillet, 2000 ; Boudreau et Ménard, 1992).

Tableau 5: Principaux matériels utilisés en meunerie

Cylindre lisse	Rouleau métallique dont la surface est sans aspérité
Cylindre cannelé	Rouleau métallique en surface duquel ont été gravées des cannelures
Broyeur, réducteur et désagréateur	Machines constituées de deux cylindres cannelés en sens inverse et à des vitesses différentes.
Claqueur et convertisseur	Machines identiques aux broyeurs, à l'exception des cylindres qui sont lisses. Ils ne sont pas utilisés en semoulerie.
Plansichter	Machine constituée des tamis superposés et soumise à un mouvement de rotation destiné à assurer une progression régulière des produits d'un tamis à l'autre.
Sasseur	Machine constituée des tamis inclinés soumis à un mouvement de va-et-vient et d'un système d'entraînement des produits par l'air permettant de les séparer sur la base de leur propriété aérodynamique.

Tableau 6 : Principales opérations effectuées dans un moulin

Blutage	Séparation des produits de mouture (semoules, farines, sons) sur la base de leurs dimensions (granulométrie).
Broyage	Dissociation progressive de l'albumen et des parties périphériques des graines par écrasement et cisaillement des produits entre des cylindres cannelés
Claquage et convertissage	Réduction de la taille des grosses semoules par écrasement entre des cylindres lisses
Sassage	Séparation des produits de mouture sur la base de leur forme, de leur taille et de leur densité

Le broyage est une opération qui permet d'ouvrir mécaniquement le grain, par cisaillement, choc ou compression, et de détacher plus ou moins complètement l'amande friable alors que les enveloppes, les plus élastiques, résistent. Il est réalisé entre des cylindres cannelés tournant en sens inverse et à des vitesses différentes (Feillet, 2000).

Le convertissage et le claquage sont effectués dans des appareils à cylindres lisses, dotés de convertisseurs et de claqueurs. Ces deux opérations visent à réduire la granulométrie des semoules qui les alimentent et ne se différencient l'une de l'autre que par l'origine et la nature des produits traités : les convertisseurs reçoivent des semoules purifiées, les claqueurs des semoules vêtues (Feillet, 2000).

Le tamisage, ou blutage, permet de séparer les produits en provenance des cylindres lisses et des cylindres cannelés en fonction de leur granulométrie. L'opération est réalisée dans des plansichters, appareils formés d'un assemblage de tamis superposés et soumis à un mouvement rotatif et de va-et-vient permanent sous l'action d'un moteur excentrique.

Le sassage assure également la séparation des produits de mouture : les produits sont maintenus en suspension par un courant d'air ascendant au-dessus des tamis dont la largeur diminue au fur et à mesure de la progression des produits. La ségrégation des produits repose sur leurs différences de densité et de propriétés aérodynamiques : les particules d'albumen amylicé, plus denses que celles d'enveloppes, retombent plus rapidement sur le tamis et sont

extraites en premier. La succession de ces opérations permettent de produire des farines de blés tendres et de fabriquer des semoules de blés durs (Feillet, 2000).

5. Propriétés des farines

5.1 Définition

Les congrès internationaux de la Répression des Fraudes se sont évertués à donner une définition précise des farines. Ci-après, la définition rapportée par LECOQ en 1965.

« L'expression farine peut s'appliquer à un grand nombre de produits, d'origines variées, pulvérisés. Malgré l'impropriété du terme farine, cette désignation s'applique exclusivement (quand elle ne comporte pas d'autres précisions), au produit issu de la mouture du blé nettoyé et industriellement pur. Les produits de la mouture des autres graines, céréales, légumineuses, nettoyés et industriellement purs, sont désignés par le mot farine suivis du qualificatif indiquant l'espèce de graine, de céréale ou de légumineuse entrant dans la composition, soit seule, soit à l'état de mélange ».

Ces congrès ont précisé, d'autre part, que doivent être considérées comme pures les farines qui renferment accidentellement :

- Une très petite quantité de farine étrangère ;
- Une faible quantité de sable.

5.2 Composition chimique

La farine et la semoule, issues de l'endosperme amylicé (albumen), jouent un rôle déterminant dans la fabrication des produits à base de blé. Elles contiennent, en ordre d'importance, de l'amidon et des pentosanes, quatre classes principales de protéines, des lipides, des sels minéraux et des enzymes (Boudreau et Ménard, 1992).

La détermination de la composition chimique est une étape incontournable du contrôle de qualité des farines céréalieres. Elle permet dans une large mesure de se prononcer sur l'état de conservation, l'aptitude à la conservation, les défaillances du procédé de fabrication et la qualité de la matière première en se basant sur les normes fixées par des organisations telles que la FAO, l'AFNOR, etc...

Du point de vue qualitatif, les farines ont la même composition que les graines, la transformation faisant varier les composantes en fonction de leur localisation dans la céréale (Parmetier et Fouabi, 1989).

a. Les glucides

L'amidon

Il représente la quasi-totalité des sucres contenus dans les farines, c'est un polysaccharide végétal à deux constituants : l'amylose et l'amylopectine (Tableau 7) (Cheftel et Cheftel, 1977 ; Leveque et *al.*, 2000).

Tableau 7 : Profil granulométrique des farines de blé

Céréale	Amylose (%)	Amylopectine (%)
Blé	20	80

- **L'amylose** : un polymère linéaire de résidus de O-glucose attachés par des liaisons alpha - 1-4. Sa masse moléculaire peut aller de 20 000 à 300 000 daltons. En solution aqueuse, l'amylose donne un gel amorphe plus ou moins rigide ou élastique dont la stabilité est fonction de la température.
- **L'amylopectine** : un polymère ramifié de O-glucose. Les liaisons sont de type alpha, 1, 4 sauf au niveau des branchements où elles sont de type alpha, 1, 2. L'amylopectine présente un degré de cristallinité inférieur à celui de l'amylose. Sa masse moléculaire varie de 200 000 à 1 000 000 daltons environ. Il y a 20 à 30 résidus de glucose entre deux ramifications. L'amylopectine absorbe beaucoup d'eau, elle est donc responsable du gonflement de l'amidon à la cuisson.

Les autres sucres

Les autres glucides sont retrouvés à l'état de traces ; il s'agit de la cellulose de l'hémicellulose et des pentosanes responsables de troubles du transit intestinal (Watson et Yahl, 1986).

b. Les protéines

La teneur protéique est un critère de choix du contrôle de qualité des farines céréalières car étant primordiale dans l'évaluation des valeurs nutritives et boulangères. Quatre types principaux de protéines ont pu être mis en évidence dans les farines à base de céréales (Cheftel et Cheftel, 1977) :

- **Les glutélines** : Ce sont des protéines de haut poids moléculaire (supérieur à 1 000 000 daltons) riches en acides aminés basiques, peu ioniques et présentant de nombreux groupements amides et hydroxyles leur conférant une grande capacité d'hydratation.
- **Les prolamines** : Ce sont des protéines de faible poids moléculaire (20 000 à 50 000 daltons), très riches en proline et solubles dans les solutions alcooliques.
- **L'albumine** : L'albumine est une protéine de poids moléculaire compris entre 20 000 et 50 000 daltons.
- **Les globulines** : Les globulines sont des protéines de poids moléculaire assez élevé (PM = 200 000 à 300 000 daltons) riches en lysine, insolubles dans l'eau et solubles dans des solutions diluées de sel neutre.

Les glutélines et les prolamines forment le gluten responsable de l'élasticité et de l'extensibilité de la pâte lors du pétrissage. Ces protéines sont très importantes dans la farine de blé contrairement aux farines à base de céréales locales qui sont inutilisables seules en panification.

c. Les lipides

Les lipides sont à majorité constitués d'esters de glycérol et d'acides gras saturés ou insaturés (glycolipides) et minoritairement de phospholipides. Leurs caractères hydrolysable et oxydable diminuent la stabilité des farines rendant difficile la conservation de ces dernières (Kessous, 1993 ; Grandvoininnet et Prati, 1994).

d. L'eau

Elle favorise la prolifération de micro-organismes (Niquet et Lasseran, 1989).

e. Les cendres

Les cendres sont essentiellement constituées de minéraux dont les plus importants sont le phosphore, le calcium et le fer (AOAC, 1995).

5.3 Caractéristiques des farines céréalières

5.3.1 Caractères organoleptiques

L'aspect informel de la vente des farines céréalières limite les critères de motivation du consommateur dans le choix des produits aux seuls caractères organoleptiques. Bien que déficients, ils fournissent à l'analyste des informations relatives à l'état de la conservation et au degré de pureté des produits.

a. Couleur

La couleur varie avec l'espèce et le taux d'extraction défini par Cheftel et Cheftel (1977) comme le pourcentage en masse de graines transformées en farine (Tableau 8).

Tableau 8 : Taux d'extraction et couleur des farines

Taux d'extraction	70 %	70 % - 80 %	> 80 %
Farine de blé	Blanc	Jaune	Marron
Farine de maïs	Crème	Jaune –clair	Jaune

b. Odeur

L'odeur est modifiée par la présence de son (farine à taux d'extraction élevé), elle est rance, acide ou âcre pour les farines altérées (LECOQ, 1965).

c. Saveur

Les farines céréalières ont une saveur, caractéristique qui est modifiée par l'altération ou l'addition de particules étrangères issues de graines différentes de celles de base. Les farines ne doivent pas crisser sous la dent (sable) (LECOQ, 1965).

5.3.2 Caractères granulométriques

La granulométrie des farines céréalières dépend de deux grandes catégories de facteurs à savoir (Pilon et Mazerard, 1988) :

- Les facteurs d'ordre technique qui comptent à leurs actifs, la conduite du moulin, le tamisage ou blutage et le taux d'extraction.
- Les facteurs liés à la céréale à moudre à savoir le type de céréale, l'espèce céréalière et le degré d'humidité du grain qui conditionne, pour une large part, sa friabilité.

Le tableau 14 nous fournit le profil granulométrique des farines de blé.

Tableau 9: Profil granulométrique des farines de blé (FAO, 1994)

Farines	Dimension des particules (en micromètre)	Pourcentage
Farine de blé	> 300	~0
	225- 300	5
	135-225	20
	135	75

La granulométrie des farines revêt une importance majeure quant à leurs analyses et leurs utilisations. En effet, elle permet de détecter la présence de particules étrangères et de se prononcer sur les problèmes de la mouture. Elle joue aussi un rôle fondamental dans l'hydratation : première opération de la panification et de la préparation des pâtes et des bouillies.

5.3.3 Caractéristiques nutritionnelles

a. Apports en acides aminés

Selon Cheftel et Cheftel (1977), la valeur nutritionnelle des protéines céréalières est relativement faible et l'on s'efforce actuellement à obtenir par croisements génétiques des variétés à teneur accrue en protéines et surtout en lysine et en tryptophane. Lemonier et Ingenbleek (1989) renforce l'idée du précédent auteur en faisant une étude comparative de la composition en acides aminés d'une farine de mil et celle d'une protéine de référence FAO.

b. Apports vitaminiques

D'une manière générale, les céréales sont pauvres en vitamines. Ces dernières s'y retrouvent à l'état de traces. Il s'agit (Godon, 1991) :

- Des vitamines liposolubles (vitamines A et E)
- Des vitamines hydrosolubles (vitamines B1, B2 et PP)

5.3.4 Caractéristiques microbiologiques

La flore des farines céréalières est composée de germes saprophytes qui prolifèrent parallèlement avec une augmentation du degré d'humidité occasionnant des altérations. Les principaux microorganismes identifiés dans les farines sont les bactéries lactiques, les bactéries non lactiques, les levures et les moisissures (Guiraud et Galzy, 1980).

III. Microflore des farines

L'appréciation de la qualité microbiologique d'une denrée consiste en la recherche des germes pathogènes, des germes nuisibles à la conservation et des germes utiles à la bonne évolution du produit. Il s'agit des bactéries et des champignons microscopiques.



1. Les Champignons microscopiques

Les principales levures présentes dans les farines sont de la famille des *Endomycetoideae* et de la famille de *Trichoporoïdeae*. Les moisissures ont une action double (Gelinas, 1995) :

- Détériorante par la production de spores qui affectent la coloration et les caractères organoleptiques (odeur et goût de moisi) ; les germes les plus souvent incriminés sont *Rhizopus nigricans*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger*, *Monilia*, *Mucor*, *Geotrichum*.
- Pathogène: les céréales représenteraient la plus grande source de contamination par les mycotoxines. Ces toxines comportent un risque toxicologique potentiel pour les consommateurs. Elles sont produites par certaines espèces des genres *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium*.

2. Les bactéries

Deux groupes de bactéries sont identifiés dans les farines céréalières : les bactéries non lactiques, les bactéries lactiques.

2.1 Les bactéries non lactiques

La flore non lactique est représentée par des germes de contamination endogène ou exogène. Ils peuvent entraîner deux effets néfastes : altérer le produit ou être pathogènes pour le consommateur (Rozier, 1986).

a. Flore d'altération

Les germes d'altération sont surtout d'origine exogène et en particulier d'origine fécale, Ils sont principalement apportés par les ouvriers, le matériel et l'eau de rinçage du matériel.

Une préparation défectueuse se traduira toujours par la prolifération de streptocoques fécaux (*Streptococcus faecalis*, *faecium* et *durans*), de coliformes fécaux et d'une flore banale importante ; autant de bactéries qui interfèrent avec la flore utile.

Ils sont toujours indésirables du point de vue technologique, par la dégradation et l'altération qu'ils provoquent dans les produits alimentaires (Greaume, 1975).

b. Flore pathogène

Elle est constituée de germes indésirables soit par leur présence dans l'aliment, soit par les toxines qu'ils produisent. Leur origine est double : endogène ou exogène.



➤ Flore pathogène d'origine endogène

Deux germes sont fréquemment cités : *Brucella*, agent de la brucellose (fièvre ondulante, fièvre de Malte) et *Mycobacterium*. La croissance de ces germes est inhibée par les ferments lactiques et leurs productions (Anonyme, 1974 ; Ramade et *al.*, 1985).

➤ Flore pathogène d'origine exogène

- Les salmonelles et les shigelles

La contamination de l'aliment par les germes se fait par souillure fécale d'animaux et d'hommes malades ou porteurs sains. Souvent responsables de toxi-infections, les salmonelles sont l'ennemi le plus redoutable du consommateur (*Salmonella enteritidis*). La présence de *Salmonella typhi* et de *Salmonella paratyphi*, respectivement agents des fièvres typhoïde et paratyphoïde, entraîne l'exclusion de l'aliment de la chaîne de consommation. Ces accidents provoquent en effet des troubles digestifs souvent mortels. Les toxi-infections à *shigella* entraînent de leur côté une dysentérie bacillaire (Anonyme, 1980).

- Les Indologènes

Hôtes habituels du tube digestif, ils peuvent parfois acquérir un pouvoir pathogène. L'indole qu'ils libèrent alors est un véritable poison de tous les tissus nobles de l'organisme. *Escherichia coli* est le seul *Escherichiae* qui entraîne des intoxications et des gastroentérites infectieuses. Ces dernières prennent souvent une allure d'épizootie (Konte, 1985 ; Poul et *al.*, 1984).

- Les staphylocoques pathogènes (*Staphylococcus aureus*)

Les staphylocoques à coagulase positive sont les agents de toxi-infections staphylococciques. Ainsi, *Staphylococcus aureus* est-il le seul présumé entérotoxique (Guiraud et Galzy, 1980). Ses propriétés toxiques, comme le démontrent Daoud et Debevere sont en relation avec la production d'une DNase thermostable (thermonucléase) et d'une coagulase. Des souches de *Staphylococcus aureus* ont été isolées chez l'homme et chez les animaux (De Buyser, 1980). Son pouvoir pathogène est d'autant plus important qu'il sécrète des toxines (hémolysine, leucocidine, entérotoxine), des enzymes (hyaluronidase) et qu'il est lui-même antibiorésistant (sécrétion d'une β lactamase).

Ces germes étant sensibles à la chaleur et au froid, le danger résulte surtout de leur entérotoxine thermostable lors d'une forte contamination (10^6 germes/ml ou plus) (Moletto et Bergdoll, 1982 ; Notermans et Otterdijk, 1985).

- Les Clostridies

Deux bacilles sont responsables de toxi-infections alimentaires :

- *Clostridium botulinum*, agent du botulisme, dont la toxine thermosensible est préformée dans l'aliment en raison de sa multiplication rapide
- *Clostridium perfringens*, dont l'intoxication exige la présence de germes dans l'aliment ingéré (toxines cytolytiques, à activité enzymatique).

Ces germes sont d'autant-plus dangereux qu'ils ont un caractère tellurique, sporogène et anaérobie. Leur présence est généralement due à une contamination exogène (Frazier, 1967).

2.2 Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques forment un groupe hétérogène composé de coques et de bacilles, dont la principale caractéristique est la production d'acide lactique à partir de la fermentation des sucres (Kandler, 1983). Non pathogènes, ces bactéries à coloration de gram positive (Gram⁺) ont un métabolisme anaérobie facultatif et ne produisent pas de catalase (Larpent et al., 1997 ; Bourgeois et al., 1996).

Les bactéries colonisent des milieux naturels variés tel que la surface des végétaux et les muqueuses des mammifères (intestin, bouches, vagin et surface de la peau). Leur utilisation est apparue, depuis des millénaires, dans la fabrication des aliments comme le pain au levain, les fromages, les charcuteries, les boissons fermentées, les sauces, les saumures, les légumes fermentés, les ensilages etc. Elles permettent, de par leur métabolisme, d'augmenter la durée de conservation d'origine des denrées et en leur conférant une saveur et une texture différente (Badis et al., 2003).

Chez les bactéries lactiques, la fermentation des hexoses produit principalement de l'acide lactique. Ce processus de fermentation est qualifié d'homoférmatoire si l'acide lactique est le seul produit terminal ou d'hétérofermentaire si la fermentation des sucres produit d'autres métabolites comme le CO₂, l'acétate ou l'éthanol (Vandamme et al., 1996) .

Sous l'appellation « bactéries lactiques » sont regroupés divers genres comme *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*,

Streptococcus, *Aerococcus*, *Alloicoccus* et *Carnobacterium* (Axelsson, 2004 ; Guiraud et al., 2003 ; Limsowtin et al., 2004 ; Klein et al., 1998). Elles interviennent dans l'industrie laitière et dans la fermentation de nombreux autres produits alimentaires : boulangerie, saumurage des légumes, saurissage des poissons, des viandes et des salaisons, etc. Elles contribuent à la texture, à la saveur des aliments et à la production de composés aromatiques. Elles fermentent les glucides en acide lactique, d'où une diminution du pH favorable à la conservation des aliments. Leur pouvoir antagoniste résulte aussi d'une compétition pour les substrats et, si les conditions de développement sont favorables, de l'élaboration de bactériocines comme la nisine (Bekhouche et Boulahrouf, 2005).

Par ailleurs, les farines céréalières sont caractérisées par la présence essentielle des lactobacilles qui sont des bactéries à Gram ⁺ à forme souvent allongée, asporulées, immobiles et à métabolisme fermentaire produisant de l'acide lactique. Ils sont acidophiles et généralement protéolytiques et peu lipolytiques (Guiraud et al., 2003).

IV. Flore lactique des farines

1. Bactéries lactiques

1.1 Définition

Les bactéries lactiques sont un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme. Elles sont non pigmentées, aérobies-anaérobies facultatives, Gram-positif, catalase négative à l'exception de certains genres à pseudocatalase et tolérantes à des pH acides. Leur forme peut être coccoïde, coccobacillaire, ou bacillaire. Elles sont généralement mésophiles (Holzapfel et al., 2001 ; Gevers, 2002). Sur la base des caractéristiques de fermentation, les bactéries lactiques sont homofermentaires ou hétérofermentaires. Dans le premier cas, seul l'acide lactique est produit. Dans le second, en plus de l'acide lactique, sont produits de l'acide acétique, de l'éthanol, du dioxyde de carbone et de l'acide formique (Priyanka et Prakash, 2009).

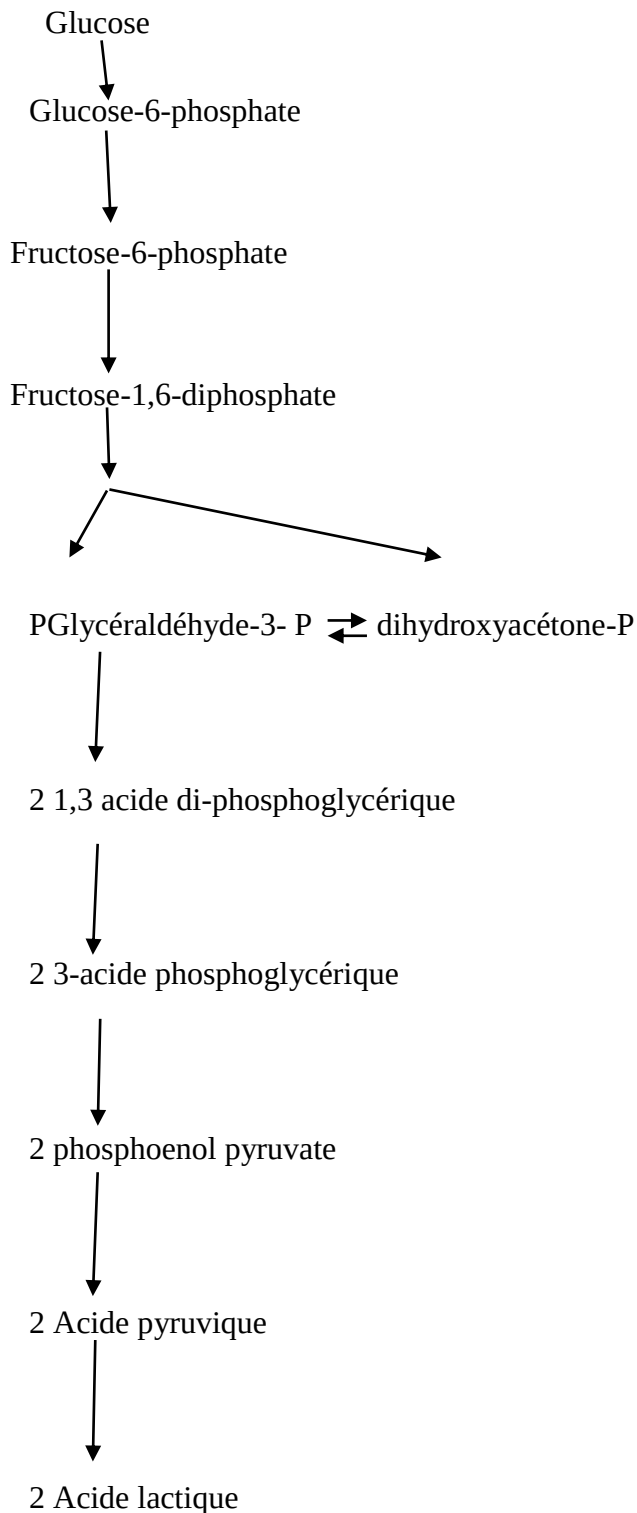
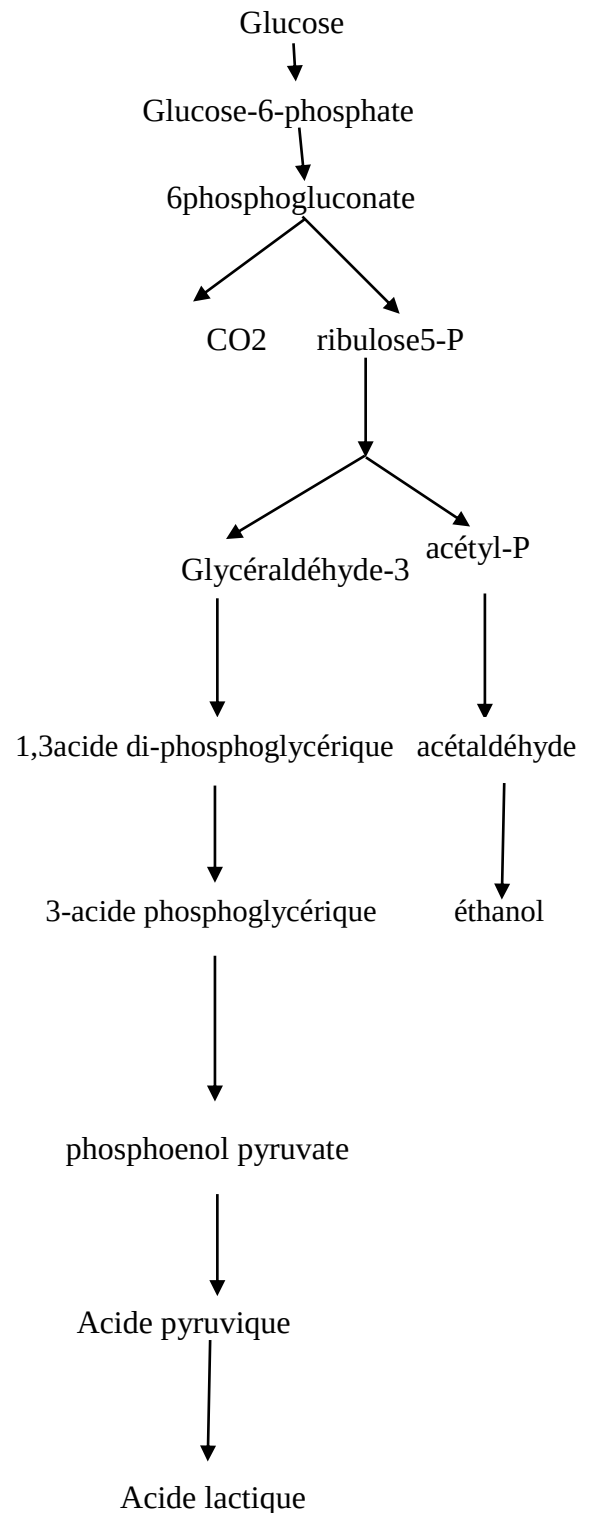
Actuellement, les bactéries lactiques regroupent douze genres bactériens différents : *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus* (Vandamme et al., 1996 ; Gevers, 2002 ; Patrignani et al., 2006).

1.2 Principales caractéristiques

Les bactéries lactiques sont des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. A quelques exceptions près, les bactéries lactiques sont généralement Gram positives, immobiles, asporulées, anaérobies mais aérotolérantes, et ne possédant pas de catalase (certaines souches possèdent une pseudocatalase), de nitrate réductase, et de cytochrome oxydase. Elles ont des exigences nutritionnelles nombreuses (acides aminés, peptides, sels, acides gras et glucides) (Holzapfel et *al.*, 2001 ; Gevers, 2002). Toutes les bactéries lactiques ont un métabolisme fermentaire strictement saccharolytique qui, en utilisant les glucides, elles peuvent produire soit de :

- L'acide lactique exclusivement (bactéries homolactiques strictes),
- L'acide lactique et de l'acide acétique (bactéries hétérolactiques facultatives),
- L'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et de CO₂ (bactéries hétérolactiques strictes) (Vandamme et *al.*, 1996).

Certaines espèces ou certaines souches peuvent en outre produire de l'acide formique ou de l'acide succinique (Figure 4) (De Roissart et Luquet, 1994).

Voie homolactique**voie hétérolactique****Figure 4** : Dégradation du glucose par les bactéries lactiques (De Roissart et Luquet, 1994)

Les bactéries lactiques possèdent en effet un statut GRAS (Generally Recognized As Safe) qui autorise officiellement leur usage dans les applications alimentaires et qui témoigne de leur parfaite innocuité. Elles sont utilisées pour la préservation des aliments ainsi que pour l'amélioration de leurs qualités structurelles et organoleptiques. Cependant, peu de bactéries lactiques survivent au passage du tractus intestinal. Les bactéries lactiques colonisent des habitats variés mais riches en composés organiques comme les produits alimentaires (viande, vin, lait, choucroute, cacao,...), les ensilages, le fumier, le tractus gastrointestinal et génital (animal et homme) (Rigaux et *al.*, 2009).

2. Classification des bactéries lactiques

Plusieurs travaux dans ce domaine ont été repris par Orla-Jensen, 1919 ; Leveau et Bouix, 1983 ; Davies et Law, 1984 ; Sneath et *al.*, 1986 ; Collins et *al.*, 1987 ; Collins et *al.*, 1993 ; Roissard et Luquet, 1994 Gilliland, 1995 et Stiles et Hotzapel, 1997 dont le classement a été complété par la classification moderne qui a permis de distinguer différents genres.

Orla-Jensen (1919), a proposé une classification fondée sur les caractères morphologique, biochimique et physiologique (température de croissance, mode de fermentation de glucose et la forme de l'acide lactique produit). Il a travaillé sur le genre *Lactobacillus* avec sa structuration en *Thermobacterium*, *Streptobacterium* et *Betabacterium* correspondant aux trois groupes actuels des Lactobacilles. Homofermentaires stricts, hétérofermentaires facultatifs et hétérofermentaires stricts.

Les groupes des homofermentaires sont formés de trois sous-groupes :

- *Streptobacterium*
- *Thermobacterium*

Les groupes des hétérofermentaires sont formés également de trois sous-groupes :

- *Bifidobacterium*
- *Betabacterium*
- *Betacoccus* (Gournier Château et *al.*, 1994)

Selon Sneath et *al.* (1986), les bactéries lactiques sont regroupées suivant une taxonomie basée sur :



2.1 Les caractères morphologiques

- La forme : des cellules microbiennes représentent souvent un caractère distinctif de l'espèce et du genre bactériens (coques ou bâtonnets).
- Le Diamètre cellulaire : est un caractère plus stable que la longueur cellulaire.
- La mobilité : est une caractéristique rare chez les bactéries lactiques qui sont généralement immobiles, sauf dans certains cas où elles possèdent des flagelles péritriches.
- La sporulation : toutes les bactéries lactiques sont non sporulées.

2.2 Les caractères physiologiques et biochimiques

Les caractères physiologiques et biochimiques regroupent la quantité et la configuration de l'acide lactique produit, la température de croissance minimale, optimale et maximale, la tolérance à l'oxygène et au chlorure de sodium, production de gaz et d'arôme, la production d'ammoniaque à partir de l'arginine, la capacité d'hydrolyser l'esculine ou de résister aux sels biliaires et à différentes valeurs de pH (Luquet et de Roissard, 1994).

Cependant, les études basées sur la comparaison des séquences de l'ARN ribosomal 16S ont montré que certains taxons générés sur la base de la caractérisation phénotypique ne concordent pas avec les relations phylogénétiques suggérées. En effet, certaines espèces ne sont pas faciles à distinguer par des caractéristiques phénotypiques (Gevers, 2002). Par conséquent, les méthodes de typage moléculaire telles que l'électrophorèse en champ pulsé (PFGE), la réaction de polymérisation en chaîne utilisant des éléments répétés (rep-PCR), ainsi que les Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) sont extrêmement précieuses pour la caractérisation et la détection des bactéries lactiques (Holzapfel et *al.*, 2001). Sur la base des données de séquençage de 16S et 23S de l'ADNr, les bactéries à Gram positives forment deux embranchements. Un embranchement composé de bactéries à Gram positives avec un pourcentage G + C inférieur à 50 % (*Clostridium*) et un autre formé de bactéries ayant une teneur en G + C supérieure à 50 % (Actinoba) (Holzapfel et *al.*, 2001 ; Gevers, 2002). Les bactéries lactiques typiques ont une teneur en G + C inférieure à 50 % alors que le genre *Bifidobacterium* qui, d'un point de vue physiologique, fait partie des bactéries lactiques. Ce genre appartient à la branche des Actinobactéries qui comprend aussi *Propionibacterium* et *Brevibacterium* (Vandamme et *al.*, 1996). Il y a peu de corrélation entre la classification traditionnelle et la parenté phylogénétique des bactéries lactiques. Des

genres morphologiquement distincts, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* sont phylogénétiquement entremêlés (Schleifer et Ludwig, 1996 ; Gevers, 2002).

Les bactéries lactiques sont définies comme des bactéries qui fermentent le glucose pour produire surtout l'acide lactique. Cependant cette définition couvre plus de taxa que ceux désignés par bactéries lactiques. C'est surtout leur importance dans la fermentation des aliments et produits alimentaires (viandes, végétaux, fruits, poissons, produits laitiers et ensilage) qui les délimite (Vandamme et *al.*, 1996). Ainsi le groupe des bactéries lactiques renferme les genres suivants : *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella*. Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme appartenant aux bactéries lactiques du fait de son effet probiotique sur l'organisme et son utilisation dans les aliments (Vandamme et *al.*, 1996 ; Gevers, 2002 ; Patrignani et *al.*, 2006).

3. Identification des bactéries lactiques

L'approche classique de la taxonomie des bactéries lactiques a été toujours basée sur les caractéristiques morphologiques et physiologiques. Cette identification a été élargie pour inclure des marqueurs chimiotaxonomiques (acides gras cellulaires), l'analyse des protéines totales de la cellule et autres caractéristiques de la cellule (Holzapfel et *al.*, 2001; Temmerman et *al.*, 2004). Une identification fiable est dépendante de l'information génotypique. Les méthodes génotypiques, tels que le séquençage de l'ADNr, ribotypage, Random Amplified polymorphic DNA (RAPD), rep-PCR fingerprinting, Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), électrophorèse en champ pulsé (PFGE) de l'ensemble de l'ADN chromosomique digéré, constituent aujourd'hui une partie importante de la taxonomie moderne des bactéries lactiques (Holzapfel et *al.*, 2001 ; Gevers, 2002 ; Temmerman, 2003 ; Temmerman et *al.*, 2004). Ci-dessous, un aperçu concis des techniques les plus importantes utilisées pour la classification et l'identification des bactéries lactiques.

3.1 Méthodes phénotypiques

Les méthodes phénotypiques sont toujours utilisées dans les laboratoires de microbiologie alimentaire appliquée. Différents tests clefs ont été largement adoptés et, de nos jours, les caractérisations morphologiques ainsi que les méthodes physiologiques, métaboliques, biochimiques et chimiotaxonomiques sont pratiquées. Des tests physiologiques

simples, tels que la croissance à différentes températures, la tolérance aux acides et au sel ainsi que la production de gaz sont utiles pour la différenciation des genres (Gevers, 2002 ; Temmerman et *al.*, 2004).

Parmi les méthodes biochimiques utilisées, les microméthodes ont connu un développement important, avec la commercialisation de systèmes d'identification associant, pour un groupe bactérien donné, une galerie miniaturisée de tests biochimiques et des documents ou des programmes informatiques permettant d'interpréter les résultats obtenus (De Roissart et Luquet, 1994). La première galerie biochimique miniaturisée destinée à l'identification des bactéries lactiques a été la galerie API (Analytic Programme Index) 50 CHL, commercialisée en 1970 pour l'étude des souches du genre *Lactobacillus*, puis rapidement étendue à d'autres genres (*Leuconostoc* et *Lactococcus*). Cette technique nécessite une durée d'incubation plus ou moins longue (12 heures à 48 heures) mais exige l'emploi d'un inoculum de faible charge bactérienne.

La comparaison des profils des protéines totales de la cellule obtenus par électrophorèse sur gel de polyacrylamide (SDS-PAGE), s'est révélée être extrêmement fiable pour l'identification au niveau de l'espèce voir même de la sous-espèce, à condition d'avoir une base de données des profils protéiques numérisés et normalisés de toutes les espèces connues de bactéries lactiques (Pot et *al.*, 1994 ; Vandamme et *al.*, 1996). Pour certaines espèces, le pouvoir discriminatoire de cette technique est limité ; c'est le cas du complexe *Lactobacillus acidophilus* (Gancheva et *al.*, 1999), et des espèces *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus* et *Lactobacillus paraplantarum* (Torriani et *al.*, 2001).

3.2 Méthodes génotypiques

Les techniques basées sur l'analyse de l'ADN permettent une meilleure différenciation des micro-organismes à différents niveaux, allant du genre jusqu'à la souche en fonction des méthodes utilisées. En général, elles ont l'avantage sur les méthodes d'identification phénotypique de ne pas être influencé par les conditions de culture (Gevers, 2002). Le séquençage direct du gène d'ARNr 16S est l'une des méthodes les plus puissantes pour l'identification en une seule étape d'une souche inconnue. Toutefois, il existe quelques limites (Vandamme et *al.*, 1996; Rossello-Mora et Amann, 2001). A titre d'exemple certaines espèces qui sont différentes peuvent avoir les même séquences de l'ADNr 16S (Fox et *al.*, 1992) et la fiabilité de certaines séquences hébergées dans la base de données peut être

discutable. Les méthodes de typage des souches deviennent de plus en plus importantes dans l'étude des bactéries lactiques. Les méthodes génotypiques utilisées pour le typage comprennent PFGE de l'ADN chromosomique digéré, ribotypage, profil plasmidique et les méthodes de typage (empreintes digitales) basées sur la technique de PCR telles que les RAPD, AFLP et rep-PCR.

V. Technologie des farines

1. Principaux paramètres mesurés de la qualité du blé dur

1.1 Le taux de pigments jaunes : Les caroténoïdes

Les caroténoïdes correspondent à des pigments liposolubles qui présentent une couleur orange à jaune. Ils sont produits par les végétaux et les cyanobactéries et participent à la photosynthèse, particulièrement en collectant de la lumière solaire puis en transmettant l'énergie lumineuse à la chlorophylle A. Ils s'observent à l'intérieur des chromoplastes. Ces pigments comprennent les carotènes (plutôt rouges orangés) et les xanthophylles (plutôt jaunes orangés, ou rose) (Britton et *al.*, 1995).

Les caroténoïdes sont aussi des composés possédant des propriétés antioxydantes. Tout comme les composés phénoliques, ils se retrouvent en grande quantité dans l'élément du son et du germe que dans l'endosperme du blé. La lutéine est le principal constituant du caroténoïde du blé. La quantité des caroténoïdes du blé est plus faible que celle des fruits et des légumes (Britton et *al.*, 1995).

Ils sont en général facilement assimilables par les organismes. Ils appartiennent à la famille chimique des terpénoides formés à partir de la polymérisation d'unités isoprènes à structure aliphatique ou alicyclique. Il est généralement admis qu'ils suivent des voies métaboliques similaires à celles des lipides.

1.2 La teneur en protéines

Le gluten est un complexe protéique insoluble reconnu comme un élément de base déterminant la qualité d'un blé. Les principaux constituants de gluten sont les protéines de réserves, appelés également prolamines du fait de leur richesse en acide aminé proline.



a. Les gliadines

Les gliadines représentent 35 à 40 % des protéines totales (Popineau, 1985) qui constituent la fraction protéique la plus étudiée grâce à sa facilité d'extraction à partir de la farine. On les trouve dans l'albumen du grain de blé.

Les gliadines sont classées en quatre groupes, selon leur mobilité électrophorétique, des plus rapides aux plus lentes : alpha, bêta, gamma et omega gliadines. Les alphas, bêta et gamma gliadines ont des poids moléculaires variant de 36 000 à 44 000 daltons, ceux des omégas gliadines varient de 69 300 à 78 100 daltons (Bietz et *al.*, 1973).

Les gliadines sont caractérisées par leur faible teneur en acide aminés basiques et par des teneurs élevées en acide glutamique. Cette composition particulière en acides aminés a des conséquences au niveau de la charge et de la valeur nutritive.

b. Les gluténines

Elles représentent environ 40 % des protéines totales du grain de blé, leurs poids moléculaires s'établit entre 1 et 3 millions de daltons (Graveland et *al.*, 1985). Ces gluténines jouent un rôle important dans la qualité technologique des blés (Ciaffi et *al.*, 1993). Comme les gliadines, on les trouve principalement dans l'albumen du grain. On les subdivise en :

- Gluténines I, solubles dans l'acide acétique dilué et les agents dissociant. Leurs poids moléculaires sont compris entre 44 000 et 68 000 daltons, elles sont fonctionnelles grâce à leur richesse en liaisons covalentes et non covalentes. Elles influencent la viscosité du gluten.
- Gluténines II, dont l'extraction impose l'utilisation d'agents réducteurs, renferment beaucoup de ponts disulfures et affectant l'élasticité du gluten. Les poids moléculaires des polypeptides formant les gluténines sont supérieur à 68 000 daltons.

Les gluténines I et II, liées par les liaisons non covalentes, déterminent l'essentiel des propriétés viscoélastiques des protéines du gluten. Comparées aux gliadines, les gluténines sont relativement plus riches en lysine, glycine, alanine, serine et tyrosine. Elles sont pauvres en acides aminés apolaires (Eskin, 1990).

Ces protéines de réserve, représentent 80 à 85 % de toutes les protéines. Le rapport de gluténines/gliadines a alors un effet sur les propriétés transformationnelles de la pâte. Les 15 à 20 % des protéines restantes sont représentées par les albumines et les globulines formant les

protéines solubles. Elles seraient biologiquement fonctionnelles puisqu'elles possèdent une activité enzymatique (Branlard, 1999).

1.3 Le taux de vitrosité et de mitadinage

Il arrive parfois que l'albumen présente, au lieu d'une structure vitreuse et homogène, des plages à texture farineuse : on dit alors que le grain est mitadiné. Nous avons vu plus haut qu'il est provoqué par une mauvaise alimentation azotée après floraison : à maturation identique et pour une même variété, plus le grain est riche en protéines, plus le mitadinage est faible. Le mitadinage peut diminuer considérablement le rendement en semoule et la qualité des pâtes. On le mesure au pourcentage de grains plus ou moins mitadinés (indice de mitadinage).

Le choix d'une région à climat chaud et sec lors de la maturation, une fumure potassique élevée, assurant une rapide migration des protéines vers le grain, une alimentation azotée continue et le choix d'une variété résistante sont les meilleurs moyens de lutter contre le mitadinage (Mariana, 2011 ; Gate et *al.*, 1996)

Un blé vitreux est un blé totalement translucide qui présente un grain de blé de surface lisse et brillante sans la moindre trace farineuse. La vitrosité dépend des conditions de développement des grains ; elle est d'autant plus élevée que leur teneur en protéines est élevée. Les blés friables donnent toujours des farines, quelle que soit leur vitrosité. Les blés non friables ne donnent des farines que lorsqu'ils ne sont pas vitreux (Feillet, 2000).

2. Méthodes d'appréciation de la qualité technologique du blé dur

La qualité boulangère d'une farine, exprime son aptitude à donner un pain de caractéristiques satisfaisant aux exigences du boulanger et du consommateur. A cet effet, plusieurs méthodes et instruments ont été développés pour déterminer la valeur boulangère de la farine de blé à travers toute une série de tests indirects exploitant essentiellement la physico-chimie et la rhéologie des protéines du gluten (gliadines et gluténines).

2.1 Test de sédimentation au sodium dodécyl sulfate (SDS)

Le test de sédimentation permet de mesurer d'une part, l'aptitude au gonflement des protéines en milieu acide en présence de SDS et de l'acide lactique, et, d'autre part, l'appréciation de la force d'un blé en se basant sur l'importance quantitative et qualitative des

protéines. Il existe une corrélation hautement significative entre le test au SDS et la teneur en protéines (Campbell et *al.*, 1987).

De plus, le volume de sédimentation est étroitement lié à la force du blé ; plus le volume du sédiment est élevé, plus la force de blé est grande (Williams et *al.*, 1988).

2.2 La spectroscopie infrarouge pour l'analyse quantitative

La spectroscopie infrarouge est une technique de plus en plus répandue pour le contrôle rapide de la qualité de matières premières. Cette technique rapide, présente l'avantage de réduire considérablement le nombre de manipulations. Elle est basée sur l'absorption de la lumière proche infrarouge par la matière organique. L'échantillon à analyser est introduit dans la cellule de mesure du spectromètre qui balaye les longueurs d'ondes du visible et du proche infrarouge (400 à 2500 nm). La spectroscopie peut prédire, pour un lot inconnu, le niveau du paramètre en se basant uniquement sur l'empreinte spectrale de l'échantillon (Catalogue de l'appareil Chopin) (Compan et *al.*, 2013).

VI. Aspects ethnobotanique et pouvoir antimicrobien des plantes aromatiques et médicinales utilisées comme additifs dans la préparation du pain marocain

Au fil des générations, l'usage des plantes aromatiques et médicinales (PAM) à des fins thérapeutiques, basé sur des notions de jadis, purement empiriques, est aujourd'hui justifié et établi de façon scientifique par des tests d'évaluation pharmacologique et biochimique, cet usage est considéré comme un remède naturel bien accepté par l'organisme. De récents travaux, s'appuyant sur d'excellents exemples de ce type de recherche, prouve que ces plantes sont un bon réservoir de molécules biologiquement actives, dotées de pouvoir antimicrobien (Huseyin et *al.*, 2009; Anwara et *al.*, 2009 ; Shittu et *al.*, 2006).

Des études semblables se multiplient aujourd'hui en vue d'une vulgarisation optimale de l'usage des plantes médicinales qui présentent toujours une source de nouvelles molécules antimicrobiennes. La lutte contre les maladies infectieuses est basée principalement sur l'utilisation de produits chimiques classiques. Cependant, nous constatons de plus en plus une multirésistance des microorganismes face à ces produits qui ne correspondent pas toujours aux traitements efficaces (Miliaire, 1982 ; Brucker et *al.*, 2000). Cette résistance s'accompagne notamment de l'émergence de nouveaux agents pathogènes et constitue, par ce fait, une caractéristique préoccupante de l'évolution des maladies d'où l'importance de la recherche de nouvelles molécules d'origine végétale. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan et connaissent un renouveau exceptionnel en occident grâce à leurs vertus thérapeutiques ; elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme.

En outre, par leur apport nutritif riche en vitamines, minéraux et en protéines, ces plantes permettent aussi d'équilibrer le régime quotidien. Ces éléments sont nécessaires à un organisme sain et, à plus forte raison, à un organisme malade. Ils sont à la fois régulateurs et protecteurs de la cellule en tant que constituants mais également constructifs (squelette, dent, sang) (Al-Naqeep et *al.*, 2009 ; Parthasarathy et *al.*, 2008 ; Dench et *al.*, 2006).

Et, mises à part leurs vertus thérapeutiques et leur valeur nutritionnelle, l'impact de ces plantes sur le plan économique est incontestablement favorable à tous les niveaux. A ce propos, il y a lieu de noter que le Maroc figure parmi les principaux pays producteurs de plantes médicinales. Cette importance économique est illustrée par les exportations vers divers destinations dans les cinq continents : l'Amérique du Nord (USA et Canada),

l'Amérique du Sud (Mexique, Brésil), l'Afrique (Tunisie, Gabon, Nigeria...), l'Europe de l'Ouest et de l'Est, le Proche et l'Extrême Orient, ainsi que l'Australie. Le Maroc exporte environ l'équivalent de 900 millions de DHs en PAM (Hmamouchi, 2005). En 2009, le tonnage des plantes exportées était de l'ordre de 120483 tonnes (Office d'échanges, 2009).

En d'autres termes, il s'agit de sensibiliser les consommateurs aux avantages et aux bienfaits des plantes médicinales sur tous les plans et les amener à adopter des soins moins agressifs pour l'organisme en ressuscitant leur utilisation quotidienne.

1. *Nigella sativa* Carl Von Linné (1753)

1.1 Nom latin et vernaculaire

Nom latin : *Nigella sativa* L.

Noms vernaculaires :

Français : nigelle des champs, cultivée, cumin noir, nigelle du levant, quatre épices.

Arabe: sanuj, kammoun asswad, habba saouda, habba el Baraka.

Berbère : zerar, tikammin (Hmamouchi, 2001).

1.2 Taxonomie

Embranchement : trachéophytes

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Ranunculales

Famille: *Ranunculaceae*

Genre: *Nigella*

Espèce : *Nigella sativa* L. 1753 (Guignard, 2001)

1.3 Description botanique

Plante annuelle, de 30 à 60 cm de taille, dont la tige est dressée et ramifiée. Les feuilles sont pennées, découpées et alternes. Les fleurs sont solitaires aux pétales bleutées et étoilées. Le fruit est une capsule, verte d'abord puis brune à maturité contenant des graines gris foncé, noires, triangulaires, ridées en réseau, ovoïdes à face bombée, non déprimées, fortement odorantes et à saveur aromatique camphrée et piquante (Hmamouchi, 2001).



Figure 5 : Graines de *Nigella sativa* L.
(Guignard, 2001)

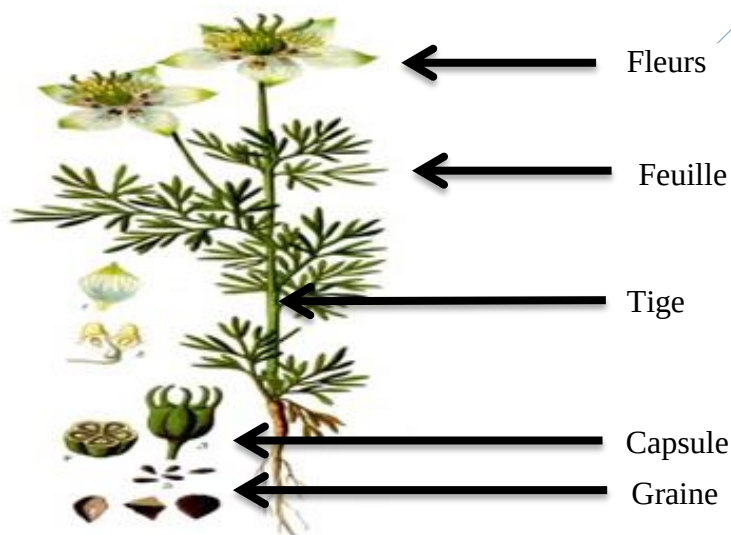


Figure 6 : schéma illustré de *Nigella sativa* L.
(Guignard, 2001)

1.4 Répartition géographique et écologique

Originnaire d'Europe méridionale et d'Asie occidentale, du Moyen-Orient et de l'Inde, cette espèce est cultivée en Europe, ou subspontanée par endroit. Au Maroc, la nigelle est cultivée, ou subspontanée dans les champs, dans les jardins du Rif et de la péninsule tingitane ainsi que dans les oasis du Sud (Hmamouchi, 2001).

1.5 Utilisation en médecine traditionnelle

Au Maroc, les graines de *Nigella sativa* L. sont utilisées pour leurs propriétés carminative, emménagogue, diurétique, cholagogue, abortive, anthelminthique. Elles sont également utilisées contre les affections respiratoires, les algies dentaires, la migraine, le vitiligo, vermifuge, antidiabétique, antispasmodique, antitussif, antiasthmatique, hypotensive (Hmamouchi, 2001).

1.6 Composition chimique

Les recherches sur la composition des graines de *Nigella sativa* L. ont débuté en 1880 avec Greenwich, qui publia le premier rapport mentionnant la présence de 37 % d'huile et 4,1 % d'éléments minéraux (Greenish, 1880).

Des études ultérieures ont montré la présence d'une diversité de substances naturelles regroupant des lipides, des dérivés terpéniques, des flavonoïdes et des saponines.

Nigella sativa L. constitue également une importante source de protéines et de sels minéraux : phosphore, calcium, potassium magnésium et sodium (Aboutabl et *al.*, 1986).

Les graines contiennent environ 20 % de glucides; 40 % d'une huile grasse constituée d'acide myristique, stéarique, palmitique et telfairique. Cette espèce secrète également une huile essentielle à 1 % avec un composé majoritaire la thymoquinone et un composé carbonyle (la nigellone). Parmi les polyphenols contenus dans cette plante, on cite les tanins; les gommes; les glucosides; les saponines et deux alcaloïdes : la nigelline et la connigelline... (Bellakhdar, 1997).

1.7 Activités biologiques et principes actifs

Les activités biologiques des graines sont principalement dues à la thymoquinone, composé majoritaire de l'huile essentielle et présent dans l'huile fixe. Différents extraits et autres constituants actifs issus de la graine, notamment l'huile essentielle et la thymoquinone, sont responsables de diverses propriétés pharmacologiques, particulièrement des activités anti-oxydante, anti-inflammatoire, analgésique, antimutagène, antinéoplasique, anti hépatotoxique, antinéphrotoxique, immunostimulante, hypoglycémiant, antiulcéreuse, antimicrobienne et antiparasitaire. Les graines se caractérisent par une faible toxicité (Ghedira, 2006).

2. *Foeniculum vulgare* Mill.

2.1 Nom latin et vernaculaire

Nom latin: *Foeniculum duce* DC. *F. Capillaceum* Gibb, *F.vulgare* Miller var.*duce*

Noms vernaculaires :

Français : aneth doux, fenouil commun, fenouil officinal

Arabe: Nafa

Marocain: basbas, chamar, nafi (graines), nafa

Berbère: amsa, chlough,oumasa

Sud: wamsa (Hmamouchi, 2001)

2.2 Taxonomie

Embranchement : Trachéophytes

Classe : Magnoliopsida

Ordre: Apiales

Famille: *Apiaceae*

Genre: *Foeniculum*

Espèce: *Foeniculum vulgare* Mill. (1754) (Hmamouchi, 2001)

2.3 Description botanique

Grande herbe vivace bisannuelle indigène. La tige lisse peut atteindre 2m de haut portant des feuilles alternées subdivisées en lanières filiformes et qui sont palmatilobées et luisantes. Au sommet de la tige ramifiée, apparaissent des ombelles composées, formées de fleurs jaunes. Les fruits, cylindriques, parfois ovoïdes, droits ou très légèrement arqués, un peu ronflés à l'extrémité. Ils sont vert pâles ou vert jaunâtres. Toutes les parties de la plante dégagent un parfum aromatique. La période de floraison se situe entre juillet-septembre (Hmamouchi, 2001).

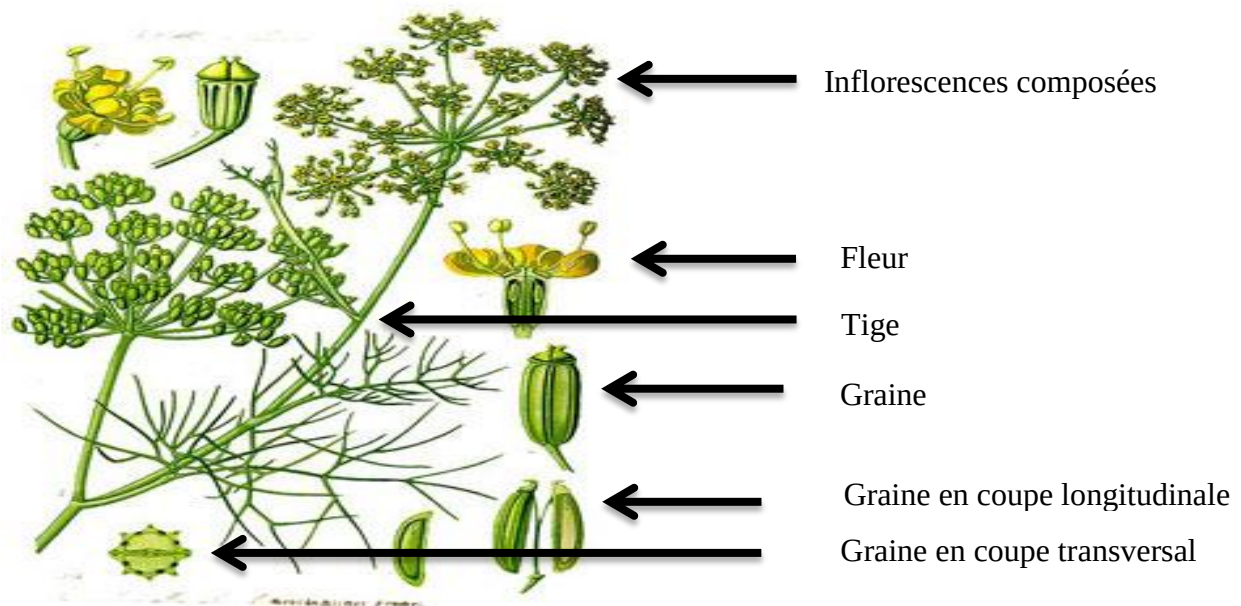


Figure 7: schéma de *Foeniculum vulgare* Mill. (Teuscher et al., 2005)

2.4 Répartition géographique et écologique

Originnaire des régions méditerranéennes et dans l'Eurasie. Au Maroc, l'espèce *Foeniculum vulgare* est répandue dans toutes les régions et plus particulièrement à Fès, Meknès à l'exception des provinces sud désertiques. Dans les rochers de la plaine et des basses montagnes jusqu'à 1000 m (Hmamouchi, 2001).

2.5 Utilisation en médecine traditionnelle

Cette espèce est utilisée contre les maux de la sphère ORL, les troubles de l'appareil digestif, les affections respiratoires (coqueluche, asthme, enrouement, toux sèche), l'oligurie, la goutte, les douleurs vésicales, les néphrites, l'action diurétique, les calculs urinaires, les troubles menstruels, les helminthes, la conjonctivite, l'aérophagie de nourrisson, l'anorexie, l'abcès, les piqûres de scorpion, le rhumatisme, l'insomnie, le diabète, la fièvre (Hmamouchi, 2001).

2.6 Composition chimique

Dans les fruits, on trouve 1,4 à 6 % (par rapport au produit sec) d'une huile essentielle constituée principalement d'anéthol (50 à 70 %), et des aldéhydes, des cétones, l'acide anisique, de l'amidon, des sucres, des pentosanes, de la pectine, une huile grasse et des substances azotées. Certains chémotypes contiennent jusqu'à 20 % de d-fenchone, responsable d'un arrière-goût amer dans les fruits. Les racines sont riches en saccharose et les feuilles en hétérosides flavoniques (Garnier et *al.*, 1961 ; Paris et Moyse, 1976-1981).

2.7 Activités biologiques et principes actifs

La plante est connue pour ses activités antibactérienne, anti-inflammatoire et diurétique. Les extraits alcoolique et aqueux possèdent une activité antifongique, des effets oestrogéniques, stimulent les muscles et provoquent une inhibition de l'œdème expérimental de la patte du rat induit par la carraghénine. L'huile essentielle montre des propriétés eupeptiques, carminatives et oestrogéniques (Rahimi et Ardekani, 2013).

CHAPITRE I :

ETUDE DE LA QUALITE

BIOTECHNOLOGIQUE DE QUELQUES

VARIETES MAROCAINES DU BLE DUR



I. Introduction

Les filières céréalières et principalement celle du blé ont une importance économique considérable dans notre pays. Cette filière couvre les activités qui relèvent de plusieurs domaines dont celui de tous les secteurs technico-économiques de la transformation aboutissant à la fabrication des aliments à base de blé (Ait El Mekki, 2006). D'où l'impérieuse nécessité de développer la culture du blé, en autres, par une bonne maîtrise des modes de production et d'utilisation de cette culture, seul garant d'une productivité quantitativement et qualitativement satisfaisante (Taupier, 2005).

Or, la qualité et le rendement de la production du blé au Maroc sont actuellement affectés par diverses contraintes de l'environnement, notamment les effets conjugués des aléas climatiques et des stressés biologiques. Ainsi, une utilisation adaptée au contexte environnemental de cette culture dans la fabrication des produits céréaliers est tributaire d'une bonne connaissance des caractéristiques physico-chimiques de la production du blé cultivé dans les conditions marocaines. Ce volet représente un maillon incontournable pour une meilleure utilisation. Les critères biochimiques et technologiques impliqués dans la fabrication des produits céréaliers sont nombreux et les constituants les plus explicatifs des différences variétales se situent au niveau des protéines constitutives de réserve existant au niveau du gluten. Ces protéines jouent un rôle dans la détermination de l'expression qualitative du produit étudié. La connaissance de certaines caractéristiques technologiques des blés présente donc un grand intérêt (Goutam et *al.*, 2013).

Dans ce travail, nous avons cherché à évaluer les paramètres de qualité les plus pertinents de quelques variétés marocaines de blé dur, à travers des tests physico-chimiques et technologiques.

II. Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

L'étude a été réalisée sur des échantillons de quelques variétés marocaines de blé dur (*Triticum durum*) de différentes régions du pays. Un total de 20 échantillons a été collecté auprès des commerçants : 9 échantillons de la variété Karim, 2 de Krifla Beda et 9 de Marzak (Tableau 10). Comme témoin de référence, deux variétés marocaines du blé dur récoltées d'une station expérimentale de l'INRA « Marchouch » ont été utilisées :

- La variété Marzak ayant une force gluten élevée.
- La variété Tomouh ayant un taux en caroténoïdes élevé.

Tableau 10: Liste des variétés de blé dur utilisées

Echantillons	Variétés	Origines
9	Karim	Béni Mellal
		Azilal
		Ben Slimane
9	Marzak	Inconnu
		Ben Slimane
		Chaouia
2	Krifla Beda	Meknès

2. Analyses physicochimiques et technologiques du blé dur

Les analyses physicochimiques et technologiques de la qualité des grains du blé dur ont été effectuées au laboratoire d'Amélioration Génétique de Blé du Centre Régional de la Recherche Agronomique de Rabat.

2.1 Analyses physicochimiques du blé dur

2.1.1 Détermination de l'humidité

La détermination de la teneur en eau des farines conditionne la précision des divers résultats analytiques qui sont rapportés à la farine desséchée. La méthode officielle qui fait l'objet de la norme NF V 03-707 est la plus utilisée. Le principe consiste à sécher 5 g environ de farine pendant 90 minutes dans une étuve adaptée et réglée entre 130 et 133 °C. L'échantillon sec est de nouveau pesé à température ambiante. La différence observée représente la quantité d'eau initialement présente dans la farine.

$$\%H = \frac{M_1 - M_2}{P}$$

H% : taux d'humidité.

M1 : masse en g de la capsule avec l'échantillon avant la déshydratation.

M2 : masse en g de la capsule avec l'échantillon après la déshydratation.

P : masse en g de la prise d'essai.

2.1.2 Détermination de l'acidité totale titrable

La méthode utilisée pour la détermination de l'acidité titrable est décrite par Ilkay et Aziz (2011). Le titrage de l'acidité se fait avec une solution de NaOH (0.1N) en présence de phénolphthaléine comme indicateur de couleur.

Une masse de 10 g est incorporée dans une fiole conique avec 50 ml d'eau distillée bouillie et refroidie, l'ensemble est mélangé jusqu'à obtention d'un liquide homogène. Le contenu du bain marie est, ensuite, chauffé pendant 30 minutes. Après refroidissement, on verse le mélange dans une fiole jaugé de 100 ml en complétant jusqu'au trait de jauge avec l'eau distillée. Après filtration, on prélève 10 ml du filtrat dans 10 ml d'eau distillée auquel on ajoute des gouttes de phénolphthaléine. Le titrage se fait avec NaOH (0.1N) jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

L'acidité titrable est calculée selon la formule suivante :

$$A^{\circ} = \% (100 \times V_1 \times 100) / (V_0 \times M \times 10) \times 0.07 = 175 \times V_1 / V_0 \times M$$

Où :

M : masse en gramme prélevée

V₀ : volume en millilitre de la prise d'essai

V₁ : volume en millilitre de solution NaOH à 0.1N

0.07 : facteur de conversion de l'acidité titrable en équivalent d'acide sulfurique (« H₂SO₄ » pour 100 g de farine).

2.1.3 Détermination des cendres

Les cendres sont déterminées par incinération à 900 °C des échantillons dans un four électrique selon la méthode officielle qui fait l'objet de la norme NF V 03-720. Le principe de la méthode repose sur la calcination de 5 g des échantillons de farine dans des creusets en porcelaine tarés au préalable. Lors de la combustion, la matière organique présente dans

l'échantillon disparaît totalement. Cette combustion dure au minimum 1h 15mn, temps nécessaire pour récupérer les cendres, représentatives de la teneur en matière minérale.

Cette teneur est exprimée en % de masse par rapport à la matière sèche.

2.2 Analyses technologiques du blé dur

2.2.1 Détermination de l'indice de sédimentation (SDS)

L'indice de sédimentation au sodium dodécyl sulfate (SDS) a été apprécié conformément à la norme marocaine (AACC 56 – 70, 1984).

Il permet d'évaluer à la fois l'importance qualitative des protéines et leurs propriétés de gonflement en présence de SDS, et d'avoir une idée sur la force de gluten.

Le protocole expérimental de cette technique se résume comme suit : après la mouture de tous les échantillons du blé dur à l'aide d'un broyeur expérimental de type « UDY Cyclone », on introduit une quantité de 6,3 g de la farine de chaque échantillon dans des éprouvettes graduées de 100 ml. Puis, on ajoute 50 ml de la solution de Bromophénol et on agite 12 fois manuellement les éprouvettes dans le sens horizontal avant de les mettre dans l'agitateur de type Brabender.

Trois agitations ont été effectuées pendant 15 secondes, la première à la 2^{ème} minute, la deuxième à la 4^{ème} minute et la troisième à la 6^{ème} minute, ceci a été réalisé pendant 12 minutes.

Après la dernière agitation, on retire les éprouvettes de l'agitateur et on y ajoute 50 ml de SDS puis on les remet en agitation pendant 15 secondes à la 2^{ème} et la 4^{ème} minute, la durée étant limitée à 6 secondes. Les éprouvettes sont ensuite retirées et mises en position verticale. La lecture du volume de sédimentation s'effectue après 20 minutes.

2.2.2. Détermination du poids de mille grains et du taux de vitrosité des grains

Après l'élimination manuelle des déchets et des impuretés de tous les échantillons, on introduit chaque échantillon dans le compteur de grains, pour avoir le nombre exact de 1000 graines.

Les grains sont ensuite pesés à l'aide d'une balance de précision pour estimer le poids de mille grains.

On sépare les grains du blé visuellement, en sélectionnant les grains mitadinés (grains non vitreux qui présentent des traces farineuses) et les grains vitreux qui semblent lisses et brillants. Ainsi on calcule le pourcentage de vitrosité et celui de mitadinage (William et *al.*, 1988).

2.2.3 Détermination de la teneur en pigment caroténoïdes

La teneur en pigments jaunes a été appréciée en adoptant la norme modifiée (AACC 14-50, 1988) (AFNOR, 1982). Le principe de la méthode se base sur l'extraction des caroténoïdes au n-butanol saturé en eau à température ambiante.

Pour ce faire, on prépare un mélange 6/2 (v/v) n-butanol/eau distillée. Après l'agitation et la séparation des deux phases, on récupère la phase supérieure qui est clair et qui correspond à la phase butanolique.

Après le broyage du blé dur, on pèse une quantité de 0,25 g pour chaque échantillon à laquelle est ajouté 1,25 ml de n-butanol saturé en eau.

Après l'agitation au vortex, le mélange est gardé à l'obscurité pendant 16 h. Ensuite, on procède à la lecture de la densité optique à l'aide de spectrophotomètre à 435,8 nm.

La mesure de la concentration en pigments jaunes se fait selon la relation suivante :

$$C = (5,0 \times A/e \times K) \times (100/100-H)$$

$$= 30,1 \times A \times (100/100-H)$$

C = Teneur en pigments exprimée en ppm par matière sèche.

A = Absorbance à 435,8 nm.

e = Chemin optique de la cellule.

K = 0,16632.

H = Humidité de l'échantillon en %

2.2.4 Détermination de la Teneur en protéines

La teneur en protéines du blé dur est déduite de la quantité en matière azotée totale, exprimée sur la base de la matière sèche. Elle se mesure par la méthode « Kjeldahl » ou de manière indirecte par spectrométrie dans le proche infrarouge (NIRS, « Near- Infrared Reflectance Spectroscopy »).

Dans cette présente étude, la teneur en protéine a été mesurée par une méthode simple au moyen d'un spectrophotomètre « Chopin », Modèle Infraneo. Cet appareil permet une analyse rapide par infrarouge de la composition du grain de blé.

III. Résultats et interprétations

1. Analyses physicochimiques du blé dur

Les paramètres retenus pour l'analyse physicochimique des différentes variétés étudiées sont l'humidité, la teneur en cendres et l'acidité totale titrable (tableau 11).

Tableau 11 : Analyse physicochimique des variétés étudiées

Variétés	Humidité (%) ⁽¹⁾	Cendres (%) ⁽²⁾	Acidité totale titrable (%) ⁽³⁾
Karim	13,8	0,4	0,066
Marzak	13,6	0,52	0,064
Krifla Beda	11,8	0,69	0,05

⁽¹⁾ : Pourcentage par rapport à la matière humide ; ⁽²⁾ : Pourcentage par rapport à la matière sèche ; ⁽³⁾ : Acidité est exprimée en g/H₂SO₂ pour 100 g de farine sèche

Au regard des résultats obtenus, on peut avancer que les valeurs moyennes de l'humidité des variétés étudiées varient entre 11,8 et 13,8 %, alors que celles des cendres se situent entre 0,4 et 0,69 %. Quant à l'acidité totale titrable, les valeurs moyennes sont comprises entre 0,05 et 0,066 %.

Globalement, les résultats obtenus révèlent que les valeurs d'humidité, d'acidité totale titrable et ceux des cendres recherchées au niveau des variétés marocaines étudiées sont conformes aux normes internationales recommandées par le Codex Standard 178-1991.

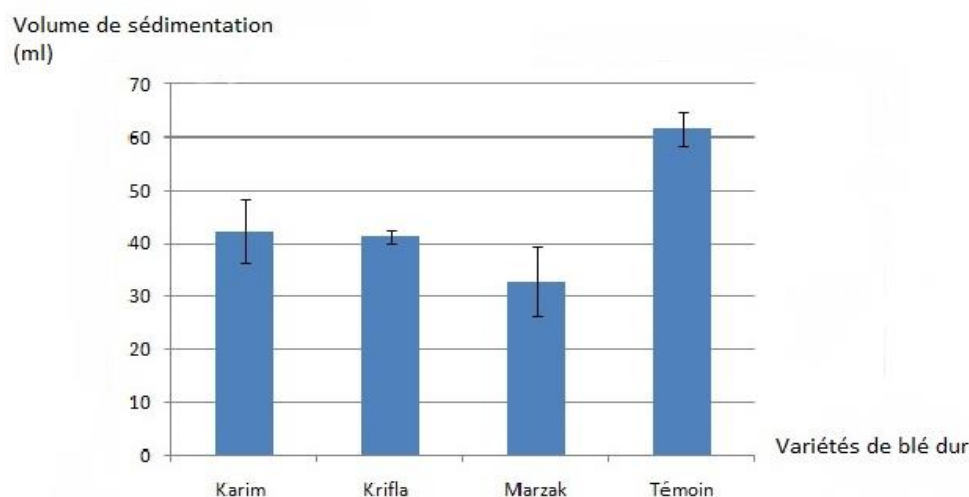
Par ce fait, les échantillons du blé dur analysés possèdent une qualité physicochimique satisfaisante.

2. Analyses technologiques du blé dur

2.1 Indice de sédimentation au SDS

Les résultats de l'analyse des tests de sédimentation au SDS sur les différentes variétés étudiées sont présentés sur la figure 8.

Figure 8 :
Volume de sédimentation au SDS des différentes variétés de blé dur étudiées (ml)



Au regard du graphique obtenu, on remarque que les valeurs moyennes de l'indice de sédimentation SDS de chaque variété se situent entre 32,90 et 42,33 ml respectivement chez la variété Marzak et la variété Karim, la moyenne étant de 38,55ml. On note également que les valeurs de karim et Krifla Bada sont sensiblement identiques et que la valeur maximale enregistrée ne dépasse pas le volume de sédimentation du témoin de référence qui est de l'ordre de 60 ml.

2.2 Poids de mille grains

Les résultats de l'analyse du poids de mille grains des différentes variétés étudiées sont présentés sur la figure 9.

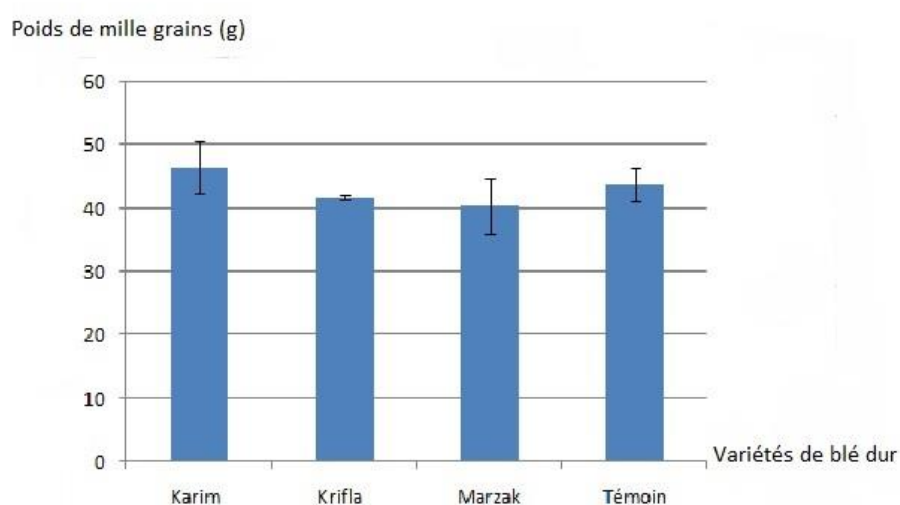


Figure 9: Poids de mille grains des différentes variétés de blé dur étudiées (g)

A la lecture du graphique obtenu, on peut avancer que les valeurs moyennes de poids de mille grains de chaque variété se situent entre 40,35 et 46,53 g respectivement chez la variété Marzak et la variété Karim, la moyenne étant de 42,89 g. On remarque aussi que les valeurs de Marzak et Krifla Beda sont sensiblement identiques et que la valeur enregistrée au niveau de la variété Karim dépasse légèrement celle du témoin de référence (43 g) pris comme référence.

2.3 Taux de vitrosité

Les résultats de l'analyse du taux de vitrosité des différentes variétés étudiées sont présentés sur la figure 10.

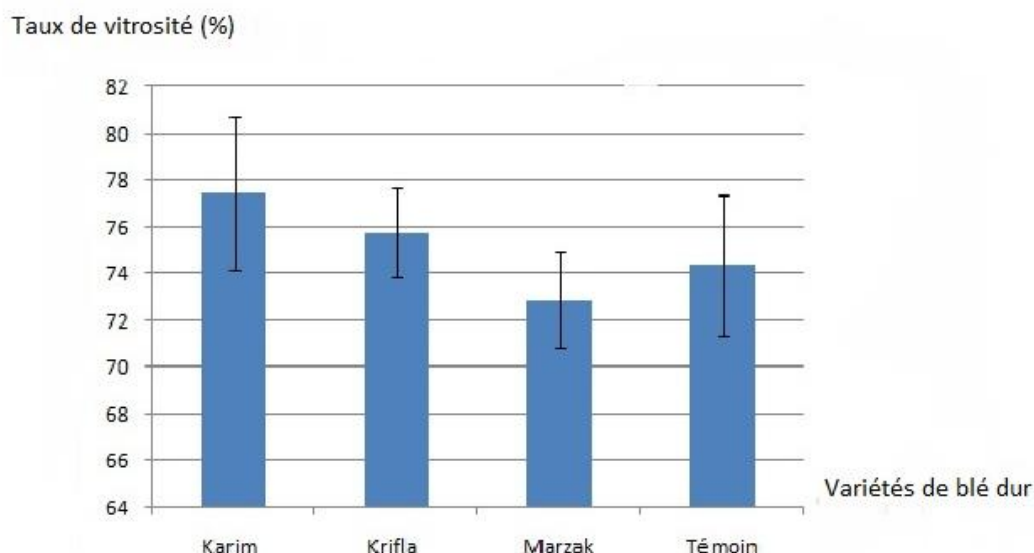


Figure 10: Taux de vitrosité des différentes variétés de blé dur étudiées (%)

Les valeurs du taux de vitrosité des moyennes de chaque variété varient entre une valeur minimale de 72,62 % enregistrée chez la variété Marzak et une valeur maximale de 77,14 % chez la variété Karim. Les valeurs enregistrées chez les variétés Karim et Krifla Beda sont supérieures à celle du témoin de référence qui est égale à 74 %.

Selon l'échelle de Williams et *al.* (1988), les échantillons testés issus des variétés Karim, Krifla Beda et Marzak sont vitreux témoignant ainsi d'une bonne qualité.

Le calcul du taux de mitadinage des variétés analysées, déduit de celui de la vitrosité, montre des résultats ne dépassant guère les 30 %.

2.4 Teneur en pigment jaune : caroténoïdes

Les résultats de l'analyse de la teneur en pigment jaune des différentes variétés étudiées sont présentés sur la figure 11.

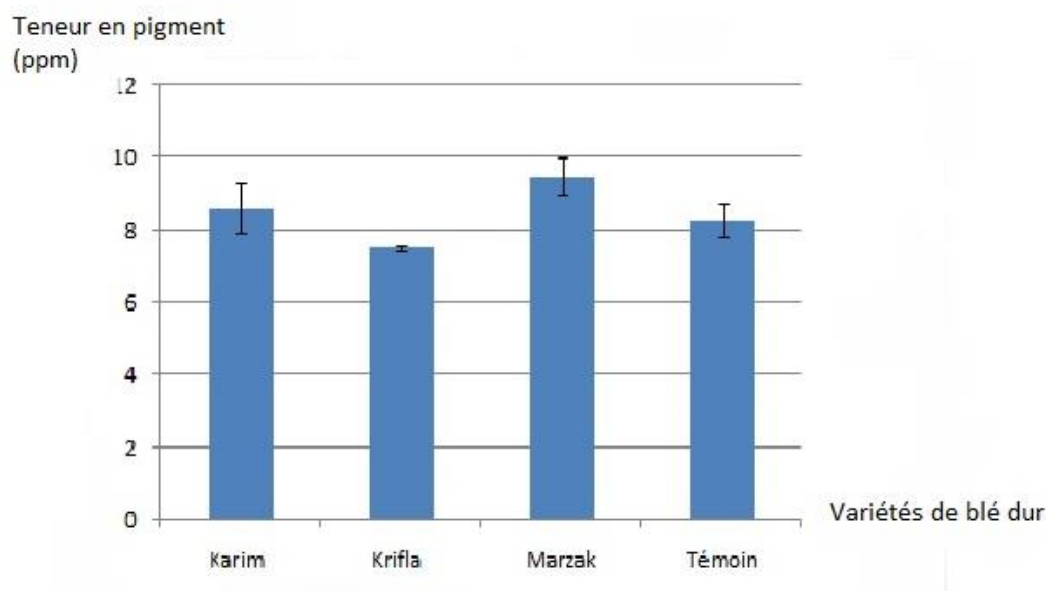


Figure 11: Teneur en pigment jaune des différentes variétés de blé dur étudiées (ppm)

La teneur en pigment jaune fluctue entre une valeur minimale de 7,54 ppm enregistrée chez la variété de Krifla Bada et une valeur maximale de 9,49 ppm enregistrée chez la variété de Marzak dépassant celle du témoin (8,20 ppm), la moyenne étant de 8,55 ppm.

Ces chiffres indiquent que les variétés analysées sont considérées en moyenne comme assez riches en caroténoïdes (Quaglia, 1988).

2.5 Teneur en protéines

Les résultats de l'analyse de la teneur en protéines des différentes variétés étudiées sont présentés sur la figure 12.

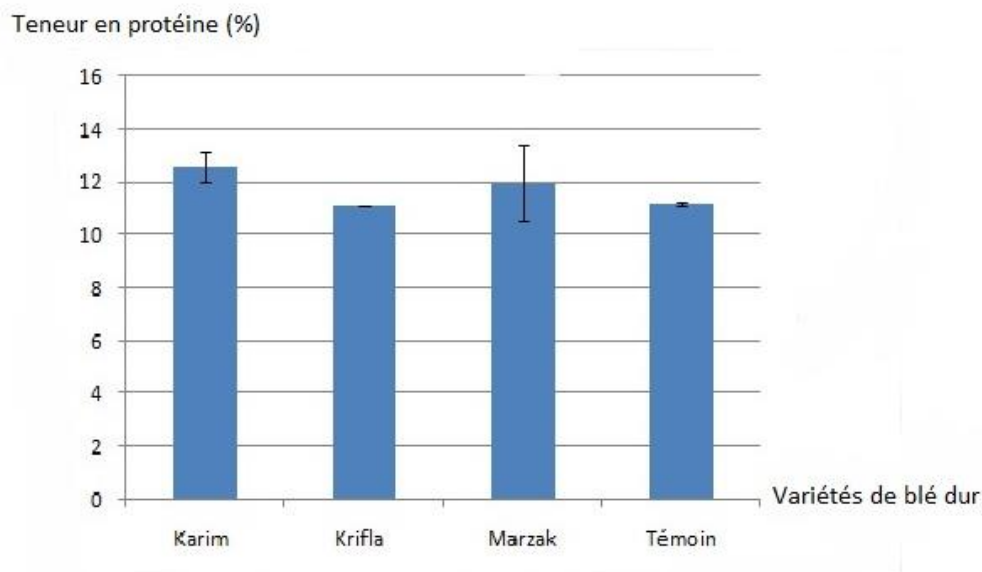


Figure 12: Teneur en protéines des différentes variétés de blé dur étudiées (%)

La teneur en protéine se situe entre une valeur minimale de 11,1 % enregistrée chez la variété de Krifla Beda et une valeur maximale de 12,58 % chez la variété de Karim qui dépasse la valeur du témoin (11.1 %), la moyenne étant de 11,88 %.

Le taux de protéines des variétés analysées est en général satisfaisant (>11 %) (Taupier, 2005).

IV. Discussion et Conclusion

L'étude du volet de la qualité technologique du blé représente une étape obligatoire pour une meilleure orientation des procédés de transformation pour la fabrication des produits issus du blé. Elle vise l'amélioration de la qualité d'utilisation par le biais d'un emploi adapté au contexte environnemental de cette culture. La fabrication ajustée des produits céréaliers suppose donc une bonne connaissance des caractéristiques physico-chimiques et une bonne compréhension des paramètres de la qualité technologique d'une production donnée.

Ainsi, concernant la production du blé dur poussant sous les conditions marocaines, l'étude de la qualité technologique des variétés marocaines étudiées du blé dur (Karim, Krifla Beda et Marzak) a globalement montré que ces variétés présentent une variabilité pour l'ensemble des paramètres physicochimiques et technologiques mesurés.

Concernant les teneurs en eau, les analyses effectuées ont révélé que les valeurs trouvées sont conformes aux normes Codex Standard 178-1991, elles ne dépassent guère le maximum toléré et fixé à 14,5 %.

A ce propos, il n'est pas superflu de rappeler que la teneur en eau est un facteur incontestable de la qualité aussi bien sur le plan technique que sur le plan commercial. Son intérêt analytique n'est pas négligeable vu que les résultats des autres analyses sont exprimés sur la base de la matière sèche (Colas et *al.*, 1988).

S'agissant du taux de cendres, ce paramètre nous renseigne sur la minéralité d'une farine. Plus une farine est blanche et pure, moins elle contient d'enveloppes et donc moins de sels minéraux. L'extraction des cendres des farines des grains de blé avec enveloppes donne un taux important. Dans notre cas, la teneur en cendres est largement inférieure à la norme du Codex Standard 178-1991.

Quant au taux d'acidité totale titrable, les variétés marocaines étudiées présentent des valeurs ne dépassant pas les normes en vigueur fixées entre 0,050 et 0,070 %. Ce paramètre est très important, il traduit les conditions de conservation de cette denrée alimentaire (température, humidité et durée). En effet, un taux d'acidité supérieur à 0,070 % traduit un vieillissement de la farine affectant ainsi sa valeur boulangère et/ou l'apparition d'une flore acidifiante liée à un stockage inadéquat. Selon les conditions de conservation, les farines acquièrent plus ou moins rapidement une certaine acidité indicatrice d'un état de détérioration. Mal conservées, les farines deviennent le siège de certaines réactions biochimiques catalytiques produisant des molécules à groupement acide. Les principales réactions responsables de l'altération des farines sont la dégradation des lipides en acides gras libres (Morrisson, 1993 ; Shearer et Warwick, 1983 ; Jay, 1992).

Par ailleurs, l'analyse technologique a révélé que nos échantillons se situent dans la gamme des farines à faible force boulangère. Le test SDS qui donne une indication générale sur la qualité du gluten, classe les blés selon leur aptitude boulangère et caractérise la qualité des protéines et leur pouvoir de gonflement (Godon et *al.*, 1998). Ainsi, les farines dont le volume de sédimentation est inférieur à 60 ml sont de qualité moyenne (Payne et *al.*, 1984). Monneveux (1984) a rapporté que la faible force du gluten est liée à la présence dans le génotype de la fraction 42- γ Gliadines uniquement, alors que Jeantet et *al.* (2007) ont rapporté que les faibles valeurs des fractions gluténines à haut poids moléculaire qui sont impliqués dans le gonflement de protéines en présence de SDS.

En 2013, Ladraa et Ounane ont rapporté que le blé dur, contrairement au blé tendre, a des volumes faibles en SDS qui dépasse rarement 35 ml.

Pour le poids de mille grains, le critère essentiellement variétale mais qui dépend aussi des conditions de culture, est déterminant durant la phase de remplissage (Anonyme, 2000). Pendant cette phase, l'activité photosynthétique constitue la principale source d'assimilation pour la croissance des grains. Cette activité dépend beaucoup des conditions de milieu notamment les conditions hydriques et la nutrition azotée. La température et l'azote augmentent le pourcentage des protéines, et de ce fait, affectent négativement le poids des grains. Matsuo et Dexter, en 1980, ont rapporté que les grains dont le poids est supérieur à 60 g sont considérés comme très lourds. Les échantillons testés sont donc classés dans la catégorie des grains bien développés. L'importance de ce paramètre est absolument industrielle ; il donne une idée directe sur le rendement en matière de semoule et contribue au bon rendement semoulier, raison pour laquelle il est très recherché par les industriels.

Concernant les paramètres de la vitrosité et du mitadinage, les échantillons testés issus des variétés Karim, Krifla Beda et Marzak sont vitreux, témoignant ainsi d'une bonne qualité. Dans ce même contexte, la recherche réalisée par Bakhella et Akil en 1996 sur l'appréciation de la valeur semoulière des principales variétés marocaines de blé dur, a également montré que les variétés de Marzak et Karim sont très vitreuses (84 à 93 %).

A ce propos, dans certains pays, l'impact de la vitrosité est jugé important au point d'affecter les niveaux du classement des différentes variétés de blé. Ainsi, un niveau de vitrosité de 90 % classe une variété donnée dans la catégorie A de l'échelle de Williams et *al.* (1988).

Au Maroc, une bonification à l'achat est prévue pour un blé à vitrosité dépassant 65 %. Ce niveau est jugé assez bas car le taux de grains mitadins, supérieur à 30 %, affecte sérieusement le rendement et l'aspect des semoules notamment les grosses semoules (Dick et Matsuo, 1988). Cette bonification ne prévaut donc que pour une vitrosité élevée.

Le mitadinage est un accident physiologique qui provoque l'apparition des portions farineuses dans l'albumen du blé dur qui passe d'un aspect vitreux à un aspect farineux. Ce changement de texture pénalise lourdement la valeur semoulière en diminuant le rendement (Nassif et *al.*, 2011).

Plusieurs facteurs sont à l'origine du mitadinage, d'une part les facteurs environnementaux et d'autre part des facteurs génétiques (Mariana, 2011). Gate (1996) a rapporté que le choix du type de la variété est un facteur essentiel pour diminuer le risque de mitadinage et que le rôle du climat et de la fertilisation azotée est tout aussi primordial. Les résultats obtenus par Abdellaoui (2007), Djannadi et Rafoufi (2008) et Ladraa et *al.* (2013)

dans une étude sur la qualité technologique de 10 variétés de blé dur ont confirmé qu'il existe un effet très hautement significatif du génotype sur le taux de mitadinage.

Concernant ces deux paramètres, plusieurs auteurs ont avancé que la disponibilité en eau de pluie lors du remplissage des grains influe négativement la vitrosité et le volume de sédimentation (SDS). En effet, plus la quantité d'eau de précipitation ou d'irrigation est élevée, plus le taux de vitrosité et du volume de sédimentation diminuent. Globalement, le taux élevé en eau affecte la qualité des grains (Rharrabti et *al.*, 2003) alors que le temps sec et chaud favorise une bonne expression des paramètres de qualité tels que la vitrosité et le volume de sédimentation de (Borghi et *al.*, 1997).

Concernant le taux des caroténoïdes, ce paramètre fait référence à la couleur jaune des semoules qui est due au pigment caroténoïde qui est très apprécié par les consommateurs (Benbelkacem et *al.*, 1995). Ce pigment est principalement dû à la lutéine (une xanthophylle ou alpha dihydroxy carotène) et ses esters (Dick et Young, 1988 ; Joppa et Williams, 1988). En revanche, la couleur brunâtre indésirable des semoules est due à un défaut de ces pigments et/ou à la présence en quantités importantes de protéines complexant le cuivre et/ou à l'activité de certaines enzymes comme les lipoxygénases, peroxydases et polyphénoloxydases (Cubadda, 1988 ; Dick et Matsuo, 1988). Les chiffres communément rapportés dans la littérature indiquent que les valeurs fluctuent en général entre 4 et 8 ppm et que pour des valeurs supérieures à 6 ppm, les échantillons sont considérés comme riches en caroténoïdes (Troccoli et *al.*, 2000 ; Irvine, 1978; Quaglia, 1988; Johnston et *al.*, 1980). De ce fait, les variétés analysées dans cette étude sont, en moyenne, assez riches.

La teneur en protéines de la graine du blé dur est le critère le plus important pour l'appréciation de la qualité. Cette teneur est conditionnée par le facteur génotype et aussi par les conditions culturales. La différence du taux des protéines enregistrée dans nos échantillons est due probablement à la variation génotypique existante. L'effet de la variété a été démontré par Fenn et *al.* (1994), Souza et *al.* (2004), Ladraa et *al.* (2013) et Abdellaoui et Mariche (2008) cités par Hammadache (2011) et Sapirsrein et *al.* (2007).

Dans le même ordre des idées, Gerba (2013) a affirmé que la qualité du blé dur dépend de sa composition en protéine et que le taux des protéines est conditionné par le génotype et influencé par l'environnement notamment la fertilisation azotée. L'accumulation et l'augmentation du taux des protéines dans l'albumen du grain est le résultat d'une très bonne utilisation de l'azote par la plante au cours de son développement et aussi d'un transfert efficace de l'azote lors de la phase du remplissage de la partie végétative vers les grains (Feillet, 2000).

Les valeurs enregistrées des échantillons issus de la même variété sont sensiblement identiques, cela dénote que la teneur en protéines est très influencée par les facteurs génétiques (Bakhella, 1992 ; Feillet, 1988). En effet, ces derniers affectent le processus de translocation des matériaux génétiques provenant des tiges et des feuilles (Joppa et Williams, 1988) et l'accumulation des protéines dans le grain. De ce fait, les farines issues de ces blés durs conviendraient bien à la confection des pâtes alimentaires et du pain.

Notre recherche se base sur l'évaluation de la qualité de quelques variétés de blé dur récoltées de différentes régions au Maroc. Cette qualité est appréciée par des études physico-chimiques (tests indirects) : « test de sédimentation au SDS, taux de protéines, taux de vitrosité, poids de mille grains et finalement la teneur en pigment caroténoïdes ».

A partir de ces tests indirects, on peut avancer qu'il existe une diversité entre les différentes variétés testées pour l'ensemble des paramètres de qualité appréciés.

Afin, de disposer de paramètres de comparaison plus crédibles, il est souhaitable d'élargir l'échantillonnage pour atteindre d'autres variétés du blé dur qui existent au Maroc.

A decorative graphic of a scroll, rendered in a light gray color with a black outline. The scroll is unrolled horizontally across the middle of the page. The top and bottom edges of the scroll have a slight curve, and the ends of the scroll are rolled up into loops.

CHAPITRE II :

EVALUATION DE LA QUALITE

MICROBIOLOGIQUE DES FARINES

ISSUES DES FOYERS ET DU COMMERCE

I. Introduction

Les produits céréaliers et leurs dérivés jouent un rôle nutritionnel, social et économique important. Ils constituent depuis toujours la principale ressource alimentaire de l'homme et possèdent un pouvoir nutritionnel important (Multon, 1982 ; Moliniet et Pfohl-Leszkowicz, 2003). Ils fournissent environ les 2/3 des besoins énergétiques, 35 % des apports glucidiques, 11 % des apports en acides gras polyinsaturés et 70 % des apports protéiques dans une ration alimentaire moyenne (Leverve, 2007). Au Maroc, les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire marocain. Ainsi, la consommation moyenne annuelle par habitant au Maroc est très importante et se chiffre à 320 kg (Bartali, 1995).

Selon la Direction de la Statistique en 2001, les céréales représentaient 19,5 % des dépenses alimentaires. En effet, la consommation des céréales sous forme de produits qui en sont dérivés directement (pain, farines, semoules) ou indirectement (produits laitiers, viandes) constitue une part importante des dépenses alimentaires des ménages (Jouve et *al.*, 1995). La demande de la farine industrielle a connu une hausse importante, et la quantité écrasée par les minoteries industrielles est passée de 7×10^6 quintaux au début des années 1970 à 32×10^6 quintaux en 2004 (ONICL, 2005).

Bien que les produits céréaliers ne soient pas considérés comme denrées périssables, tel est le cas de la viande et du lait, mais leur spécification microbiologique est nécessaire et obligatoire, en raison de la possibilité de survie et de multiplication de plusieurs types de microorganismes dans les farines (Berghofer et *al.*, 2003). Ceci résulte généralement des mauvaises conditions de stockage (Deibel et Swanson, 2001), et se répercute négativement sur la santé du consommateur par les maladies infectieuses et les intoxications alimentaires.

Certes, la prolifération des microorganismes n'est pas toujours nuisible, mais la marge de sécurité entre l'innocuité et la nocivité est faible. Pour cela, il est nécessaire de procéder au contrôle microbiologique des aliments pendant leur fabrication et avant leur distribution.

L'objectif de cette étude consiste, d'une part, à étudier la qualité microbiologique des farines des foyers et du commerce, et d'autre part, à comparer les niveaux de contamination de deux types de production.

II. Matériel et méthodes

1. Échantillonnage

Une collection de 60 échantillons de farines de blé dur de différentes provenances et origines a été étudiée, dont 30 proviennent des foyers qui utilisent les variétés marocaines (Karim, Marzak et Krifla Beda) de différentes régions du Maroc (Zair, Settat, Taza, EL Kelâa des Sraghna), et le reste des échantillons a été collecté des points de vente des villes de Rabat et de Salé. La collecte a été réalisée durant une période allant du début Mai à la mi- Juillet 2010.

2. Analyse microbiologique des farines

Le dénombrement de la flore microbienne associée aux farines a été réalisé par la méthode standard (ensemencement en profondeur). Elle consiste à introduire aseptiquement 10 g de chaque échantillon de farine dans des flacons contenant 90 ml d'eau physiologique stérile (0,85 % m/v). Des dilutions décimales allant de 10^{-1} jusqu'à 10^{-6} ont été préparées à partir du même diluant et ensuite ensemencées sur les milieux de culture dans des boîtes de pétri. Après incubation, les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies ont été maintenues pour le dénombrement.

2.1 Dénombrement de la flore d'intérêt hygiénique

a. Énumération de la flore mésophile aérobie totale (FMAT)

Le dénombrement de la FMAT a été réalisé sur la gélose dite « Plate Count Agar » (Oxoid). La lecture se fait après 24 h d'incubation à 30 °C (NM ISO, 2008a).

b. Énumération des coliformes

L'énumération des coliformes a été effectuée sur la gélose au désoxycholate lactose (Oxoid). Le comptage des colonies rouges qui fermentent le lactose et ayant un diamètre de plus de 0,5 mm a eu lieu après 24 h d'incubation à 37 °C pour les coliformes totaux, et à 44 °C pour les coliformes fécaux (NM, 2009).

c. Énumération des staphylocoques pathogènes

Le dénombrement des staphylocoques présumés pathogènes a été réalisé sur la gélose de Baird—Parker (Merck, Allemagne). Le comptage des colonies noires avec marge blanche a eu lieu après 48 h d'incubation à 37 °C (NM ISO, 2008 b).

d. Énumération de la flore fongique

Le dénombrement des moisissures a été effectué sur le milieu «Potato Dextrose Agar » (PDA, Merck) fortement acidifié (entre 3,5 et 4) par l'acide lactique et incubé à 25 °C pendant 5 à 7 jours (NM, 2005).

2.2 Dénombrement de la flore d'intérêt sanitaire

a. Détection de *Salmonella*

La détection des salmonelles a été réalisée en suivant les recommandations de la norme internationale (ISO, 1990). Pour ce faire, 25 g de chaque échantillon ont été dilués dans 225 ml d'eau peptonnée tamponnée (EPT) (Oxoid). Après 18 h d'incubation à 37 °C, 1 ml d'EPT a été transféré dans un tube contenant 9 ml de bouillon de Rappaport Vassiliadis (RV) (Merck) et incubée à 42 °C pendant 24 h. À l'aide d'une anse, une boucle a été prélevée à partir de RV et ensemencée par épuisement à la surface de la gélose de Hektoen (Oxoid). Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 h, les colonies suspectes de salmonelles sont caractérisées par une couleur bleue – verte ou verte avec ou sans centre noir. L'identification a été confirmée en utilisant le kit API 20E (Biomérieux, France).

b. Détection de *Shigella spp*

La recherche de *shigella* a été effectuée sur la gélose Hektoen Enteric agar (HEA), après incubation à 37 °C pendant 24 h (BS EN ISO-21567, 2004).

c. Énumération des *Clostridium* sulfite-réducteurs (CSR)

Le dénombrement des CSR a été réalisé sur le milieu Sulfite de Sodium –Polymixine - Sulfite de Cystéine (SPS) (BD, Difco, Irlande). Des tubes contenant 15 ml de SPS ont été ensemencés à partir de la solution mère qui a subi au préalable un traitement thermique à 80 °C pendant 10 min en vue de détruire la forme végétative et activer les spores de *Clostridium*. Ensuite, l'ensemble a été incubé à 30 °C pendant 24 à 48 h. Seules les colonies noires ont été comptées (NM, 2006).

d. Détection de *Listeria monocytogenes*

Pour le dénombrement de *Listeria monocytogenes*, on a procédé comme suit : 10 g de l'échantillon ont été ajoutés à 100 ml de bouillon Frazer 1/2 stérile (Oxoid). Le flacon a été incubé à 37 °C pendant 24 h. Ensuite, 1 ml des cultures obtenues sur le milieu Frazer 1/2 a été inoculé sur le bouillon Frazer complet en tube de 10 ml. Ce dernier est incubé à 37 °C pendant 24 h. Les cultures obtenues sur le milieu Frazer complet ont été repiquées sur milieu PALCAM (Oxoid) par isolement en surface de la gélose. Le milieu a été ensuite incubé à

37 °C pendant 24 h. Les colonies suspectes de *Listeria monocytogenes* apparaissent noires avec des pseudoracines. La confirmation a été réalisée sur le milieu chromogène et la Galerie Api *Listeria* (NM ISO 11290–1, 2008).

2.3 Dénombrement de la flore d'intérêt biotechnologique

a. Énumération des levures

Le dénombrement des levures a été effectué sur le milieu «Potato Dextrose Agar » (PDA, Merck) fortement acidifié (entre 3,5 et 4) par l'acide lactique et incubé à 25 °C pendant 72 h (NM, 2005).

b. Énumération des bactéries lactiques

L'énumération des bactéries lactiques a eu lieu sur milieu de Man – Rogosa – Sharpe (Oxoid), M17 (Oxoid) et Elikar (Oxoid). L'incubation a été effectuée pendant 48 h à 30 °C pour les espèces mésophiles et à 45 °C pour les espèces thermophiles. Après incubation, les colonies rondes ou lenticulaires ont été dénombrées (NM ISO, 2007).

3. Caractérisation de la microflore isolée des farines

L'identification des isolats présumés d'être coliformes et staphylocoques a été réalisée par la détermination du profil biochimique en utilisant respectivement le kit API 20 E et API Staph (Biomerieux). L'ensemencement et la lecture de ces kits ont été faits en suivant les instructions du fabricant. L'identification de chaque isolat est obtenue à l'aide d'un catalogue analytique. Ainsi, une collection de 54 souches de coliformes isolées des farines d'origine locale et commerciale a fait l'objet d'une identification en vue de déterminer la fréquence des microorganismes responsables de l'altération de cette catégorie d'aliment.

Concernant l'identification de la mycoflore, les colonies formées ont été purifiées par des subcultures sur le milieu PDA et observées au microscope en se basant sur les clés de détermination (Barnett, 1930; Ellis, 1971; Domsch et *al.*, 1980 ; Nelson et *al.*, 1983; Wang et Zabel, 1990) (Annexe 1).

III. Résultats et interprétations

L'étude des paramètres microbiologiques a porté sur deux types de farines, à savoir : les farines des foyers produites à partir des variétés locales et les farines du commerce dont les variétés sont inconnues.

1. Analyse microbiologique de farines étudiées

1.1 Détermination de la flore d'intérêt hygiénique des farines

Les résultats de la détermination de la flore d'intérêt hygiénique sont présentés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Charge de la flore d'intérêt hygiénique des farines étudiées (ufc/g)

	Minimum	Moyenne	Maximum
Flores isolées des farines des foyers			
FMAT	$1,20 \times 10^2$	$3,78 \times 10^4$	$2,12 \times 10^5$
CT	<1	$1,79 \times 10^3$	$1,72 \times 10$
CF	<1	$1,73 \times 10^2$	$2,50 \times 10^3$
Moisissures	<1	$6,08 \times 10^2$	$1,60 \times 10^4$
Flores isolées des farines du commerce			
FMAT	$4,70 \times 10^2$	$2,47 \times 10^4$	$3,00 \times 10^5$
CT	<1	$9,95 \times 10^2$	$1,26 \times 10^4$
CF	<1	$3,40 \times 10^1$	$5,00 \times 10^2$
Moisissures	<1	$5,00 \times 10^2$	$5,00 \times 10^3$

FMAT : flore mésophile aérobie totale; **CT** : coliformes totaux; **CF** : coliformes fécaux.

A la lecture des valeurs obtenues, il en ressort une prédominance de la Flore Mésophile Aérobie Totale (FMAT) par rapport aux autres groupes de microorganismes dénombrés aussi bien dans les farines des foyers que dans celles issues du commerce (Tableau 18). Cependant, leur état de tolérance ou de nuisibilité dépend des seuils fixés par les critères du Codex Alimentarius Standard (1995).

Ainsi, dans les farines de foyers, la charge moyenne de la FMAT est de l'ordre de $3,78 \times 10^4$ ufc/g avec des valeurs qui se situent entre $1,20 \times 10^2$ et $2,12 \times 10^5$ ufc/g.

Quant aux coliformes totaux (CT) et fécaux (CF), l'analyse microbiologique a montré que les valeurs moyennes sont respectivement $1,79 \times 10^3$ et $1,73 \times 10^2$ ufc/g.

Pour les moisissures, la charge moyenne est de l'ordre de $6,08 \times 10^2$ ufc/g avec des valeurs qui varient entre <1 et $1,60 \times 10^4$ ufc/g.

Concernant les farines commercialisées, l'analyse microbiologique a révélé que la charge moyenne des FMAT est égale à $2,47 \times 10^4$ ufc/g avec des valeurs qui varient de $4,70 \times 10^2$ à 3×10^5 ufc/g.

Pour la flore de contamination fécale, l'analyse des échantillons a révélé des teneurs moyennes de l'ordre $9,95 \times 10^2$ et de $3,40 \times 10^1$ ufc/g en CT et en CF respectivement ; Ces valeurs sont inférieures aux seuils admis. Il est à noter que le pourcentage en CT est de l'ordre de 66 %, alors que celui des CF ne dépasse pas 13 %.

Pour les moisissures, la charge moyenne est de l'ordre de $5,00 \times 10^2$ ufc/g avec des valeurs qui varient entre <1 et $5,00 \times 10^3$ ufc/g.

De ces résultats, il demeure clair que les échantillons de farines du blé analysés possèdent généralement une qualité microbiologique satisfaisante et conforme aux normes internationales définies par le Codex Alimentarius Standard (1995).

1.2 Détermination de la flore d'intérêt sanitaire des farines

Les résultats de la détermination de la flore d'intérêt sanitaire sont présentés dans le tableau 13.

Tableau 13 : Charge de la flore d'intérêt sanitaire des farines étudiées (ufc/g)

Germes pathogènes Farines étudiées	Sa	LM	CP	SA	SH
Flore isolée des farines des foyers	-	-	-	-	-
Flore isolée des farines du commerce	-	-	-	-	-

Sa : *Staphylococcus aureus* ; **LM** : *Listeria monocytogenes* ; **CP** : *Colistridium perfringens* ;

SA : *Salmonella spp* ; **SH** : *Shigella spp* ; - : Absence

La détection des germes pathogènes tels que *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Colistridium perfringens*, *Salmonella spp* et *Shigella spp* dans les deux types de farines s'est révélée négative, ceci indique l'absence de tout risque sanitaire pour le consommateur en matière de germes recherchés.

1.3 Détermination de la flore d'intérêt biotechnologique des farines

Les résultats de l'analyse de la flore d'intérêt biotechnologique des farines des foyers des variétés locales et des farines du commerce sont présentés dans le tableau 14.

Tableau 14 : Charge de la flore d'intérêt biotechnologique des farines étudiées (ufc/g)

	Minimum	Moyenne	Maximum
Flores isolées des farines des foyers			
Levures	<1	$7,10 \times 10$	$6,50 \times 10^2$
Bactéries lactiques	<1	$2,27 \times 10$	$6,00 \times 10^2$
Flores isolées des farines du commerce			
Levures	<1	$9,00 \times 10^2$	$8,10 \times 10^3$
Bactéries lactiques	<1	<1	$4,00 \times 10$

Dans le cas des farines des foyers, l'analyse de la charge de la flore a montré des valeurs moyennes de l'ordre de 70 et $2,27 \times 10$ ufc/g respectivement pour les levures et les bactéries lactiques.

Concernant les farines du commerce, les valeurs sont de l'ordre de 9×10^2 et <1 ufc/g respectivement pour les levures et les bactéries lactiques.

Selon les critères du Codex Alimentarius Standard (1995), les charges moyennes des levures obtenues sont acceptables.

2. Caractérisation de la microflore isolée des farines

Les résultats de l'identification des souches bactériennes sont indiqués dans le tableau 15.

Tableau 15 : Distribution en espèces des entérobactéries isolées des farines étudiées (%)

Espèce	Nombre de souches	%
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	2
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	2
<i>Enterobacter spp.</i>	24	44
<i>Serratia spp.</i>	15	28
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	4
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	2
<i>Klebsiella Ozaenae</i>	3	5
<i>Pantoea spp.</i>	3	5
<i>Proteus spp.</i>	2	4
<i>Leclercia spp.</i>	2	4
Total	54	100

L'identification a permis de dévoiler que le genre *Enterobacter* domine avec 48 % dont *Enterobacter agglomerans* et *Enterobacter cloacae* représentent 2 %. Au deuxième rang, se positionnent *Serratia* avec 28 % et *Klebsiella* avec 11 %. Les genres *Pantoea*, *Leclercia* et *Proteus* représentent respectivement un pourcentage de 5, 4 et 4 %.

Par ailleurs, les résultats de l'examen microscopique des champignons isolés ont révélé la prédominance de l'espèce *Aspergillus flavus* (56,25 %) suivi par l'*Aspergillus niger* (25 %), *Penicillium spp* (6,25 %), *Fusarium nival* (6,25 %) et *Rhizopus stolonifer* (6,25 %).

IV. Discussion et conclusion

Le respect de la santé de l'Homme passe inévitablement par celui des règles d'hygiène et de sécurité ; seul garant de la santé du consommateur (OMS, FAO...). Par conséquent, le contrôle de qualité d'un produit destiné à la consommation ne pourrait se faire sans l'évaluation de sa qualité physicochimique et microbiologique.

Le travail réalisé, dans ce contexte, a montré qu'à l'issue des analyses microbiologiques les échantillons des farines étudiées sont globalement conformes aux normes du Codex Standard 178-1991 et du Codex Alimentarius Standard 1995.

En effet, les farines issues des foyers et du commerce sont particulièrement contaminées par la flore mésophile aérobie totale (FMAT). Ce résultat concorde avec celui trouvé par Berghofer et *al.* en 2003 lors de leur étude sur la farine du blé australien avec une prédominance des FMAT d'une charge de 10^4 ufc/g.

Dans les cas des farines de mil et de maïs, Khaly en 1998 a rapporté qu'elles contiennent essentiellement les germes mésophiles aérobies totales avec des charges allant jusqu'à 10^8 ucf/g pour la farine de mil et 10^6 ucf/g pour celle du maïs.

Selon la FAO en 1994, les microorganismes les plus fréquemment rencontrés dans les aliments tels que les FMAT, les coliformes fécaux, les coliformes totaux et les staphylocoques sont responsables des troubles de la santé.

A ce propos, Morton en 2001 a ajouté que la charge en cette flore permet de s'informer sur la qualité microbiologique et hygiénique des denrées alimentaires. L'excès de ces germes témoigne du non-respect des règles d'hygiène lors de la fabrication, des mauvaises conditions d'entreposage et de la mauvaise qualité des matières premières (Codex Alimentarius Standard, 1995).

Dans notre cas, les charges moyennes des coliformes des farines commercialisées affichent une valeur de 10^2 ucf/g inférieure à la norme du Codex Alimentarius Standard (1995) par rapport à celles des foyers.

Dans le même contexte, un autre cas cité par Spicher (1986) qui a trouvé que la charge moyenne des coliformes est de l'ordre de 10^2 ucf/g dans la farine allemande.

Des résultats similaires ont été signalés sur la farine italienne par Cicognani et *al.* en 1975, Ottogalli et Galli en 1979 et Berghofer et *al.* en 2003. La présence excessive de ces germes, dépassant la norme, montre que le produit en question présente un risque sanitaire pour le consommateur. Selon l'Institut de Technologie Alimentaire (ITA) en 1986, l'origine de cette flore peut être attribuée à plusieurs facteurs tels que les pratiques culturelles utilisant essentiellement de l'engrais organique, le contact courant lors de la fabrication et de la vente et le non-respect des principes d'hygiène les plus élémentaires. De même, une part importante de cette flore peut être attribuée à l'exposition des farines à l'air ambiant aggravée par une densité humaine souvent importante dans les lieux de vente.

Les bactéries identifiées dans les différents échantillons de farines appartiennent à la famille des Entérobactéries. Ces bactéries ubiquistes sont fréquemment isolées du blé. Les genres *Enterobacter*, *Klebsiella* et *Pantoea* sont les plus représentatifs des entérobactéries rencontrés chez les végétaux (Nagano et *al.*, 1987; Restaino et *al.*, 2006; Mepba et *al.*, 2007). Certains de ces genres sont des contaminants classiques de l'Homme et peuvent se développer sur les matières organiques.

Ces bactéries, vraisemblablement présentes dans l'air, sont décrites comme étant des pathogènes potentiels pouvant être impliquées dans des infections très variées telles que les atteintes pulmonaires et les troubles intestinaux (Thorn et *al.*, 2002).

L'étude a également dévoilé la présence des moisissures et des levures dans les farines avec un taux inférieur aux normes établies dans le Codex Alimentarius Standard (1995). Des observations analogues ont été signalées dans des travaux réalisés en Turquie, où tous les échantillons étudiés ont montré des charges inférieures aux normes énoncées par le Codex alimentaire turc en 2009 (Aydin et *al.*, 2009). D'autres chercheurs ont souligné, à ce propos, qu'un faible taux d'humidité peut être responsable de la contamination par des moisissures et des levures (Eyles et *al.*, 1989).

Les souches de moisissures isolées ont été identifiées autant qu'*Aspergillus flavus*, espèce la plus dominante, suivie d'*Aspergillus niger*, de *Penicillium spp.*, de *Fusarium nivale* et de *Rhizopus stolonifer*.

À ce propos, Benmansour Brixi (2005), lors d'une étude sur des farines algériennes, a noté une prédominance d'*Aspergillus niger*. Cette différence peut être attribuée soit à la durée de stockage, à l'origine des graines ou à la période de prélèvement. Dans tous les cas, il demeure que les espèces les plus dominantes sont les *Aspergillus* qui constituent la flore essentielle de stockage du fait de leur tolérance à des niveaux faibles en humidité (Magan et Lacey, 1988; Godon et Loisel, 1997; Bankole et Adebajo, 2003). Par conséquent, elles sont considérées comme des contaminants fréquents des céréales et des denrées alimentaires par la production de mycotoxines (Pitt et Hocking, 1985). Ces mycotoxines sont des métabolites secondaires peu solubles dans l'eau et sont difficilement métabolisés (Pfohl-Leszkowicz, 1999 ; Bankole et Adebajo, 2003). Parmi elles, l'aflatoxine B, produite par *Aspergillus flavus* possède un effet cancérogène (Shotwell, 1977).

A ce propos, Olsson en 2000 a ajouté que ces moisissures constituent des facteurs de biodétérioration des céréales affectant la qualité technologique des matières premières et la qualité sanitaire par formation de mycotoxines et de spores allergéniques. L'activité fongique de ces moisissures peut provoquer également des modifications rhéologiques des pâtes issues de ces farines (Molinité et Pfohl-Leszkowicz, 2003).

Concernant, les espèces pathogènes telles que les *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Colistridium perfringens*, *Shigella spp* et *Salmonella spp*, on a noté une absence totale dans les farines étudiées.

Des résultats similaires ont été constatés par plusieurs auteurs (Berghofer et al., 2003; Alp et al., 2006) lors de leurs travaux sur les farines de blé.

À la lumière des résultats obtenus lors de cette étude, il est permis de conclure que la qualité des produits analysés est généralement satisfaisante et se situe dans les limites définies par les normes internationales. Cependant, certains échantillons contiennent des microorganismes, indicateurs des conditions hygiéniques déficientes, à des taux non conformes aux normes microbiologiques en vigueur, ce qui laisse supposer que la qualité des échantillons étudiés est certainement tributaire du procédé de fabrication. Ainsi, une sensibilisation par les services de contrôle sur l'utilité du triage des graines contaminées par les moisissures et sur le respect des règles d'hygiène lors de la transformation et de la conservation du produit final, s'avère obligatoire pour assurer une meilleure protection du consommateur.



CHAPITRE III :

ETUDE DE LA FLORE LACTIQUE

I. Introduction

Au Maroc, les céréales et leurs dérivés constituent l'épine dorsale du système alimentaire. La consommation moyenne annuelle par habitant est très importante et se chiffre autour de 320kg (Bartali, 1995). Cependant, les céréales, dont le blé, sont naturellement contaminées par des microorganismes. Cette flore microbienne forme un équilibre très fragile et qui peut altérer la qualité lors des différentes phases de préparation de la farine et ses dérivés, tels les levains. L'équilibre de la population microbienne totale présente dans les grains de blé peut être affecté par de nombreux facteurs. Parmi les facteurs de ce déséquilibre, on cite les conditions climatiques, essentiellement la température et l'humidité et les conditions biotiques liées aux attaques par des insectes et des moisissures et l'application des pesticides. Parmi les microorganismes associés aux farines, les bactéries lactiques jouent un rôle très important dans la préservation de l'équilibre de la flore microbienne et la stabilisation des produits finaux de la fermentation (Mensah et *al.*, 1991 ; Caplice et Fitzgerald, 1999). Cependant, les travaux au Maroc n'ont jamais fait l'objet d'une investigation sur la biodiversité de la flore lactique des farines issues des variétés nationales du blé. Toutefois, à l'échelle internationale, les seuls travaux, à notre connaissance, publiés dans ce domaine sont ceux de Corsetti et ses collaborateurs en 2001 et en 2007 et Robert et ses collaborateurs en 2009 sur le blé italien et ceux de Hardy en 1982, Bervas en 1991 et Infantes et Tourneur en 1991 sur le blé français. Il est donc nécessaire d'entreprendre une étude sur la flore lactique des farines marocaines dont les données sont pratiquement absentes dans la littérature.

L'utilisation des bactéries lactiques dans l'alimentation est intéressante à plus d'un titre. En effet, outre les fermentations dont elles sont les catalyseurs, les bactéries lactiques empêchent la multiplication d'autres espèces bactériennes pathogènes ou susceptibles de dégrader les produits alimentaires. Les bactéries lactiques empêchent l'altération des produits alimentaires par le biais de la production d'acide lactique, d'eau oxygénée et des lantibiotiques telle la nisine et ce, en exerçant une action protéolytique et lipolytique.

De plus, les bactéries lactiques contribuent à la texture, à la saveur des aliments et à la production de composés aromatiques. Pour toutes ces propriétés, elles sont exploitées dans la technologie des fromages (Gorenflot, 1989).

A l'heure actuelle, les bactéries lactiques sont recherchées pour leurs qualités nutritionnelle et thérapeutique dans des préparations appelées probiotiques et pour la

production de bactériocines (Leveau et Bouix, 1993 ; Patrignani et *al.*, 2006 ; Steijns, 2008 ; Cleveland et *al.*, 2001 ; PaulRoss et *al.*, 2002 ; Touré et *al.*, 2003). Les bactéries lactiques demeurent encore utilisées sous forme de levains artisanaux, mais le développement de l'industrie de transformation a conduit à la production de ferments industriels capables d'assurer à la fois la qualité et la consistance du produit (Leveau et Bouix, 1993 ; Pfeiler et Klaenhammer, 2007). Ces ferments sont des cultures pures ou un mélange appartenant aux genres : *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Bifidobacterium* (Leveau et Bouix, 1993).

Vue l'importance attribuée aux bactéries lactiques dans les domaines de l'industrie pharmaceutiques et agroalimentaires, leur valorisation pourrait avoir de fortes retombées socio-économiques, scientifiques et environnementales (Holzapfel, 2002). Un aspect de ce volet est évoqué dans le présent travail où on s'est intéressé à l'étude des bactéries lactiques naturellement présentes dans les farines issues des variétés marocaines de blé. Pour ce faire, une étude des caractéristiques phénotypiques et génotypiques des bactéries lactiques isolées ainsi que leur pouvoir antibactérien vis-à-vis des bactéries pathogènes s'avère nécessaire afin d'atteindre l'objectif assigné à ce travail.

II. Matériel et méthodes

1. Isolement des bactéries lactiques des farines de blé dur

L'isolement des bactéries lactiques a été effectué en utilisant les milieux sélectifs : MRS agar, M17 agar et Elliker agar (Tableau 16). Après incubation à 30 °C et 45 °C pendant 48 h, les colonies ont été dénombrées dont 2 à 5 ont été prélevées à partir des boîtes correspondantes aux dilutions les plus élevées et transférées dans 10 ml du bouillon approprié.

Les colonies sélectionnées sont purifiées par des subcultures successives sur les milieux gélosés appropriés. Les cultures pures sont maintenues dans des cryotubes contenant le bouillon MRS additionné de 30 % de glycérol (v/v) à -20 °C. Avant utilisation, les isolats stockés sont activés par transfert de 1 % d'inoculum dans le bouillon MRS incubé à 30 °C pendant 24 h, et subcultivés sur la gélose MRS à 30 °C pendant 24 h (Khedid, 2006).

Tableau 16 : Milieux utilisés et conditions d'incubation pour l'isolement des bactéries lactiques

Microorganismes	Milieux d'isolement	T°C	Durée (h)	Incubation
Streptocoques et Enterocoques	M17 (Terzaghi et Sandine, 1975)	45	48	Aérobiose
Lactocoques	Elliker (Elliker et <i>al.</i> , 1956)	30	48	Aérobiose
Lactobacilles et Pediocoques	MRS (De Man et <i>al.</i> , 1960)	30	48	Aérobiose

2. Identification des isolats de bactéries lactiques

2.1 Identification morphologique

La caractérisation morphologique consiste à tester tous les isolats par la coloration de Gram, la production de la catalase et la formation de spores (Harrigan et Mc Cance, 1976 ; Garie, 1984 ; Schleifer et Kliper-Balz, 1987 ; Curk et *al.*, 1996 ; Klein, 2001).

a. Coloration de Gram et détermination de la morphologie

La morphologie et le type de Gram des souches isolées à partir des échantillons étudiés ont été déterminés par l'observation microscopique après coloration à la méthode de Gram qui permet de noter la forme (coque, bâtonnet,... etc), le mode de groupement (amas, chaînette, diplocoque, tétrade,...) et de distinguer les souches à gram positif des souches à gram négatif.

b. Test de catalase

Une colonie d'une culture de moins de 24 heures de chaque isolat a été déposée à l'aide d'une anse sur une lame, une goutte de peroxyde d'hydrogène a ensuite été ajoutée. La présence de catalase se traduit par l'apparition d'une effervescence. Rappelons que les isolats ne possédant pas de catalase sont incapables de dégrader le peroxyde d'hydrogène.

2.2 Identification biochimique

La caractérisation biochimique se base essentiellement sur la détermination de certains paramètres à savoir : Développement des isolats à différentes températures, à différents pH et à différentes concentrations en sel, production de l'acétoïne, production de gaz en glucose (CO₂), mobilité, hydrolyse de l'arginine, utilisation de citrate et fermentation des sucres (Harrigan et Mc Cance, 1976 ; Garie, 1984 ; Schleifer et Kliper-Balz, 1987 ; Curk et *al.*, 1996 ; Klein, 2001).

a. Développement des souches aux températures optimales

Les souches ont été testées pour leur croissance à des températures de 10, 30, 40 et 45 °C. Pour ce faire, les souches ont été cultivées dans 5 ml du bouillon MRS, puis sont incubées à la température correspondante. Après 24 à 48 h d'incubation, la croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble dans les tubes avec un précipité blanc dans le fond des tubes positifs.

L'incubation à 30 °C sert de témoin.

b. Croissance des souches dans des conditions hostiles

Pour vérifier le caractère halophile, la croissance des souches en présence de différentes concentrations en sel a été réalisée sur le milieu de base (bouillon MRS) additionné de 2, 4 et 6.5 % de NaCl. Les tubesensemencés ont été incubés à 30 °C pendant 24 h puis contrôlés pour le développement d'un trouble caractéristique de la croissance bactérienne.

c. Croissance à différent pH

Après préparation du bouillon MRS, son pH a été ajusté à 6.5, 9.2 et 9.6 avec le pH mètre par l'addition d'une solution de NaOH, puis le milieu est réparti dans des tubes à essai. Les souches à tester sontensemencées dans ce bouillon à divers pH et incubées à 37 °C pendant 24 h.

d. Production de l'acétone

Le milieu utilisé pour ce test est le bouillon MR-VP. Il s'agit de mettre en évidence la production d'acétyle- méthyle carbinol (acétone) par addition de 10 gouttes d'une solution titrée à 6 % de α - naphthol et d'une solution de KOH à 40 %. Une réaction positive (bactéries dites Voges- Proskauer positives « VP+ ») est révélée par une coloration rosâtre.

e. Production de gaz en glucose (CO₂)

Ce test a été réalisé en utilisant le bouillon MRS. Le milieu a étéensemencé par les cultures jeunes des souches à tester, puis les tubes ont été incubés à 30 °C pendant une période allant de 24 h à 48 h.

Après culture, on introduit un fil porté au rouge sur la flamme dans les tubes. La production de gaz se traduit par le dégagement des bulles de gaz qui forment parfois une mousse.

f. Mobilité

Pour détecter les bactéries mobiles, on utilise le milieu semi solide mannitol-mobilité. Les tubes contenant le milieu mannitol-mobilité sont ensemencés par une pique centrale, puis incubés à 37 °C pendant 24 h. La mobilité de la souche est appréciée par une croissance qui diffuse depuis la zone ensemencée vers la périphérie du milieu.

g. Hydrolyse de l'arginine

Les bactéries possédant l'arginine dihydrolase sont capables d'hydrolyser l'arginine en libérant de l'ammoniac et de la citriline. Pour la mise en évidence de cette enzyme, les tubes à essai contenant le milieu à l'arginine ont été inoculés avec une culture jeune de 16 à 18 h de la souche à identifier, puis incubés à 37 °C pendant 24 h. La désamination de l'arginine est révélée par le virage de la culture du pourpre au jaune.

h. Utilisation de citrate

La gélose au citrate de Simmons distribuée dans des tubes sous forme inclinée et ensemencée par la souche à tester, puis incubée à 37 °C pendant 24 h à 7 jours. Le virage du milieu au bleu indique une réaction positive qui signifie que la souche étudiée est capable d'utiliser le citrate comme seule source de carbone pour sa croissance. Dans le cas contraire le milieu demeure verdâtre traduisant une réaction négative.

i. Fermentation des sucres

L'étude de la fermentation des sucres est réalisée sur le milieu spécifique à chaque genre, additionné d'un indicateur de pH (solution à 0,5 % de rouge de phénol). Les sucres testés sont : Glucose, Fructose, Galactose, Xylose, Arabinose, Ribose, Sucrose, Mannose, Dextrose, Maltose et Levulose.

2.3 Identification génotypique par la technique d'ARNr 16S

Le séquençage de l'amplifiât du gène codant pour l'ARNr 16S constitue la méthode de base. Cette approche s'appuie sur la présence obligatoire de l'ARNr dans les bactéries. La séquence nucléotidique de ce gène permet la classification phylogénétique et l'identification d'isolats inconnus, la base de données existante pour ce gène étant la plus étendue des gènes bactériens. La séquence nucléotidique de la région entre les gènes codant pour les ARNr 16S et 23S, appelée Internal transcribed spacer (ITS), peut être utilisée pour l'identification, mais sa séquence est moins conservée. Dans ce cas, la PCR utilise des amorces correspondant aux régions conservées universelles dans les gènes codant l'ARNr 16S et 23S, de part et d'autre de l'ITS (Boughachiche, 2012).

2.3.1 Extraction d'ADN

L'extraction et la purification de l'ADN a été réalisée par le Kit GenElute *Bacterial Genomic DNA Kit* (Sigma Aldrich, Allemagne) après culture de la souche à identifier dans 5 ml de bouillon MRS pendant 16 heures à 30 °C. La détermination de la concentration d'ADN a été obtenue par le dosage au spectrophotomètre Nanodrop 8000 (Thermo Fisher Scientific Inc.). La pureté de l'ADN a été évaluée par le rapport des densités optiques DO 260/280 nm. Un extrait d'ADN de bonne qualité donne un rapport compris entre 1,8 et 2.

2.3.2 PCR (Polymerase Chain Reaction)

a. Préparation des mélanges réactionnels

La réaction de polymérisation en chaîne PCR consiste à multiplier la séquence du gène de l'ADNr 16S à l'aide d'amorces spécifiques (Fd1 et RP2) encadrant la séquence de ce gène et générant un amplicon de 1500bp.

Amorce	Séquence 5'→3'
Fd1	5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'
RP2	5'-ACGGCTACCTTGTTACGACTT-3'

Les réactions PCR sont réalisées dans un volume total de 25 µl contenant le tampon de réaction au 1/10 du volume final et qui contient 10 mM de chaque deoxyribonucléoside triphosphate (dNTP), 50 mM MgCl₂, 20 pmol de chaque amorce, 5U de la Taq polymérase et 5 µl de l'échantillon d'ADN. Dans le témoin négatif, les 5 µl d'ADN sont remplacés par 5 µl d'H₂O stérile (Tableau 17).

Tableau 17 : Mélange réactionnel de la PCR

Réactifs (Tampon et Taqplatinium d'Invitrogen)	Quantités en (µl) pour un tube
Tampon 10x	2.5
dNTP 10Mm	2
Amorces Fd1 (100uM)	0.125
Amorce RP2 (100uM)	0.125
MgCL₂ (50mM)	0.75
Taq DNA polymerase 5U/ul	0.2
H₂O	14.3
ADN (30ng/ul)	5

Les microtubes sont ensuite placés dans un thermocycleur (Verity, ABI). Les amplifications sont réalisées selon le programme suivant (Tableau 18) :

Tableau 18 : Programme établi pour l'amplification PCR par le thermocycleur Verity

Etapes	Température °C	Temps	Cycle
Dénaturation préliminaire	94	2min	1
Dénaturation	94	40s	10
Hybridation	60	60s	
Elongation	72	120s	
Dénaturation	94	40s	25
Hybridation	50	60s	
Elongation	72	60s	
Elongation finale	72	3min	1

b. Electrophorèse des produits de la réaction PCR

A la fin de l'amplification, un aliquote de 10 µl de chaque amplifiat est mélangé avec 2 µl d'un tampon de charge (Promega, USA). Les différents mélanges sont soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose à 1 % (poids /volume) dans le tampon Tris-Acétate-EDTA (TAE 1x) préparé à partir d'une solution mère concentrée 10X (Promega, USA) pendant une demi-heure à 100V. Le 1Kb stepladder (Promega, USA) est utilisé comme marqueur de poids moléculaire. Le Gel a été ensuite photographié sur le GBOX, SYNGENE, l'acquisition et l'analyse de l'image est réalisée par le logiciel GenSnap.

2.3.3 Purification des produits PCR

La purification des produits PCR a été réalisée par l'enzyme Exosap. 2 µl de cet enzyme est directement ajouté au produit PCR, le tout est incubé à 37 °C pendant 15 min, suivie d'une inactivation par chauffage à 80 °C pendant 15 min. On prélève 1µl du produit PCR purifié pour le doser au Nanodrop (Thermo Fisher scientific). Le protocole de suivi se présente comme suit :

1. Sortir le kit du congélateur -20 °C, et le placer dans la glace pendant toute la durée de la procédure.
2. Mélanger dans la plaque de réaction, 5 µl du produit de la réaction de PCR et 2 µl de l'ExoSAP-IT pour un volume final de 7 µl

3. Incuber la plaque de réaction à 37 °C pendant 15 min dans le thermocycleur pour dégrader les amorces et les nucléotides libres
4. Incuber la plaque de réaction à 80 °C pendant 15min pour inactiver l'ExoSAP-IT.

Après ces étapes, le Produit de PCR est prêt à l'analyse pour le séquençage, pour l'analyse de polymorphisme d'un seul nucléotide (SNP) ou pour d'autres applications.

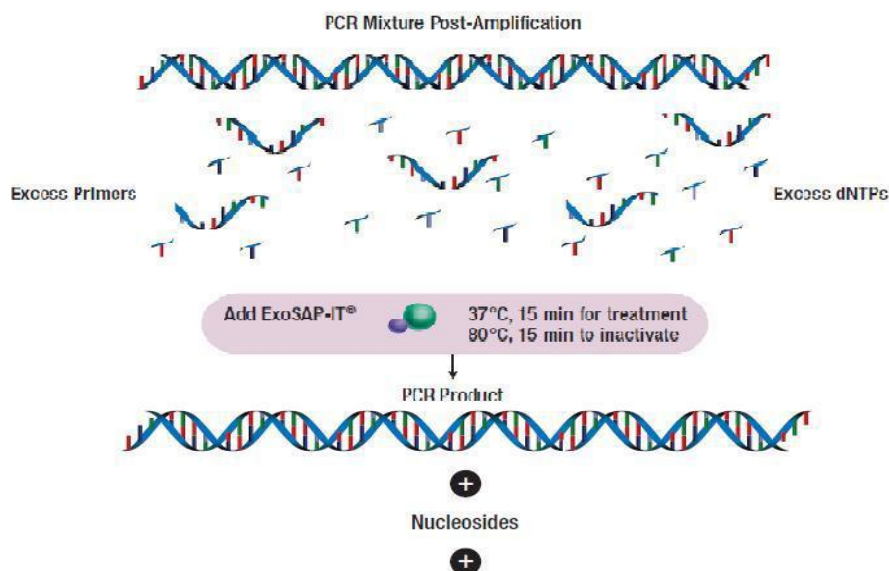


Figure 13: Schématisation de la purification des produits PCR par l'enzyme ExoSAP-IT

2.3.4 Séquençage de la sous unité ribosomale 16S

a. Séquençage par la technique de Sanger

Les amplicons ont été séquencés par la technique décrite par Sanger et *al.* en 1977 appelée également technique de terminaison de chaînes en utilisant le kit BigDye v3.1 Terminator d'Applied Biosystems et les amorces de la PCR (F et R).

Dans la méthode de Sanger, la polymérisation de l'ADN est initiée par un petit oligonucléotide (amorce) complémentaire à une partie du fragment d'ADN à séquencer.

L'élongation de l'amorce est réalisée par la « séquenase » (une polymérase dépourvue d'activités exonucléasiques 5' → 3' et 3' → 5'). Les quatre désoxynucléotides (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) sont ajoutés, ainsi qu'en faible concentration les quatre didésoxynucléosides (ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP) marqués par des fluochromes différents. Ces didésoxynucléosides, une fois incorporés à la nouvelle chaîne synthétisée, empêchent la

poursuite de l'élongation. Il en résulte de nouveaux fragments d'ADN de tailles variables qui sont ensuite séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide

Le séquençage a été réalisé par le kit BigDye v3.1, la réaction de séquence consistait à avoir un mix constitué de 1 µl du BigDye (contient les ddNTPS, dNTP, Enzyme, tampon), 3 µl du tampon de séquençage 2.5x (pour diluer le BigDye), les amorces, l'eau et le produit PCR forment un total de 10 µl (Tableau 19).

Tableau 19 : Réactifs utilisés pour PCR

Mélange réactionnel pour une réaction de séquence	Quantité en µl
BigDye	1 µl
5X sequencing buffer	3 µl
Amorces (3.2 – 5pmol)	x µl
ADN matrice	0.75 - 1.5 µl
H₂O (MiliQ)	2.5 - 3.25 µl
Volume final	10 µl

b. Purification des produits de la réaction de séquençage

Pour la purification de la réaction de séquençage, on utilise le kit BigDye X Terminator (Applied Biosystems) constitué de deux réactifs (Solution SAM et X Terminator). Après réaction de séquençage, on centrifuge la plaque pendant 1 min à 1000 rpm puis on ajoute 45 µl de la solution SAM (tampon) et 10 µl du réactif X terminator, suite à une période d'agitation continu de 30 min à 1800 rpm, le X terminator capte les ddNTPS non incorporés. Une seconde centrifugation de 2 min à 1000 rpm est nécessaire pour finaliser la préparation de la plaque pour le séquençage.

Les étapes de protocole de la purification des produits de la réaction de séquence sont :

1. Adapter une microplaque à fond filtrant de 0.45 µm (plaque Multiscreen MSHAN45)
2. Distribuer sur une plaque de récupération à l'aide d'un joint, 300 µl de G50 dans chaque puits que l'on compte utiliser de la microplaque.
3. Centrifuger à 1500 g, soit 2690 rpm pendant 3 min.
4. Répéter cette étape de manière à avoir au final 600 µl de G50.
5. Ajouter 20 µl d'eau mQ sur les produits de la réaction de séquence
6. Déposer 30 µl des produits de la réaction de séquence au milieu des puits
7. Prendre une plaque ABI comme plaque de récupération
8. Centrifuger à 1100 g soit, 2605 rpm pendant 5min
9. Installer les échantillons dans le séquenceur 3130XL.

c. Lecture des séquences sur analyseur génétique (automate d'électrophorèse seize capillaire : ABI 3130XL)

Les divers fragments à séquencer sont d'abord séparés selon leur taille par électrophorèse capillaire. La répartition a lieu sous l'action d'un courant électrique dans un automate d'électrophorèse à 16 capillaires ABI 3130XL en utilisant le logiciel data collection v3.0 (Applied Biosystems) (Photo 4). Un tel système permet de séparer deux copies incomplètes consécutives qui ont une différence de taille d'un seul nucléotide. L'identification du nucléotide au niveau duquel la copie s'est interrompue (nucléotide terminal fluorescent) pour chacune des copies incomplètes, de la plus petite à la plus grande, permet de reconstituer la succession des nucléotides tout au long de la copie d'ADN. La migration des séquences, se fait sur capillaire.

Le passage des fragments fluorescent à travers une cellule de détection permet au système optique du séquenceur (laser et caméra) d'exciter les fluorochromes et de collecter la fluorescence émise portée par chacun de ces fragments. Les électrophorégrammes ainsi obtenus sont caractéristiques de chaque séquence. Le résultat de cette lecture est imprimé sous forme de pics dont la couleur représente le ddNTP (Figure 14).



Photo4 : Appareil de séquençage 16 capillaires : ABI 3130xl d'Applied Biosystems

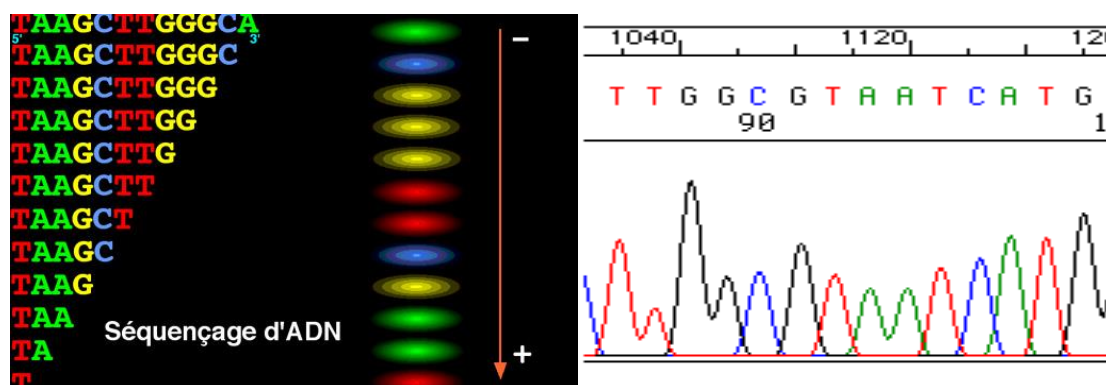


Figure 14 : Migration électrophorétique des séquences et formation d'un électrophorégramme (les quatre courbes correspondent à la détection de la fluorescence des fragments d'ADN obtenus. Un "pic" correspond donc à la détection d'un nucléotide donné dans la séquence. En bleu : Cytosine. En vert : Adénine. En jaune : Guanine. En rouge : Thymine)

2.3.5 Analyse des séquences et identification des bactéries

a. Alignement des séquences

Après l'électrophorèse capillaire, les séquences obtenues sont alignées par le logiciel sequencing analysis v 5.3.1 (Applied Biosystems) et corrigées manuellement pour résoudre des anomalies entre les deux brins sens et antisens.

b. Détermination de l'espèce bactérienne

Les séquences sont comparées aux séquences homologues contenues dans les banques de données de séquence à travers le portail NCBI (National Center for Biotechnology Information : (<http://www.ncbi.gov/Blast.cgi>) en utilisant le programme Blast (Basic Local Alignment Search Tools) (Figure 15). Ce programme permet la recherche des similarités entre une séquence requête et toutes les séquences d'une base ou de plusieurs bases de données. Cette comparaison permet de déduire le genre et l'espèce bactérienne.

The screenshot displays the NCBI BLAST web interface. At the top, there's a navigation bar with 'Home', 'Recent Results', 'Saved Strategies', and 'Help'. Below this, the 'Enter Query Sequence' section is active, showing a text input field with a DNA sequence. To the right of the input field is a 'Clear' button. Below the input field, there's a 'Parcourir...' button for uploading a file. The 'Job Title' section is empty. In the 'Choose Search Set' section, the 'Database' dropdown is set to 'Nucleotide collection (nr/nt)'. The 'BLAST' button is prominently displayed at the bottom left.

Figure 15: Illustration de l'interface Blast de NCBI

c. Critères d'identification

L'identification du genre ou de l'espèce est effectuée selon les critères suivants (Drancourt et *al.*, 2000) :

- Si la comparaison de la séquence obtenue avec une séquence d'une espèce de référence classifiée a rapporté des pourcentages de similitude ≥ 99 %, l'isolat inconnu sera assigné à cette espèce.
- Si les pourcentages sont entre 97 % et 99 % l'isolat inconnu sera assigné au genre correspondant.
- Si les pourcentages sont < 97 %, l'isolat inconnu sera assigné à une famille

3. Détection du pouvoir antibactérien des bactéries lactiques

3.1 Microorganismes testés

L'activité antibactérienne des bactéries lactiques est évaluée sur certaines souches, utilisées comme indicatrice de leur activité inhibitrice, à savoir :

Streptococcus pneumoniae ATCC6305, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli* ATCC25922, *Yersinia enterocolitica* ATCC9610, *Salmonella enterica* Typhimurium, *Shigella sonnei*, *Proteus mirabilis*. Ces souches ont été obtenues auprès du laboratoire de bactériologie de l'Institut national d'hygiène (INH-Rabat).

3.2 Caractérisation du pouvoir antibactérien des bactéries lactiques

Les souches testées sont soumises au test de vérification de la production de bactériocines. Cette révélation consiste à activer la souche productrice par propagation dans le bouillon MRS à 30 °C/24 h. Les cultures sont centrifugées à 10000 xg pendant 15 minutes. Ensuite, le surnageant de la culture productrice est filtré à travers un filtre stérile de type Mulex GV de 0.22 µm de diamètre. L'effet antibactérien attribué aux acides organiques a été neutralisé par une solution de NaOH à 5M. Ensuite, on a procédé au traitement du surnageant par la catalase pour éliminer l'effet de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Le surnageant de culture, ainsi obtenu, est utilisé comme agent antimicrobien (Schillinger et Luke, 1989).

3.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice et de la concentration minimale bactéricide des bactéries lactiques

L'étude de l'activité antimicrobienne consiste à déterminer des paramètres antibactériens à savoir la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) des différentes souches de bactéries lactiques étudiées. Pour sa réalisation, nous avons utilisé la méthode de la microdilution en milieu liquide couplée à l'étalement sur milieu solide telle qu'elle est décrite par Chabbert et Daguet (1985). La détermination des CMI du surnageant des souches des bactéries lactiques productrices de substances inhibitrices vis-à-vis des souches dites indicatrices a été réalisée selon la technique de microtitration sur plaques stériles à fond plat (Bio-Rad), décrite par Eloff en 1998. La révélation de la viabilité des souches indicatrices a été détectée en utilisant le tétrazolium (MTT : 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium bromide [Sigma, Saint-Louis, MO]) comme indicateur de viabilité. On dépose 100 µl de BHI (Brain Heart Infusion) dans chaque puits, puis 90 µl du surnageant de culture, ou de dilutions successives à raison de 1/2, sont ajoutés à chacun des puits. Chaque puits est ensuiteensemencé par 10 µl d'une suspension microbienne ajustée à 10⁶ cellules/ml à l'aide de l'étalon 0.5 et 1 de McFarland. Après incubation à 37 °C, 10 µl du MTT préparé extemporanément à une concentration de 0,4 mg/ml a été ajouté dans chaque puits. La plaque est ensuite réincubée pendant 10 à 30 minutes à 37 °C. Les puits où une croissance a eu lieu montrent une couleur bleue-violette. Les témoins négatifs ont été préparés dans des puits isolés par ajout des souches testées aux milieux adéquats sans surnageant.

Par ailleurs, la détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) nécessite l'ensemencement en stries de 100 µl des contenus des puits ayant une concentration

supérieure ou égale à la CMI dans la série de dilution préalablement établie sur une gélose nutritive. Ainsi, la CMB est déterminée après une incubation de 24 heures à 37 °C.

III. Résultats et interprétations

1. Dénombrement des bactéries lactiques

Globalement, les résultats du dénombrement des bactéries lactiques ont révélé des valeurs faibles dans la majorité des échantillons de farines étudiés. La charge de ces farines en bactéries présumées du genre *Pediococcus* varie entre 2×10^2 et 6×10^2 ufc/g, celle des bactéries présumées des genres de *Lactobacillus*, *Weissella* et *Lactococcus* est en moyenne de 10 ufc/g et celle d'*Enterococcus* varie de 10^2 à 3×10^2 ufc/g. Un total de 60 isolats de bactéries lactiques a été obtenu à partir des différents échantillons de farine. Notre étude a porté un intérêt particulier aux bactéries lactiques ayant montré un pouvoir antibactérien vis-à-vis des bactéries pathogènes (Voir la partie relative à la Détection du pouvoir antibactérien des bactéries lactiques). Ainsi, un total de 30 bactéries lactiques a retenu notre attention et a fait l'objet d'une identification phénotypique et génotypique.

2. Identification des bactéries lactiques

2.1 Caractérisation phénotypique

La caractérisation phénotypique des bactéries lactiques consiste à réaliser 2 types de tests à savoir :

- Tests morphologiques
- Tests biochimiques

Les résultats des tests morphologiques ont montré que 100 % des isolats sont des bactéries à Gram positif et ne possédant pas de catalase, elles sont par ce fait incapable de dégrader le peroxyde d'hydrogène.

Les résultats des tests biochimiques des bactéries lactiques isolées des farines sont présentés dans le tableau 20.

Tableau 20: Caractéristiques biochimiques des bactéries lactiques isolées des farines marocaines

Souches	CO ₂	Ma / Mobilité	VP	Hydrolyse de		Température					pH			NACL					Fermentation des sucres											
				ADH	Citrate	10	30	40	45	50	6,5	9,2	9,6	2	3	4	6,2	10	GL	F	G	X	Ar	R	Su	Man	M	D	Le	
<i>Enterococcus Hirae</i> (4)	-	-	+	+	-	-	+	+	+		+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
<i>Enterococcus Faecium</i> (4)	-	-	-	+	-	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	
<i>Pediococcus Acidilactici</i> (18)	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	
<i>Pediococcus pentosaceus</i> (1)	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	
<i>Weissella confusa</i> (1)	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	
<i>Lactococcus lactis</i> (1)	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
<i>Lactobacillus plantarum</i> (1)	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	

VP: voges-proskauer (la mise en évidence de la production d'acétoïne au cours de la fermentation butylène glycolique) ; **ADH:** Arginine dihydrolase ; **Ma:** Mannitol; **GL :** Glucose; **F:** Fructose; **G:** Galactose; **X:** Xylose; **Ar:** Arabinose; **R:** Ribose; **Su:** Sucrose; **Man:** Mannose; **M:** Maltose; **D:** Dextrose ; **Le:** Levulose; **+:** Test positif; **-:** Test négatif

A la lumière des résultats obtenus, on peut avancer d'une part que toutes les bactéries lactiques étudiées sont homofermentaires à l'exception d'une seule souche hétérofermentaire identifiée comme *Lactobacillus plantarum* et d'autre part, elles sont dotées d'un pouvoir de croître à 30 °C, à pH 6,5 et en présence de 4 % de NaCl.

Concernant la capacité de fermentation des sucres, toutes les souches sont capables de fermenter le glucose tandis que la fermentation des autres sucres est variable d'une espèce à l'autre. L'identification phénotypique des bactéries lactiques retenues permet d'avancer qu'il existe une biodiversité intéressante.

2.2 Caractérisation moléculaire

Bien qu'elle constitue une étape fondamentale et préliminaire, l'identification des bactéries lactiques par les méthodes phénotypiques, reste, cependant, sommaire et imprécise. Elle ne permet pas de distinguer entre les souches apparentées en raison de leur condition nutritionnelles qui sont similaires. Ainsi et afin d'attribuer des profils acceptables et fiables aux souches sélectionnées, il existe diverses techniques de biologie moléculaire qui sont indispensables et obligatoires pour l'identification bactérienne. Nous citons, à titre d'exemple, la technique de séquençage du gène de l'ARNr 16S.

Actuellement, l'analyse par séquençage de l'ARNr 16S reste la méthode moléculaire de référence pour l'identification de nombreux microorganismes entre autres les bactéries lactiques. Pour ce faire, plus de 92 000 séquences d'ARNr 16S sont à la disposition des scientifiques sur le réseau internet, dans des bases de données généralistes comme Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Delgado et Mayo, 2004; Settanni et *al.*, 2005).

Les 30 isolats ayant présenté des caractères qui orientent vers le groupe des bactéries lactiques, ont fait l'objet d'un alignement multiple de la séquence du gène ARNr16S.

Les résultats de l'identification moléculaire des bactéries lactiques sont indiqués dans le tableau 21.

Tableau 21 : Identification des bactéries lactiques isolées de la farine de blé dur par la technique de l'ARNr16S

Souches	Identification moléculaire	pourcentage d'identification
1	<i>Pediococcus acidilactici</i>	100
2	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
3	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
4	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
5	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
6	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
7	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
8	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
9	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
10	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
11	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
12	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
13	<i>Pediococcus acidilactici</i>	99
14	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
15	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
16	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
17	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
18	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
19	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	100
20	<i>Enterococcus hirae</i>	100
21	<i>Enterococcus hirae</i>	
22	<i>Enterococcus hirae</i>	99
23	<i>Enterococcus hirae</i>	
24	<i>Enterococcus faecium</i>	100
25	<i>Enterococcus faecium</i>	
26	<i>Enterococcus faecium</i>	
27	<i>Enterococcus faecium</i>	99
28	<i>Lactococcus lactis</i>	99
29	<i>Weissella confusa</i>	100
30	<i>Lactobacillus plantarum</i>	99

Les résultats de séquençage de l'ARNr16S des bactéries lactiques retenues sont indiqués dans le tableau 22 et la photo 5.

Tableau 22 : Répartition en genres et en espèces des isolats de bactéries lactiques identifiées par le séquençage de l'ARNr16S

Genres	Espèces	Nombre d'isolats	% par rapport au total des isolats
<i>Pediococcus</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	18	60
	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1	3,33
<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus hirae</i>	4	13,33
	<i>Enterococcus faecium</i>	4	13,33
<i>Weissella</i>	<i>Weissella confusa</i>	1	3,33
<i>Lactococcus</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	1	3,33
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1	3,33

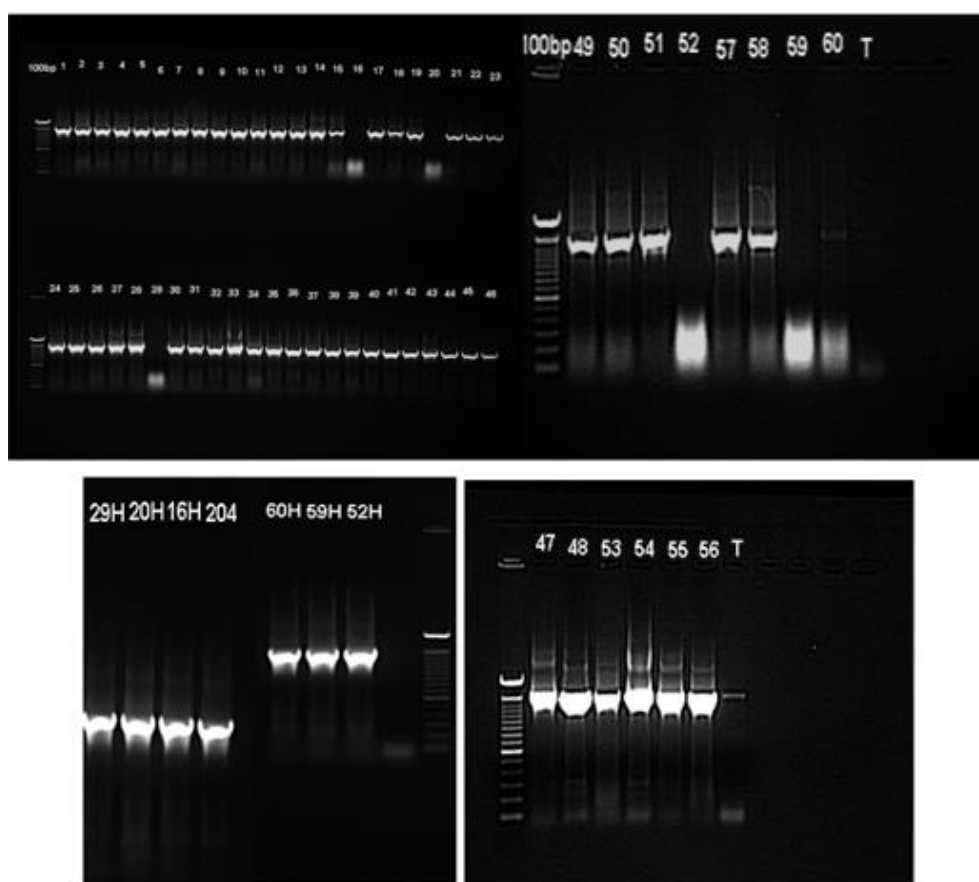


Photo 5 : Electrophorèse sur gel d'agarose des fragments d'ARNr 16S amplifiés par PCR

Le séquençage par la méthode moléculaire de Sanger et ses collaborateurs (1977) a permis l'individualisation de 5 groupes de bactéries lactiques à savoir :

- Un premier groupe caractérisé par le genre *Pediococcus* avec une fréquence de 63 % (soit 19 isolats). Ce genre a été représenté par 2 espèces *Pediococcus acidilactici* et *Pediococcus pentosaceus*, avec une dominance de l'espèce *Pediococcus acidilactici* avec une fréquence de 95 % par rapport au nombre total des souches de genre *Pediococcus* (soit 18 isolat).
- Un second groupe représenté par le genre *Enterococcus* avec une fréquence de 27 % (soit 8 isolats). Ce genre a été représenté par 2 espèces *Enterococcus hirae* (4 isolats) et *Enterococcus faecium* (4 isolats), soit une fréquence de 50 % respectivement .
- Un troisième groupe représenté par l'espèce *Weissella confusa* avec une fréquence de 3.33 % (soit 1 isolat).
- Un quatrième groupe représenté par l'espèce *Lactococcus lactis* avec une fréquence de 3.33 % (soit 1 isolat).
- Un cinquième groupe représenté par l'espèce *Lactobacillus plantarum* avec une fréquence de 3.33 % (soit 1 isolat).

3. Etude de l'activité antibactérienne de bactéries lactiques isolées

Après un test de criblage, l'évaluation du pouvoir antimicrobien des 30 souches de bactéries lactiques, précédemment identifiées, a abouti aux résultats présentés dans le tableau 23.

Tableau 23 : Concentration minimale bactéricide des bactéries lactiques sur la croissance de 11 bactéries indicatrices (UA/ml)

Souches de bactéries lactiques productrices Souches pathogènes indicatrices	<i>Pediococcus acidilactici</i>		<i>Enterococcus faecium</i>		<i>Enterococcus hirae</i>		<i>Weissella confuse</i>		<i>Lactobacillus plantarum</i>		<i>Pediococcus pentosaceus</i>		<i>Lactococcus lactis</i>	
+ <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	+	A	+	A	+	A	+	A	+	A	-	-	+	A
+ <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	+	A	-	-	+	A	-	-	-	-	-	-	-	-
+ <i>Listeria innocua</i>	+	A	+	A	+	A	+	A	-	-	+	A	+	A
+ <i>Listeria monocytogenes</i>	+	A	-	-	-	-	+	A	+	A	-	-	+	A
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	+	A	-	-	-	-	+	A	+	A	+	A
<i>Neisseria meningitidis</i>	-	-	+	A	+	A	-	-	-	-	-	-	+	A
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 9610	+	A	+	A	-	-	-	-	+	A	-	-	-	-
<i>Salmonella enterica typhimurium</i>	+	A	+	A	+	A	-	-	+	A	+	A	-	-
<i>Shigella sonnei</i>	-	-	+	A	-	-	-	-	-	-	+	A	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	+	A	+	A	-	-	+	A	+	A	+	A	-	-

+ : Présence d'activité antibactérienne à 100 UA/ml

- : Absence d'activité antibactérienne

A : Effet bactéricide

Les valeurs trouvées ont dévoilé que les souches *Enterococcus faecium* et *Pediococcus acidilactici* présentent un large spectre d'inhibition contre huit bactéries indicatrices.

L'activité antibactérienne de *Pediococcus acidilactici* est plus importante chez les bactéries à gram négatif que chez les bactéries à gram positif, par contre celle d'*Enterococcus faecium* est plus marquée chez les bactéries à gram négatif.

Les bactéries des espèces *Enterococcus hirae*, *Pediococcus pentosaceus*, ont montré une activité contre 5 souches, tandis que celle des espèces *Lactococcus lactis* et *Weissella confusa* ont montré un potentiel assez important contre quatre bactéries indicatrices.

Par ailleurs, les résultats du criblage de l'activité antibactérienne ont également permis de constater que la CMI des bactéries lactiques testées a été évaluée à 25 UA/ml et que leur effet inhibiteur s'est avéré de type bactéricide.

Globalement, il est à noter que les bactéries lactiques étudiées présentent une activité contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif et qu'il n'y a aucune activité contre *E.coli* à l'exception de la souche *P.acidilactici* qui a dévoilé une action bactéricide.

IV. Discussion et Conclusion

L'étude de la biodiversité des bactéries lactiques des farines de blé dur a permis de mettre en évidence l'existence d'une flore variée. L'isolement a montré que le nombre des bactéries lactiques varie entre 10 et 6×10^2 ufc/g de farine. Ces valeurs sont supérieures à celles trouvées dans certains travaux comme ceux de Corsetti et *al.* en 2001 et en 2007 qui ont montré que le nombre des bactéries lactiques isolées des farines de blé italien varie respectivement de log 7,5 à 9,3 ufc/g et de 1 à 16×10^2 ufc/g. Dans tous les cas, comparativement avec les produits d'origine animale, certains auteurs admettent que les végétaux renferment, en général, un faible nombre de bactéries lactiques (Nguyen-The et Carlin, 1994).

L'identification des bactéries lactiques isolées a permis d'avancer que la biodiversité en flore lactique des farines marocaines est riche en Pediocoques, Entérocoques, Lactobacilles, Lactocoques et en Weissella. Dans notre cas, les bactéries lactiques les plus fréquemment isolées à partir des farines étudiées sont les Pediocoques essentiellement représentés par l'espèce *Pediococcus acidilactici*. En revanche, Corsetti et *al.* en 2007 et Robert et *al.* en 2009 ont avancé que ce sont les bactéries appartenant aux entérocoques et aux

lactobacilles qui sont les plus dominantes dans les farines de blé italien. Par ailleurs, d'autres auteurs ont rapporté que les bactéries lactiques isolées des farines de blé sont représentées par *Lactobacillus plantarum* et *Pediococcus pentosaceus* à une fréquence de 85 % (De Vuyst et Neyssens, 2005 ; De Vuyst et Vancanneyt, 2007 ; Corsetti et Settanni, 2007).

Dans tous les cas, la structure, la composition et les interactions microbiennes des communautés bactériennes peuvent être affectées par de nombreux facteurs (Araujo et al., 2002).

Dans le même ordre d'idée, certains auteurs ont avancé que *Pediococcus pentosaceus* était la seule espèce de ce genre qui a été détectée dans tous les levains étudiés et peut être appliquée comme déclencheur de la production de pain au levain (Katina et al., 2002 ; Paramithiotis et al., 2005). Dans notre cas, rappelons que l'espèce *Pediococcus acidilactici* est la plus fréquente, ce résultat rejoint celui trouvé par Hardy (1982), Bervas (1991) et Infantes et Tourneur (1991) lors de leurs investigations sur la microflore lactique des farines de blé français. Louembé et al. (2003) ont signalé qu'en général, les pediococoques sont fréquemment isolés de plusieurs produits végétaux (céréales, choucroutes, concombres, olives et fruits) ainsi que de produits carnés et de produits fermentés comme la bière.

Concernant les entérocoques, ils sont moins fréquemment isolés puisqu'ils n'ont été identifiés que dans 8 échantillons seulement, et sont représentés par deux espèces *Enterococcus hirae* et *Enterococcus faecium*. Comparativement aux études de Corsetti et al. (2007), les entérocoques ont été les plus isolés des échantillons de blé et sont principalement représentés par les espèces *Enterococcus faecium* et *Enterococcus mundtii*.

Sur ce point, les entérocoques sont également présents sur les parties aériennes des végétaux (céréales et plantes fourragères) et participent à la fermentation des aliments (Devriese et al., 1992 ; Franz et al., 1999 ; Mundt et Hammer, 1968). Franz et al., (1999) et Devriese et al. (1992) ont ajouté que les entérocoques sont des contaminants naturels de l'intestin des animaux à sang chaud. Signalons à ce propos que dans la littérature, ce genre est le plus controversé parmi les bactéries lactiques. Certains auteurs considèrent le genre *Enterococcus* comme agent d'altération tandis que d'autres l'admettent comme un élément contribuant positivement à la maturation et au développement de la flaveur des produits (Ruiz-Moyano et al., 2008 ; Gracia Fontán et al., 2007 ; Moreno et al., 2006 ; Ammor et al., 2005).

Par ailleurs, la présence des espèces *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum* et *Weissella confusa* dans les farines marocaines avec des proportions faibles est similaire à ce

qui a été signalé par Corsetti et *al.* (2001) lors d'une étude sur les farines de blé italien. Ces espèces sont représentées avec des pourcentages légèrement différents de nos résultats et qui sont de l'ordre de 7, 6 et 2 % respectivement pour les espèces *Lactobacillus plantarum*, *Weissella confusa* et *Lactococcus lactis*. Les deux espèces *Lactobacillus plantarum* et *Lactococcus lactis* sont en effet des espèces communément isolées à des fréquences variables de différents produits fermentés, des levains, des produits laitiers et des produits végétaux (Tanasupawat et *al.*, 1992 ; Tanasupawat et *al.*, 2002). Gobbetti et *al.* en 1994 et Corsetti et *al.* en 2001 ont rapporté que l'espèce *Lactobacillus plantarum* a été isolée des farines italiennes avec une faible fréquence. Contrairement aux travaux effectués par Ricciardi et *al.* en 2005 sur le levain utilisé dans la préparation du pain traditionnel du blé dur italien, le microorganisme le plus dominant est *Lactobacillus plantarum* avec une fréquence de 49 %.

Enfin, une seule espèce hétérofermentaire de *Weissella* a été isolée dans cette étude, il s'agit de *Weissella confusa*. Des observations similaires ont été signalées par Robert et *al.* (2009) lors de leur étude sur la biodiversité de la flore lactique des farines de blé français. Le genre *Weissella* a été isolé à partir de végétaux frais, de la canne à sucre, de la viande et occasionnellement du lait cru, mais à notre connaissance, son rôle technologique dans la fermentation n'a jamais été relaté dans la littérature (BjörkrothK et *al.*, 2002 ; Mathara et *al.*, 2004).

De nombreuses substances à activité antagoniste produites par les bactéries lactiques ont régulièrement été mises en évidence (Rodrigues et *al.*, 2002). Cette activité antibactérienne a été attribuée à de nombreux agents antimicrobiens qui sont actifs contre de nombreuses bactéries pathogènes (Flythe et Russell, 2004). En effet, ces bactéries produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyl et les bactériocines (Dortu et Thonart, 2009).

L'activité antimicrobienne de *Pediococcus acidilactici* déjà citée par Albano et *al.* (2007) et Nallusamy et *al.* (2010) qui ont montré que la bactériocine de ces espèces appelée, « pédiocine F » est responsable de cette activité inhibitrice contre les microorganismes pathogènes.

Concernant *Lactobacillus plantarum*, cette espèce a un effet inhibiteur vis-à-vis de six souches et particulièrement contre les bactéries à gram négatif. Le pouvoir inhibiteur de cette espèce a été également rapporté par Kareem et *al.* (2014) et Thanh et *al.* (2010).

La sensibilité des bactéries à Gram négatif aux bactériocines produites par les bactéries lactiques n'est pas commune, car la nature de la structure de la membrane intervient dans l'imperméabilité cellulaire. Elle s'oppose à la pénétration des macromolécules tels que les antibiotiques (Bhunja et *al.*, 1991 ; Saba et *al.*, 2010).

Par ailleurs, Aly et *al.* (2004) ; Strompfova1 et *al.* (2005) et Al Askari et *al.* (2012) ont rapporté que les bactéries gram positives sont les plus sensibles aux bactériocines produits par les bactéries lactiques.

À la lumière des résultats obtenus lors de cette étude, il est permis de conclure que les farines marocaines disposent d'une biodiversité riche en bactéries lactiques et que ses produits céréaliers peuvent être une source précieuse de souches ayant des propriétés technologiques et thérapeutiques intéressantes. La découverte de cette biodiversité dans toute sa richesse, ouvre donc une voie prometteuse pour la valorisation de ces ressources naturelles par le biais de la recherche de propriétés biotechnologiques de souches probiotiques parmi ces souches isolées et aussi par l'étude de leur capacité à produire des bactériocines.

CHAPITRE IV :
ENQUETE ETHNOBOTANIQUE ET
EVALUATION IN VITRO DE L'ACTIVITE
ANTIBACTERIENNE DE *NIGELLA SATIVA*
L. ET DE *FOENICULUM VULGARE* MILL.

I. Introduction

La lutte contre les maladies infectieuses est basée principalement sur l'utilisation de produits chimiques classiques. Cependant, nous constatons de plus en plus une multirésistance des microorganismes face à ces produits qui ne correspondent pas toujours aux traitements efficaces (Miliaire, 1982; Brucker et *al.*, 2000). Cette résistance s'accompagne notamment de l'émergence de nouveaux agents pathogènes et constitue, par ce fait, une caractéristique préoccupante de l'évolution des maladies. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan et connaissent un renouveau exceptionnel en occident. Leurs vertus thérapeutiques sont dues à la présence des principes actifs qui agissent harmonieusement sur l'organisme.

En outre, par leur apport nutritif riche en vitamines, minéraux et en protéines, les plantes permettent d'équilibrer le régime quotidien. Ces éléments sont nécessaires à un organisme sain et à plus forte raison à un organisme malade. Ils sont à la fois régulateurs et protecteurs de la cellule en tant que constituants mais également constructifs (squelette, dent, sang) (Al-Naqeeq et *al.*, 2009; Parthasarathy et *al.*, 2008 ; Dench et *al.*, 2006).

Parmi ces plantes, figurent *Nigella sativa* L. (Nigelle) et *Foeniculum vulgare* subsp.vulgare var.dulce (Mill.) Batt. (Fenouil) dont l'usage commun à plusieurs régions du Maroc, remonte à des temps immémoriaux (khetouta, 1978).

Pour cela, notre étude consiste à réaliser, dans un premier temps, des enquêtes ethnobotaniques sur l'usage traditionnel de ces deux espèces dans 30 villes du Maroc et aussi à étudier leur activité antimicrobienne contre les bactéries potentiellement pathogènes isolées des farines de blé étudiées.

II. Matériel et méthodes

1. Etude ethnobotanique

1.1 Lieux d'étude

Les enquêtes ethnobotaniques ont été réalisées dans 30 villes du Maroc avec la coopération des herboristes en contact avec les plantes médicinales et les herboristes des régions prospectées (Figure 16). Elles consistent à rassembler un maximum d'information sur l'usage traditionnel de deux espèces largement utilisées dans l'assaisonnement du pain marocain dans plusieurs régions du pays et connues par leur activité antibactérienne (Huseyin et *al.*, 2009 ; Farooq et *al.*, 2009), il s'agit de : *Foeniculum vulgare* Mill. (Le fenouil) et *Nigella sativa* L. (La nigelle).



Figure 16 : Carte de répartition des points d'enquêtes réalisées au Maroc

1.2 Points d'enquêtes dans les villes de Rabat et Salé

Lors de nos enquêtes ethnobotaniques, nous avons pu visiter 22 sites de Rabat et régions (Bab El Had, Takadoum, Yacoub El Mansour, Hay El fath, Diour jamaa, Al Kamra, INRA, Temara, Skhirat, Laayayda, Quartier Inbiat, Quartier Arrahma, Tabriquet, Hay Salam, Bab Lakhmiss, Sala Al Jadida, El Karia, Quartier El Oulfa, Sidi Taibi, Bouknadel, Sidi Moussa et Ocean) (Figure 17). A l'aide d'un questionnaire, qui est avant tout un guide, nous avons pu recueillir le maximum d'informations en vue de les traiter statistiquement de manière scientifique (Annexe 3).



Figure 17 : Carte de répartition de quelques points d'enquêtes réalisées dans les villes de Rabat et Salé

1.3 Collecte des données

Sur le terrain, environ 100 fiches d'un questionnaire ont pu être renseignées pour chacune des espèces étudiées (124 pour *Nigella sativa* L., 115 pour *Foeniculum vulgare* Mill.). La collecte des données a été menée pendant les mois de Mars, Avril et Mai 2014. Le temps consacré à chaque rencontre est d'environ de 20 et 30 minutes, selon la disponibilité et l'accessibilité de la personne questionnée. La fiche questionnaire comprend le savoir et le savoir-faire de l'informateur sur la plante en question. L'informateur est questionné sur le nom local de la plante choisie, l'utilisation, l'origine de l'information, les maladies qu'elle soigne, le lieu d'acquisition, les parties utilisées et le mode de préparation du remède.

1.4 Types d'informateurs

Deux catégories d'informateurs ont été abordées. Il s'agit des usagers communs qui ont hérité des connaissances à travers des expériences ancestrales et des informateurs fiables qui occupent depuis des temps anciens une place importante dans la médecine traditionnelle, en l'occurrence, les herboristes et les épiciers ambulants qui sont, en contact direct avec les plantes médicinales.

1.5 Analyse des données

Les résultats du dépouillement des fiches-questionnaires renseignées ont été enregistrés dans une base de données et traitées par un logiciel Excel qui nous a permis de réaliser des graphes et de dégager des statistiques.

2. Etude *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill.

2.1 Collecte du matériel végétal

Les échantillons de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. ont été acquis chez des herboristes et séchés à l'air libre (Tableau 24).

Tableau 24 : Origine des échantillons de plantes médicinales étudiées

Nom latin	Nom Français	Famille	Herboristerie	Lieu de récolte	Année récolte
<i>Nigella sativa</i> L.	Nigelle cultivée	Renonculacées	Salé	Marrakech	2011
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Fenouil sauvage	Apiacées	Salé	Ouazzane	2011

2.2 Préparation des extraits des graines de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill.

➤ Extraits organiques

L'extraction a été effectuée avec des solvants de polarité croissante en mélangeant une quantité de 50 g de poudre de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. avec 100 ml d'hexane et placée à l'ombre sous agitation pendant 24 heures. Après filtration sur papier Whatman, le marc a été ensuite macéré avec 100 ml d'acétone, puis avec 100 ml de méthanol sous les mêmes conditions. Les extraits hexanique (Ehe), acétonique (EAc) et méthanolique (EMe) ont été concentrés sous vide au Rotavapor (Diallo et *al.*, 1992). Après filtration et évaporation du solvant sous vide, les extraits totaux ainsi obtenus sont pesés en vue d'évaluer leur rendement et stockés à 4 °C et à l'abri de la lumière jusqu'au moment de leur utilisation.

Le rendement est calculé selon la formule suivante :

$$R \% = me/mi \times 100$$

R (%) : rendement en extrait

mi : masse initiale de la matière végétale sèche en mg

me : masse de l'extrait récupéré en mg

➤ Extraits aqueux

Des extraits aqueux (EAq) sont préparés par infusion de 50 g des broyats de nigelle et de fenouil dans 150 ml d'eau distillée pendant 15 minutes, suivie d'une filtration sur papier Whatman. Les extraits ainsi obtenus sont stockés à 4 °C et à l'abri de la lumière jusqu'au moment de leur utilisation.

2.3 Criblage de l'activité antimicrobienne des extraits de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill.

2.3.1 Micro-organismes testés

L'activité antibactérienne des différents extraits de nigelle et de fenouil est évaluée sur les souches suivantes :

- *Klebsiella pneumoniae*, *Leclercia*, *Pantoea*, *Enterobacter spp*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter agglomerans* et *Serratia* (Isolées des farines)
- *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), *Hafnia alvei* et *Listeria innocua* (collection du laboratoire de microbiologie de l'Institut national d'hygiène Rabat).

2.3.2 Solubilisation des extraits

Les extraits aqueux des plantes testées sont solubilisés dans l'eau distillée stérile. Les extraits organiques (Hexane, Acétone, méthanol) sont solubilisés dans le diméthyl sulfoxy (DMSO) à 20 %. Le DMSO est testé pour les extraits organiques comme contrôle négatif.

2.3.3 Étude de l'activité antibactérienne des extraits végétaux

L'étude de l'activité antimicrobienne consiste à déterminer des paramètres antibactériens à savoir la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) des différents extraits des plantes étudiées. Pour sa réalisation, nous avons utilisé la méthode de la microdilution en milieu liquide couplée à l'étalement sur milieu solide telle qu'elle est décrite par Chabbert et Daguet (1985). La détermination des CMI des extraits de plantes vis-à-vis des souches de bactéries est réalisée selon la technique de microtitration sur plaques stériles à fond plat (Bio-Rad), décrite par Eloff (1998), en utilisant le tétrazolium (MTT : 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium bromide [Sigma, Saint-Louis, MO]) comme indicateur de viabilité. On dépose 100 µl de BHI (Brain Heart Infusion) dans chaque puits, puis 90 µl du produit à tester, ou de dilutions successives à raison de 1/2, sont ajoutés à chacun des puits. Chaque puits est ensuiteensemencé par 10 µl d'une suspension microbienne à 10⁶ cellules/ml. Après incubation à 37 °C, 10 µl du MTT préparé extemporanément à 0,4 mg/ml d'eau physiologique stérile est additionné dans chaque

puits. La plaque est réincubée pendant 10 à 30 minutes à 37 °C. Les puits où une croissance a eu lieu montrent une couleur bleu-violet. Les témoins négatifs ont été préparés dans des puits isolés par ajout des souches testées aux milieux adéquats sans extrait.

Par ailleurs, la détermination de la CMB nécessite l'ensemencement en stries de 100 µl des contenus des puits ayant une concentration supérieure ou égale à la CMI dans la série de dilution préalablement établie sur une gélose nutritive. Ainsi, la CMB est déterminée après une incubation de 24 heures à 37 °C. C'est la plus petite concentration qui inhibe totalement la croissance.

III. Résultats et interprétations

1. Etude ethnobotanique

1.1 Enquêtes ethnobotaniques dans différentes régions du Maroc

A l'échelle nationale, les enquêtes ethnobotaniques effectuées auprès des herboristes et des usagers communs ont abouti aux résultats représentés dans les tableaux 25 et 26.

Tableau 25 : usage traditionnel de *Foeniculum vulgare* Mill. dans différentes villes du Maroc

Villes	Usage traditionnel de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.
Agadir	-Les graines en décoction : ballonnement intestinal.
Al-Hoceima	-Les graines en poudre : gonflement gastrique.
Al Jadida	-Les graines en décoction : problèmes intestinaux.
Asilah	-Les graines en décoction ou en poudre : douleurs du ventre et dysménorrhées.
Beni Mellal	-Les graines en décoction : douleurs du ventre, problèmes respiratoires et refroidissement.
Casablanca	-Les graines en poudre mélangées au lait : douleurs du ventre, ballonnement intestinal, problèmes respiratoires et refroidissement.
Fès	-Les graines en infusion : coliques du nourrisson.
Guelmim	-Les graines en décoction dans le lait : diarrhées et troubles digestifs. -Les graines en infusion : ballonnement intestinal.
Khémisset	-Les graines en poudre : douleurs du ventre. - les graines en infusion : coliques du nourrisson.
Kenitra	-Les graines en infusion : ballonnement intestinal, la gastrite et la flatulence. -Les graines en poudre : stimulant de la montée du lait maternel.
Laâyoune	-Les graines en infusion : coliques du nourrisson.
Marrakech	-Les graines en lotion ou en infusion : gaz intestinaux et problèmes cardiaques.

Meknès	-Les graines en décoction ou en poudre avec du lait ou de l'eau: problèmes intestinaux et gonflement gastrique.
Ouazzane	-Les graines en poudre mélangées au miel ou à l'eau : asthme.
Oued Zem	-Les graines en infusion avec le carvi (<i>Carum carvi</i> L.) : douleurs intestinales et asthme.
Rabat	-Les graines en poudre : coliques du nourrisson, gaz intestinaux, fatigue, allergie et en mélange avec d'autres plantes pour les problèmes cardiaques. -les graines en infusion : problèmes gastriques et des reins.
Safi	-Les graines en décoction : douleurs gastriques. -Les graines en poudre mélangées au miel : asthme et toux.
Salé	- Les graines en infusion : douleurs intestinales, hypertension et en mélange avec d'autres plantes pour le ballonnement intestinal. -Les graines en poudre mélangées à l'eau froide : problèmes cardiaques et douleurs gastro-intestinales, nausées, vertiges et calment les nerfs. -Les graines en infusion : coliques du nourrisson, insolation et facilite la digestion.
Skhirat	-Les graines en décoction dans le lait : douleurs gastro-intestinales, nausées et ballonnement intestinal.
Sidi Slimane	-Les graines en poudre : douleurs gastriques, problèmes cardiaques, toux, fatigue, insomnie et ballonnement intestinal.
Tadla	-Les graines en infusion : ballonnement intestinal, diarrhées et hypertension.
Tata	-Les graines en infusion : douleurs intestinales.
Tétouan	-Les graines en décoction : problèmes respiratoires.
Zagora	-Les graines en mélange dans la préparation du pain : renforcement du système immunitaire et douleurs gastro-intestinales.
Zaïre	-Les graines en poudre mélangées au miel : ballonnement intestinal et asthme.

Tableau 26: usage traditionnel de *Nigella sativa* L. dans différentes villes du Maroc

Villes	Usage traditionnel de <i>Nigella sativa</i> L.
Agadir	-Les graines en poudre, mélangées au miel : rhume de poitrine, fièvre et refroidissement.
Al-Hoceima	-Les graines en poudre mélangées au miel : problèmes cardiaques et diabète.
Asilah	-Les graines en poudre mélangées au miel : douleurs de la gorge et angines.
Beni Mellal	-Les graines en poudre mélangées au miel : problèmes respiratoires et diabète.
Casablanca	-Les graines en poudre mélangées au miel : douleurs de la gorge, angines, maladies des reins, toux, asthme, et ostéoporose.
El-Jadida	-Les graines en poudre mélangées au miel : ulcère de l'estomac.
Fès	-Les graines en poudre ou en l'état mélangées avec les dattes, amandes ou noix : grossesse retardée, maladies cardiaques et pulmonaires et refroidissement. - Les graines mélangées à l'huile d'olive : soins capillaires.
Guelmim	-Les graines en poudre mélangées au miel : troubles digestifs, anorexie et maux de tête. -Les graines en inhalation : migraine. -Les graines en macération dans l'huile : otite.
HadKourt	-Les graines en macération dans l'huile : fièvre, rhumatisme, douleurs de l'estomac et des reins, diarrhées, hypertension, énurésie nocturne.
El Kelaâ des Sraghna	-Les graines en poudre mélangées au miel : douleurs intestinales, tumeurs, grippe, toux et renforcement du système immunitaire.
Khémisset	Les graines en infusion : douleurs intestinales, hypertension et en mélange avec d'autres plantes pour le ballonnement intestinal.
Kenitra	-Les graines en macération dans l'huile: maux du dos. -Les graines en poudre, mélangées aux œufs : maladies pulmonaires, refroidissement, toux. - Les graines mélangées au miel : infections, cancer et immunostimulant.
Laâyoune	-Les graines en poudre, mélangées au miel : douleurs du ventre.
Marrakech	-Les graines en poudre mélangées au miel : douleurs intestinales, allergie, diabète et angines.
Meknès	-Les graines en poudre mélangées au miel : refroidissement.
Ouazzane	-Les graines en poudre mélangées au miel : rhumatisme, énurésie nocturne et anorexie.
Oued Zem	-Les graines en poudre mélangées au miel ou à l'huile d'olive : douleurs gastriques et urinaires, diminution de la libido, maladies cardiaques, maux de tête, rhumatisme, allergie, inflammations, fatigue générale.
Rabat	-Les graines en poudre mélangées au miel ou au lait : douleurs du ventre, anémié, diabète, goitre, problèmes respiratoires, asthme, toux, rhume et allergie. - Les graines mélangées aux dates et au miel : grossesse difficile. -Les graines en macération dans l'huile : cholestérol, eczéma, soins capillaires, diminution de la libido, allergie, infections et cancer.

Safi	-Les graines en poudre mélangées au miel : douleurs du ventre, et refroidissement.
Salé	-Les graines en poudre mélangées au miel : problèmes cardiaques et troubles digestifs, renforcement du système immunitaire et de la mémoire, cholestérol, stimulant de la montée du lait, soins capillaires, calmant, refroidissement, - Les graines en poudre mélangées au vinaigre dilué dans l'eau chaude : hépatite C.
Sidi kacem	-Les graines en poudre mélangées au miel : douleurs gastriques et rhumatisme. - Les graines mélangées avec de l'huile d'olive : soins capillaires.
Sidi Slimane	-Les graines en poudre mélangées au miel : refroidissement, maux du dos et rhumatisme.
Skhirat	-Les graines en macération : douleurs de la gorge et otite. -Les graines en poudre mélangées au miel : maladies cardiaques et des reins, allergie, toux, refroidissement, renforcement du système immunitaire et soins capillaires.
Tadla	-Les graines en décoction : soins capillaires. -Les graines en poudre mélangées au miel : diminution de la libido et asthme.
Tanger	-Les graines en poudre mélangées au miel : affections respiratoires et refroidissement.
Tata	-Les graines en mélange dans la préparation du pain ou dans la soupe : renforcement du système immunitaire.
Zagora	-Les graines en mélange dans la préparation du pain ou dans la soupe : renforcement du système immunitaire et maladies cardiaques. -Les graines en mélange avec de l'huile d'olive : soins capillaires.
Zaïre	-Les graines en poudre mélangées au miel et à d'autres plantes : allergie

De l'étude comparative des différents tableaux (31 et 32) relatives à chacune des plantes étudiées dans différentes régions du Maroc, on peut dégager des utilisations communes à toutes les villes prospectées et d'autres spécifiques à certaines régions.

En effet, l'espèce *Foeniculum vulgare* Mill. est communément employée pour soulager les maladies de l'appareil digestif, les problèmes cardiaques, les affections respiratoires et pour stimuler la montée du lait maternel. Une spécificité propre à la ville de Zagora consiste en l'utilisation des graines pour renforcer le système immunitaire.

L'espèce *Nigella sativa* L. est usuellement utilisée dans le traitement des maladies des appareils digestif et urinaire, des affections respiratoires, du système immunitaire, dans les soins capillaires et les problèmes cardiaques. Dans la ville de Salé, les graines de cette plante sont particulièrement utilisées pour soigner d'hépatite C.

1.2 Enquêtes ethnobotaniques dans la ville de Rabat et régions

En premier lieu, il est nécessaire d'énoncer que l'appréciation de la qualité d'une enquête ethnobotanique dépend de l'indulgence de l'enquêté. A ce titre, nous avons diversifié les sources d'information en tentant à chaque fois de gagner d'abord la confiance des enquêtés dans le but de collecter, le plus possible, de données thérapeutiques qui pourraient nous permettre d'aboutir à des résultats concluants.

a. *Foeniculum vulgare* Mill. 1754 (Fenouil)

Fréquence d'utilisation selon l'usage traditionnel

• Origine de l'information

Concernant la source d'information sur laquelle se basent les utilisateurs pour traiter leurs problèmes de santé, on distingue trois origines de l'information à savoir, la transmission des expériences d'une génération à l'autre (83 %), le recours aux services des herboristes spécialistes (14 %) et les moyens d'information audiovisuels comme l'internet (3 %) (Figure 18).

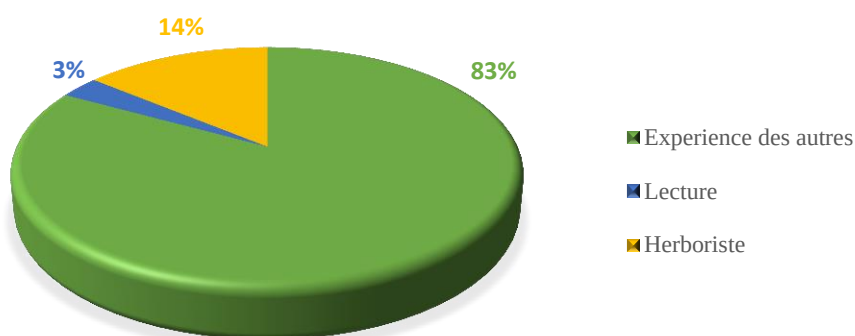


Figure 18: Répartition de la fréquence d'utilisation du *Foeniculum vulgare* Mill. selon l'origine de l'information

Ce résultat dénote un véritable retour aux usages médicaux dans le traitement des maladies, en ce sens que la majeure partie de la population de Rabat recourt à l'expérience accumulée de personnes ressources. De même, l'apport des informations par internet n'est pas du tout négligeable. Cet apport connaîtra probablement un accroissement dans les années à venir. La part réservée aux herboristes illustre un recours moins important que dans le cas de la transmission des informations via les expériences des autres.

- **Maladies traitées**

Globalement, les graines en poudre sont utilisées pour traiter l'asthme, l'allergie, la fatigue et les troubles gastro-intestinales. Aussi, les graines en décoction ou en infusion sont employées contre le ballonnement intestinal, contre le froid, les coliques du nourrisson, les problèmes cardiaques et contre l'hypertension.

- **Lieux d'acquisition**

D'après les résultats de nos enquêtes (Figure 19), on remarque que la plupart des enquêtés obtiennent cette plante médicinale du commerce (95 %) et rarement de la nature (5%).

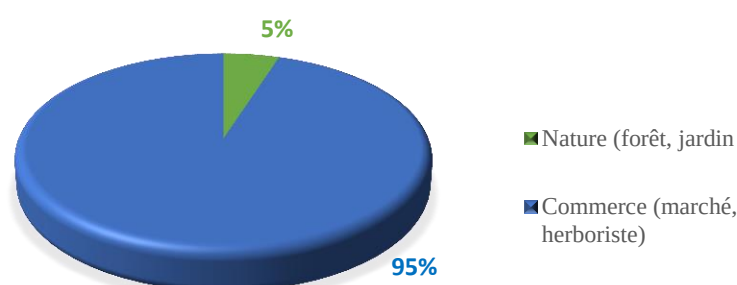


Figure 19 : Répartition de la fréquence d'utilisation du *Foeniculum vulgare* Mill. selon le lieu d'acquisition

- **Parties utilisées**

Les résultats obtenus à partir de nos enquêtes ethnobotaniques montrent que dans la région d'étude, les graines sont les plus utilisées par la population locale dans le traitement de leur pathologie avec un pourcentage de 98 %, viennent ensuite les feuilles (2 %) (Figure 20).

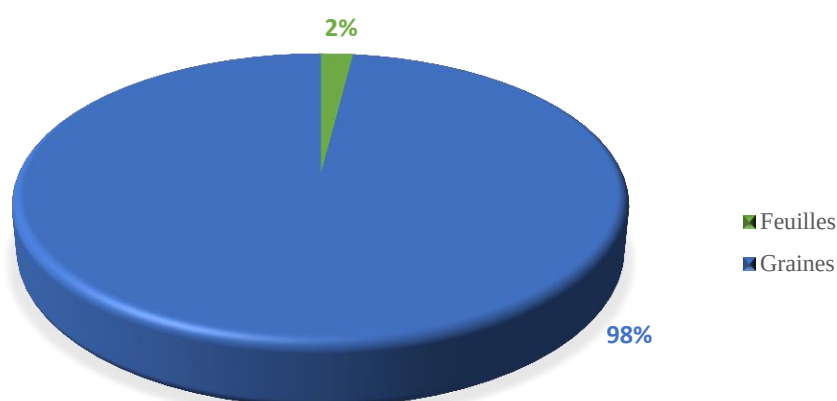


Figure 20: Répartition de la fréquence d'utilisation du *Foeniculum vulgare* Mill. selon la partie utilisée

- **Modes de préparation**

Lors de nos enquêtes ethnobotaniques, nous avons remarqué que la poudre constitue le mode de préparation le plus fréquent (42 %) suivie de la préparation en infusion avec une fréquence de 29 % et de la préparation en décoction avec un pourcentage de 24 %. La lotion et l'huile essentielle sont utilisées avec un taux de 3 % et 2 % respectivement (Figure 21).

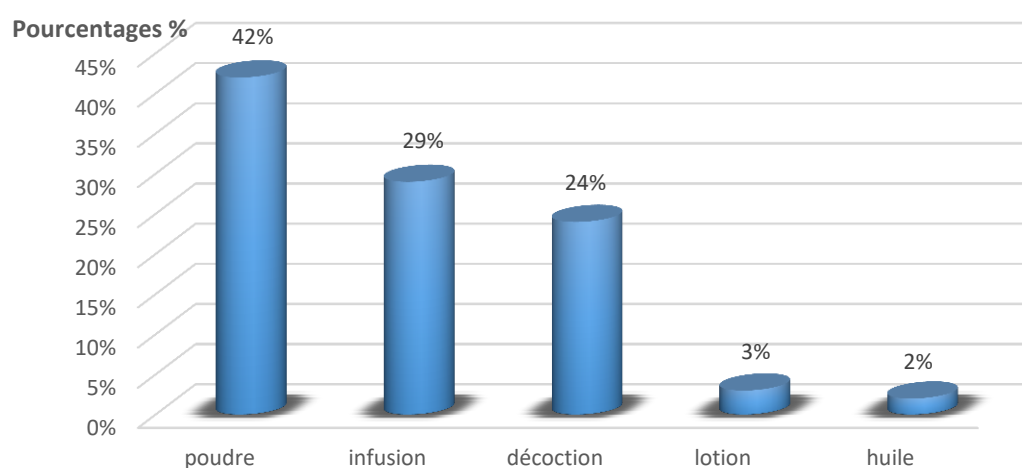


Figure 21: Répartition de la fréquence d'utilisation du *Foeniculum vulgare* Mill. selon le mode de préparation

b. *Nigella sativa* Carl Von Linné. 1753 (Nigelle)

Fréquence d'utilisation selon l'usage traditionnel

• Origine de l'information

Concernant la source d'information sur laquelle se basent les utilisateurs pour traiter leurs problèmes de santé, on distingue trois origines de l'information à savoir, la transmission des expériences d'une génération à l'autre 77 %, le recours aux services des herboristes spécialistes 19 % et les moyens d'information audiovisuels comme l'internet 4 % (Figure 22).

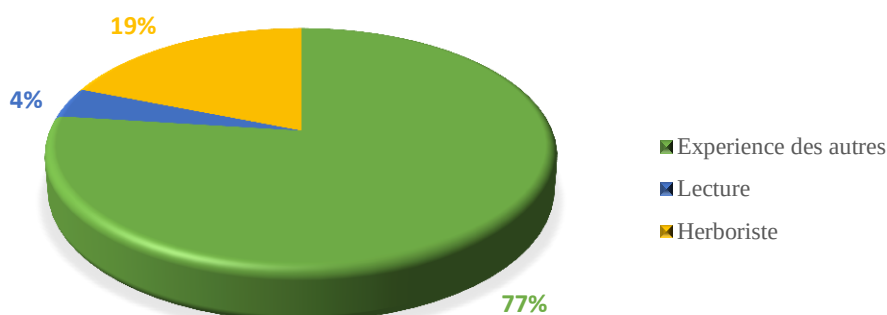


Figure 22: Répartition de la fréquence d'utilisation du *Nigella sativa* L. selon l'origine d'information

Le résultat de notre enquête a montré que la majorité de la population de Rabat ont recours à l'expérience accumulée au fil des générations dans le traitement des maladies. L'apport des informations à travers les herboristes est moins important et celui via internet l'est beaucoup moins mais reste signifiant puisqu'il connaîtra sûrement avec le temps l'adhésion d'un large public.

• Maladies traitées

Le prophète Muhammad (que la prière et le salut soient sur lui) a dit : « Soignez-vous en utilisant la graine de nigelle, c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort ». Pour cette raison, cette plante est appelée « le traitement pour tout sauf la mort ». Dans nos enquêtes ethnobotaniques, la majorité des populations marocaines utilisent les graines de nigelle et ses extraits comme remède dans la prise en charge et la

prévention contre une longue liste de pathologies, de symptômes et d'inconforts corporels pour leurs suivantes : Les graines en poudre sont utilisées pour traiter les affections respiratoires (asthme, rhume, toux, la grippe, le refroidissement), le goitre, les angines, les diarrhées, les douleurs intestinales, les problèmes cardiaques, les douleurs de gorge, renforcement du système immunitaire, les maladies des reins, l'anémie, stimulant de la montée du lait maternel. L'huile essentielle de nigelle est utilisée pour traiter les maux du dos, les douleurs de l'oreille, le rhumatisme et l'énurésie nocturne. L'inhalation des graines est pratiquée pour traiter la migraine.

- **Lieux d'acquisition**

D'après les résultats de nos enquêtes (Figure 23), on remarque que la plupart des enquêtés obtiennent cette plante médicinale principalement du commerce (96 %) et en moindre recours dans la nature (4 %).

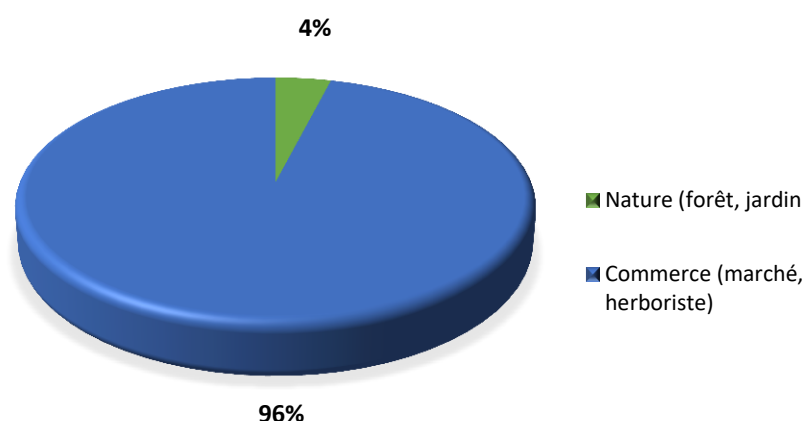


Figure 23: Répartition de la fréquence d'utilisation du *Nigella sativa* L. selon le lieu d'acquisition

- **Parties utilisées**

Les résultats obtenus à partir de nos enquêtes ethnobotaniques montrent que dans la région d'étude, les graines sont exclusivement utilisées par la population locale dans le traitement de leur pathologie avec un pourcentage de 100 % (Figure 24).

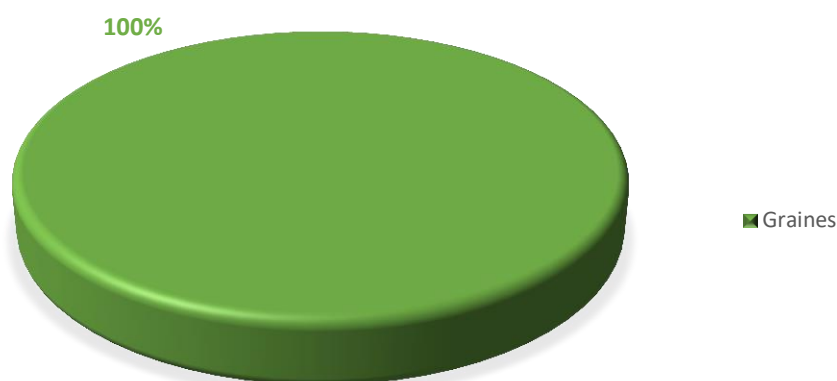


Figure 24: Répartition de la fréquence d'utilisation du *Nigella sativa* L. selon la partie utilisée

- **Modes de préparation**

Lors de nos enquêtes ethnobotaniques, nous avons remarqué que la poudre constitue le mode de préparation le plus fréquent (74 %) suivie de la préparation sous forme d'huile essentielle avec une fréquence de 14 % et de la préparation en décoction avec un pourcentage de 9 %. La macération et la lotion représentent respectivement un taux de 2 % et 1 % (Figure 25).

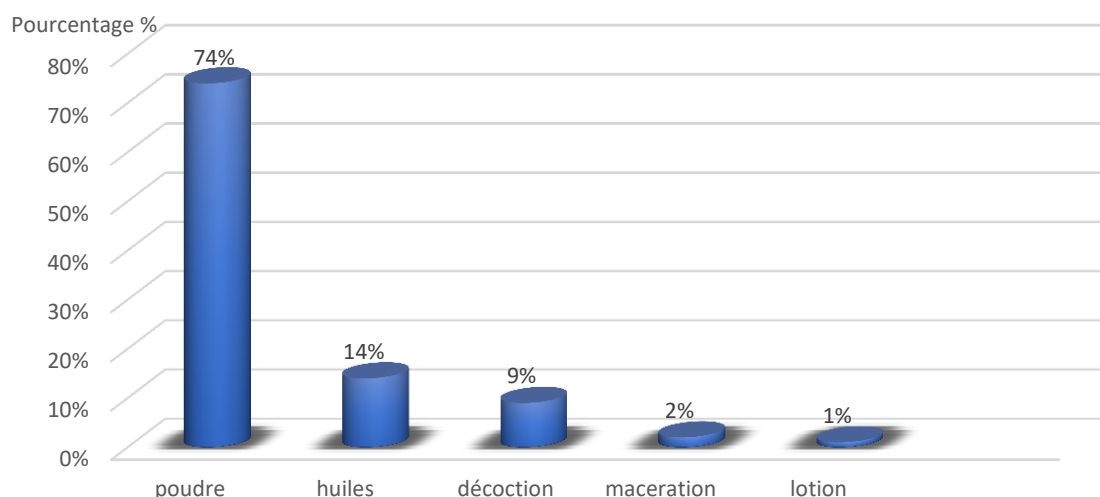


Figure 25: Répartition de la fréquence d'utilisation du *Nigella sativa* L. selon le mode de préparation

2. Etude de l'activité antimicrobienne

En se basant sur les résultats de l'analyse microbiologique des farines, notre étude consiste à déterminer l'effet antibactérien de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. sur les bactéries isolées et qui sont responsables de troubles digestives et de l'altération de la qualité du produit alimentaire.

2.1 Rendements des extractions de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill.

Pour une utilisation rationnelle des ressources naturelles, la détermination du rendement présente un avantage permettant de décider de la quantité à prélever de la nature.

Les résultats du rendement des extraits de graines de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. sont présentés dans le Tableau 27.

Tableau 27 : Rendement de graines de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill.

Extraits	Rendements (par rapport au poids du broyat) [%]	
	<i>Nigella sativa</i> L.	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.
EHe	14,92	8,4
EAc	1,74	6,76
EMe	12,48	4,5
EAq	8,1	5,1

EHe: extrait hexanique ; **EAc** : extrait acétonique ; **EMe** : extrait méthanolique ;
EAq : extrait aqueux

À la lecture des résultats obtenus, on peut avancer que le meilleur rendement a été atteint avec l'extrait hexanique, soit 14,9 et 8,4 % pour *Nigella sativa* L. et *Foeniculum vulgare* Mill. respectivement, suivi de celui issu du méthanol dans le cas de la nigelle (12,4 %) et de celui de l'acétone pour le fenouil (6,7 %).

2.2 Activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill.

Les résultats de l'activité antimicrobienne des différents extraits organiques et aqueux de *Nigella sativa* L. sont présentés dans la Figure 26.

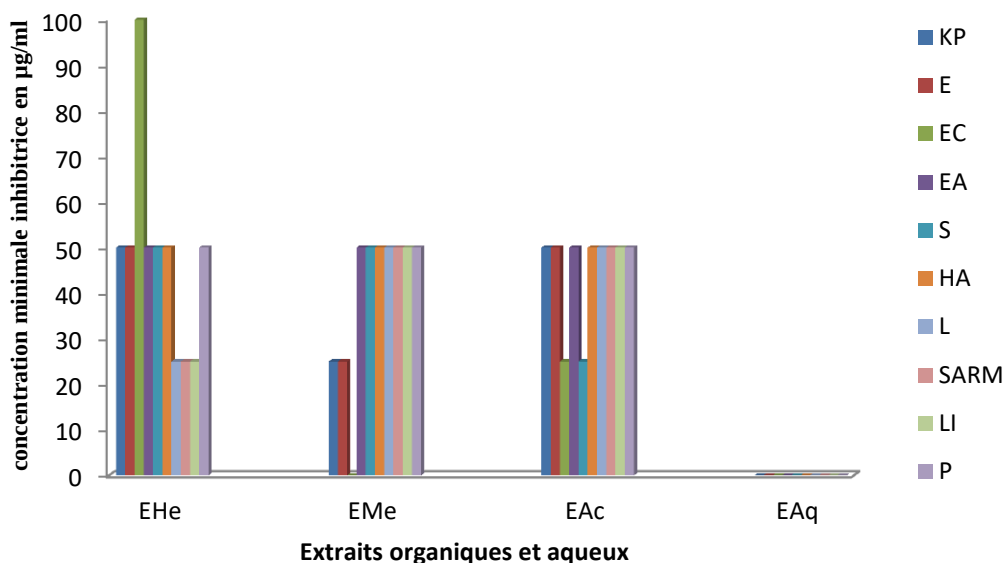


Figure 26: Concentration minimale inhibitrice des extraits organiques et aqueux de *Nigella sativa* L. sur la croissance de dix souches bactériennes

KP: *Klebsiella pneumoniae*, **E :** *Enterobacter*, **EC :** *Enterobacter cloacae*, **EA :** *Enterobacter agglomerans*, **S :** *Serratia*, **HA :** *Hafnia alvei*, **L :** *Leclercia*, **SARM :** *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, **LI :** *Listeria innocua*, **P :** *Pantoea*, **EHe :** Extrait hexanique, **EAc :** Extrait acétonique, **EMe :** Extrait méthanolique, **EAq :** Extrait aqueux

On note que tous les extraits organiques ont une activité inhibitrice sur les bactéries testées. Concernant l'extrait aqueux, toutes les souches bactériennes étudiées n'ont manifesté aucune sensibilité.

Le degré de sensibilité aux extraits organiques diminue dans l'ordre suivant :

- Extrait hexanique : SARM = *Leclercia* = *Listeria innocua* > *Enterobacter agglomerans* = *Enterobacter spp* = *Klebsiella pneumoniae* = *Serratia* = *Hafnia alvei* = *Pantoea* > *Enterobacter cloacae* ;
- Extrait acétonique : *Enterobacter cloacae* = *Serratia* > *Enterobacter spp* = *Klebsiella pneumoniae* = SARM = *Pantoea* = *Listeria innocua* = *Enterobacter agglomerans* = *Hafnia alvei* = *Leclercia* ;
- Extrait méthanolique : *Enterobacter cloacae* > *Enterobacter spp* = *Klebsiella pneumoniae* > SARM = *Pantoea* = *Listeria innocua* = *Enterobacter agglomerans* = *Serratia* = *Hafnia alvei* = *Leclercia*.

En se basant sur les valeurs des CMI, on note que tous les extraits organiques ont la même activité sur *Enterobacter agglomerans*, *Hafnia alvei* et *Pantoea* et que l'activité des

extraits méthanolique et acétonique est similaire sur SARM, *Leclercia* et *Listeria innocua*. L'extrait méthanolique a montré la meilleure performance contre *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter spp* et *Klebsiella pneumoniae* par rapport à *Serratia* (Figure 26).

La caractérisation de l'activité antibactérienne a montré qu'ils exercent un effet bactéricide sur l'ensemble des souches testées (Tableau 28).

Tableau 28 : Concentration minimale bactéricide des extraits organiques et aqueux de *Nigella sativa* L. sur la croissance de dix souches bactériennes (µg/ml)

Concentration minimale bactéricide en µg/ml							
Bactéries testées	EHe		EAc		EMe		EAq
KP	50	A	50	A	25	A	-
E	50	A	50	A	25	A	-
EC	100	A	25	A	12, 5	A	-
EA	50	A	50	A	50	A	-
S	50	A	25	A	50	A	-
HA	50	A	50	A	50	A	-
L	25	A	50	A	50	A	-
SARM	25	A	50	A	50	A	-
LI	25	A	50	A	50	A	-
P	50	A	50	A	50	A	-

KP: *Klebsiella pneumoniae*, **E :** *Enterobacter*, **EC :** *Enterobacter cloacae*, **EA :** *Enterobacter agglomerans*, **S :** *Serratia*, **HA :** *Hafnia alvei*, **L :** *Leclercia*, **SARM :** *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, **LI :** *Listeria innocua*, **P :** *Pantoea*, **EHe :** Extrait hexanique, **EAc :** Extrait acétonique, **EMe :** Extrait méthanolique, **EAq :** Extrait aqueux, **A :** Bactéricide ; **B :** Bactériostatique ; - : Absence d'activité

La détermination des CMI relatives aux extraits actifs a mis en évidence des niveaux d'activité antibactérienne variables selon l'extrait utilisé. Ainsi, l'extrait méthanolique est le plus actif avec des CMI de l'ordre de 12,5 à 50 µg/ml, suivi de l'extrait acétonique dont les CMI varient de 25 à 50 µg/ml et, enfin, l'extrait hexanique avec des CMI qui fluctuent entre 25 et 100 µg/ml. En présence de ce dernier extrait, l'espèce *Enterobacter cloacae* s'est montrée plus résistante avec une concentration d'inhibition de 100 µg/ml, alors que les autres bactéries ont été inhibées à partir de 50 µg/ml.

Dans le cas du fenouil, les résultats de l'activité antimicrobienne des différents extraits organiques et aqueux sont présentés dans la figure 27.

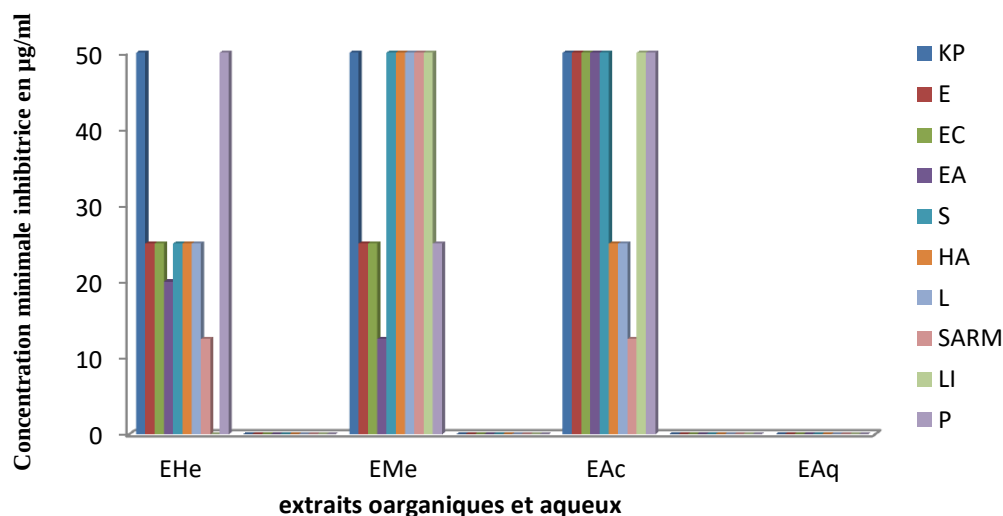


Figure 27: Concentration minimale inhibitrice des extraits organiques et aqueux de *Foeniculum vulgare* Mill. sur la croissance de dix souches bactériennes.

KP: *Klebsiella pneumoniae*, **E :** *Enterobacter*, **EC :** *Enterobacter cloacae*, **EA :** *Enterobacter agglomerans*, **S :** *Serratia*, **HA :** *Hafnia alvei*, **L :** *Leclercia*, **SARM :** *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, **LI :** *Listeria innocua*, **P :** *Pantoea*, **EHe :** Extrait hexanique, **EAc :** Extrait acétonique, **EMe :** Extrait méthanolique, **EAq :** Extrait aqueux

On note que tous les extraits organiques ont une activité inhibitrice sur les bactéries testées, à l'exception d'une seule souche, *Listeria innocua*, où l'extrait hexanique n'a aucun effet. Concernant l'extrait aqueux, toutes les souches bactériennes étudiées n'ont manifesté aucune sensibilité.

Le degré de sensibilité aux extraits organiques diminue dans l'ordre suivant :

- Extrait hexanique : SARM > *Enterobacter agglomerans* > *Enterobacter spp* = *Enterobacter cloacae* = *Serratia* = *Hafnia alvei* = *Leclercia* > *Klebsiella pneumoniae* = *Pantoea* ;
- Extrait acétonique : SARM > *Hafnia alvei* = *Leclercia* > *Enterobacter agglomerans* = *Enterobacter spp* = *Enterobacter cloacae* = *Serratia* = *Klebsiella pneumoniae* = *Pantoea* = *Listeria innocua* ;
- Extrait méthanolique : *Enterobacter agglomerans* > *Enterobacter spp* = *Enterobacter cloacae* = *Pantoea* > SARM = *Serratia* = *Hafnia alvei* = *Leclercia* = *Listeria innocua* = *Klebsiella pneumoniae*.

La caractérisation de l'activité antibactérienne a montré qu'ils exercent un effet bactéricide sur l'ensemble des souches testées à l'exception d'*Enterobacter agglomerans* et de SARM pour lesquelles la nature de l'effet est bactériostatique (Tableau 29).

Tableau 29: Concentration minimale bactéricide des extraits organiques et aqueux de *Foeniculum vulgare* Mill. sur la croissance de dix souches bactériennes (µg/ml)

Concentration minimale bactéricide en µg/ml							
Bactéries testées	EHe		EAc		EMe		EAq
KP	50	A	50	A	50	A	-
E	25	A	50	A	25	A	-
EC	25	A	50	A	25	A	-
EA	20	B	50	A	12,5	A	-
S	25	A	50	A	50	A	-
HA	25	A	25	A	50	A	-
L	25	A	25	A	50	A	-
SARM	12,5	B	12,5	A	50	A	-
LI	-	-	50	A	50	A	-
P	50	A	25	A	50	A	-

KP: *Klebsiella pneumoniae*, **E :** *Enterobacter*, **EC :** *Enterobacter cloacae*, **EA :** *Enterobacter agglomerans*, **S :** *Serratia*, **HA :** *Hafnia alvei*, **L :** *Leclercia*, **SARM :** *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, **LI :** *Listeria innocua*, **P :** *Pantoea*, **EHe :** Extrait hexanique, **EAc :** Extrait acétonique, **EMe :** Extrait méthanolique, **EAq :** Extrait aqueux, **A :** Bactéricide ; **B :** Bactériostatique ; - : Absence d'activité

La détermination des CMI relatives aux extraits actifs a mis en évidence des niveaux d'activité antibactérienne variables selon l'extrait utilisé. Les valeurs des CMI oscillent entre 12,5 et 50 µg/ml. Ainsi, sur la base de ces valeurs, l'activité de l'extrait hexanique et de celle de l'extrait acétonique sont similaires dans le cas de SARM, *Pantoea*, *Leclercia* et *Hafnia alvei*. Dans le cas de *Klebsiella pneumoniae*, l'effet de tous les extraits est identique. En revanche, la meilleure performance contre *Enterobacter spp*, *Enterobacter cloacae* et *Enterobacter agglomerans* par rapport à *Serratia* est obtenue avec l'extrait méthanolique (Figure 27).

Pour caractériser le pouvoir antibactérien de ces extraits, les cultures de chaque souche n'ayant pas démarré leur croissance en présence de l'extrait sont transférées sur un milieu de culture neutre sans extrait.

Après le temps d'observation nécessaire, on remarque que l'activité antibactérienne des extraits de fenouil est bactéricide sur la plupart des souches. En effet, une reprise de la

croissance a été observée pour SARM et *Enterobacter agglomerans* où l'extrait hexanique a exercé un effet bactériostatique (Tableau 29).

IV. Discussions et conclusion

Les enquêtes ethnobotaniques réalisées sur les savoirs populaires de deux plantes médicinales à savoir : *Foeniculum vulgare* Mill. et *Nigella sativa* L. ont révélé que la population marocaine détient un savoir et un savoir-faire non négligeable en la matière, richesse encore vivante et même en cours de réactualisation grâce à leur réappropriation par les nouvelles générations. Cependant, il y a lieu de signaler que la collecte des données n'a pas été une mission facile. Parmi les difficultés rencontrées, on note qu'il n'est pas évident de se faire accepter aisément et qu'il est rare de croiser des personnes bienveillantes acceptant de répondre à toutes nos questions. Nous nous sommes donc attelés à interroger les différentes tranches d'âge afin d'évaluer les connaissances acquises par chaque génération en matière de soins traditionnels.

Concernant l'origine de l'information, la transmission des expériences d'une génération à l'autre reste le moyen le plus utilisé avec un pourcentage de 66 %, le recours aux herboristes spécialisés arrive au second ordre. En effet, les usages des plantes et leurs propriétés thérapeutiques sont généralement acquis suite à une longue expérience accumulée et sont transmis au fil d'innombrables générations (Kahouadji, 1995).

Aussi, le *Foeniculum vulgare* Mill. soignerait les problèmes des appareils digestifs et cardiaques, les parties les plus utilisées étant les graines (98 %). La *Nigella sativa* L. est utilisée pour traiter les affections respiratoires, les troubles de l'appareil digestif, les parties les plus utilisées étant les graines (100 %). Outre ces résultats de synthèse, quelques spécificités propres à certaines villes ont été mises en relief. Pour le *Foeniculum vulgare* Mill., une spécificité propre à la ville de Zagora consiste en l'utilisation des graines pour renforcer le système immunitaire. Dans la ville de Salé, les graines de *Nigella sativa* L. sont particulièrement utilisées pour soigner d'hépatite C.

Par ailleurs, nous avons évalué l'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques (hexanique, acétonique et méthanolique) de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. sur la croissance *in vitro* de dix souches bactériennes (*Klebsiella pneumoniae*, *Leclercia*, *Pantoea*, *Enterobacter spp*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter agglomerans*, *Serratia*, *Hafnia alvei*, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), *Listeria innocua*) impliquées dans les pathologies humaines (troubles digestives...). Ainsi, les

résultats émanant des tests sur les souches bactériennes montrent que les extraits organiques testés ont une activité antibactérienne effective et possèdent un pouvoir inhibiteur, à des degrés divers, plus ou moins prononcé sur la croissance des espèces précitées. En revanche, l'extrait aqueux n'a montré aucune activité antibactérienne vis-à-vis de toutes les bactéries étudiées.

Pour *Nigella sativa* L., nous avons enregistré des activités des extraits hexanique, acétonique et méthanolique avec une meilleure performance en présence de ce dernier. Nos résultats sont similaires à d'autres travaux de recherche qui ont révélé que cette plante possède une forte activité antibactérienne et plus particulièrement vis-à-vis des bactéries multirésistantes.

En effet, Agrawal et *al.* en 1979 et Aljabre et *al.* en 2005 ont rapporté que l'extrait méthanolique de *Nigella sativa* L. exerce une importante activité antimicrobienne sur des germes Gram positif et Gram négatif. Dans le même contexte, Mashhadian et Rakhshandeh en 2005 suggèrent que l'extrait méthanolique de la même plante possède une très bonne activité antibactérienne.

Aussi, Morsi (2000) a démontré que les différents extraits bruts issus de la graine de nigelle inhibent la croissance *in vitro* de diverses souches bactériennes. Des observations analogues ont été signalées dans les travaux de Tanis et *al.* en 2009 qui ont porté sur l'étude de l'effet antibactérien des différentes parties de la plante de *Nigella sativa* L. (feuille, fleur, tige, graine) sur les mêmes germes. Le meilleur potentiel antimicrobien a été observé au niveau des graines.

Par ailleurs, le résultat négatif obtenu concernant l'infusé issu de l'extrait aqueux de cette même plante a été également démontré par Chaudhry et Tariq (2008) lors de leurs travaux sur des tests appliqués à des micro-organismes, ces derniers se sont montrés résistants à l'extrait aqueux obtenu par infusion, mais sensible à celui obtenu par décoction. À ce sujet, Mashhadian et Rakhshandeh (2005) ont rapporté que l'extrait aqueux de la nigelle ne présente aucune activité antimicrobienne, sans pour autant préciser s'il s'agit d'une infusion ou d'une décoction. Or, du constat de Chaudhry et Tariq (2008), il ressort que le mode de préparation de l'extrait aqueux joue un rôle important dans l'expression du potentiel antimicrobien.

En 2005, Aljabre et *al.* (2005) ont mentionné que le principe actif majeur responsable de l'activité antibactérienne de *Nigella sativa* L. est la thymoquinone, ce qui suggère que cette activité ne serait pas due à un effet de synergie entre les différents constituants des extraits.

Selon Nair et *al.* (2005), *Nigella sativa* L. possède un pouvoir inhibiteur supérieur à celui de la gentamicine sur une vingtaine de souches de *Listeria monocytogenes*.

Concernant le *Foeniculum vulgare* Mill., nos résultats montrent que les différents extraits organiques ont une action inhibitrice sur les bactéries étudiées avec un potentiel antibactérien pratiquement identique.

Ces résultats rejoignent les travaux de plusieurs chercheurs qui ont démontré que cette plante présente un effet inhibiteur contre un large éventail d'espèces de bactéries (Delaquis et al., 2002 ; Elgayyar et al., 2001 ; Fyfe et al., 1997 ; Jirovetz et al., 2003 ; Kwon et al., 2002 ; Lo Cantore et al., 2004 ; Lopez et al., 2005 ; Mazyad et al., 1999 ; Ruberto et al., 2000 ; Singh et al., 2002 ; Soylu et al., 2006 ; Stavri et Gibbons, 2005).

Nos résultats ont aussi dévoilé que la bactérie SARM est la plus sensible, constat confirmé par Dadalioglu et Evrendilek (2004) qui ont signalé que *Foeniculum vulgare* Mill. présente une très forte activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*.

D'après Soylu et al. (2009), les principaux constituants biologiquement actifs seraient des composés phénoliques qui pourraient donc être responsables de l'activité observée.

Les études de Kawther (2007) et d'Anwar et al. (2009) ont révélé que les extraits des graines ne produisent aucune activité vis-à-vis des bactéries à Gram négatif, et que seules les huiles essentielles possèdent une grande activité antimicrobienne.

Par ailleurs, nos résultats ont révélé que l'extrait aqueux ne présente aucune activité antibactérienne vis-à-vis des bactéries testées. L'extrait alcoolique est alors plus actif et concentre mieux le ou les principes actifs antibactériens contenus dans la plante.

Globalement, dans une certaine mesure, cette étude nous a permis de confirmer les propriétés antimicrobiennes des extraits des graines de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. et de valider scientifiquement l'usage de ces deux plantes dans la médecine traditionnelle contre les maladies infectieuses contaminant l'appareil digestif.

Ces résultats permettent de comprendre que les graines de ces deux plantes renferment des principes actifs ayant des activités antibactériennes effectives.

Les propriétés de ces extraits ouvrent une voie prometteuse dans la lutte contre les maladies infectieuses causées par la consommation d'aliments contaminés et peuvent donc constituer une alternative à l'usage des médicaments de synthèse. Des essais complémentaires *in vivo* et une analyse phytochimique des extraits sont à conduire afin de pouvoir confirmer et élucider les performances mises en évidence.

**CONCLUSION GENERALE
ET PERSPECTIVES**

La qualité des produits céréaliers suscite de grandes interrogations quand on sait leur place prépondérante dans l'alimentation. En réponse à ces questions, le présent travail se veut d'apporter une contribution à l'appréciation de la qualité des farines cérésières.

A travers cette étude, notre contribution a concerné les volets liés à la qualité physico-chimique technologique et hygiénique.

A la lumière des résultats obtenus, nous avons pu dégager les constatations suivantes :

- selon les résultats de l'analyse physicochimique et technologique des farines, nous avons remarqué que les variétés marocaines étudiées (Karim, Marzak et Krifla Beda) présentent une variabilité pour l'ensemble des paramètres physicochimiques et technologiques mesurés, l'oscillation de ces paramètres est en corrélation avec l'environnement. Il apparait que les régions sèches et chaudes favorisent une bonne expression des paramètres de qualité.
- L'analyse physicochimique des variétés marocaines a dévoilé que la teneur en eau, le taux d'acidité titrable et des cendres sont conformes à la norme Codex Standard 178-1991.
- L'analyse technologique a révélé que nos échantillons présentent un volume de sédimentation inférieur à 60ml ; ce qui les situe dans la gamme des farines à faibles force boulangère. Aussi, les échantillons testés sont classés dans la catégorie des grains bien développés. Selon les taux de vitrosité et de pigment jaune obtenus, les échantillons analysés sont vitreux et assez riches en caroténoïdes, témoignant ainsi d'une bonne qualité. En outre, le taux de protéines, critère le plus important pour l'appréciation de la qualité du blé dur, est en général satisfaisant (>11 %). D'après les auteurs, cette teneur est conditionnée d'un côté par le facteur génotype et, de l'autre, par l'environnement.
- Selon les résultats de l'étude microbiologique, il est permis de conclure que la qualité des produits analysés est globalement satisfaisante car elle se situe dans les limites définies par les normes internationales. Les analyses ont montré que les farines étudiées sont particulièrement contaminées par la flore mésophile aérobie totale (FMAT). Les bactéries identifiées dans les différents échantillons de farines appartiennent à la famille des Entérobactéries. L'étude a également dévoilé la présence des moisissures et des levures dans les farines avec un taux inférieur aux normes établies dans le Codex Alimentarius Standard (1995). Les souches de moisissures isolées ont été identifiées en tant qu'*Aspergillus flavus*, espèce la plus dominante, suivie d'*Aspergillus niger*, de *Penicillium spp.*, de *Fusarium nivale* et de *Rhizopus stolonifer*. Cependant, certains

échantillons contiennent des microorganismes, révélateurs de conditions hygiéniques déficientes, à des taux non conformes aux normes microbiologiques en vigueur ; ce qui laisse supposer que la qualité des échantillons étudiés est certainement tributaire du procédé de fabrication.

- L'étude de la biodiversité des bactéries lactiques des farines a permis de mettre en évidence l'existence d'une flore variée. La caractérisation phénotypique et génotypique des bactéries lactiques isolées a permis d'avancer que la biodiversité en flore lactique des farines marocaines est riche en *Pediocoques*, *Entérocoques*, *Lactobacilles*, *Lactocoques* et en *Weissella*. Dans notre cas, les bactéries lactiques les plus fréquemment détectées sont les *Pediocoques* essentiellement représentés par l'espèce *Pediococcus acidilactici*. S'agissant des entérocoques, ils sont moins fréquemment isolés puisqu'ils n'ont été identifiés que dans 8 échantillons seulement sur 60 échantillons analysés et sont représentés par deux espèces *Enterococcus hirae* et *Enterococcus faecium*. A propos des espèces *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum* et *Weissella confusa*, elles sont présentes à de faibles proportions. Pour l'évaluation du pouvoir antimicrobien des bactéries lactiques isolées, il a été démontré qu'*Enterococcus faecium* et *Pediococcus acidilactici* agissant sur un large spectre d'inhibition contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.
- Selon les résultats de l'étude ethnobotanique, la population marocaine détient, en la matière, un savoir et un savoir-faire non négligeable grâce à leur réappropriation par les nouvelles générations. En effet, la transmission des expériences d'une génération à l'autre reste le moyen le plus utilisé avec un pourcentage de 66%, le recours aux herboristes spécialisés arrive au second ordre. Ainsi, le *Foeniculum vulgare* Mill. posséderait un pouvoir curatif sur les problèmes des appareils digestif et cardiaque; les parties les plus utilisées de cette plante sont les graines (98%). La *Nigella sativa* L. est utilisée pour traiter les affections respiratoires, les troubles de l'appareil digestif ; les parties les plus utilisées étant les graines (100%).
- Sur un autre plan, l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques (hexanique, acétonique et méthanolique) de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. a révélé que les extraits organiques testés ont une activité antibactérienne effective et possèdent un pouvoir inhibiteur, à des degrés divers, plus ou moins prononcé sur la croissance des espèces bactériennes. En revanche, l'extrait aqueux n'a montré aucune activité antibactérienne vis-à-vis de toutes les bactéries étudiées. Pour *Nigella sativa* L., nous avons enregistré des activités des extraits hexanique, acétonique et

méthanolique avec une meilleure performance en présence de ce dernier. Pour ce qui est du *Foeniculum vulgare* Mill., les résultats dégagés montrent que les différents extraits organiques ont une action inhibitrice sur les bactéries étudiées avec un potentiel antibactérien pratiquement identique.

Par ailleurs, ces résultats ont révélé que l'extrait aqueux ne présente aucune activité antibactérienne vis-à-vis des bactéries testées. L'extrait alcoolique est alors plus actif et concentre mieux le ou les principes actifs antibactériens contenus dans la plante.

Considérant les résultats encourageants de l'étude réalisée, nous envisageons d'élargir l'échantillonnage pour atteindre d'autres variétés du blé qui feront l'objet, au laboratoire, de divers essais de fabrication de pain par des procédés de biotechnologie au laboratoire en vue de l'élaboration d'un process et de son exploitation à l'échelle pilote. Dans cette perspective, l'étude à entreprendre sera essentiellement axée sur les points suivants :

- Essais de fermentations contrôlées des farines additionnées de plantes aromatiques ;
- Optimisation du process contrôlé de fabrication du pain ;
- Evaluation sensorielle des produits élaborés par des procédés sélectionnés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AACC 1984. American Association for Cereal Chemistry. Approved Methods 7th Edition, St Paul, Minnesota, USA.

AACC 1988. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. 8th edition, Amer. Assoc. Cereal Chem., Inc., St. Paul MN, D.S.A.

Abdellaoui Z. 2007. Etude de l'effet de la fertilisation azotée sur les propriétés Techno-fonctionnelles des protéines de blé. Institut national agronomique El Harrach Alger Département Technologie Alimentaire Option : sciences alimentaires. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de magister en sciences agronomiques.

Abdellaoui Z. et Mariche O. 2008. Effet de la fertilisation azotée sur l'expression de la qualité technologique du blé dur : propriétés physico-chimiques. *Céréaliculture* .50 : 18-28.

Aboutabl E.A., El-azzouny A.A. and Hammerschmidt F.J. 1986. Aroma volatile of *Nigella sativa* seeds Prog. Essent.Oil.Res.Proc.Int.Symp.Essent.Oils. p. 49-55.

AFNOR (Association Française de Normalisation) 1982. Recueil de normes françaises des céréales et produits céréaliers. 1ère édition, A.F.NOR (Ed.), Paris, France.

Agrawal R., Kharya MD. and Shrivastava R. 1979. Antimicrobial anthelmintic activities of the essential oil of *Nigella sativa* L. Linn. *Indian.J. Exp. Biol.* 17: 1264-5.

Al Askari G., Kahouadji A., Khedid K., Charof R. and Mennane Z. 2012. Screenings of Lactic Acid Bacteria Isolated from Dried Fruits and Study of Their Antibacterial Activity. *Middle-East J. Scientific Res.* 11 (2): 209-215.

Albano H., Todorov S.D., van Reenen C.A., Hogg T., Dicks L.M.T. and Teixeira P. 2007. Characterization of two bacteriocins produced by *Pediococcus acidilactici* isolated from "Alheira", a fermented sausage traditionally produced in Portugal. *Int.J.Food. Microbiol.* 116 : 239–247.

Aljabre SHM., Randhawa MA., Akhtar N., Alakloby OM., Alqurashi AM. and Aldossary A. 2005. Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* L. and its active principle, thymoquinone. *J Ethnopharmacology*.101: 116–9.

Al-Naqeep G.N., Ismail M.M., Al-Zubairi A.S. and Esa N.M. 2009. Nutrients composition and minerals content of three different samples of *Nigella sativa* L. cultivated in yemen. *Asain J. Biol. Sci.* 2: 43-48.

Alp A., Vural A., Erkan M.E. and Alp S.Y. 2006. The microbiological and physico-chemical quality properties of wheat samples, in Turkey. Dans Proceedings II. National Veterinary Food Hygiene Congress, Istanbul. p. 769–770.

Aly SA., Cheik H., Imael M. and Alfred S. 2004. Antimicrobial activities of lactic acid bacteria strains isolated from Burkina Faso fermented milk. *Pak. J. Nutr.* 3 (3): 174-179.

Ammor S., Rachman C., Chaillou S., Pervost H., Dousset X., Zagorec M., Dufour E. and Chevallier I. 2005. Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages. *Food. Microbiol.* 22 (5): 373-382.

Anne S. et Cécile B. 2005. Histologie du grain de blé. Industrie des céréales. 145 : 3-7.

Anonyme 1974. Maladies d'origine alimentaire d'échantillonnage Série des rapports techniques OMS, N : 543, Genève.

Anonyme 1980. Microbial ecology of foods. Volume 2. Food commodities ICMSF. Academie Press.

Anonyme 2000. Qualité des blés durs cultivés en Algérie, Brochure Institut Technique des grandes cultures.

Anwara F., Alia M., Ijaz Hussaina A. and Shahida M. 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Pakistan. *Flavour Fragr.J.* 24: 170–176.

Anwar F., Muhammad A., Abdullah IH. and Muhammad S. 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Pakistan. *Flavour.Fragr.J.* 24:170–6.

AOAC (Association of Official Analytical Chemist Official Method of Analysis) 1995. Virginia Cunmif. 32-1, 32-43.

Araujo W.L., Marcon J., Maccheroni Jr. W., Van Elsas J.D., Van Vuurde J.W.L. and Azevedo J.L. 2002. Diversity of endophytic bacterial populations and their interaction with *Xylella fastidiosa* in citrus plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 4906–4914.

Axelsson L. 2004. Classification and physiology In : Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects. Salsinen S., Wright A.V., Ouwehand A. 3e Ed. New York, Marcel Dekker, Inc. vol. 633: 1 - 66.

Aydin A., Paulsen P. and Smulders F.J.M. 2009. The physicochemical and microbiological properties of wheat flour in Thrace. *Turk. J. Agric.* 33: 445–454. doi:10.3906/tar-0901-20.

Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R. 2005. Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "ARABIA ET KABYLE". Sciences & Technologie C – N°23, p. 30-37.

Bakhella M. 1992. La dureté du blé et son impact sur la qualité. Marché des céréales et légumineuses. Bulletin Mensuel Interprofessionnel d'Information, O.N.I.C.L. (Maroc) 1(3) : 10 – 11.

Bakhella M. et Akil M. 1996. Appréciation de la valeur semoulière des principales variétés marocaines de blé dur. *Actes Inst. Agron. Veto* (Maroc). Vol. 16 (3): 19-28.

- Bankole S.A. and Adebajo A. 2003.** Mycotoxins in food in West Africa: current situation and possibilities of controlling it [En ligne]. *Afr. J. Biotechnol.* 2(9) : 254–263. Disponible à <https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/1433/1/jb03053.pdf>.
- Barnett H.L. 1930.** Illustrated genera of imperfect fungi. 2e éd. *Burgess Publishing Co.*, Minneapolis, Minn. p. 225.
- Bartali E. 1995.** Systèmes post récolte des céréales au Maroc. FAO [En ligne]. Disponible au http://www.cd3wd.com/cd3wd_40/INPHO/VLIBRARY/MOVE_REP/X0289E/FR/X0289F00.HTM [cité le 10 septembre 2010]
- Bekhouche F. et Boulahrouf A. 2005.** Etude quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant à six stations d'élevage de Constantine. *Science & technologie*. Vol. 23 : 38-45.
- Bellakhdar J. 1997.** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires, Paris - Rabat, Ibis Press – Ed. Le Fennec. 764 p.
- Benbelkacem A., Brinis L. et Sadli F. 1995.** La recherche pour la qualité des blés durs en Algérie. In: DiFonzo N. (ed.), Kaan F. (ed.), Nachit M. (Ed.). *Durum wheat quality in the Mediterranean region*. Zaragoza. *CIHEAM*. p. 61 -65 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. (22).
- Benmansour-Brixi G.N. 2005.** Étude microbiologique et mycotoxicologique des blés stockés dans la région de Tlemcen et l'influence des facteurs physiques sur l'alfatoxinogénèse. Thèse de Magister, Université Djillali Liabes-Sidi Bel Abbès-Algérie. 106 p.
- Berghofer L.K., Hocking A.D., Miskelly D. and Jansson E. 2003.** Microbiology of wheat and flour milling in Australia. *Int. J. Food Microbiol.* 85(1–2) : 137–149. doi:10.1016/S0168-1605(02) 00507-X. PMID:12810278.
- Bervas E. 1991.** Mise au point de levains bactériens pour la panification. Thèse de Doctorat, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, France (in French).
- Bhunja AK., Johnson MC., Ray B. and Kalchayanand N. 1991.** Mode of action of pediocin AcH from *Pediococcus acidilactici* H on sensitive bacterial strains. *J. Appl. Bacteriol.* 70 : 25-33.
- Bietz J.A., Huebner F.R. and Wall J.S. 1973.** Glutenin- The Strength protein of wheat flour. In Baker's Digest. 47 (1) : 26.
- Björkroth K. J., Schillinger U., Geisen R., Weiss N., Hoste B., Holzapfel W. H., Korkeala H.J. and Vandamme P. 2002.** Taxonomic study of *Weissella confusa* and description of *Weissella cibaria* sp. nov., a novel species detected in food and clinical samples. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52: 141–148.

Borghi B., Corbellini M., Minoia C., Palumbo M., Di Fonzo N. and Perenzin M. 1997. Effects of Mediterranean climate on wheat bread-making quality. *Euro. J. Agron.* 6 : 145–154.

Boudreau A. et Ménard G. 1992. Le Blé : éléments fondamentaux et transformation. Presses Université Laval. 439 p.

Boughachiche F. 2012. Étude de molécules antibiotiques secrétées par des souches appartenant au genre *Streptomyces*, isolées de Sebkha. Thèse de doctorat, Université Mentouri- Constantine., Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Algérie, 164p.

Bourgeois C.M. et Larpent J.P. 1996. Microbiologie alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Tome 1. 2e Ed. Tec & Doc. 704p.

Bourgeois C.M., Mescle J.F. et Zucca J. 1996. Microbiologie alimentaire. Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. 672 p.

Branlard G. 1999. INRA - Station d'amélioration des plantes, 63039 Clermont-Ferrand Cedex 03.

Britton G., Liaaen-Jensen S. and Pfander H. 1995. Carotenoids today and challenges for the future, in *Carotenoids*, vol. 1A: Isolation and analysis, Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland, p.13-26.

Brucker G., Nadège B. et Parret D. 2000. Antiseptiques et désinfectants. C.CLIN, Paris-Nord.

BS EN ISO-21567. 2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs Horizontal method for the detection of *Shigella spp*: p2.

Campbell W. P., Wrigley C.W., Cressey P.J. and Slack C. R. 1987. Statistical correlations between quality attributes and grain protein composition for 71 hexaploid wheats used as breeding parents. *Cereal.Chem.* 64: 293-299.

Caplice E. and Fitzgerald G.F. 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *Int. J. Food Microbiol.* 50 : 131–149.

Carlile MJ. and Watkinson SC. 1997. The fungi. Academic Press, San diego. CA.p:140-169.

Chabbert YA. et Daguet GL. 1985. Techniques en bactériologie: antibiotiques en bactériologie médicale. Paris: Edition Flammarion, Médecine et Sciences, Sérologie bactérienne. 244p.

Chaudhry NMA. and Tariq P. 2008. In vitro antibacterial activities of Kalonji, Cumin and Poppy seed Pakistan. *J.Bot.* 40: 461–7.

Cheftel J-C. et Cheftel H. 1977. Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. II-3. Graines végétales. Volume 1. Technique et documentation-Lavoisier. p. 105-130.

Choueiri E. 2003. Ministère de l'Agriculture, Direction des Etudes et de la Coordination. Projet "Assistance au Recensement Agricole". FAO.

Ciaffi et al. 1993. Seed storage proteins of triticum turgidum ssp. Dicoccoides and their effect on technological quality in durum wheat. Theor. Appl. Genet 86 : 474-480
colorimeter methods for evaluating semolina color. *Cereal.Chem.* 57 (6) : 447 – 448.

Cicognani G., Pedretti C. and Cerrato A. 1975. Caratteristiche microbiologiche della farina di frumento (Microbiological characteristics of wheat flour). *Industria Alimentari.* 14(7-8) : 60-64.

Cleveland J., Montville T.J., Nes I.F. and Chikindas M.L. 2001. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int. J. Food. Microbiol.* 71:1-20.

Codex Alimentarius Standard. 1995. Codex standard for wheat flour. 1re éd. p. 13.

Codex Standard 178-1991. Standard for durum wheat semolina and durum wheat flour.

Colas A. et al. 1988. Définition de la qualité des farines pour les différentes utilisations. In : Les industries de première transformation des céréales Tech et Doc, Lavoisier, Paris, 590p.

Collins MD., Farrow J.A.E., Phillips B.A., Feresu S. and Jones D. 1987. Classification Of *Lactobacillus divergens*, *Lactobacillus piscicola*, and some Catalase negative, *Asporogenous*, Rod-Shaped Bacteria from Poultry in a New genus , *Carnobacterium*. *Int.J.Syst.Bacteriol.* 37: 310-316.

Collins MD., Samelis J., Metaxopoulos J. and Wallbanks S. 1993. Taxonomic studies on some leuconostoc-like organisms from fermented sausages: description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *J. Appl. Bacteriol.* 75: 595-603.

Compan F., Ecartot M. et Roumet P. 2013. Mesure de la qualité du grain de blé dur par spectrométrie proche infrarouge. Cahiers des Techniques de l'INRA, INRA, 2013, 80 (3), 8 p.

Corsetti A., Lavermicocca P., Morea M., Baruzzi F., Tosti N. and Gobbetti M. 2001. Phenotypic and molecular identification and clustering of lactic acid bacteria and yeasts from wheat (species *Triticum durum* and *Triticum aestivum*) sourdoughs of Southern Italy. *Int. J. Food. Microbiol.* 64 (1-2):95-104.

Corsetti A. and Settanni L. 2007. Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Res. Int.* 40: 539-558.

Corsetti A., Settanni L., Chaves Lopez C., Giovanna E.F., Mastrangelo M. and Giovanna S. 2007. *Sys. Appl. Microbiol.* 30 : 561.

Cubadda R. 1988. Evaluation of durum wheat semolina and pasta in Europe. p. 217-228.

Curk M., Hubert C. and Bringel F. 1996. *Lactobacillus paraplantarum* sp.nov, a new species related to *Lactobacillus plantarum*. *Int. J.System. Bacteriol.* 46:595-598.

- Dadalioglu I. and Evrendilek GA. 2004.** Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.) and fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) on common foodborne pathogens. *J.Agric.Food.Chem.* 52: 8255–60.
- Daoud S.M. and Debevere J.M. 1985.** The effect of *Bacillus subtilis* and *Streptococcus faecalis* var. Liquefaciens on staphylococcal enterotoxin a activity *Int.J.Food.microbiol.* 2 (4): 197-258.
- Davies F.L. and Law B.A. 1984.** Advances in the microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk. *Elsevier. App.Sc. Publication.* New York, USA.
- De Buyser M.L. 1980.** Les micro-organismes des toxi-infections : *Staphylococcus aureus*, p.211-220 in Techniques d'analyses et contrôle dans les IAA : Le contrôle Microbiologique. Vol. III, Paris : Techniq. et Doc. 331 p.
- Deibel K.E. and Swanson K.M.J. 2001.** Cereal and cereal products. Dans Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Sous la direction de P.F. Downes et K. Ito. 4e éd. *American Public Health Association*, Washington D.C. p. 549–552.
- Delaquis PJ., Stanich K., Girard B. and Mazza G. 2002.** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int.J. Food.Microbiol.* 74: 101–9.
- Delgado S. and Mayo B. 2004.** Phenotypic and genetic diversity of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus* spp. strains isolated from Northern Spain starter-free farmhouse cheeses. *Int. J. Food. Microbiol.* 90: 309-319.
- De Man J., Rogosa M. and Sharpe M.E. 1960.** A Medium for the Cultivation of Lactobacilli. *J. Appl.Bacteriol.* 23: 130-135.
- Dench J.E., Nilo Rivas R. and John Caygill C. 2006.** Selected functional properties of sesame (*Sesamum indicum* L.) flour and two protein isolates. *J.Sci.Food.Agric.* Vo. 32 : 557–564.
- De Roissart H. et Luquet F.M. 1994.** Les bactéries lactiques. Uriage, Lorica, France. vol. 1 : 1-286.
- Devriese L.A., Collins M.D. and Wirth R. 1992.** The genus *Enterococcus*. in: Balows A., Trüper H.G., Dworkin M., Harder W. and Schleifer K.H. eds. *The Prokaryotes*. Springer. New York. p.1465–1481.
- De Vuyst L. and Neyssens P. 2005.** Biodiversity of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food.Sci. Tech.* 16: 43–56.
- De Vuyst L. and Vancanneyt M. 2007.** Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria. *Food.Microbiol.* 24(2) : 120–127.

Diallo D., Doumbia O., Sanogo F. et Ag Mahamoud M. 1992. Contribution à l'étude phytochimique de quelques plantes médicinales du Gourma. Annexe no 21, SSE rapport d'étape plantes sauvages. Gourma, Mali.

Dick J.W. and Matsuo R.R. 1988. Durum Wheats and pasta products, p. 507 -54 7, In: Wheat: Chemistry and Technology. Vol. II, 3rd. edition. Y. Pomeranz (Ed.). Amer. Assoc. Cereal Chem.St. Paul, MN, U.S.A.

Dick J.W. and Young V.L. 1988. Evaluation of Durum Wheat, Semolina, and Pasta in The United states. p. 237-248. In : Durum wheat : Chemistry and Technology. G.Fabriani & C. Lintas (Eds).

Direction de la Statistique. 2001. Enquête nationale sur les niveaux de vie des ménages 1998–99. MPEP (Ministère de la prévision économique et du plan), Rabat, Maroc.

Djennadi A. F. et Rafoufi B. 2008. Etude de l'effet de fractionnement de la fertilisation azotée sur l'amélioration du rendement et sur la teneur en protéines du grain chez le blé dur dans la région de Sétif. *Céréaliculture*. revue n°51 2ème semestre .p. 5-12.

Domsch K.H., Gams W. and Anderson T.H. 1980. Compendium of soil fungi. 1re ed. Academic Press, London, R.-U. p. 85.

Dortu C. et Thonart P. 2009. Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 3(1) : 143-154.

Doumandji A., Doumandji-mitich B. et Salaheddine D. 2003. Cours de technologie des céréales : technologie de transformation des blés et problèmes dus aux insectes au stockage. Office des publications universitaires. p. 1-22.

Drancourt M., Bollet C., Carlioz A., Martelin R., Gayral J.P. and Raoult D .2000. 16S ribosomal DNA sequence analysis of a large collection of environmental and clinical unidentifiable bacterial isolates. *J. Clin. Microbiol.* 38(10): 3623-3630.

Duron B.S. 1998-1999. Le transport maritime des céréales. Mémoire pour le DESS « Transports maritimes et aériens ». Option Droit maritime et Droit des transports. Faculté de droit et de science politique d'Aix-Marseille. 81 p.

Elgayyar M., Draughon FA., Golden DA. and Mount JR. 2001. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *J.Food. Prot.* 64: 1019–24.

Eliasson. 1993. Cereals in bread making : A Molecular Colloidal Approach, t.55, CRC Press, coll. *Food .Sci. Technology*. 392 p. (ISBN 9780824788162), p. 242-250.

Elliker P.R., Anderson A.W. and Hannesson G.J. 1956. An Agar Culture Medium for Lactic Acid Streptococci and Lactobacilli. *Dairy. Sci.* 39: 1611-1612.

Ellis C.M.A. 1971. The size at maturity and breeding season of sardines in southern Lake Tanganyika. *Afr. J. Trop. Hydrobiol. Fish.* 1(1): 59 – 66.

Eloff J.N. 1998. Asentitive and quick micro plate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Plant.Medical*. 64: 711-713.

Eskin 1990. Role of starch in Breadmaking, Biochemistry of food processing. In : Biochemistry of Foods. Second edition. Academic press, INC. San diego, California, USA.

Eyles M.J., Moss R. and Hocking A.D. 1989. The microbiological status of Australian flour and the effects of milling procedures on the microflora of wheat and flour. *Food.Aust.* 41: 704–708.

FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations) 1994. Codex alimentarius. Rome, vol.7: 1-54.

FAO (Organisation des Nations Unies pour l’Alimentation et l’Agriculture) 2019. Bulletin de la FAO sur l'offre et la demande de céréales.

FAO (Organisation des Nations Unies pour l’Alimentation et l’Agriculture) 2019. Chapitre 3. Céréales. Perspectives agricoles de l’ODCE et de la FAO 2019-2028.135-153.

Farooq A., Muhammad A., Abdullah I.H. and Muhammad S. 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Pakistan. *Flavour.Fragr. J.* 24 : 170–176.

Feillet P. 1988. Protein and enzyme composition of durum wheat. p.93-138. In : Durum Wheat : Chemistry and Technology. G.Fabriani & C.Lintas (Eds.)

Feillet P. 2000. Le grain de blé. Ed. INRA. Paris. 308p.

Fenn D., Lukow O.M., Bushuk W. and Depauw R.M. 1994. Milling and baking quality of IBL/IRS translocation wheats: effect of genotype and environment.

FIMARC. 2005. Des produits agricoles dans le commerce mondial.

Fleurentin J. 2007. Les plantes qui nous soignent. Edition Henri Bancaud.

Flythe M.D. and Russell J.B. 2004. The effect of pH and a bacteriocin (bovicin HC5) on *Clostridium sporogenes* MD1, a bacterium that has the ability to degrade amino acids in ensiled plant materials. *FEMS.Microbiol.Ecol.* 47(2) : 215-222.

Fox G. E., Wisotzkey J.D. and Jurtshuk Jr. P. 1992. How close is close: 16S rRNA sequence identity may not be sufficient to guarantee species identity. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42:166-170.

Franz C.M.A.P., Holzapfel W.H. and Stiles M.E. 1999. Enterococci at the crossroads of food safety?. In. *J. Food.Microbiol.* 47(1-2): 1 - 24.

Frazier W.C. 1967. Food microbiology. 2nd éd. : USA: Mc Graw-Hill. 537p.

Fyfe L., Armstrong F. and Stewart J. 1997. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enteritidis* by combinations of plant oils and derivatives of benzoic acid: the development of synergistic antimicrobial combinations. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 9: 195–9.

Gancheva A., Pot B., Vanhonacker K., Hoste B. and Kersters K. 1999. A polyphasic approach towards the identification of strains belonging to *Lactobacillus acidophilus* and related species. *Syst. Appl. Microbiol.* 22(4):573-585.

Garie EI. 1984. Separation of species of the genus *Leuconostoc* and differentiation of the leuconostoc from other lactic acid bacteria. In: Bergan T. (Ed), *Methods Microbiology.* 16: 147-178.

Garnier G., Bezanger-Beauquesne L. et Debraux G. 1961. Ressources médicinales de la flore française. Vigot Frères Ed., 83, rue de l' Ecole de Médecine, Paris VI^e, 2 Vo. 1 506 p.

Gate P., Jezequel S., Castillon P. et Laconde J.P. 1996. Bien remplir le grain et limiter le mitadinage. Institut technique de céréale et des fourrages, Brochure 1993-1996, Blé dur, p. 36-43.

Gelinas P. 1995. Répertoire des micro-organismes pathogènes. Edisen, 1-44.

Gerba L., Getache W., Bela Y. and Walelign W. 2013. Nitrogen Fertilization Effects on Grain Quality of Durum Wheat (*Triticum turgidum* L.Var.Durum) Varieties in Central Ethiopia. *J.Agricultural.Sci.* Vol. 1(1): 1-7.

Gevers D. 2002. Tetracycline resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented dry sausages. Thèse Doc. Univ. Gent. Fac. Sci. Gent. Belgium.

Ghedira K. 2006. Nigelle cultivée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytothérapie.* p.4.

Gilliland S.E. 1995. Concentrated starter culture. In: *Bacterial starter cultures for foods*, Ed. Gilliland SE, CRC Press, Inc. Boca Raton USA. p. 145-157.

Gobbetti M., Corsetti A., Rossi J., La Rosa F. and De Vincenzi S. 1994. Identification and clustering of lactic acid bacteria and yeasts from wheat sourdoughs of central Italy. *Italian J. Food. Sci.* 6: 85–94.

Godon B. 1991. Biotransformation des produits céréaliers. Chapitre I : Les constituants des céréales : nature, propriétés et teneurs. *Technique et Documentation – Lavoisier.* 221p.

Godon B. 1997. Biotransformation des produits céréaliers. Chapitre I : Les constituants des céréales : nature, propriétés et teneurs. *Techniques et Documentation- Lavoisier.* 221 p.

Godon B. et Loisel W. 1997. Guide pratique d'analyses dans les industries des céréales. 2^e éd. Sciences et Techniques agroalimentaires, Paris. p. 84.

Godon C., Lagniel G., Lee J., Buhler J.M., Kieffer S., Perrot M., Boucherie H., Toledano M.B. and Labarre J. 1998. The H_2O_2 stimulon in *Saccharomyces cerevisiae*. *J.Biol. Chem.* 273: 22480–22489.

Gorenflot R., Gern M., 1989. Doin éditeurs, Paris, France. pp. 242

Goulet Ph. 1981. Les toxines staphylococciques et leurs actions pathogènes. La Nlle Presse Méd.10 : (26).

Gournier – Château N., Larpent J.P., Castellanos M.I. et Larpent J.L. 1994. Les probiotiques en alimentation animale et humaine. Ed.Technique et Documentaion Lavoisier, Paris, France : 1-192.

Goutam U., Kukreja S., Tiwari R., Chaudhury A., Gupta R.K., Dholakia B.B. and Yadav R. 2013. Biotechnological approaches for grain quality improvement in wheat: Present status and future possibilities. *Aust. J. Crop Sc.* 7: 469-483.

Gracia Fontán M.C., Lorenzo J.M., Martinez S., Franco I., and Carballo J. 2007. Microbiological characteristics of Botillo, a Spanish traditional pork sausage. *LWT – Food.Sci.Tech.* 40: 1610.

Grandvoinnet P. et Prati X. 1994. Les ingrédients des pâtes. In la panification français. Ed : Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

Graveland A., Bosveld P., Lichtendonk W.J., Marseille J.P., Moonen J.H.E. and Scheepstra A. 1985. A model for the molecular structure of glutenins from wheat flour. *J.Cereal Sci.* 3:1-16.

Greaupe PMPA. 1975. Le lait cru : ce qu'il doit être, comment l'obtenir. Th. : Méd. Veto : Toulouse, n°102.

Greenish H.G. 1880. Contribution to the Chemistry of *Nigella sativa*. *Pharmac. J. Trans.* 10: 909-911.

Guignard J.L. 2001. Botanique systématique moléculaire. 12^{ème} Edition Masson (Paris). p.30

Guiraud J.P. 2003. Microbiologie alimentaire. Dunod – RIA. 696

Guiraud J. et Galzy P. 1980. L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires Paris: Les éd. L'usine Nouvelle. 240 p.

Hamadache A. 2011. Effets de quelques facteurs agro-techniques sur la qualité du grain du blé pluvial. Impact de la fertilisation azotée et de la protection phytosanitaire .*Céréaliculture*. 56 1ere semestre. p.57-62.

Hardy J.L. 1982. Mise au point d'une technologie de panification sur levain à partir de ferments céréaliés associés. PhD Thesis, Université Technologique de Compiègne, France, 11.

Harrigan WF. and Mc Cance ME. 1976. Laboratory methods in food and dairy microbiology. 2nd Eds, London. Academic Press.

Hmamouchi M. 2001. Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. 2^{ème} Ed. 389 p.

Hmamouchi M. 2005. Stratégie de conservation, de valorisation et de développement des plantes aromatiques et médicinales au Maroc. Congrès International sur les Plantes Médicinales 16-19.

Holzapfel W.H. 2002. Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *Int. J. Food. Microbiol.* 75: 197-212.

Holzapfel W.H., Haberer P., Geisen R., Björkroth J. and Schillinger U. 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 73(suppl): 365S–73S.

Huseyin T., Ashabil A. and Metin D. 2009. Antimicrobial Activity of Four *Nigella* Species Grown in Southern Turkey. *Int. J. Agric. Biol.* Vol. 11, No. 6.

Ilkay T. and Aziz E. 2011. Brix degree and sorbitol/xylitol level of anthntic pomegranate (*Punica gramatum*) juice. *Food.Chemistry.* 127: 1404-1407.

Infantes L. and Tourneur C. 1991. Survey on the lactic flora of natural sourdoughs located in various French areas. *Sci. Aliments.* 11: 527- 545.

Irvine G.N. 1978. Durum wheat and pasra products. p. 777 – 796, IN: Wheat: Chemistry and Technology. 2nd edition. Y. Pomeranz (ED.).

ITA (Institut de Technologie Alimentaire). 1972. Unité céréales. Tome 1 (1^{ère} et 2^{ème} partie). POLY/ Céréales. ETU 1/61. D/1402/I.T.A. 05-72. p. 3-4.

ITA (Institut de Technologie Alimentaire). 1986. Transformation du mil. Étude technique Dakar. p. 1–45.

ISO. 1990. Methods for microbiological examination of food and animal feeding stuffs. Detection of Salmonella. International Organisation for Standardisation.

Jay M.J. 1992. Modern food microbiology. Washington, Van Nostrand Reinhold. 297-372.

Jeantet R., Crguennec T., Schuck P. et Brule G. 2007. Biochimie, microbiologie, procédés, produits. Sciences des aliments. V2 technologie des produits alimentaires.

Jirovetz L., Buchbauer G., Stoyanova AS., Georgiev EV. and Damianova ST. 2003. Composition, quality control and antimicrobial activity of the essential oil of long time stored dill (*Anethum graveolens L.*) seeds from Bulgaria. *J.Agric.Food.Chem.* 18: 3854–7.

Johnston R.A., Quick J.S. and Donnelly B.J. 1980. Note on comparison of pigment extraction and reflectance colorimeter methods for evaluating semolina color. *Cereal.Chem.* 57 (6): 447 – 448.

Joppa L.R and Williams N.D. 1988. Genetics and breeding of durum wheat in the United States. p. 47-68. In : Durum Wheat : Chemistry and Technology.

Jouve A.M., Belghazi S. et Kheffache Y. 1995. La filière des céréales dans les pays du Maghreb : constante des enjeux, évolution des politiques. INSEA, Rabat/CIHEAM-IAM, Montpellier.

Kahouadji MS. 1995. Contribution à une étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Maroc Oriental. Thèse du doctorat. Université Mohamed premier, Faculté des sciences Oujda.

Kandler O. 1983. Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van leeuwenhoek*. 49: 209-224.

Kareem K.Y., Foo Hooi L., Chwen L.T., Foong O. M. and Asmara S.A. 2014. Inhibitory activity of postbiotic produced by strains of *Lactobacillus plantarum* using reconstituted media supplemented with inulin. Vol. 6(1): 1.

Katina K., Sauri M., Alakomi H.L. and Mattila-Sandholm T. 2002. Potential of lactic acid bacteria to inhibit rope spoilage in wheat sourdough bread. *LWT-Food Sci. Tech.* 35: 38–45.

Kawther FA. 2007. Antimicrobial activity of essential oils of some medicinal plants from Saudi Arabia. *Saudi.J.Bio.Sci.* 14: 53–60.

Kessous C. 1993. Biochimie structural : protéines, glucides, lipides, acide nucléique. Ed : polycopie à l'usage.

Khaly S. 1998. Contrôle de qualité des farines céréalières mises sur le marché au Sénégal. Thèse de Doctorat, Université de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie, Sénégal. p. 118.

Khedid K. 2006. Caractérisation microbiologique, physico-chimique, technologique et étude de l'effet probiotique des bactéries lactiques du lait de dromadaire. Thèse du Doctorat National, Université Ibn Tofail (Maroc).

Khetouta L. 1978. *Comment se Soigner Par Les Plantes Médicinales*. Tanger: Editions Marocaines et Internationales.

Klein G. 2001. International committee of systematic Bacteriology, subcommittee on the Taxonomy of bifidobacterium, lactobacillus and related organism. Minutes of the meeting. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51: 259-261.

Klein G., Pack A., Bonaparte C. and Reuter G. 1998. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Intl.J.Food.Microbiol.* vol. 41 : 103-125.

Konte M. 1985. Ecologie bactérienne des parties distales du tractus genital chez les bovins au Sénégal. Mémoire de Confirmation ISRA - Dakar:111 p.

Kwon YS., Choi WG., Kim WJ., Kim WK., Kim MJ., Kang WH. and Kim CM. 2002. Antimicrobial constituents of *Foeniculum vulgare* Mill. *Arch.Pharm.Res.* 25: 154–7.

Ladraa N. et Ounane G. 2013. Qualité technologique de quelques variétés de blé dur cultivées en Algérie. *Céréaliculture.* 60 : 5-29.

Larpent J.P 1997. Microbiologie alimentaire. Lavoisier – Tec & Doc. Paris. 1072.

LECOQ R. 1965. Manuel d'analyses alimentaires et d'expertises usuelles. Paris Doin, 941-979.

Lemonier D. et Ingenbleek Y. 1989. Les carences nutritionnelles dans les pays en voie de développement. Paris Karthala et ACCr.

Leveau JY. et Bouix M. 1993. Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Tec et Doc Lavoisier, Paris, France.

Leveau K. and Bouix M. 1983. Milk Coagulation and Development of Dheese Texture. In: *Advances in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*, Davies , F.L. and B.A. Law (Eds.). *Elsevier.Applied.Science.Publishers. Ltd.*, New York, USA.

Leveque E., Haye B. et Belarbi A. 2000. L'amidon et ses dérivés, applications industrielles. Collection Bio Campus. Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS. 14 p.

Leverve X. 2007. Les céréales jouent un rôle de premier plan dans l'équilibre alimentaire. Alimentation, France, Inra, n°7. [En ligne]. Disponible à <http://www.biodiversite2012.org/surveiller/breves/les-cereales-jouent-un-role-de-premier-plan-dans-lequilibre-alimentaire.html?d5779e40fd759177dbdc2266c834a353=aed4dc70edb3c7426633dd7161>.

Limsowtin G.K.Y., Broome M.C. and Powell I.B. 2004. Lactic acid bacteria, taxonomy. In *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Roginski H. Oxford, Elsevier. 1470-1478.

Lo Cantore P., Lacobellis NS., De Marco A., Capasso F. and Senatore F. 2004. Antibacterial activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* Mill. Var vulgare (Miller) essential oils. *Agric.Food.Chem.* 52: 7862–6.

Lopez P., Sanchez C., Battle R. and Nerin C. 2005. Solid and vapour phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected food-borne bacterial and fungal strains. *J.Agric. Food. Chem.* 53: 6939–46.

Louembé D., Kéléké S., Kobawila S.C. et Nzouzi J.P. 2003. Bactéries lactiques de la pâte fermentée de maïs au Congo. *Tropicultura.* 21 (1) : 3-9.

Magan N., and Lacey J. 1988. Ecological determination of mould growth in stored grain. *Int. J. Food Microbiol.* 7(3) : 245–256. doi:10.1016/0168-1605(88)90043-8. PMID:3275327.

- Mathara J.M., Schillinger U., Kutima P.M., Mbugua S.K. and Holzapfel W.H. 2004.** Isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of kule naoto: the Maasai traditional fermented milk in Kenya. *Int. J. Food.Microbiol.* 94(3): 269-278.
- Mariana S. 2011.** Dynamique d'assemblage des protéines de réserve et du remplissage du grain de blé dur. thèse Présentée pour l'obtention du titre de docteur du centre international d'étude supérieures en sciences agronomiques de Montpellier. 261p.
- Mashhadian NV. and Rakhshandeh H . 2005.** Antibacterial and antifungal effects of *Nigella sativa* L. extracts against *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *C. albicans*. *Pak.J.Med.Sci.* 21: 47–52.
- Matsuo R.R. and Dexter J.E. 1980.** Relationship between some durum wheat physical characteristics and semolina milling properties. *Can. J. Plant.Sci.* 60 : 49 – 53.
- Mazyad SA., El-Serougi AO. and Morsy TA.1999.** The efficacy of the volatile oils of three plants for controlling *Lucilia sericata*. *J.Egypt.Soc.Parasitol.* 29: 91–100.
- Mensah P., Tomkins A.M., Drasar B.S. and Harrison T.J. 1991.** Antimicrobial effect of fermented Ghanaian maize dough. *J. Appl. Bacteriol.* 70 :203–210.
- Mepba H.D., Achinewhu S.C., Aso S.N. and Wachukwu C.K. 2007.** Microbiological quality of selected street foods in port Harcourt, Nigeria. *J.Food.Saf.* 27(2) : 208–218. doi:10.1111/j.1745-4565.2007.00073.x.
- Miliaire H.G. 1982.** Résistance des microorganismes vivants aux substances chimiques. cah.liaison O.P.I.E. 16(1) : 44,3-6.
- Moletto A.I. and Bergdoll M.S. 1982.** Production of enterotoxin by a *Staphylococcus aureus*, strain that produces three indentifiable enterotoxins. *J.Food.Proto.* 45 (12): 1096-1097.
- Molinité A. et Pfohl-Leszkowicz A. 2003.** Les mycotoxines dans les céréales : les points importants de contrôle de la production au stockage, le devenir dans les produits dérivés. Laboratoire de toxicologie et sécurité alimentaire- Auzeville-Tolosane. Note de l'ASEDISSO N° spécial Mycotoxines. 9 p.
- Monneveux P. 1984.** Amélioration de la qualité pastière du blé dur (*Triticum durum* Desf); études des relation entre les diagrammes électro phorétiques des gliadines et certaines caractéristiques technologiques avec la collaboration de Merle. *J.C et Blanc. J F.* p. 1-10.
- Moreno M.R.F., Sarantinopoulos P., Tsakalidou E. and De vuyst L. 2006.** The role and application of enterococci in food and health. *Int. J. Food. Microbiol.* 106: 1-24.
- Morrisson W.R. 1993.** Functionality of lipids in cereal processing. in Cereal science and technologie, impact on achanging in Africa. *Taylor.* 147-162.
- Morsi NM. 2000.** Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* L. on multiple antibiotic resistant bacteria. *Acta.Microbiol.Polonica.* 49:63–74.
- Morton R.D. 2001.** Aerobic plate count. F.P. Downes, K. Ito (Eds.), Compendium of methods for the microbiological examination of foods (4th ed.), American Public Health Association (APHA), Washington, DC (2001). p. 63-67.

Multon J.L. 1982. Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés-céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. Technique et documentation. Édition Lavoisier, Paris. *Apria*. Vol. 1, p. 576.

Mundt J.O. and Hammer J.L. 1968. Lactobacilli on plants. *Appl. Microbiol.* 16(9): 1326–1330.

Nagano H., Omori M. and Shouji Z. 1987. The isolation and identification of leavening bacteria (*Enterobacter cloacae*) of wheat flour dough from soaking water of sliced apple Japan. *J. Agric. Chem. Soc.* 61(3) : 357–359. doi:10.1271/nogeikagaku1924.61.357.

Nair MKM., Vasudevan P. and Venkitana Rayanan K. 2005. Antibacterial effect of black seed oil on *Listeria monocytogenes*. *Food. Control.* 16:395–8.

Nallusamy S., Raja M. and Al-Bahry S. 2010. Partial Characterization of Bacteriocins produced by *Lactobacillus acidophilus* and *Pediococcus acidilactici*. 53(5): 1177-1184.

Nassif F., Laâmari A. et Boujnah M. 2011. Importance de la culture du blé dur et évaluation différenciée de dix variétés de blé dur dans la région Chaouia au Maroc. *Al Awamia*. 125-126 : 59-79.

Nelson P.E., Toussou T.A. and Marasas W.F.O. 1983. *Fusarium* species — an illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, London.

NF V 03-707. 2010. Céréales et produits céréaliers. Détermination de la teneur en eau. Méthodes de références. 23 p.

NF V03-720. 2010. Céréales et produits céréaliers. Dosage du taux des cendres par incinération. Méthodes de références. 17 p.

Nguyen-The C. and Carlin F. 1994. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 34(4) : 371–401.

Niquet T. et Lasseran J. 1989. Guide pratique, stockage et conservation des grains à la ferme.

NM. 2005. Microbiologie des aliments — Dénombrement des levures et moisissures par comptage des colonies à 25 °C. NM 08.0.123. Méthode de routine. p. 6.

NM. 2006. Microbiologie des aliments — Dénombrement en anaérobiose des bactéries sulfito-réducteurs par comptage des colonies. NM 08.0.125. Méthode de routine.

NM. 2009. Microbiologie des aliments — Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44 °C. NM 08.0.124.

NM ISO. 2007. Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour le dénombrement des bactéries lactiques mésophiles — Technique par comptage des colonies à 30 °C. (IC 08.0.160). NM ISO 15214. p. 11.

NM ISO. 2008a. Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes — Technique de comptage des colonies à 30 °C. NM ISO 4833. Rev. (IC08.4.102).

NM ISO. 2008b. Microbiologie des aliments — Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces). Partie 1 : Technique utilisant le milieu gélosé de Baird–Parker. Rév (IC08.0.150). NM ISO 6888-1.

NM ISO 11290–1. 2008. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes*. NM 08.0.172.

Notermans S. and Otterdijk RLM. 1985. Production of enterotoxin A by *Staphylococcus aureus* in food. *International.Journ.of. food. Microbiology.* (3):139-196.

Office d'échanges. 2009. Commerce extérieur du Maroc.

Olsson J. 2000. Modern methods in cereal grain mycology. Thèse de Doctorat, Swedish University of Agricultural Science. Acta Universitatis Agriculturae Sueciae. *Agraria.* p. 241.37.

ONICL (Office National Interprofessionnel des céréales et des Légumineuses) 2019. Enquête sur la qualité de la récolte des blés tendre et dur dans les principales régions productrices des céréales. Rapport de la Campagne agricole 2018-2019.

ONICL (Office National Interprofessionnel des céréales et des Légumineuses) 2004. Rapport sur la Commercialisation et la Transformation des Céréales et Légumineuses. Campagne 2002-03.

Orla-Jensen S. 1919. The lactic acid bacteria. A.F. hostand son, Koenighichen Hofboghamdel, Copenhagen.

Ottogalli G. and Galli A. 1979. Microbiological quality of flours: sour dough for bakery products and spaghetti. Dans Food microbiology and technology. Proceedings of the International Meeting on Food Microbiology and Technology, Tabiabo (Parma) Italie, 20 au 23 avril, 1978, Medicinia Viva, Parma, Italie. Sous la direction de B. Jarvis, J.H.B. Christian, et H. Michener. p. 141– 153.

Paramithiotis S., Chouliaras Y., Tsakalidou E. and Kalantzopoulos G. 2005. Application of selected starter cultures for the production of wheat sourdough bread using a traditional three-stage procedure. *Process. Biochemistry.* 40 (8): 2813–2819.

Paris R.R. and Moyse H. 1976-1981. Matière médicale. 3 tomes, Masson, 420, Paris. p. 518-509

Parmetier M. et Fouabi K. 1989. Céréales en régions chaudes, conservation et transformation. Paris, John Libbez Eurotest. 249-253.

Parthasarathy V. A., Chempakam B. and Zachariah T.J. 2008. Chemistry of spices. CABI, 445 p.

Patrignani F., Lanciotti R., Mathara J. M., Guerzoni M. E. and Holzapfel W. H. 2006. Potential of functional strains, isolated from traditional Maasai milk, as starters for the production of fermented milks. *Int. J. Food Microbiol.* 107: 1 – 11.

PaulRoss R., Morgan S. and Hill C. 2002. Preservation and Fermentation: past, present and future. *Int. J.Food.Microbiol.* 79: 3 – 16.

Payne P.I., Corfield K.G. and Blachman J.A. 1979. Identification of a highmolecular weight subunit of glutenin whose presence correlates with bread making quality in wheat soft related pedigree. *Theor. Appl .Genet.* 55: 153-159.

Pfeiler E.A. and Klaenhammer T.R. 2007. The genomics of lactic acid bacteria. *Trends Microbiol.* 12: 546-553.

Pfohl-Leszkowicz A. 1999. Les mycotoxines dans l'alimentation, évaluation et gestion des risques. Édition Lavoisier, collection Tec&Doc. p. 478.

Pilon R. et Mazerard C. 1988. La meunerie : Technique de fabrication et contrôles analytiques. Louis David Eds, France, 172p.

Pitt J.L. and Hocking A. 1985. Fungi and food spoilage. Édition Academic Press, New York.

Popineau Y. 1985. Propriétés physico-chimiques des protéines de céréales dans : Protéines végétales. Technique et documentation Ed. Godon B., Lavoisier, APRIA, Paris.

Pot B., Ludwig W., Kersters K. and Schleifer K.H. 1994. Taxonomy of lactic acid bacteria. In De Vuyst L. and Vandamme E.J. (Eds.), Bacteriocins of lactic acid bacteria; Microbiology, genetics and applications (pp. 13–90). London, UK: Chapman and Hall.

Poul P., Lintermans P. et Muyen V. 1984. Fréquences des adhésines K99 et ATT25 chez *E. coli* du veau Ann. Méd. Vét. 128 (7) : 555-558.

Prats J. et Clément-Grandcourt M. 1971. Les céréales. 2^e Edition Baillièrre et Co. Collection d'enseignement agricole. p.15-314.

Priyanka S. and Prakash A. 2009. Screening of Lactic Acid Bacteria for Antimicrobial Properties Against *Listeria monocytogenes* Isolated from Milk Products at Agra Region. *Int.J.Food.Safety.* 11:81-87.

Quaglia G.B. 1988. Other durum wheat products. In : Durum wheat : *Chemistry. Technology.* 263 – 282 p.

Rahimi R. and Ardekani MR. 2013. Medicinal properties of *Foeniculum vulgare* Mill. In traditional Iranian medicine and modern. phytotherapy.*chin.J.Integr.Med.* 19(1):73-9.

Ramade C., Tigaud S., Cochat et Vincent. 1985. Les maladies infectieuses humaines attribuées à la consommation du lait de vache. Aspects actuels. *Sc Vét.Méd.Comp.* 87 (1-2): 5-85.

Restaino L., Frampton E.W., Lionberg W.C. and Becker R.J. 2006. A chromogenic plating medium for the isolation and identification of *Enterobacter sakazakii* from foods, food ingredients, and environmental sources. *J. Food.Prot.* 69(2) : 315–322. PMID:16496571.

Rharrabti Y., Garcia Del Moral L.F., Villegas D. and Royo C. 2003. Durum wheat quality in Mediterranean environments. III. Stability and comparative methods in analyzing G * E interaction. *Field.Crops.Research.* 80: 141–146.

Ricciardi A., Parente E., Piraino P., Paraggio M. and Romano P. 2005. Phenotypic characterization of lactic acid bacteria from sourdoughs for Altamura bread produced in Apulia (Southern Italy). *Int. J. Food. Microbiol.* 98 (1): 63–72.

Rigaux P., Daniel C., Hisbergues M., Muraille E., Hols P., Pot B., Pestel J. and Jacquet A. 2009. Immunomodulatory properties of *Lactobacillus plantarum* and its use as a recombinant vaccine against mite allerg. *Allergy.* 64: 406-414.

Robert H., Gabriel V. and Fontagné-Faucher C. 2009. Biodiversity of lactic acid bacteria in French wheat sourdough as determined by molecular characterization using species-specific PCR. *Int.J. Food. Microbiol.* 135: 53–59.

Rodrigues J.M., Martinez M.I. and Kok J. 2002. Pediocin PA-1, a wide-spectrum bacteriocin from lactic acid bacteria. *Crit.Rev.Food.Sci.Nutr.* 42: 91-121.

Rossello-Mora R. and Amann R. 2001. The Species Concept for Prokaryotes. *FEMS Microbiol. Rev.* 25:39-67.

Rozier J. 1986. La qualité hygiénique des aliments RTVA. 214, Janv-Fev. 1-32.

Ruberto G., Baratta MT., Deans SG. and Dorman HJ. 2000. Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* Mill. and *Crithmum maritimum* essential oils. *Planta.Med.* 66: 687–93

Ruiz-Moyano S., Martin A., Benito M.J., Nevado F.P. and Cordoba M.G. 2008. Screening of lactic acid bacteria and bifidobacteria for potential probiotic use in Iberian dry fermented sausages. *Meat.Science.* 80 (3): 715-721.

Saba R., Syed KN. and Shahida H. 2010. Bacteriocins produced by *Lb. fermentum* and *Lb. acidophilus* can inhibit cephalosporin resistant *E.coli*. *Brazil. J. Microbiol.* 41: 643-648.

Sanger F., AirG. M., Barrell B.G., Brown N.L., Coulson A.R., Fiddes C.A., Hutchison C.A., Slocombe P.M. and Smith M. 1977. Nucleotide sequence of bacteriophage phi X174 DNA. *Nature.* vol. 265: 687-695

- Sapirstein H.D., David P., Preston K.R. and Dexter J.E. 2007.** Durum wheat bread making quality: Effects of gluten strength, protein composition, semolina particle size and fermentation time. *J.Cereal.Sci.* 45: 150–161.
- Schillinger U. and Luke FK. 1989.** Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from Meat. *Appl.Environ.microbiol.* 55: 1901-1906.
- Schleifer KH. and Kilpper-Balz R. 1987.** Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of Streptococci, Enterococci and Lactococci. *Syst. Appl. Microbiol.* 10:1-19.
- Schleifer K.H. and Ludwig W. 1996.** Phylogeny of the Genus *Lactobacillus* and Related Genera. *Syst. Appl. Microbiol.* 18:461-467.
- Settanni L., van Sinderen D., Rossi J. and Corsetti A. 2005.** Rapid differentiation and in situ detection of 16 sourdough *Lactobacillus* species by multiplex PCR. *Appl.Environ. Microbiol.* 71: 3049–3059.
- Shearer G. and Warwick M.J. 1983.** The effect of storage on the lipids and breaking properties of wheat flour. *Lipids in cereal technology*, Sames P.J. London Academie Press, 253-267.
- Shittu L.A.J. , Bankole M.A., Ahmed T., Aile K., Akinsanya M.A., Bankole, M.N., Shittu R.K. and Ashiru O.A. 2006.** Differential antimicrobial activity of the various crude leaves extracts of *Sesame radiatum* against some common pathogenic micro-organisms. *Sci.Res.Essay.* Vol.1 (3): 108-111.
- Shotwell O.L. 1977.** Mycotoxins corn related problems. *Cereal.Foods.World.* 22(10): 524–527.
- Singh G., Kapoor IP., Pandley SK., Singh UK. and Singh RK. 2002.** Studies on essential oils: part 10; antibacterial activity of volatile oils of some spices. *Phytother.Res.* 16: 680
- Sneath P.H.A., Mair N.S., Sharpe M.E. and Holt J.G. 1986.** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol.2.Baltimore: Williams & Wilkins.
- Souza E.J., Martiin J.M., Guttieri M.J., O'Brien K.M., Habernicht D.K., Lanning S.P., Mclean R., Carlson G.R. and Talbert L.E. 2004.** Influence of genotype, environment, and nitrogen management on spring wheat quality.(Crop Breeding, Genetics &Cytology), *Crop science.* 44: 425-432.
- Soylu EM., Soylu S. and Kurt S. 2006.** Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia.*161: 19–28.
- Soylu S., Soylu EM. and Evrendilek GA. 2009.** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. Var. vulgare) and Dill (*Anethum graveolens* L.) against the growth of food-borne and seed-borne pathogenic bacteria. *Italian.J.Food.Sci.* 21: 347–55.

Spicher G. 1986. Merkpunkte für die Beurteilung der mikrobiologisch-hygienischen Qualität von Weizenmehlen (Judging the microbiological-hygienic quality of white flour). *Die Muhle & Mischfüttertechnik*. 33 : 449.

Stavri M. and Gibbons S. 2005. The anti-mycobacterial constituents of Dill (*Anethum graveolens*). *Phytother.Res.* 19: 938–41.

Steijns J. M. 2008. Dairy products and health: Focus on their constituents or on the matrix? *Int. Dairy J.* Vol.18 (5): 425–435.

Stiles M.E. and Hotzappel W.H. 1997. Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int.J.Food.Microbiol.* 36: 1–29.

Strompfova V., Marcinakova M., Gancarcikova Z., Jonecova A., Scirankova PG., Koscova J., Boldizarova K. and Laukova AS. 2005. New probiotic strain *Lactobacillus fermentum* AD1 and its effect in Japanese quail. *Vet. Med. Czech.* 50 (9): 415–420.

Tanasupawat S., Ezaki T., Suzuki K., Okada S., Komagata K. and Kozaki M. 1992. Characterization and identification of *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus plantarum* strains from fermented foods in Thailand. *J. General. Appl. Microbiol.* 38: 12–134.

Tanasupawat S., Thongsanit J., Okada S. and Komagata K. 2002. Lactic acid bacteria isolated from soy sauce mash in Thailand. *J. General. Appl. Microbiol.* 48: 201–209.

Tanis H., Aygan A. and Digrak M. 2009. Antimicrobial activity of four *Nigella* species grown in southern Turkey. *Int.J.Agric.Biol.* 11: 771–4.

Taupier B. 2005. La qualité des blés panifiables en agriculture biologique n°71. p. 10.

Temmerman R. 2003. Culture-dependent and Culture-independent Microbial Analysis of Probiotics. Thèse Doc. Univ. Gent. Fac. Sci. Gent. Belgium.

Temmerman R., Huys G. and Swings J. 2004. Identification of lactic acid bacteria: culture-dependent and culture independent methods. *Trends.Food.Sci. Tech.* 15: 348–359.

Terzaghi B.E. and Sandine W.E. 1975. Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Appl. Environ. Microbiol.* 29 : 807–813.

Teuscher, E. ; Anton, R. ; and Lobstein, A. 2005. Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Edition TEC & DOC Lavoisier. p 6, 77

Thanh N.T., Loh T.C., Foo H.L., Hair-Bejo M. and Azhar B.K. 2010. Inhibitory activity of metabolites produced by strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from Malaysian foods. *Int.J. Prebiot. Probiot.* 5 : 37–44.

Thorn J., Beijer L., Jonsson T. and Rylander R. 2002. Measurements strategies for the determination of airborne bacterial endotoxin in sewage treatment plants. *Ann. Occup. Hyg.* 46(6) : 549–554. doi:10.1093/annhyg/mef068. PMID:12176770.

Torriani S., Clementi F., Vancanneyt M., Hoste B., Dellaglio F. and Kersters K. 2001. Differentiation of *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus* and *L. paraplantarum* species by RAPDPCR and AFLP. *Syst. Appl. Microbiol.* 24:554–560.

Touré R., Kheadr E., Lacroix C., Moroni O. and Fliss I. 2003. Production of antibacterial substances by bifidobacterial isolates from infant stool active against *Listeria monocytogenes*. *J. Appl. Microbiol.* 95: 1058 – 1069.

Trocchi A., Borrelli G.M., De Vita P., Fares C. and Di Fonzo N. 2000. Durum wheat quality, a multidisciplinary concept. *J. Cereal. Sci.* 32: 99-113.

UNIFEM (Fonds de Développement des Nations Unies pour la Femme). 1994. Traitement des céréales. 97 p.

Vandamme P., Pot B., Gillis M., DeVos P., Kersters K. and Swings J. 1996. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev.* 60: 407.

Wang C.J.K. and Zabel R.A. 1990. Identification manual for fungi from utility poles in the Eastern United States. American Type Culture Collection, Rockville, Md. p. 356.

Watson S.A. and Yahl K.R. 1986. Comparaison of eight devices for measuring breakage susceptibility of shelled corn. *Cereal.J.Chem.* 139-142.

Williams P.C., El Hachimi F.J., Nakkoul H. and Rihawi S. 1988. Crop quality evaluation, methods and guidelines. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas. (ICARDA), Aleppo, Syria.



ANNEXES

ANNEXE 1

1. Identification des moisissures

1.1. Les caractères cultureux

L'observation, à la loupe binoculaire, des mycéliums isolés permet de différencier les souches obtenues selon : la vitesse de croissance, la variation de la couleur au cours du temps, l'aspect de l'envers des colonies, le changement du milieu de culture et de la texture de sa surface avec présence ou non de duveté et d'odeur (Carlile et Watkinson, 1997).

1.2. Les caractères morphologiques

Contrairement aux bactéries, l'étude des moisissures ne nécessite pas la réalisation de frottis colorés directement observables dans l'huile à immersion. Le matériel fongique est observé dans tous les cas sur milieu liquide. Le mycélium à examiner est placé sur une lame dans une goutte de liquide de montage le lactophénol, dilacéré à l'aide de deux aiguilles pour éviter la réalisation d'un frottis trop dense et inobservable, recouvert d'une lamelle et observé au microscope au grossissement x40 et x100.

L'utilisation du lactophénol d'Amann comme liquide de montage donne de très bons résultats. Il ne provoque ni contraction, ni gonflement des cellules (contrairement à l'eau), peu volatil (contrairement à l'alcool) et favorise une bonne conservation des préparations. La coloration à la lactofuchsine, à 0,1 % dans l'acide lactique pure, permet de mettre en relief certains détails de la structure du mycélium et le type de sexualité (forme et ornementation des spores, cloisonnement des hyphes, etc.) (Carlile et Watkinson, 1997).

ANNEXE 2

+ Milieu MRS (pH 6,5), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Peptone 10g
- Extrait de viande 10g
- Extrait de levure 5g
- Glucose 20g
- Tween80 1ml
- Phosphate bipotassique 2g
- Citrate d'ammonium 2g
- Sulfate de magnésium 0,2g
- Sulfate de manganèse 0,05g
- Agar-agar 15g

+ Milieu PDA (pH 4,5), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Infusion de pomme de terre 100g
- Dextrose 20g
- Agar-agar 15g
- Eau distillée 1L

+ Milieu M17 (pH 7,1), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Tryptone 2,50 g
- Peptone pepsique de viande 2,50 g
- Peptone papaïnique de soja 5,00 g
- Extrait autolytique de levure 2,50 g
- Extrait de viande 5,00 g
- Lactose 5,00 g
- Glycérophosphate de sodium 19,00 g
- Sulfate de magnésium 0,25 g
- Acide ascorbique 0,50 g
- Agar bactériologique 15,00 g
- Eau distillée 1L

+ PCA (pH 7), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Tryptone :6,0 g
- Extrait de levure: 2,5 g
- Glucose: 1,0 g
- Agar: 15,0 g
- Eau distillée 1L

+ Milieu DCL (Desoxycholate lactose) (pH 7,1), stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Peptone pepsique de viande 10,00 g
- Lactose 10,00 g
- Désoxycholate de sodium 0,50 g
- Chlorure de sodium 5,00 g
- Citrate de sodium 2,00 g
- Rouge neutre 0,03 g

- Agar agar bactériologique 15,00 g

+ Baird-Parker (pH 7,2), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Peptone 10,0 g
- Extrait de viande de bœuf 4,0 g
- Extrait de levure 2,0 g
- Pyruvate de sodium 10,0 g
- Glycocolle 12,0 g
- Chlorure de lithium 5,0 g
- Agar-agar 20,0 g

A ajouter en conditions stériles juste avant l'ensemencement (sinon détruit par l'autoclavage) :

- Émulsion de jaune d'œuf (stérile) 50,0 ml
- Tellurite de potassium (stérile) 0,1 g

+ Bouillon RVS (Rappaport-Vassiliadis Soja) (pH 5,2), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Peptone de soja 5g
- Chlorure de magnésium anhydre 13,40g
- Chlorure de sodium 7,20g
- Dihydrogénophosphate de potassium 1,26g
- Dipotassium hydrogénophosphate 0,18 g
- Oxalate de vert de malachite 0,036g

+ Milieu Hektoen (pH 7,6), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Protéose-peptone 12,0 g
- Extrait de levure : facteur de croissance 3,0 g
- Lactose : critère de différenciation 12,0 g
- Saccharose : critère de différenciation 12,0 g
- Salicine : critère de différenciation 2,0 g
- Citrate de fer III et d'ammonium révélateur d'H₂S 1,5 g
- Sels biliaires : inhibiteur 9,0 g
- Fuchsine acide : inhibiteur 0,1 g
- Bleu de bromothymol : indicateur de Ph 0,065 g
- Chlorure de sodium : maintien de la pression osmotique 5,0 g
- Thiosulfate de sodium : précurseur d'H₂S 5,0 g
- Agar 14,0 g

+ Milieu SPS (Sulfite de Sodium –Polymixine - Sulfite de Cystéine) (pH 7), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Peptone tryptique 10g
- NaCl 5g
- Extrait de viande 2g
- Extrait de levure 5g
- Chlorhydrate de cystéine (rend le milieu très réducteur) 0,3g
- Agar 15 %

 Bouillon Fraser (pH 7,2), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Polypeptone 10,0 g
- Extrait de levure 5,0 g
- Extrait de viande 5,0 g
- Esculine 1,0 g
- Citrate de fer III ammoniacal 0,5 g
- Chlorure de lithium 3,0 g
- Acide nalidixique 0,02 g
- Chlorhydrate d'acri flavine 0,025 g
- Chlorure de sodium 20,0 g
- Hydrogénophosphate de sodium 9,6 g
- Dihydrogénophosphate de potassium 1,3 g

 Bouillon Fraser -Demi (pH 7,2), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Polypeptone 10,00 g
- Extrait autolytique de levure 5,00 g
- Extrait de viande 5,00 g
- Chlorure de sodium 20,00 g
- Phosphate disodique anhydre 9,60 g
- Phosphate monopotassique 1,35 g
- Esculine 1,00 g
- Chlorure de lithium 3,00 g
- Acide nalidixique 10,0 mg
- Acriflavine chlorhydrate 12,5 mg
- Citrate de fer III ammoniacal 0,50 g

 Bouillon de Fraser complet (pH 7,2), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Polypeptone 10,00 g
- Extrait autolytique de levure 5,00 g
- Extrait de viande 5,00 g
- Chlorure de sodium 20,00 g
- Phosphate disodique anhydre 9,60 g
- Phosphate monopotassique 1,35 g
- Esculine 1,00 g
- Chlorure de lithium 3,00 g
- Acide nalidixique 20 mg
- Acriflavine (chlorhydrate) 25 mg
- Citrate de fer III ammoniacal 0,50 g

 Milieu PALCAM (pH 7,2), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

Agents nutritifs :

- Peptone : 23,0 g/l
- Amidon : 1,0 g/l
- Chlorure de sodium : 5,0 g/l
- Agar-agar (agar Columbia) : 13,0 g/l
- D(+)-mannitol : 10,0 g/l
- Ammonium fer-III-citrate : 0,5 g/l
- Esculine : 0,8 g/l

- Glucose : 0,5 g/l
- Eau déminéralisée : 500 ml
- Eau distillée stérilisée : 1 ml

Agents inhibiteurs :

- Chlorure de lithium : 15,0 g/l
- Sulfate de polymyxine-B : 5 mg dans 500 ml
- Ceftazidime : 10,0 mg dans 500 ml
- Acriflavine : 2,5 mg dans 500 ml

Indicateur coloré :

- Rouge de phénol : 0,08 g/l

 Milieu ELLIKER (pH 6,8), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Tryptone 20,0 g
- Extrait autolytique de levure 5,0 g
- Gélatine 2,5 g
- Lactose 5,0 g
- Saccharose 5,0 g
- Glucose 5,0 g
- Acétate de sodium 1,5 g
- Chlorure de sodium 4,0 g
- Acide ascorbique 0,5 g
- Agar-agar 15g

 Bouillon MR-VP (pH 7,5), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Peptone 5 g
- Glucose 5 g
- Hydrogénophosphate de potassium 5 g
- Eau distillée 1L

 Milieu de Citrate de Simmons : pH 6,9

- Citrate de sodium 1,0 g
- Bleu de bromothymol 0,08 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Sulfate de magnésium 0,2 g
- Hydrogénophosphate de potassium 1,0 g
- Dihydrogénophosphate d'ammonium 1,0 g
- Agar-agar 15g

 Bouillon cœur-cerveille (BHI) (pH 7,4), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Protéose-peptone 10,0 g
- Infusion de cerveau de veau 12,5 g
- Infusion de cœur de bœuf 5,0 g
- Glucose 2,0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Hydrogénophosphate de sodium 2,5 g

 Eau peptonnée tamponnée (EPT) (pH 7,2), Stériliser à 121 °C pendant 15 minutes :

- Peptone exempte d'indole 10,0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g

ANNEXE 3

Fiche ethnobotanique

« Usage de *Nigella sativa* L. (Nigelle) dans la pharmacopée traditionnelle, dans les villes de Rabat et Salé .2014 »

Fiche n°1 :**Questionnaire :****1/ Age :**

- ☐ <20
- ☐] 20-30]
- ☐] 30-40]
- ☐] 40-50]
- ☐] 50-60]
- ☐ >60

2/ Genre :

- ☐ Masculin
- ☐ Féminin

3/ Niveau d'étude :

- ☐ Analphabète
- ☐ Primaire-Collège
- ☐ Secondaire
- ☐ Universitaire

4/ Situation familiale

- ☐ Célibataire
- ☐ Marié(e)
- ☐ Divorcé(e)

9/ Origine de l'information :

- ☐ Expérience des autres
- ☐ Herboristes
- ☐ Lecture
- ☐ Autres

10/ Où avez-vous trouvé la plante :

- ☐ Dans la nature (forêt, jardin)
- ☐ Dans le commerce (marché, herboriste)
- ☐ Ailleurs

11/ Partie de la plante utilisée :

- ☐ Partie souterraine
- ☐ Tige
- ☐ Feuille
- ☐ Fleur
- ☐ Fruit
- ☐ Plante entière

13/ Mode de préparation du remède :

- ☐ Lotion
- ☐ Décoction
- ☐ Huile



Fiche ethnobotanique

« Usage *Foeniculum vulgare* Mill. (Fenouil) dans la pharmacopée traditionnelle, dans les villes de Rabat et Salé .2014 »

Fiche n°1 :

Questionnaire :

1/ Age :

- ☐ <20
- ☐] 20-30]
- ☐] 30-40]
- ☐] 40-50]
- ☐] 50-60]
- ☐ >60

2/ Genre :

- ☐ Masculin
- ☐ Féminin

3/ Niveau d'étude :

- ☐ Analphabète
- ☐ Primaire-Collège
- ☐ Secondaire
- ☐ Universitaire

4/ Situation familiale

- ☐ Célibataire
- ☐ Marié(e)
- ☐ Divorcé(e)

9/ Origine de l'information :

- ☐ Expérience des autres
- ☐ Herboristes
- ☐ Lecture
- ☐ Autres

10/ Où avez-vous trouvé la plante :

- ☐ Dans la nature (forêt, jardin)
- ☐ Dans le commerce (marché, herboriste)
- ☐ Ailleurs

11/ Partie de la plante utilisée :

- ☐ Partie souterraine
- ☐ Tige
- ☐ Feuille
- ☐ Fleur
- ☐ Fruit
- ☐ Plante entière

13/ Mode de préparation du remède :

- ☐ Lotion
- ☐ Décoction
- ☐ Huile

Résumé

Notre recherche vise l'étude de la qualité physicochimique, technologique et microbiologique des variétés nationales du blé, l'étude ethnobotanique et l'évaluation de l'activité antibactérienne de deux plantes médicinales et aromatiques *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill., souvent utilisées comme additif dans la préparation du pain marocain. Les résultats des analyses physicochimiques et technologiques, ont montré que les variétés nationales étudiées présentent des taux en eau, en acidité titrable et en cendres satisfaisants tout en possédant une valeur meunière appréciable et une faible force boulangère. Du point de vue sanitaire, les résultats des analyses microbiologiques des variétés étudiées sont généralement acceptables. Les espèces bactériennes et fongiques isolées appartiennent successivement à la famille des entérobactéries et au genre *Aspergillus*. Sur un autre plan, la caractérisation génotypique de la flore lactique, a permis l'individualisation de 5 groupes de bactéries lactiques avec une prédominance du genre *Pediococcus*. En outre, l'évaluation du pouvoir antimicrobien de ces bactéries lactiques a montré qu'elles présentent une activité inhibitrice contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. L'étude ethnobotanique a mis en évidence l'importance de *Nigella sativa* L. et *Foeniculum vulgare* Mill. dans la médecine traditionnelle marocaine. L'étude du pouvoir antimicrobien des extraits aqueux et organiques a révélé une activité antibactérienne exercée par les extraits organiques sur les espèces bactériennes testées. S'agissant de la détermination du profil bactéricide/bactériostatique, les CMI enregistrés chez les extraits des deux plantes étudiées ont montré un effet bactéricide à l'exception de l'extrait hexanique de *Foeniculum vulgare* Mill. qui a présenté un effet bactériostatique sur *Enterobacter agglomerans* et sur SARM.

Mots clés : Blé dur, farine, qualité technologique, qualité microbiologique, Activité antibactérienne.

Abstract

Our research aims to study the physicochemical, technological and microbiological quality of wheat varieties, the ethonobotic study and the evaluation of the antibacterial activity of two medicinal and aromatic plants *Nigella sativa* L. and *Foeniculum vulgare* Mill., often used as an additive in the preparation of Moroccan bread. The results of physicochemical and technological analyzes has been shown that the national varieties studied have satisfactory levels of water, titratable acidity and ash with an appreciable milling value and a low baking strength. From a health point of view, the results of the microbiological analyzes of the varieties studied are generally accepted. The isolated bacterial and fungal species belong successively to the family of Enterobacteriaceae and of the genus *Aspergillus*. In addition, the genotypic characterization of the lactic flora allowed repartition in 5 groups with a predominance of *Pediococcus* genus. Antimicrobial activity lactic acid bacteria obtained has been shown to exhibit inhibitory activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria. The ethnobotanical study highlighted the importance of *Nigella sativa* L. and *Foeniculum vulgare* Mill. in traditional Moroccan medicine. The antimicrobial activity of aqueous and organic extracts revealed an antibacterial activity exerted by the organic extracts on the bacterial species tested. Concerning the determination of the bactericidal / bacteriostatic profile, the MICs recorded in the extracts of the two studied plants showed a bactericidal effect with the exception of the hexane extract of *Foeniculum vulgare* Mill. Which had a bacteriostatic effect on *Enterobacter agglomerans* and MRSA.

Key words: Durum wheat, flour, technological quality, microbiological quality, Antibacterial activity.