EFFET DU SURNAGEANT DE *BACILLUS SUBTILIS ATCC6633* ET DU SOUFRE EN POUDRE SUR LES CARACTERISTIQUES BIOCHIMIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES DE L'ORANGE (*Citrus sininsis*, var. *Valencia*) ET DE LA POMME DE TERRE (*Solanum tuberosum*, var. *Yukon gold*).

TRAVAIL PRESENTÉ À LA FACULTÉ DES ÉTUDES SUPÉRIEURES ET DE LA RECHERCHE POUR L'OBTENTION DU GRADE DE MAÎTRE ÈS SCIENCES (NUTRITION-ALIMENTATION)

KABA LOUKMANE

ÉCOLE DES SCIENCES DES ALIMENTS, DE NUTRITION ET D'ÉTUDES FAMILIALES

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA SANTÉ ET DES SERVICES COMMUNAUTAIRES

UNIVERSITÉ DE MONCTON

OCTOBRE 2024

REMERCIEMENT

Je tiens à exprimer ma reconnaissance et ma gratitude envers Dieu, car sans sa présence, je n'aurais pas pu accomplir tout ce que j'ai réalisé.

Je tiens sincèrement à remercier mon directeur de thèse, le professeur Etienne DAKO en lui exprimant ma plus profonde gratitude pour son soutien et ses conseils tout au long de mes études universitaires. Son expertise et son dévouement ont été un atout essentiel à mon développement académique et professionnel. Je suis reconnaissant pour sa patience, ses encouragements et pour sa confiance. Son mentorat a laissé une empreinte inoubliable sur ma carrière.

Je tiens aussi à remercier la professeure Jeanne GODIN de l'École des sciences des aliments, de nutrition et d'études familiales (ÉSANEF) de l'Université de Moncton, le professeur Slimane BELBRAOUET de l'ÉSANEF (Université de Moncton), ainsi que le Dr. Bourlaye FOFANA chercheur scientifique à Agriculture et Agroalimentaire Canada (AAC) Centre de recherche et de développement de Charlottetown, à l'Île-du-Prince-Édouard d'avoir accepté de joindre le jury de ma soutenance de thèse à titre, respectivement, de président de jury, d'évaluateur interne et d'évaluateur externe. Je tiens à vous exprimer ma sincère gratitude.

Je tiens également à exprimer ma gratitude envers l'Université de Moncton et le gouvernement du Nouveau-Brunswick pour les bourses généreusement accordées. Ces aides financières ont été essentielles, elles m'ont permis de me concentrer pleinement sur mes études.

Enfin, je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers mes parents pour leur soutien indéfectible, leurs précieux conseils, leurs efforts inlassables et la confiance qu'ils m'ont toujours accordée, me donnant ainsi la force de persévérer. Mes remerciements s'étendent également à mes amis pour leur aide et présence constante.

SOMMAIRE

Les microorganismes sont omniprésents dans l'environnement et sont impliqués dans de nombreux phénomènes biologiques connus tels que la fermentation et d'autres processus biotechnologies, tandis que d'autres restent encore moins connus dans la recherche humaine. Les microorganismes se retrouvent dans le sol, l'eau, chez les humains, les animaux et dans l'air, où on parle de bioaérosol. Parmi les bioaérosols qui entraînent des répercussions négatives sur la vie humaine ou animale, on retrouve les moisissures ou micromycètes. Face à la toxicité de résidus de pesticides chimiques, l'utilisation de solutions alternatives naturelles s'impose (**Bankole, 2004**). L'objectif de cette étude est d'analyser l'effet d'un surnageant bactérien et d'un pesticide chimique sur les propriétés physico-chimiques et biochimiques des jus d'orange et des lyophilisats de pommes de terre après conservation. Ainsi, un échantillon de 54 oranges de la variété *Valencia* et 54 pommes de terre de la variété *Yukon Gold* achetés dans le commerce à Walmart de la ville de Dieppe ont été répartis en 4 lots de 4 échantillons pour des tests de conservation. Deux lots d'orange et deux lots de pomme de terre ont été conservés respectivement avec le surnageant de *Bacillus subtilis* ATCC3366 et de la poudre de soufre tandis que les deux autres lots ont servi de témoins. Après 4 semaines de conservation pour les oranges et plus de 4 semaines pour les pommes de terre, les oranges ont été utilisées pour faire du jus, et les pommes de terre ont été broyées puis lyophilisées pour des analyses physico-chimiques et biochimiques. Cette étude a permis également de réaliser un test d'antagonisme in vitro entre les moisissures prélevées sur les oranges au cours de la conservation et la souche bactérienne ou son surnageant. Les résultats des analyses physico-chimiques des jus d'orange ont révélé que les jus avaient un pH compris entre 3,74 ± 0,01 à 3,91 ± 0,01, une acidité titrable de 7,85 à 8,62%, un degré Brix de 12,36 à 13,43 et une teneur en cendre de 0,2 à 0,25%. Au niveau des paramètres biochimiques, les teneurs en protéines, en glucides, en gras et en vitamine C étaient respectivement comprises entre 0,55 ± 0,02 et 0,64 ± 0,02 ; 6,17 ± 0,18 et 9,75 ± 0,44 ; 0,02 ± 0,01 et 0,06 ± 0,01 ; 63,44 ± 15,54 et 160,26 ± 3,17. Les résultats de ces analyses entre les oranges témoins 1 et 2 et les oranges traitées ne montrent pas de différence significative réelle sur les paramètres physico-chimiques et biochimiques de ces échantillons. Quant aux tests de confrontations réalisées in vitro entre la bactérie et les moisissures prélevées sur les oranges d'une part, et d'autre part entre le surnageant et les moisissures a mis en évidence l'effet inhibiteur du surnageant qui a donné un résultat

plus satisfaisant que celui de la bactérie elle-même. Les échantillons de pomme de terre analysés mettent en lumière que les pommes de terre Témoin 2 et celles conservées avec le pesticide chimique ont les teneurs les plus élevées en polyphénols (104,61±4,59 mg EAG/100 g et 89,28±4,18 mg EAG/100 g) tandis que les pommes de terre Témoin 1 et celles conservées avec le surnageant bactérien ont eu des teneurs faibles en polyphénols (28,53±1,25 mg EAG/100 g et 48,03±1,32 mg EAG/100g).

Mots clés : pesticides chimiques, biopesticides, moisissures, mycotoxines

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENT i

SOMMAIRE ii

LISTE DES FIGURES x

LISTE DES TABLEAUX xii

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS xiii

INTRODUCTION 1

CHAPITRE 1 : 4

REVUE DE LITTERATURE 4

1.1 Moisissures 5

1.1.1 Morphologies et classification générales des moisissures 5

1.1.1.1 Caractéristiques morphologiques 5

1.1.1.2 Classification des moisissures 6

1.1.1.3 Conditions de croissance des moisissures 7

1.1.1.4 Mode de vie des moisissures 8

1.1.1.5 Champignons extrêmophiles 8

1.1.1.5.1 Champignons thermophiles 8

1.1.1.5.2 Champignons halophiles 9

1.1.1.5.3 Champignons acidophiles et alcalophiles 9

1.1.1.6 Milieux extrêmes 9

1.1.1.6.1 Environnements à hautes températures 10

1.1.1.6.2 Environnements hypersalins 10

1.1.1.6.3 Environnements à pH acide et à pH alcalin 10

1.1.2 Mode de reproduction 10

1.1.2.1 Reproduction sexuée 11

1.1.2.2 Reproduction asexuée 11
1.1.3 Moisissures mycotoxinogènes 11
1.1.3.1 Mycotoxines 11
1.1.3.2 Espèces toxinogènes 12
1.1.4 Activité enzymatique 14
1.1.4.1 Métabolites secondaires 14
1.1.4.2 Quelques types de mycotoxines 15
1.1.4.2.1 Citrinine (CIT) 15
1.1.4.2.2 Aflatoxine (AF) 15
1.1.4.2.3 Ochratoxine A (OTA) 16
1.1.4.2.4 Trichothécènes 18
1.2 Pesticides 18
1.2.1 Généralité sur les pesticides 18
1.2.1.1 Définition 18
1.2.1.2 Historique 19
1.2.2 Classification 20
1.2.2.1 Premier type de classification 20
1.2.2.1.1 Organochlorés 20
1.2.2.1.2 Organophosphorés 20
1.2.2.1.3 Carbamates 21
1.2.2.1.4 Pyréthrinoides 21
1.2.2.1.5 Triazines 21
1.2.2.1.6 Urées substituées 21
1.2.2.2 Deuxième type de classification 22
1.2.2.2.1 Fongicides 22
1.2.2.2.2 Insecticides 22
1.2.2.2.3 Herbicides 22

1.2.3 Formulation 24
1.2.4 Composition des pesticides 24
1.2.5 Domaines d'utilisation des pesticides 25
1.2.5.1 Agriculture 25
1.2.5.2 Santé publique 25
1.2.5.3 Autres domaines d'utilisation 25
1.2.6 Marché mondial des pesticides chimiques 26
1.2.7 Inconvénients et Avantages 28
1.2.7.1 Inconvénients sur la santé et l'environnement 28
1.2.7.1.1 Impacts sur l'environnement 28
1.2.7.1.2 Impacts sur la santé humaine 32
1.2.7.2 Avantages des pesticides chimiques 35
1.2.8 Réglementation sur l'utilisation des pesticides chimiques de synthèse 37
1.3 Biopesticides 39
1.3.1 Définition 39
1.3.2 Historique 39
1.3.3 Différentes catégories de biopesticide 40
1.3.3.1 Biopesticides d'origine végétale 40
1.3.3.2 Biopesticides d'origine animale 41
1.3.3.3 Biopesticides d'origine microbienne 42
1.3.3.3.1 Biopesticides d'origine bactérienne 42
1.3.3.3.2 Biopesticides d'origine virale 43
1.3.3.3.3 Biopesticides d'origine fongique 43
1.3.3.4 Avantages et inconvénients des biopesticides 45
CHAPITRE 2 46
HYPOTHESES ET OBJECTIFS 46
2.1 Hypothèse de recherche 47

2.2 Objectifs de recherche 47
2.2.1 Objectif général 47
2.2.2 Objectifs spécifiques 47
CHAPITRE 3 49
MATERIELS ET METHODES 49
3.1 Matériels 50
3.2 Méthodes 50
3.2.1 Enquête 50
3.2.2 Echantillonnage 50
3.2.3 Préparation de la souche de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 50
3.2.4 Production de biopesticides à base de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 51
3.2.4.1 Préparation des précultures 51
3.2.4.2 Production de surnageant bactérien 51
3.2.4.3 Préparation de la solution de soufre (Safer's, Canada) 52
3.2.5 Conservation de la pomme de terre et de l'orange par immersion 52
3.2.6 Test d'antagonisme 53
3.2.7 Production de jus des oranges conservées 55
3.2.7.1 Tri et lavage des oranges 55
3.2.7.2 Epluchage et découpage 55
3.2.7.3 Broyage, pressage et filtration des pulpes d'orange 55
3.2.8 Analyses physico-chimiques des jus d'orange extraits 55
3.2.8.1 Mesure du potentiel d'hydrogène pH 55
3.2.8.2 Détermination de l'acidité titrable (**NF V04-369, 1994**) 55
3.2.8.3 Taux d'humidité 56
3.2.8.4 Teneur en cendres (**AOAC, 2005**) 57
3.2.8.5 Détermination de l'indice de réfractométrie ou Degré Brix 58
3.2.9 Analyses biochimiques des jus d'orange 58

3.2.9.1 Teneur en acide ascorbique ou en vitamine C 58

3.2.9.2 Teneur en sucres 59

3.2.9.3 Teneur en gras (**AOAC, 2005)** 60

3.2.9.4 Teneur en protéines 60

3.2.10 Analyse des échantillons de pomme de terre 61

3.2.10.1 Extraction des composés phénoliques des pommes de terre 61

3.2.10.2 Dosage des phénols totaux des extraits de la pomme de terre par la méthode de **Folin-Ciocalteu** (**F-C**) 61

3.2.10.3 Courbe d'étalonnage de l'acide gallique 62

3.2.11 Analyses statistiques des valeurs 62

CHAPITRE 4 64

RESULTATS ET DISCUSSION 64

4.1 Résultats 65

4.1.1 Enquête auprès des restaurants du grand Moncton 65

4.1.2 Tests de conservation des échantillons de pommes de terre et d'oranges 65

4.1.2.1 Traitement des oranges 65

4.1.2.1.1 Oranges traitées avec le biopesticide 65

4.1.2.1.2 Oranges traitées avec le pesticide chimique 67

4.1.2.1.3 Oranges témoins 69

4.1.2.1.4 Oranges témoins traitées 2 semaine après le début d'expérience 70

4.1.2.2 Pommes de terre 71

4.1.2.2.1 Pommes de terre traitées avec le surnageant bactérien 71

4.1.2.2.2 Pommes de terre traitées avec le pesticide chimique 72

4.1.2.2.3 Pommes de terre témoin 74

4.1.3 Test d'antagonisme entre moisissures et bactéries ou entre biopesticides et moisissures 75

4.1.3.1 Antagonisme entre surnageant bactérien et les moisissures en milieu liquide 75

4.1.3.2 Antagonisme entre la souche bactérienne et les moisissures en milieu liquide 75

4.1.3.3 Antagonisme entre surnageant bactérien et les moisissures en milieu solide. 76

4.1.3.4 Antagonisme entre souche bactérienne et les moisissures en milieu solide ... 77

4.1.4 Paramètres physico-chimiques des jus d'orange 78

4.1.5 Paramètres biochimiques des jus d'orange 79

4.1.6 Quantification des composés phénoliques des extraits de pommes de terre .. 81

4.1.6.1 Résultats de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique 81

4.1.6.2 Résultats de la teneur en polyphénols des pommes de terre 82

4.2 Discussion 84

CONCLUSION 94

PERSPECTIVES 98

RECOMMANDATIONS 98

ANNEXES 125

LISTE DES FIGURES

Figure1.1 : Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure……11

Figure 1.2 : Colonie *d'Aspergillus parasiticus* sur CYA, MEA, G25N (de gauche à droite) à 25°C après 7 jours……13

Figure 1.3 : Colonie de *P. citrinum* sur milieu CYA (gauche) à 25°C, après 7 jours et les têtes de conidies (droite)……..13

Figure 1.4 : Structures isomériques de la CIT…….15

Figure 1.5 : Structures chimiques des aflatoxines ……..16

Figure 1.6 : Structure chimique des ochratoxines A, B et C……17

Figure 1.7 : Structure chimique Trichothécènes…….18

Figure 1.8 : Ventes mondiales de pesticides à usage agricole 2000-2019……...27

Figure 1.9 : Ventes mondiales de pesticides à usage agricole par produit commercialisé 2000-2019 et ventes mondiales de semences OGM et traditionnelles sur la même période…….28

Figure 1.10: Les impacts des pesticides sur les espèces sauvages, depuis le niveau intra-individuel jusqu'aux impacts sur les écosystèmes…...……32

Figure 1.11 : Expositions des travailleurs en agricoles…...……34

Figure 4.1 : Effets du surnageant bactérien sur les aspects externes et internes des oranges dans le temps (A : instant t_0; B : 2 semaines de conservation; C : 4 semaines de conservation; D : aspect interne après 4 semaines de conservation)……...66

Figure 4.2 : Effet du pesticide chimique sur les aspects externes et internes des oranges dans le temps (A : instant t_0; B : 2 semaines de conservation; C : 4 semaines de conservation; D : aspect externe après 4 semaines de conservation)……..……68

Figure 4.3 : Évolution dans le temps des aspects externes et internes des oranges témoins sans traitement (A : instant t_0; B : 2 semaines de conservation; C : 4 semaines de conservation; D : aspect externe après 4 semaines de conservation) …….……69

Figure 4.4 : Aspect externe et interne des oranges témoins traitées après deux semaines et reconservées (A : avec surnageant bactérien; B : avec fongicide chimique; C : avec surnageant bactérien+fongicide……...70

Figure 4.5 : Effet du surnageant bactérien sur les aspects externes et internes des pommes de terre dans le temps (A : instant t_0; B : 2 semaines de conservation; C : 4 semaines de conservation; D : aspect externe après 4 semaines de conservation) ……...…71

Figure 4.6 : Effet du pesticide chimique sur les aspects externes et internes des pommes de terre dans le temps (A : instant t_0; B : 2 semaines de conservation; C : 4 semaines de conservation; D : aspect externe après 4 semaines de conservation)……73

Figure 4.7 : Évolution dans le temps des aspects externes et internes des pommes de terre témoins conservées (A : instant t_0; B : 2 semaines de conservation; C : 4 semaines de conservation; D : aspect externe après 4 semaines de conservation)……74

Figure 4.8 : Résultats de test d'exposition en milieu liquide entre surnageant et les moisissures prélevées sur les oranges sur une période de 7 jours (A : 05-05-23 ; B : 08-05-23 ; C : 12-05-23)……75

Figure 4.9 : Résultats de test d'exposition en milieu liquide entre la bactérie et la moisissure prélevées sur les oranges sur une période de 7 jours (A : 05-05-23 ; B : 08-05-23 ; C : 12-05-23)……..……76

Figure 4.10 : Résultats de test d'exposition entre biopesticides sur milieu solide et les moisissures prélevées sur les oranges sur une période de 7 jours (A : 05-05-23 ; B : 08-05-23 ; C : 12-05-23) ……76

Figure 4.11: Résultats de test de confrontation entre la bactérie et la moisissure prélevée sur les échantillons d'orange cultivée sur gélose Agar LB sur une période de 7 jours……..77

Figure 4.12 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique…….....82

Figure 4.13: Histogrammes d'évolution de la teneur en polyphénols totaux des extraits de pomme de terre ……...83

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : Classification des pesticides en fonction des organismes nuisibles cibles…23

Tableau 1.2 : Limites maximales des résidus de pesticides d'origine étrangère pour le Dichlorodiphényltrichloroéthane dans les aliments végétaux du Codex Alimentarius (mg.kg-^{1}) …….37

Tableau 1.3 : Limites maximales du référentiel français (mg.kg-^{1})……38

Tableau 1.4 : Limites maximales des résidus de pesticides d'origine étrangère d'heptachlore et de son époxyde, (mg.kg-^{1}) ……...…….....38

Tableau 1.5 : Avantages et inconvénients des biopesticides……...……45

Tableau 4.1 : Paramètres physico-chimiques des jus d'orange……...79

Tableau 4.2 : Paramètres biochimiques des jus d'orange……...81

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ADEME L'Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (France)

AF Aflatoxine

AFNOR Association Française de Normalisation

AOAC Association of Official Analytical Chemists

ARLA Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire

AT Acidité totale/titrable

ATCC American Type Culture Collection

BASIC Analyse de la création de valeur et des coûts cachés des pesticides de synthèse

CE Concentré émulsifiable

DDT Dichlorodiphényltrichloroéthane

FAO Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture

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

FAOSTAT Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database

INSPQ Institut national de santé publique du Québec

IRPeQ Indicateur de risque des pesticides du Québec

LB Luria-Bertani broth

LMR Limites maximales des résidus de pesticides

LMRE Limites maximales des résidus de pesticides d'origine étrangère

LPA Produits Antiparasitaires

MDDEFP Ministère de l'Environnement, de la Lutte contre les changements climatiques, de la Faune et des Parcs, Québec

MDDELCC Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques

NB New Brunswick

OGA Oxytetracycline-Glucose-Yeast Extract Agar

OGM Organisme Génétiquement Modifié

OMS Organisation Mondiale de la Santé

OMS Organisation Mondiale de la Santé

OTA Ochratoxine A

PNUD	Programme des Nations Unies pour le Développement
SC	Suspension concentrée
UFC	Unité Formant Colonie
ULV	Formulation à très faible volume
YPG	Yeast Extract-Peptone-Dextrose

INTRODUCTION

Les moisissures ou micromycètes sont des microorganismes eucaryotes pluricellulaires microscopiques ubiquistes, à croissance filamenteuse, qui regroupent des milliers d'espèces. Le terme familier de « moisissures » fait généralement référence à leur texture laineuse, poudreuse ou cotonneuse, qui peut être observée à divers endroits. Les moisissures, ou les mycètes sont des champignons filamenteux et sont des acteurs importants du monde microbien. Ils sont impliqués dans une multitude de processus biologiques de l'environnement. Ainsi, depuis de nombreuses décennies, plusieurs chercheurs se sont engagés dans des recherches visant à mettre en lumière le rôle de ces champignons dans différents phénomènes de la vie. Les moisissures présentent sans aucun doute un grand intérêt économique pour la plupart des industries chimiques ou agroalimentaires. Toutefois, ces mêmes organismes présentent aussi de multiples activités néfastes, notamment : l'altération des produits alimentaires et les détériorations diverses dans de nombreux autres domaines comme la production de mycotoxines, la vie parasitaire aux dépends de l'homme, des animaux et des plantes **(Mehravar et Sardari, 2011 ; Pereira *et al.*, 2013)**.

La présence des moisissures en milieu intérieur (bâtiment, chambre froide, boîtes de conserve…) représente une préoccupation tant chez certains professionnels de métiers (médecin, nutritionniste, producteur agricole…) que chez la population de manière générale. En effet, au cours de nombreuses décennies plusieurs auteurs se sont donnés pour mission, de comprendre l'origine et le mode de vie de ces organismes afin de développer un moyen de lutte efficace. Les premiers moyens de lutte élaborés contre les moisissures ont été l'utilisation de produits chimiques sanitaires (**Botton, 1996**). Efficaces au début, ces produits chimiques montrent depuis lors des limites. En effet, le mauvais usage et l'utilisation abusive des pesticides de synthèse peuvent provoquer le développement de certaines formes de résistance, un large spectre d'action pouvant nuire à d'autres organismes utiles et une persistance des résidus toxiques pouvant causer la pollution de l'environnement (**Rapport Final Volet Entomologie Université Laval, 2006**). En outre, le mauvais usage de ces produits cause de nouveaux problèmes sur la protection de l'environnement, la santé humaine et animale.

Au regard de ces recherches et études menées sans résultats satisfaisants (**Carson, 1962 ; Cope, 1965** ; **US Environmental Protection Agency, 1977 ; Cohen *et al.*, 1984 ; Leistra et Boesten, 1989, Schiavon *et al.*, 1995**), d'autres auteurs ont conduit des études dans le sens de la lutte biologique (biopesticide) qui présenterait moins d'effets secondaires néfastes sur l'environnement et sur la santé humaine et animale. Un biopesticide peut être considéré comme étant un pesticide chimique provenant d'un organisme naturel ou comme un métabolite ou une partie de l'organisme capable d'inhiber ou de détruire la prolifération d'un autre organisme considéré dans ce cas-ci comme néfaste. C'est dans ce contexte que **Koffi *et al.* (2017)** et **Boraud *et al.* (2015)** ont conservés des mangues et des ananas au moyen de biopesticides bactériens. Aussi **Koffi (2018)**, lors de ses travaux de thèse sur la bioconservation des fruits de l'ananas, a utilisé un consortium de microorganismes pour prolonger la durée de conservation des fruits. En plus, en **2006** dans son **Rapport final – Volet Entomologie (Projet PARDE # 3333.52.02.01 ; Université Laval, 2006)** l'Université Laval a présenté sa Recherche de développement de biopesticides et pesticides naturels à faible toxicité pour les organismes non ciblés et respectueux de l'environnement. Ainsi, leur recherche a permis de développer un biopesticide à partir de *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* HD-1 (ATCC 33679) (Btk) qui se présente comme l'un des insecticides les plus efficaces dans la lutte contre la tordeuse des bourgeons de l'épinette (TBE) (*Lepidoptera* : (*choristoreuna fumiferena*), qui est le principal ravageur des forêts de sapins et d'épinettes au Canada (**Valéro *et al.*, 1999 ; Glare et O'Callaghan, 2000**). En Afrique, d'autres auteurs se sont illustrés dans la confection de biopesticides à partir d'extrait de plantes. En effet, **Adjou et Soumanou**, (**2013)** ont utilisés les extraits non volatils de dix plantes alimentaires et médicinales sur la croissance des moisissures toxinogènes responsables de l'altération des graines d'arachide en post récolte au Bénin.

En dépit, des prouesses de la lutte biologique avec les biopesticides contre les moisissures, fort est de constater l'arrivée de nouvelles technologies et de nouvelles molécules chimiques de synthèse sur le marché et l'utilisation continuelle des anciennes molécules, pour lutter contre les moisissures toxinogènes. Des technologies comme l'ozone, le plasma froid, la photocatalyse, la technique PHI (Photo HydroIonisation), sont plus efficace que le chlore habituel mais ont des impacts négatifs sur l'environnement avec une grande consommation en eau et en énergie (**Souad C., 2015**).

En raison de ces multiples constats sur l'utilisation continuelle des pesticides chimiques et des dangers qu'ils peuvent représenter pour l'environnement et pour la santé humaine et animale, il nous paraît important et nécessaire de faire une étude de l'influence des biopesticides et des pesticides chimiques sur les moisissures toxinogènes et sur les caractéristiques biochimiques et physico-chimiques de l'orange et de la pomme de terre. En effet, les études antérieures réalisées se sont plus focalisées sur l'efficacité des biopesticides et des pesticides chimiques, sans toutes fois essayer de combiner les deux pesticides afin d'étudier leur efficacité et leur effet sanitaire.

CHAPITRE 1 :

REVUE DE LITTERATURE

1.1 Moisissures

Les champignons filamenteux ou les moisissures peuvent être définies comme des microorganismes hétérotrophes filamenteux et immobiles, dont la structure cellulaire est celle d'une cellule eucaryote classique (**Nicklin *et al.,* 2000**). Les champignons appartiennent à la famille des thallophytes (**Semal *et al.,* 1993**). Les champignons filamenteux sont des organismes ubiquitaires, on les retrouve dans le sol, l'air, chez l'homme, les animaux et les plantes (**Figarella *et al.,* 2007**). Les moisissures, sont des champignons microscopiques ayant un impact sur l'économie, l'environnement immédiat humain et sur l'écosystème en général de façon bénéfique ou néfaste (**Ramdane Y., Ismail, 2003**). Les aliments représentent un milieu favorable au développement des microorganismes, où ils acidifient, décolorent, fermentent et rendent ces produits désagréables, voire dangereux (**Pitt, 1997**).

1.1.1 Morphologies et classification générales des moisissures

1.1.1.1 Caractéristiques morphologiques

Les moisissures sont caractérisées par différents aspects de leur morphologie. La cellule des moisissures a une paroi, une membrane plasmique, un noyau, des mitochondries, et le corps est appelé thalle.

- **Paroi** : Les moisissures présentent des parois cellulaires, qui sont différentes de celles des plantes. Elles sont composées de chitine et non de cellulose (**Indge, 2004**).
- **Noyaux** : ils sont minuscules, baignent dans le cytoplasme qui est dépourvu de chlorophylle et de pigments assimilateurs (**Genevès, 1990 ; Genevès, 1992**).
- **Mitochondries** : Elles existent dans le cytoplasme, elles sont de forme circulaire, ovale ou allongées. Souvent assez petites, dont les crêtes sont en général moins nombreuses et moins développées que chez les cormophytes (plante ayant comme appareil végétatif la tige et les feuilles) ou les animaux.
- **Membrane plasmique** : (ou Plasmalemme) elle est similaire à celle des autres eucaryotes, consistant en une bicouche de phospholipides, de protéines et de stérols associés (**Nasraoui, 2015**).
- **Thalle** : Le corps ou le thalle d'une moisissure est fait de deux parties : Le mycélium et les spores. Le mycélium est un ensemble de plusieurs filaments appelés hyphes.

Chaque hyphe mesure 5 à 10 µm de diamètre, possédant un cytoplasme commun (**Ait Abdelouahab, 2001**).

1.1.1.2 Classification des moisissures

Les moisissures se classent selon leur mode de reproduction sexuée et asexuée comme la plupart des autres champignons, en fonction du mode de reproduction, nous pouvons dénombrer quatre à cinq ordres de moisissures. En outre, lorsque la reproduction sexuée n'est pas connue, la division est appelée Deuteromycotina ou champignons imparfaits (**Blackwell *et al.*, 1998**).

- **Chytridiomycètes :** Ce sont les types de champignons les plus primitifs. Il est aqueux, au mycélium large peu ou pas cloisonné, dont les spores sont fournies avec un flagelle.
- **Zygomycètes :** La reproduction sexuée aboutit à la formation de zygospores d'où le nom Zygomycètes (**Chabasse, 2008**). Ce sont des champignons microscopiques essentiellement saprophytes à mycélium siphonné, à diamètre irrégulier pourvu de nombreux noyaux non séparés par des cloisons et produisent des spores non flagellés (**Bouchet *et al.*, 1999**).
- **Ascomycètes :** L'une des caractéristiques principales de ces moisissures est la formation de l'asque au cours de la reproduction sexuée qui est le sporocyste. Cet asque d'où vient le nom ascomycètes contient un nombre défini de spores issus de la fusion de deux noyaux après méiose. Il peut être globuleux, cylindrique ou plus ou moins claviforme (**Benmessaoud, 2010**).
- **Basidiomycètes :** Ils sont caractérisés par la *production* de spores sexuées, appelées basidiospores, formées par bourgeonnement à l'apex de cellules allongées, les basides. Les Basidiomycètes ont un thalle cloisonné avec présence de « boucles » au niveau des cloisons et sont des parasites des végétaux et de véritable opportunistes chez l'homme (**Chabasse *et al.*, 2002**).
- **Deutéromycètes :** Ils sont considérés comme des champignons imparfaits avec un mycélium cloisonné. Leur mode de reproduction est végétative et est réalisée par des spores asexuées ou par une simple fragmentation des du mycélium (**Boiron, 1996**).

1.1.1.3 Conditions de croissance des moisissures

- Eléments nutritifs

Hétérotrophes, les moisissures ont nécessairement besoin d'éléments nutritifs (carbone, azote et ions minéraux) de base pour leur croissance dans un milieu (**Davet, 1996**). Pratiquement, tous les composés organiques peuvent être utilisés comme source de carbone et d'énergie par les moisissures (**Boiron, 1996 ; Nicklin *et al.*,2000**). La présence de certains ions minéraux et métaux est importante dans le milieu nutritif pour la croissance et la prolifération des moisissures, parmi ces éléments on retrouve le sulfate, le magnésium, le potassium, le sodium et le phosphore avec des concentrations plus au moins différentes selon l'espèce (**Uchikoba *et al.*, 2001**).

- Facteurs physicochimiques

- **Température** : La majorité des champignons, surtout les moisissures sont considérées comme des mésophiles, c'est-à-dire une température de croissance qui varie entre 20-25°C en moyenne (**Anonyme, 2009**). Cependant, certaines espèces de moisissures présentent des caractéristiques spécifiques en ce qui concerne leur température de croissance. Ainsi, on définit des températures cardinales, comprenant les températures minimales, optimales et maximales de croissance. La température joue un rôle prépondérant dans la croissance mycélienne, elle intervient également dans la sporulation et la germination des spores (**Bourgeois, 1989**).
- **Humidité** : Il a été montré qu'il y a une relation entre l'humidité dans l'aliment et la capacité de croissance microbienne et la plupart des moisissures préfèrent une activité de l'eau a_w entre 0,85 et 0,99 pour leur développement. (**Nguyen, 2007**). Certaines moisissures requièrent un taux d'humidité très élevé pour croître tandis que d'autres préfèrent des taux beaucoup moins élevés (**Rapport INSPQ, 2002**).
- **Composition gazeuse** : les moisissures sont généralement considérées comme des organismes ayant une dépendance en oxygène (aérobies). Une diminution du taux d'oxygène et surtout un accroissement de la teneur en CO_2 dans le milieu peut freiner la croissance des moisissures. Toutefois, certaines espèces de moisissures font l'exception, c'est le cas de l'espèce *Bacillus nivea* qui est anaérobie et produit de la patuline même en anaérobiose (**Le Bars *et al.*, 1987**).

- **Le pH :** La grande majorité des moisissures peut se développer dans une zone de pH de 4,5-8 (**Larpent *et al.*, 1997**). Les moisissures sont en générales acidophiles, et sont capables de se développer à pH entre 3-7 (**Guiraud., 1998**).

1.1.1.4 Mode de vie des moisissures

Selon leur mode de vie, les moisissures sont classées en trois grandes catégories : il s'agit des saprophytes, des parasites et des symbiotes.

- **Saprophytisme :** C'est un mode de vie où les moisissures vivent au dépend des substances mortes d'origines animale ou végétale (**Bouchet *et al.*, 1999**). Les moisissures saprophytes jouent un rôle important dans le cycle de décomposition en minéralisant les matières végétales ou animales mortes (**Marouf et Reynaud, 2007**).
- **Parasitisme :** Contrairement au saprophytisme, le parasitisme se fait au dépend des organismes vivants où les moisissures parasites sont nuisibles et nocives à leur hôte (**Florent, 1993**). C'est le cas des espèces responsables de maladies sur les végétaux tel que l'oïdium (blanc) (**Bouchet *et al.*, 1999**).
- **Symbiose :** Il est considéré comme la collaboration ou l'association gagnante-gagnante entre deux organismes d'espèces différentes, pouvant appartenir à des règnes différents et vivant en équilibre les uns avec les autres (**Raven *et al.*, 2000 ; Marouf et Reynaud, 2007**).

1.1.1.5 Champignons extrêmophiles

Est considéré comme extrêmophiles, tous les microorganismes capables de vivre, croitre et de proliférer dans des conditions anormales (température, pH, milieu pauvre en nutriments etc…) considérées comme létales pour les autres microorganismes (**Quérellou et Guezennec, 2010**). Parmi les microorganismes extrêmophiles on retrouve : *Pyrolobus fumarii*, *Sulfolobus acidocaldarius*, *Thermococcus gammatolerans Bacillus infernus* (https://fr.wikipedia.org/wiki/Extr%C3%AAmophile, consulté le 03/03/2022)… .

1.1.1.5.1 Champignons thermophiles

Les moisissures thermophiles sont des moisissures qui se développent à des températures relativement élevées, entre 45°C et 80°C (**Madigan et Martino, 2006**). On peut citer comme microorganismes thermophiles : des streptomycètes, Neocallimastix,

des cyanobactéries, des *Clostridium*, des *Bacillus*, des *Mycothermus thermophilus*, des *Fusarium spp*, des *Thermomyces lanuginosus* (https://fr.wikipedia.org/wiki/Extr%C3%AAmophile,consulté le 03/03/2022).

1.1.1.5.2 Champignons halophiles

Les halophiles représentent un groupe de microorganismes qui vivent dans les environnements hypersalins et exigent dans beaucoup de cas la salinité pour survivre (**DasSarma, 2001**). Exemples de microorganismes halophiles, l'ordre des Halobacteriales (*Halobacterium, Halococcus, Haloarcula, Haloferax, Natronococcus*) (https://fr.wikipedia.org/wiki/Extr%C3%AAmophile,consulté le 03/03/2022)... .

1.1.1.5.3 Champignons acidophiles et alcalophiles

Les moisissures acidophiles sont des moisissures capables de croitre à un pH très faible de l'ordre de 2 (**Morozkina *et al.*, 2010**). Tandis que, les champignons alcalophiles sont capables de se développer de façon optimale à un pH supérieur à 9, souvent avec un pH optimum autour de 10 (**Horikoshi, 1999**).

1.1.1.6 Milieux extrêmes

Jusqu'au 20 siècle, la conception de la vie était majoritairement centrée sur les organismes multicellulaires, en particulier les animaux et les plantes. En effet, les microorganismes se trouvent généralement dans des milieux naturels comme, sur les végétaux, la matière organique en décomposition, à la surface d'eau stagnante ainsi que dans le sol ou à la surface de ce dernier était méconnu (**Malloch, 1997**). Puis, les recherches ont démontré l'existence d'autres organismes tels que les microorganismes capables de vivre dans des conditions extrêmes physiques et/ou chimiques (**Peduzzi *et al.*, 2006**).

Ces êtres exceptionnels qui défient les lois de la biologie et créent la vie ou l'homme n'osait l'imaginer sont qualifiées d'extrêmophiles (exemple de milieu extrêmes) (**Echigo *et al.*, 2005**), et ces conditions extrêmes permettent leur croissance et développement (**Pikuta et Hoover, 2007**)

Considéré comme le socle de tous ces environnements le sol était longtemps considéré comme un simple support de l'agriculture (**Calvet, 2000**). Le sol est l'habitat d'une variété d'organismes, y compris les bactéries, les champignons, les protozoaires, les

insectes, les nématodes, les vers, et de nombreux autres animaux (**Prescott *et al.*, 1995**). Il existe différents groupes de milieux extrêmes. Tous sont répartis en fonction des paramètres physiques (pression, température…), ou chimiques (acidité, salinité …). La température, le pH et la salinité interagissent très fortement dans un biotope extrême (**Kristjansson et Hreggvidsson, 1995**).

1.1.1.6.1 Environnements à hautes températures

La température est une variable importante dans chaque écosystème. La vie aux températures élevées est classée en forme thermophile ou hyperthermophiles, c'est entre 45°C et 80°C (**Madigan et Martino, 2006**).

1.1.1.6.2 Environnements hypersalins

Les milieux hypersalins sont ceux dont la teneur en sels dissouts est supérieure à celle de l'eau de mer (35g/l) (**Satyanarayana *et al.*, 2005**).

1.1.1.6.3 Environnements à pH acide et à pH alcalin

Les environnements acides sont particulièrement intéressants car, en général, le faible pH de l'habitat est la conséquence du métabolisme des microorganismes qui se développent de façon optimale à un pH de 2. Cependant, un environnement alcalin est caractérisé par un pH de 10 ou plus (**Morozkina *et al.*, 2010**).

1.1.2 Mode de reproduction

Comme tous les autres organismes vivants, les moisissures à un certain temps de développement doivent se reproduire puis se propager pour aller coloniser d'autres substrats. Ainsi, des recherches ont montré que les spores ont été toujours associées à la reproduction des moisissures et deux modes de reproduction sont connus depuis lors la reproduction asexuée (champignon anamorphe) et la reproduction sexuée (champignon téléomorphe). Certains champignons, chez lesquels, les deux formes coexistent sont appelés holomorphes (Figure 1).

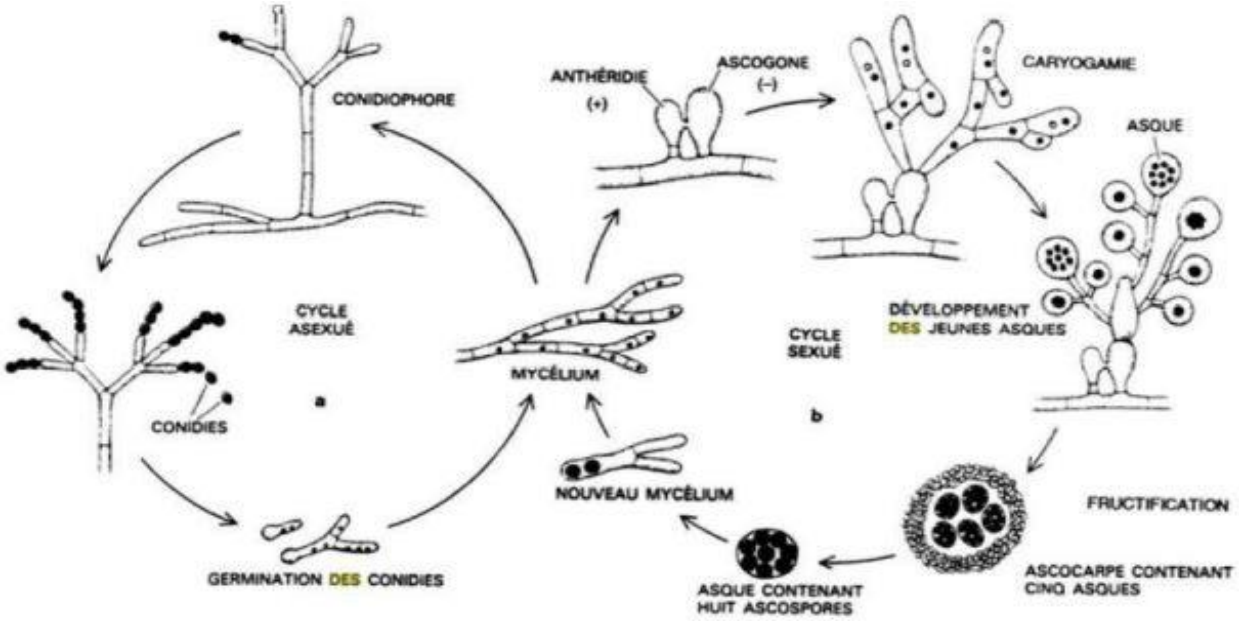


Figure 1.1 : Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure (**Lecellier, 2013**).

1.1.2.1 Reproduction sexuée

Elle se fait par des spores obtenues à la suite d'une méiose et Selon **Tortora *et al.*, (2007)** elle se résume donc en trois phases :

- **Plasmogamie** : phase où se réalise la fusion protoplasmique.
- **Caryogamie** : les noyaux plus et moins fusionnés forment le noyau diploïde d'un zygote.
- **Méiose** : le noyau diploïde donne naissance à des noyaux haploïdes (spores sexuées).

1.1.2.2 Reproduction asexuée

Les spores représentent le mode de reproduction asexuée le plus commun chez les champignons. Elles sont produites soit dans des sporanges, soit à partir de cellules d'hyphes appelées ; cellules conidiogénes (**Raven *et al.*, 2000**).

1.1.3 Moisissures mycotoxinogènes

1.1.3.1 Mycotoxines

Les mycotoxines sont considérées comme des substances toxiques produites par les moisissures lorsque les conditions environnementales s'y présentent. Ce sont des métabolites secondaires, de faible poids moléculaire, présentes dans les aliments et pouvant engendrer des effets néfastes sur la santé humaine et animale (**Mayer, 1953 ; Coker, 1997**).

Les recherches sur les toxines produites par les champignons ont démontré que toutes les moisissures ne sont pas toxinogènes et parmi les quelques 200 espèces réputées comme toxinogènes, d'autres produisent peu ou pas de toxines. Ainsi, sur les milliers de toxines identifiées seulement une vingtaine ont été associées à des cas d'infections en santé humaine et animale (**Cahagnier *et al.,* 1998**). Les infections causées par les moisissures sont généralement regroupées en trois classes : systémiques, opportunistes et superficielles. L'infection systémique consiste au passage d'une moisissure, d'une spore ou d'un fragment de cette moisissure dans le sang, telle l'histoplasmose qui est causée *par Histoplasma capsulatum*, qui se trouve notamment dans les excréments d'oiseaux. Les infections opportunistes se limitent généralement aux personnes ayant un système immunitaire défaillant. Tandis que, les infections superficielles sont liées à la peau, au cuir chevelu et aux ongles. Ces infections se font généralement par contact avec des souches de moisissures et la transmission par l'air parait la plus probable (**Guide Technique IRSST, 2001**).

1.1.3.2 Espèces toxinogènes

Il existe une centaine de souches de moisissures reconnues pour causer des problèmes de santé autant aux hommes qu'aux animaux. Parmi elles, on retrouve :

- Les *Aspergillus* : il s'agit d'un groupe très important dans la mycologie alimentaire tant par leur aspect morphologique et par la fréquence que par le pouvoir toxinogène de certains d'entre eux. Ils sont thermotolérants et les espèces les plus fréquentes sont *Aspergillus falvus, Aspergillus parasitines, Aspergillus Sulfureux* (**Botton *et al.,* 1990**).

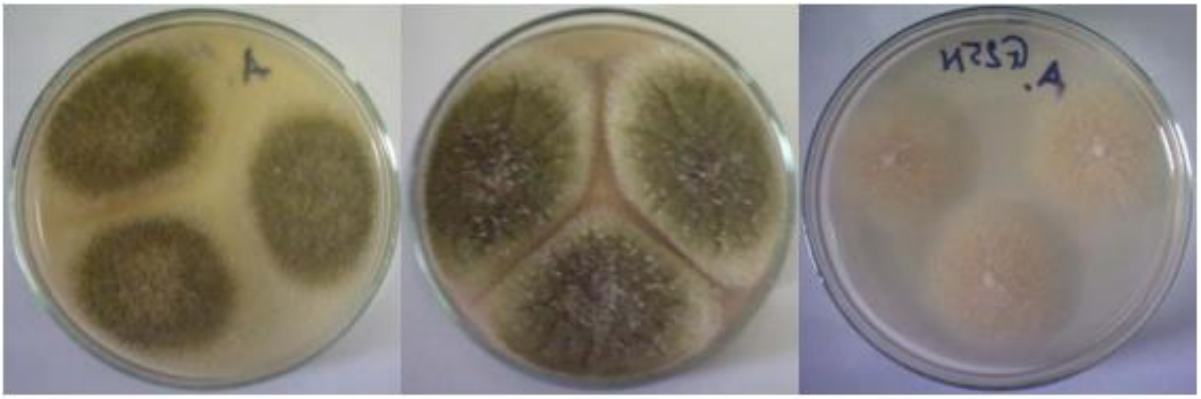


Figure 1.2 : Colonie *d'Aspergillus parasiticus* sur CYA, MEA, G25N (de gauche à droite) à 25°C après 7 jours d'incubation (**Nguyen Tri, 2007**).

- *Fusarium* : Ils sont largement répandus du point de vue géographique car les fusarium se trouvent généralement dans le sol, quelques-uns sont parasites des plantes (panitue des racines tiges, fruits) quelques espèces se développent sur les denrées stockeés. On peut citer différentes espèces comme : *Fusarium gramineum, Fusarium graminearum* (**Botton *et al.,* 1990**).
- *Pénicilliums* : C'est un groupe extrêmement cosmopolite et polyphagie. Leur aspect morphologique varie selon le milieu et au cours des repiquages. Les espèces les plus répandues sont *Penicillium patulum, Penicilium claviforme* (**Botton *et al.,* 1990**).

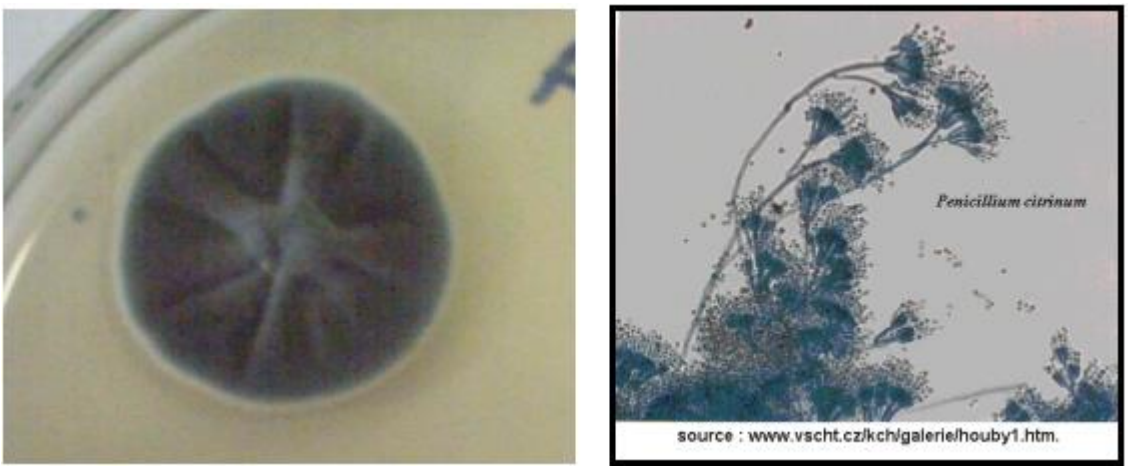


Figure 1.3 : Colonie de *P. citrinum* sur milieu CYA (gauche) à 25°C, après 7 jours d'incubation et les têtes de conidies (droite) (**Nguyen Tri, 2007**).

1.1.4 Activité enzymatique

1.1.4.1 Métabolites secondaires

Au cours de leur croissance sur un milieu nutritif, les moisissures produisent des substances qui sont essentielles à leur développement nommées métabolites primaires. Cependant, sous certaines conditions peu favorables à leur croissance, les moisissures peuvent produire d'autres substances (métabolites sécondaires) pour leur défense contre d'autres organismes (insectes, microorganismes etc…) (**Guide Technique IRSST, 2001**). En effet, les champignons sont reconnus comme étant de véritables producteurs de métabolites secondaires. En **1971, Turner** en avait enregistré environ 1000 métabolites secondaires mais ce chiffre a doublé en 1983 (**Turner et Aldridge, 1983**). Les métabolites secondaires des champignons sont d'une grande importance économique pour les industries. Ainsi, les antibiotiques comme les pénicillines, les céphalosporines et la cyclosporine B (immunosuppressive) sont largement prescrites comme médicaments et sont classées dans les 5 % de vente des produits pharmaceutiques (**Hawksworth, 1992 ; Whalley, 1994**).

Toutefois, d'autres métabolites secondaires des champignons sont vus d'un mauvais œil. Les mycotoxines sont aussi des métabolites secondaires qui sont dérivés de précurseurs issus du métabolisme primaire, tels que l'acétyl-CoA, les acides aminés, les phénols ou les composés terpéniques (**Diagnostic Microbien, 2002**). Les mycotoxines sont considérées comme des moyens de défense des champignons pour se protéger contre les parasites et d'autres organismes en concurrence pour le même milieu nutritif (**Adams, 2002**). En outre, ces substances ne sont pas volatiles et peuvent perdurer sur les aliments ou les surfaces contaminées (**Nielsen, 2002 ; Mold-Help, 2001**). La production des mycotoxines par les champignons est étroitement liée aux conditions environnementales spécifiques, telles que la composition du milieu de culture, l'activité de l'eau, la valeur du pH, la température, la teneur en oxygène, et la présence d'organismes compétitifs (**Davis, 2001 ; Johanning, *et al.*, 2002**). Plusieurs recherches ont été menées dans ce domaine pour mieux comprendre le rapport entre la contamination fongique et la production des mycotoxines (**Graniti, 1991**).

1.1.4.2 Quelques types de mycotoxines

1.1.4.2.1 Citrinine (CIT)

En 1931, la citrine (CIT) était considérée comme un antibiotique avant d'être retirée à cause de sa présumé toxicité (**Adams *et al.*, 2002**). Considérée comme un métabolite secondaire toxique tout d'abord été isolé chez *P. citrinum* (**Hetherington, 1931**), puis d'autres espèces se sont révélées comme productrices de la CIT au fil des années, en l'occurence *Penicillium* (**Ei-Banna *et al.*, 1987**), d'*Aspergillus* (**Kurata, 1990**) et de *Monascus* (**Blanc *et al.*, 1995a, 1995b**). Les aliments à céréales comme le maïs, blé, orge, riz, fruits, produits de céréales, sont les plus vulnérables aux espèces productrices de la CIT (**Janardhana *et al.*, 1999 ; Comerio *et al.*, 1998 ; Abramson *et al.*, 1999 ; Aziz, 2002 ; Meister, 2004**).

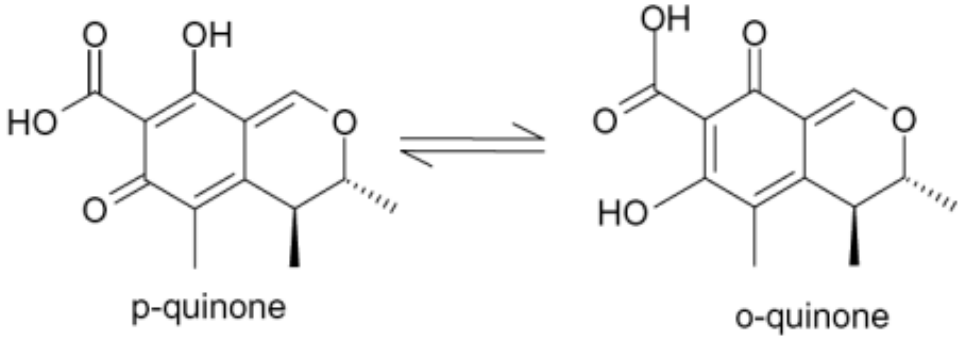


Figure 1.4 : Structures isomériques de la CIT (**Nguyen Tri, 2007**).

1.1.4.2.2 Aflatoxine (AF)

Découverte en 1960 à la suite d'hépatites toxiques d'étiologie causant d'importante perte dans des élevages de dindons, l'aflatoxine fut isolée de l'arachide destinée à la consommation animale. Ce sont les Anglais qui ont isolé une des molécules responsables, l'AF (**Adams *et al.*, 2002 ; Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005**) et elles sont produites par *Aspergillus flavus* et dans une moindre mesure par *Aspergillus parasiticus* (**Cahagnier, 1998 ; Larpent *et al.*, 1985**). En 1971, une activité cancérigène de AF a été démontrée chez les animaux. En 1987, les AFs ont été classées dans le groupe I (produits cancérogènes pour l'homme) par l'IARC (International Agence for Research on Cancer) et leur effet cancérigène est déclenché par une interaction ADN-AF (**Castegnaro, 1999**). La pénétration

dans l'organisme de l'AF peut avoir lieu par voie orale et trachéale. L'absorption est rapide et s'effectue au niveau de l'intestin grêle dans la partie duodénale. Comme beaucoup de métabolites secondaires, les AFs sont une famille de composés relativement proches, le plus abondant et dont le plus toxique est l'AFB1 (**Adams *et al.*, 2002**). Les AFs, à l'état sec, sont généralement très stable jusqu'au point de fusion. Cependant, lorsque l'humidité et la température sont relativement élevées cela peut entrainer une destruction des AFs selon le temps d'exposition. Ainsi, il semble qu'un tel traitement provoque e l'ouverture du cycle lactone avec possibilité de décarboxylation aux températures élevées (**Castegnaro *et al.*, 2006**).

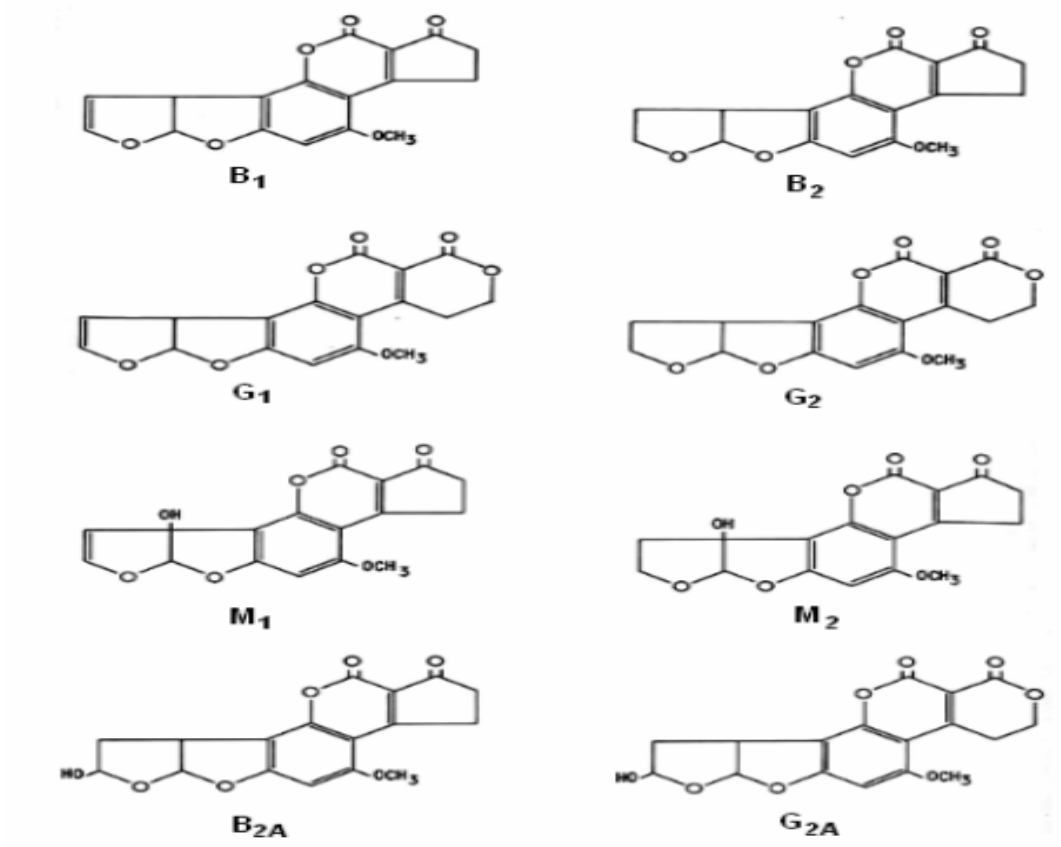
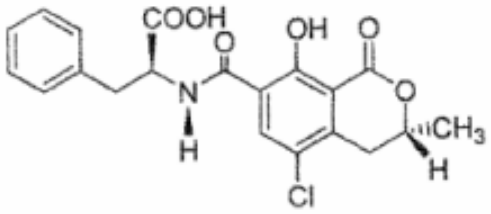


Figure 1.5 : Structures chimiques des aflatoxines (**Nguyen Tri, 2007**).

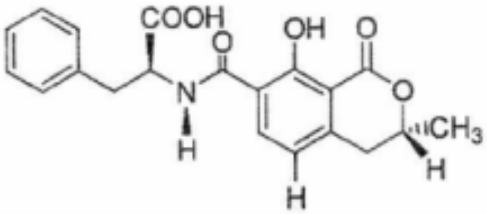
1.1.4.2.3 Ochratoxine A (OTA)

Découverte pour la première fois chez *Aspergillus ochraceus* (**Van der Merwe *et al.*,1965**), l'ochratoxine est produite par deux genres fongiques *Aspergillus* (*A. ochraceus, A. cabonarius, A. niger*, etc.) et *Penicillium* (*P. verrucosum, P. nordicum,* etc.). L'OTA se retrouve dans différentes régions du monde car le genre *Aspergillus* est considéré comme

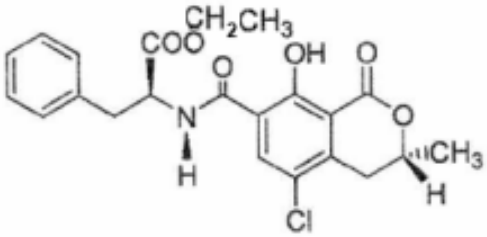
xérophile et peut croître à une température de 35 °C tandis que le genre *Penicillium* s'adapte mieux aux climats tempérés (**Smith *et al.*, 1994**). Par exemple, l'OTA et ses champignons producteurs ont été trouvés dans les céréales et les produits dérivés, le café, le raisin, etc (**Frisvad et Viuf, 1986 ; Pohland *et al.*, 1992, Jorgensen, 2005**). En plus de l'ochratoxine A, on retrouve dans la nature l'ochratoxine B et l'ochratoxine C. L'OTB est le dérivé non chloré de l'OTA en revanche l'OTB en est son ester éthylique. La différence entre les trois ochratoxines se trouve au niveau de leur pouvoir toxique. Ainsi, l'OTA est plus toxique que l'OTB, mais moins que l'OTC (**Cole *et al.*, 2003b**). Aussi, une application de l'hypochlorite de sodium à 4% permet une dégradation complète de l'OTA (**Castegnaro *et al.*, 1991**). L'OTA est néphrotoxique (cancérogène rénal lors d'une exposition à long terme) pour l'homme et l'animal à l'exception des ruminants (**Pfohl-Leszkowicz & Castegnaro, 2005, Tozlovanu *et al.*, 2006, Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2007**). Ainsi, certains pays européens ont établi des normes d'OTA tolérées permettant de fixer à 3 µg/kg dans les céréales transformées et, dans les céréales brutes, 5 µg/kg dans les grains de café, 2 µg/l dans le vin et le jus de raisin (**Olsen *et al.*, 2003, Règlement (CE) N° 1881/2006**).



Ochratoxine A



Ochratoxine B



Ochratoxine C

Figure 1.6 : Structure chimique des ochratoxines A, B et C (**Nguyen Tri, 2007**).

1.1.4.2.4 Trichothécènes

La trichotécène est une mycotoxine produite par le genre *Fusarium* qui s'attaque généralement aux céréales en se développant sur les épis (blé, mais, avoine, orge, …) sous certaines conditions d'humidité et de température froide. Le passage des trichothécènes dans la chaîne alimentaire peut entrainer des troubles de santé grave chez l'homme et les animaux appelé l'aleucie mais ces toxines ne sont ni génétoxique et ni cancérogène. Ces toxines ont généralement pour cible la moelle osseuse d'où s'en suit une diminution du nombre de globule blanc et causent aussi des muqueuses du tube digestifs (**Cahagnier, 1998**).

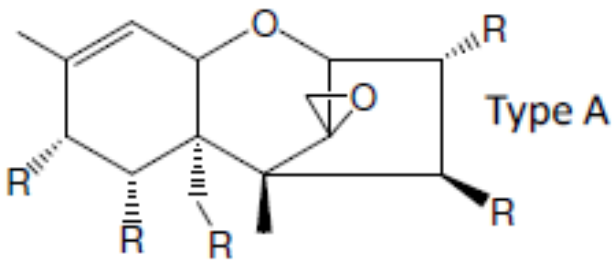


Figure 1.7 : Structure chimique Trichothécènes (**Susan McCormick, 2011**)

1.2 Pesticides

1.2.1 Généralité sur les pesticides

1.2.1.1 Définition

Le mot « pesticide » se compose du suffixe commun -cide, du latin caedo, caedere, qui signifie tuer, et du mot -pestis, qui désigne un animal nuisible, un fléau. Considérés comme des tueurs de parasites, les pesticides. Ils servent également à combattre les différents vecteurs de maladies humaines ou animales (**RIPS, 2012**). Selon la définition de la FAO (1990), un pesticide est une substance utilisée pour neutraliser ou détruire un ravageur, un vecteur de maladie humain ou animale, une espèce végétale ou animale nocive ou gênante au cours de la production ou de l'entreposage de produits agricoles (**Fatima, 2010**). Ainsi, un pesticide chimique est défini comme toute substance chimique capable de repousser, détruire ou combattre les ravageurs et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux. En outre, d'autres substances peuvent être considérées comme pesticides telles que les régulateurs de croissance des plantes, les défoliants (pour faire tomber les feuilles), les dessiccants (pour absorber l'humidité), les agents qui réduisent le nombre de fruits ou

évitent leur chute précoce ainsi que les substances appliquées avant ou après récolte pour conserver les produits pendant leur stockage et leur transport (**Gest, 2009**).

On retrouve près de 100 familles chimiques de pesticides telles que les organophosphorés, organochlorés, carbamates, Pyréthrinoides, Triazines et 10 000 d'entre eux sont déjà disponible sur le marché, composés de la matière active et d'adjuvants et qui se présentent sous différentes formes (liquides, solides : granulés, poudres) (**Gest, 2009**).

1.2.1.2 Historique

Débuté dans les années 1930, les pesticides chimiques ont profité du développement de la chimie organique de synthèse et de la recherche sur les armes chimiques durant la première guerre mondiale. Cependant, en 1840, Zeidler synthétisait déjà le DDT (Dichloro Diphényle Trichloroéthane), dont Muller en 1939 établit les propriétés insecticides. En 1943, la DDT ouvre la voie à la famille des organochlorés et fut commercialisé jusqu'au début des années 1970. En 1944, l'herbicide 2,4-D (l'acide 2,4 dichlorophénoxycétique) était utilisé comme constituant de l'argent orange, un mélange d'herbicides utilisé durant la guerre du Vietnam et responsable de nombreuses maladies (cancers, malformations à la naissance) (**Mairif.S, 2015**). En 1950, le Malathion est le premier organochloré insecticide qui a été développé en même temps que l'herbicide l'acide phénoxycetiques, les deux pesticides présentent une très faible toxicité pour les mammifères (**Mosbah, 2008**). Les herbicides de la famille des urées substituées (linuron, diuron) se sont développés aux Etats-Unis entre 1950 et 1955, suivis peu après par les herbicides du groupe ammonium quaternaire et Triazines. Dans les années 1970-1980, apparait une nouvelle classe d'insecticides, les pyréthrioïdes qui dominent pour leur part le marché des insecticides (**Yamina et Yassamina, 2017**).

La recherche des matières actives se faisait au hasard auparavant, jusqu'à ce que les recherches soient focalisées sur la compréhension des modes d'action et la recherche de cibles nouvelles (relation structure-activité). Ainsi, de nouvelles propriétés et cibles physiologiques provenant de la biotechnologie ou des médiateurs chimiques donnent des produits à modes d'action originaux (https://fracademic.com/dic.nsf/frwiki/1328518#Historique, consulté le 18/05/2022). D'une trentaine en 1950, le nombre de matière active est passé à 500 substances (peut-être

même 1000). Un tel accroissement a permis d'augmenter les rendements des cultures et à lutter contre les vecteurs de maladies. Cependant, leur impact environnemental est l'un des plus dramatiques et l'un des plus insidieux qu'ait connu l'humanité jusqu'à nos jours (**Mairif.S, 2015**).

1.2.2 Classification

Avec près de 100 familles, une grande variabilité et une multitude de structures, les pesticides chimiques sont difficilement classables : la classification se fait soit en fonction de la nature chimique de la substance principale qui la compose (premier type de classification) soit en fonction de la cible à combattre (deuxième type de classification) (**ACTA, 2006**). Ainsi, en fonction de la nature de la substance principale qui compose un pesticide chimique nous pouvons dénombrer les organochlorés, organophosphorés, carbamates, pyréthrinoïdes, triazines, urées substituées. Le deuxième type de classification regroupe essentiellement les insecticides, les herbicides et les fongicides.

1.2.2.1 Premier type de classification

1.2.2.1.1 Organochlorés

Ces molécules sont obtenues par chloration d'hydrocarbures aromatiques, elles ont largement servi au départ comme insecticide pour l'agriculture, et dans la santé humaine comme moyen de lutte contre les insectes vecteurs du paludisme dans les régions tropicales et intertropicales. Certaines propriétés comme la forte rémanence temporelle et une faible spécificité caractérisent l'organochloré et ses successeurs (Lindane, Dieldrine, Chlordane, Chlordecone, Perchlordecon). Ces caractéristiques étaient considérées au début comme essentielles dans la lutte contre les ravageurs, mais celles-ci ont fait des organochlorés un danger à long terme pour l'environnement de leurs effets mutagènes, tératogènes et cancérigènes (**Rapport Direction régionale de l'environnement Guadeloupe, 2003**).

1.2.2.1.2 Organophosphorés

Les organophosphorés sont des esters obtenus en faisant réagir divers alcools avec l'acide ortho phosphorique ou l'acide Thio phosphorique. A l'opposé des organochlorés, les organophosphorés présentent une faible rémanence temporelle (48 heures dans l'eau) et une meilleure sélectivité dans la lutte contre les insectes ravageurs, ce qui les a propulsés dans le choix des utilisateurs car ils sont biodégradables. L'action des organophosphorés se

manifeste par une inhibition irréversible de l'acétylcholinestérase au niveau des terminaisons nerveuses (**Tron, 2001 ; Manuel of pesticide, 2007 in Errami, 2012**).

1.2.2.1.3 Carbamates

Les carbamates sont des esters de l'acide N-méthyl carbamique qui servent d'insecticides, de nématicides et d'herbicides dont le précurseur de synthèse l'iso cyanate de méthyle est extrêmement toxique. Contrairement aux organophosphorés, les carbamates sont considérés comme des anticholinéstérasiques car leur action est réversible avec une solubilité dans l'eau et une toxicité variable d'une molécule à une autre (**Tron, 2001**). Leur demi-vie peut aller de quelques jours à plusieurs années dans les eaux souterraines (**Manuel of pesticide, 2007 in Errami, 2012**).

1.2.2.1.4 Pyréthrinoides

Les Pyréthrinoides sont des molécules qui ont un spectre d'action très large, et utilisés dans le traitement de certains fruits et des olives. Elles sont généralement très lipophiles, quasi insolubles dans l'eau et très peu volatils (**Jokanović., 2009**). Les Pyréthrinoides sont des esters formés d'acide chrysanthème mono carboxylique et par extension les groupes méthyles rattachés à la liaison double dans le groupe isobutényle peuvent être rattachés par des atomes d'halogène.

1.2.2.1.5 Triazines

Les triazines constituent un ensemble de molécules qui servent d'herbicides telles que l'atrazine, la simazine, le prométryne et le terbutryne dont le noyau insaturé est hexagonal formé de trois atomes de carbone et de trois atomes d'azote. Ces molécules sont généralement peu toxiques pour les animaux homéothermes, par contre, l'atrazine peut se dégrader pour donner la nitrosamine qui est une molécule cancérigène. Elles présentent une durée de demi-vie allant d'une année dans les sols à une trentaine d'années dans les eaux douces (**Manuel of pesticide, 2007 in Errami, 2012**), ce qui amène à revoir l'utilisation de ces molécules comme pesticide (**OPPTS, 2006**).

1.2.2.1.6 Urées substituées

Ce sont des molécules qui sont généralement utilisées comme herbicides telles que le diuron, le monuron et linuron. Elles agissent sur les végétaux par la perturbation de leur

photosynthèse. Avec une durée de demi-vie comprise entre un et trois mois, le diuron et le monuron se sont révélées être mutagènes et tératogènes. Ainsi, les urées substituées sont solubles dans l'eau, extrêmement toxiques pour les plantes aquatiques, les algues et les phanérogames marines (**Tron, 2001**).

1.2.2.2 Deuxième type de classification

1.2.2.2.1 Fongicides

Ils servent à combattre la prolifération des champignons pathogènes, permettant de lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent des graves dommages aux végétaux cultivés (**Cairns *et al.*, 1996**).

1.2.2.2.2 Insecticides

Les insecticides sont tous des substances qui tues les insectes, empêchant l'éclosion des œufs, altérant le développement normal des larves ou la maturation sexuelle (**Faurie *et al.*, 2003**). C'est le plus important groupe de pesticides qui englobe plusieurs familles : les insecticides organochlorés, les insecticides carbamates, les insecticides organophosphorées, les insecticides végétaux et autre produits (**Belmonte *et al.*, 2005**).

1.2.2.2.3 Herbicides

Ce sont des substances destinées à éliminer les mauvaises herbes adventices des cultures (Tableau 1). Ils ont des modes d'action peu diversifiée car ils agissent sur une ou plusieurs étapes de la photosynthèse (**Cairns *et al.*, 1996 ; Hildebrandt *et al.*, 2008**).

Type des pesticides	Organismes cibles
Acaricides	Acariens
Avicides	Oiseaux
Bactéricides	Bactéries
Corvicides	Corbeaux
Fongicides	Champignons
Herbicides	Herbes adventives
Insecticides	Insectes
Molluscicides	Escargots et limaces
Nématicides	Nématodes
Rodenticides	Rongeurs

Tableau 1.1 : Classification des pesticides en fonction des organismes nuisibles cibles (**Boland *et al.*, 2007**).

1.2.3 Formulation

La plupart des pesticides retrouvés sur le marché sont des produits formulés et prêts à l'emploi. Les formulations dépendent de facteurs tels que la cible, la persistance souhaitée, la facilité d'application, et même les effets de réduction de la toxicité d'un produit (**UITA, 2004**). Voici quelques-unes des formulations les plus courantes :

- Poussières sèches, ou appâts granulés secs, par ex : boulettes anti-limaces, rongicides ;
- Poudres mouillables diluées avec de l'eau, à utiliser avec pulvérisateur ;
- Emulsions de liquides prêts à être diluées ;
- Concentré émulsifiable (CE) ;
- Suspension concentrée (SC) ;
- Formulation à très faible volume (ULV), pour la polarisation sous une forme concentrée en petites goulettes, en utilisent des équipements spécialisés ;
- Pesticides fumigènes, qui sont brulés dans un espace confiné (bandes et papiers à libération lente, utilisés dans les étables, les entrepôts pour les données alimentaires et pour la lutte contre les mouches) ;
- Aérosols.

1.2.4 Composition des pesticides

Selon **Fournier *et al.* (2002)** les pesticides sont composés d'une ou des substances actives et d'autres éléments additifs qui permettent de leur donner une bonne formulation. En outre, selon (**Giry, 1998**), l'utilisation à l'état pur des molécules biocides (matières actives) peut mettre en danger la sécurité des utilisateurs. Il est donc recommandé de les utiliser sous formes diluées dans des préparations liquides ou sèches. Ainsi, le pesticide final commercial est un mélange de la substance active avec d'autres éléments tels que les diluants (solvant, charge), les additifs (matières colorants ou odorants) et les adjuvants (produits destinés à améliorer la performance de la substance active) qui peuvent eux-mêmes présenter une certaine toxicité pour la plante traitée et l'utilisateur (**Fournier *et al.*, 2002**). La formulation de la matière active avec d'autres éléments peut lui conférer un autre comportement qui peut être dépendamment de la manière dont celle-ci est utilisée. A titre d'exemple, le comportement du propanyl utilisé seul est très différent de celui lorsqu'il est formulé avec d'autres éléments (**Sanderson *et al.*, 1997**). En outre, **Adhya *et al.*, (1981a)**

ont noté que la stabilité du méthylparathion et d'autres organophosphorés a été accrue dans leur formulation commerciale lors de l'épandage sur les sols.

1.2.5 Domaines d'utilisation des pesticides

1.2.5.1 Agriculture

Le domaine de l'agriculture se présente comme l'un des secteurs le plus grand consommateur des pesticides chimiques pour conserver et combattre les organismes nuisibles contre les cultures. En effet, afin de préserver des cultures saines, les agriculteurs mènent une lutte incessante contre les insectes, champignons et maladies des plantes, et contre les mauvaises herbes qui les privent d'une partie de l'eau, des matières nutritives et de la lumière dont ont besoin les végétaux (**Yamina et Yassamina, 2017**). De plus, certains aliments nécessitent l'utilisation des pesticides au cours de leur stockage tels que la conservation des semences ou des céréales. La conservation des fruits avant et après récolte nécessite certains traitements comme l'utilisation des pesticides pour garantir leurs qualités physiques, gustatives et organoleptiques (**Alain Periquet *et al.*, 2004**).

1.2.5.2 Santé publique

Le secteur de la santé est un secteur très sensible à la prolifération de tout organisme pouvant nuire à la santé et au bien-être des patients et autres personnels travaillant dans ce secteur. Ainsi, les pesticides sont couramment utilisés dans le cadre de programmes de santé publique afin de lutter contre certaines maladies humaines, surtout dans les zones neurales (**Yamina et Yassamina, 2017**).

L'utilisation des pesticides permet de détruire ou réduire les vecteurs des maladies transmises d'humain à humain telles que le paludisme (moustique), la trypanosomiase ou maladie du sommeil (mouche tsé-tsé), le récit des rivières et la bilharziose et de même que les zoonoses (maladies) transmises par les animaux à l'homme (la leptospirose, la salmonellose, la peste, letyphus et la fièvre hémorragique) (**UITA, 2004**).

1.2.5.3 Autres domaines d'utilisation

Les pesticides sont utilisés aussi à titre préventif (par exemple du bois contre les termites). En plus, la lutte contre les mauvaises herbes dans les jardins d'agrément et à échelle industrielle est un autre grand domaine d'utilisation des pesticides (**UITA ,2004**).

1.2.6 Marché mondial des pesticides chimiques

De 7,8 milliards en 2020, la population mondiale est estimée à 9,8 milliards d'ici 2050. La conséquence directe d'une telle croissance expose à une grande consommation et à la création de nouvelles méthodes de production alimentaire. L'utilisation des pesticides dans l'agriculture a été l'un des points marquants dans la modernisation et la production en masse des denrées alimentaires. Ainsi, de sa première production jusqu'à nos jours, l'on constate de plus en plus une grande demande de ces produits chimiques. En 2020, le marché mondial des pesticides utilisés en agriculture a représenté un chiffre d'affaires annuel d'environ 53 milliards d'euros soit 61 milliards de dollars entre 2000 et 2020 (**Rapport BASIC, 2021**). En outre, sur ce marché de pesticides chimiques de synthèse, l'Europe longtemps première région de ventes dans le monde voit sa place s'éroder au profit de l'Amérique Latine, et de l'Extrême Orient, en particulier la Chine et l'Inde (Figure 6). Cependant, d'après les données publiées par la FAO le Brésil est le 3ème plus gros utilisateur au monde de pesticides pour l'agriculture après la Chine et les Etats-Unis et sont suivis au 4ème rang mondial par l'Argentine (**Phillips, 2019**) : ce qui a triplé en 20 ans, la valeur des exportations passant de 10 milliards d'euros en 2000 à 32 milliards en 2019 en 20 ans (**FAOSTAT, 2019**). En 2012, la Chine produisait déjà plus de la moitié de la production mondiale de pesticide et demeurait à cette période, le premier producteur avec 3,7 millions de tonnes annuelles, dont plus de la moitié était exportée (**http://news.agropages.com/News/Detail-34200.htm consulté le 14 octobre 2020**). Depuis 2018, la Chine est devenue le premier pays exportateur de pesticides chimiques de synthèse avec plus de 5 milliards de dollars d'export, reléguant ainsi l'Allemagne à la seconde place avec 4,6 milliards de dollars.

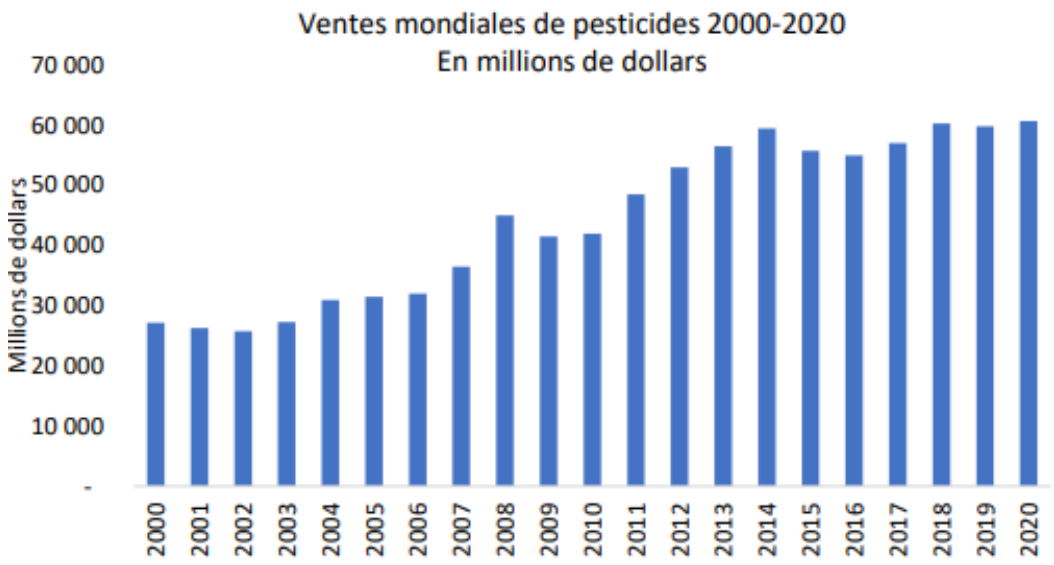


Figure 1.8 : Ventes mondiales de pesticides à usage agricole 2000-2019 (**BASIC, basé sur les données de Philips McDougall et IHS Markit**).

L'Europe représente près de 25% de la valeur totale des importations des pesticides dans le monde (**Rapport BASIC, 2021**). La France occupe le premier rang des plus gros consommateurs des pesticides, suivie par l'Allemagne, le Royaume-Uni, l'Espagne, l'Italie et la Belgique (Figure 7). Parmi, les pesticides les plus vendus, les herbicides occupent la première place et représentent à eux seuls environ la moitié des ventes suivis par les insecticides et les fongicides à parts à peu près égales (**Rapport BASIC, 2021**).

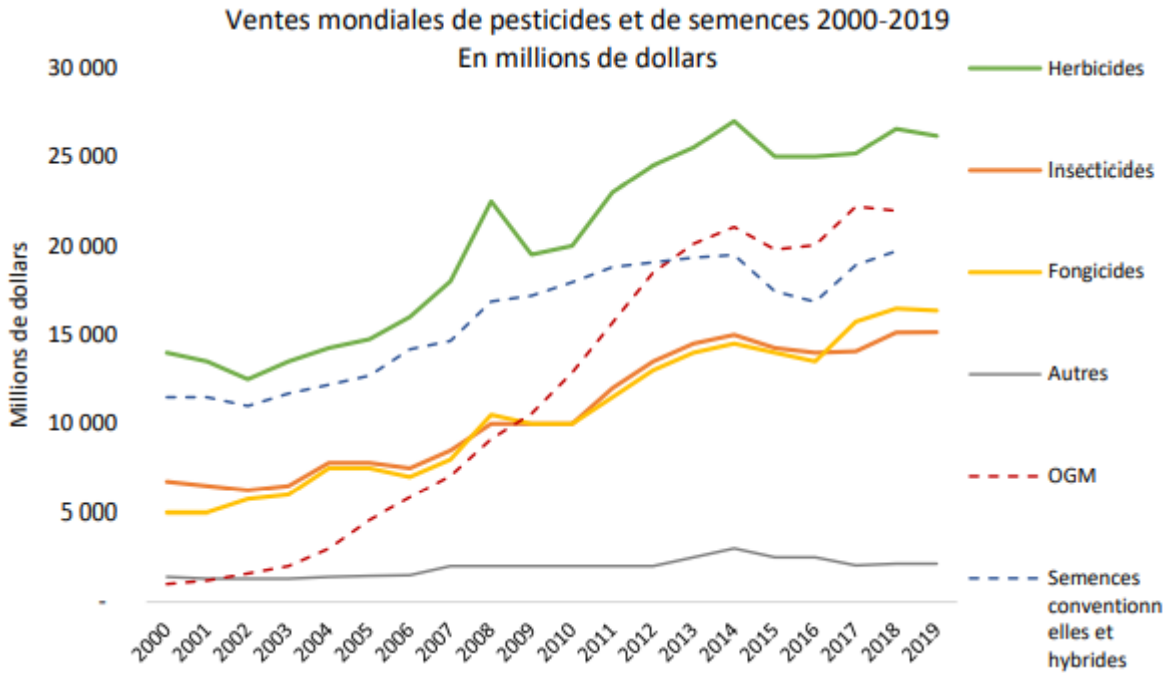


Figure 1.9 : Ventes mondiales de pesticides à usage agricole par produit commercialisé 2000-2019 et ventes mondiales de semences OGM et traditionnelles sur la même période (Source : **BASIC, d'après les données de Philips McDougall/IHS Markt**).

1.2.7 Inconvénients et Avantages

1.2.7.1 Inconvénients sur la santé et l'environnement

1.2.7.1.1 Impacts sur l'environnement

Le développement de nouvelles connaissances sur l'écotoxicologie et la valeur accordée aux éléments constitutifs de l'écosystème attire l'attention sur les effets toxiques secondaires des pesticides sur l'environnement (**Relyea, 2009**). En effet, leur implication dans la contamination des plans d'eau de surface et souterraine en plus de leurs effets néfastes sur la biodiversité faunique, parfois même à des distances appréciables de leurs sites d'application en raison de la pollution diffuse. Plusieurs composants subissent les effets toxiques secondaires des pesticides, tels que :

- **Pollution de l'eau** : L'eau constitue l'un des moyens de transport le plus important facilitant le transport des résidus toxiques des pesticides qui se retrouvent dans les eaux de surface, les eaux de pluie et dans les eaux souterraines, une fois que les pesticides sont appliqués sur le sol. Par ailleurs, la perméabilité du sol joue un rôle important dans la contamination des eaux par ces résidus toxiques. De ce fait, les

pesticides épandus sur un sol argileux auront tendance à ruisseler davantage que sur un sol sableux dans lequel ils pénètrent facilement (**Boileau Eve, 2015**). De plus, la texture du sol peut affecter le transport des résidus toxiques vers les eaux, un sol poreux riche en humus fait office de filtre et un sol riche en végétaux adsorbe ou absorbe les contaminants par son réseau racinaire (**Stevenson, 1972**).

Dans les pays tempérés comme le Canada, le phénomène de gel-dégel et le changement de saison contribuent d'autre part à la contamination des plans d'eau. En effet, la succession de changement brusque de température permet de libérer les résidus toxiques de pesticides contenus dans les agrégats de sol contenus dans de l'eau gelée. Et pendant le printemps, le sol gorgé expulse l'eau en libérant les résidus toxiques (**Boileau Eve, 2015**). Globalement, 2 % des pesticides sont estimés perdus, et ce, au détriment de la qualité des cours d'eau et des nappes phréatiques (**Samuel *et al.*, 2012**). D'après l'institut français de l'environnement, on trouve des résidus des pesticides dans 96 % des eaux superficielles et dans 61 % des eaux souterraines en France (**Aubertot, 2004**). En 2011, le gouvernement fédéral Canadien a émis de nouveaux seuils sécuritaires pour une série de pesticides qui risquent d'être présents dans l'eau potable destinée à la consommation humaine (**Boileau, 2015**).

Un autre facteur de la pollution des eaux par les résidus toxiques des pesticides est les effluents des régions agricoles. Le Canada regorge de vaste superficie pour la production de maïs et de soya. En conséquence, il requière de grande quantité de pesticides (**Boileau, 2015**). Les effluents de ces bassins versants sont donc plus susceptibles de recevoir des eaux de drainage contaminées aux pesticides, et les impacts sur les écosystèmes aquatiques ne sont pas moins préjudiciables d'un point de vue économique (**Echaubard, 2002**).

- **Pollution de l'air** : les pesticides peuvent se propager (volatiliser) dans l'air soit par diffusion éolienne soit par épandage après une pulvérisation. La diffusion à longue portée des aérosols de pesticides se fait d'autant plus facilement lorsqu'il fait chaud et les gouttelettes sont petites : on parle alors de dérive (**Boileau Eve, 2015**). Selon **Tellier** (**2006**). La volatilisation dépend de la pression de vapeur de la molécule. En effet, l'étude d'**Aulagnier et Poissant** (**2005**) a permis d'établir un lien entre les sommets des concentrations de pesticides dans l'atmosphère et la saison estivale en

raison des températures plus élevées en été (volatilisation facilitée). La destination finale des pesticides est assurée par les courants d'air et certains de ces pesticides peuvent avoir une durée de vie de 11 mois dans l'atmosphère. C'est le cas en particulier du lindane, un insecticide interdit depuis l998 et de la trifluraline (**Regnault, 2005**). Un éloignement de cette molécule de son champ d'action peut mettre en péril la santé des populations et la pérennité des écosystèmes fragiles et isolés (**Ritter *et al.*, 1995 ; Thurman et Cromwell, 2000; Garbarino, *et al.*, 2002; Aulagnier et Poissant, 2005; Yao *et al.*, 2006; Canada. Environnement Canada, 2011**).

- **Pollution du sol :** l'utilisation des pesticides chimiques de synthèse dans le but d'améliorer le rendement des cultures est à la base de nombreux changements dont la texture du sol et de nombreux phénomènes naturels qui met en péril l'écosystème des sols. De ce fait, les molécules bioactives ou les résidus des pesticides sont un réel danger pour les organismes du sol. La porosité du sol permettant à l'eau de s'y infiltrer et favoriser les échanges des gaz (CO_2, O_2) dans le sol constituent un phénomène essentiel au processus de respiration racinaire et pour la survie des microorganismes qui ont élu domicile dans le sol (**Shestak et Busse, 2005**). Selon, **Yasmin et D'Souza, (2010)** et **Pelosi *et al.* (2014),** l'utilisation des pesticides est un stress suffisant pour faire obstacle à la reproduction et à la croissance des vers de terre. Il en ressort des analyses que toutes expositions à fortes concentrations et/ou des contacts prolongés avec les pesticides à de faibles concentrations peut conduire à des effets néfastes sur la texture et le fonctionnement des sols (**Calvet et Charnay, 2002 ; Alix *et al.*, 2005**). En fin de compte, l'effet recherché (à priori amélioration des rendements agricoles) avec l'utilisation pesticides pourraient finir par avoir un effet néfaste sur la fertilité des sols (**Saha *et al.*, 2012**).

L'exposition de la faune et de la flore du sol aux pesticides se fait selon trois moyens d'exposition (soit par contact, soit par respiration ou soit par l'ingestion de tout élément dans l'environnement susceptible d'être contaminé aux pesticides) en fonction des espèces et des milieux. Il peut y arriver qu'un organisme soit touché simultanément par les trois moyens d'exposition dans un espace de temps relativement court. Ce phénomène s'est avéré par exemple chez les pollinisateurs

(**DiBartolomeis *et al.*, 2019**). Il existe également deux types d'exposition aux pesticides. Il s'agit de l'exposition aiguë, lorsque celle-ci implique une grande quantité de la substance considérée et qu'elle se fait sur un laps de temps relativement court, et de l'exposition chronique lorsqu'elle se fait en revanche sur une plus longue durée de manière répétée ou non. Le terme bioaccumulation permet de faire le lien entre l'épandage et le niveau d'exposition des pesticides. Ainsi, la bioaccumulation se définit comme étant l'accumulation progressive de substances chimiques à l'intérieur d'un organisme en raison d'une exposition prolongée et d'une incapacité à l'éliminer ou en raison d'une consommation d'un autre organisme contaminé (**Rapport BASIC, 2021**).

Les impacts identifiés de l'exposition aux pesticides chez les animaux se résument au moins sur six grands systèmes ou procédés biologiques à l'échelle infra-individuelle aussi bien chez les herbicides, les fongicides que chez les insecticides :

- Le système nerveux ;
- Le système immunitaire ;
- Le système endocrinien (régulation des hormones) ;
- Le métabolisme (alimentation, thermorégulation, et impacts indirects sur le comportement) ;
- L'embryogenèse (malformations des organes, éclosion tardive, mortalité des embryons…) ;
- Le système reproducteur (baisse de la fécondité, hermaphroditisme, démasculinisation…) (**Rapport BASIC, 2021**).

Chez les végétaux, les impacts sont classés selon le type de pesticides utilisés. C'est le cas par exemple des herbicides (Fig. I.10). En effet, leur utilisation peut entraîner des effets sur la biologie individuelle avec des impacts délétères sur l'état de santé. Les molécules bioactives des pesticides auraient la capacité d'empêcher le plus souvent la photosynthèse ou simuler les effets des régulateurs de croissance que la plante produit naturellement. Les fongicides quant à eux affectent la respiration, la biosynthèse des stérols ou la division cellulaire. De ce fait, les mycorhizes, champignons qui vivent en symbiose avec les plantes et leur permettent de mieux absorber les minéraux présents dans le sol, peuvent être impactés négativement par les pesticides (**Giovanetti *et al.*, 2006**).

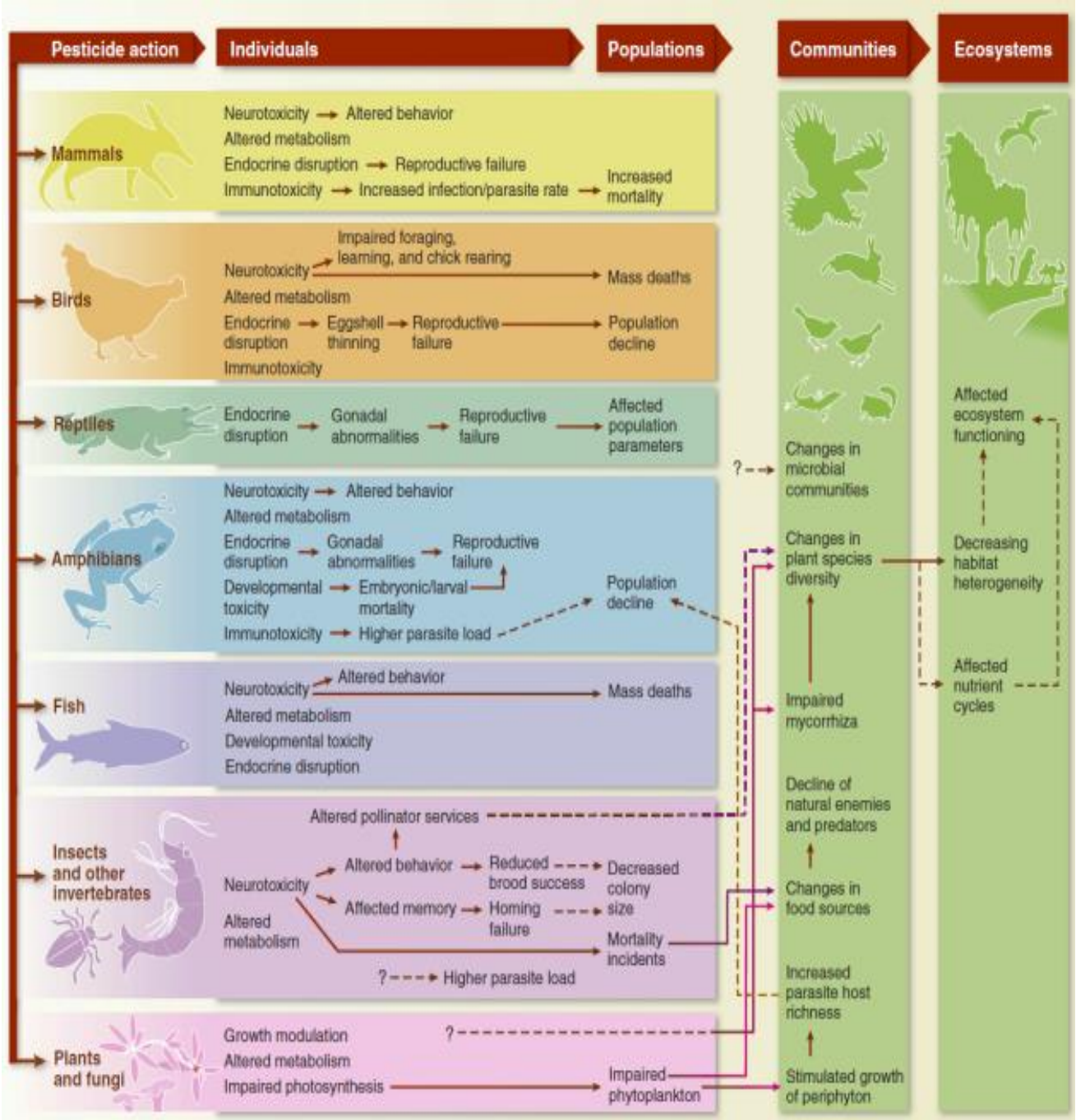


Figure 1.10: Les impacts des pesticides sur les espèces sauvages, depuis le niveau infra-individuel jusqu'aux impacts sur les écosystèmes (**Kohler *et al.*, 2013**).

1.2.7.1.2 Impacts sur la santé humaine

Considérés au début comme une solution durable aux nombreux défis de la sécurité alimentaire mondiale, et au-delà des effets néfastes cités ci-dessus, les pesticides au fil des années ont causé autant d'effets néfastes que bénéfique. Les effets récurrents de contamination des professionnels et des consommateurs par les résidus toxiques des

pesticides se signalent comme un problème de santé publique. Les résidus toxiques des pesticides se retrouvent en état de trace dans plusieurs aliments comme dans les fruits, les légumes, les produits céréaliers et les produits transformés (**Samuel *et al.*, 2010**). En outre, d'après le ministère de l'Environnement du Québec en 2004, ces résidus toxiques peuvent être transportés vers les sources d'eau potable par ruissellement et infiltration dans le sol, contaminant ainsi les eaux de surface et les nappes phréatiques et une telle exposition chronique peut engendrer de sérieux problèmes de santé chez les consommateurs.

- Effets néfastes de pesticides chez les manipulateurs

D'après la conférence de presse conjointe de la FAO/OMS/PNUE du 05/10/2004, le nombre de victime d'intoxication par les pesticides se situe entre 1 et 5 millions de personnes avec des milliers de cas mortels (**www.fne.asso.fr/, septembre 2007**), et parmi ces victimes les manipulateurs de pesticides (producteurs, agriculteurs, …) sont au premier rang des victimes (Fig. I.11). En conséquent, des études épidémiologiques réalisées par **Casas *et al.*** (**2010**) ont pu démontrer qu'une exposition aux pesticides peut provoquer des troubles de la reproduction chez l'homme et les animaux. En plus, il existe d'autres liens entre l'exposition aux pesticides et l'augmentation constante de l'incidence de certaines pathologies comme la diminution de l'immunité, les dysfonctionnements dans le développement neurocognitif, les anomalies congénitales, les leucémies, les tumeurs cérébrales et les autres cancers infantiles ainsi que les troubles neurologiques (**Dewailly *et al.*, 2000 ; Greenlee *et al.*, 2003 ; Menegaux *et al.*, 2006**). Par ailleurs, il est constaté que les hommes exposés chroniquement aux pesticides chimiques ont une concentration spermatique bien en-dessous de la limite considérée normale pour les hommes fertiles (**Oliva *et al.*, 2001 ; Velez *et al.*, 2001**). Des troubles neurologiques se traduisent par des maladies neuro-dégénératives comme les maladies de Parkinson et d'Alzheimer sont attribués à l'exposition aux pesticides (**Baldi, 2003**).

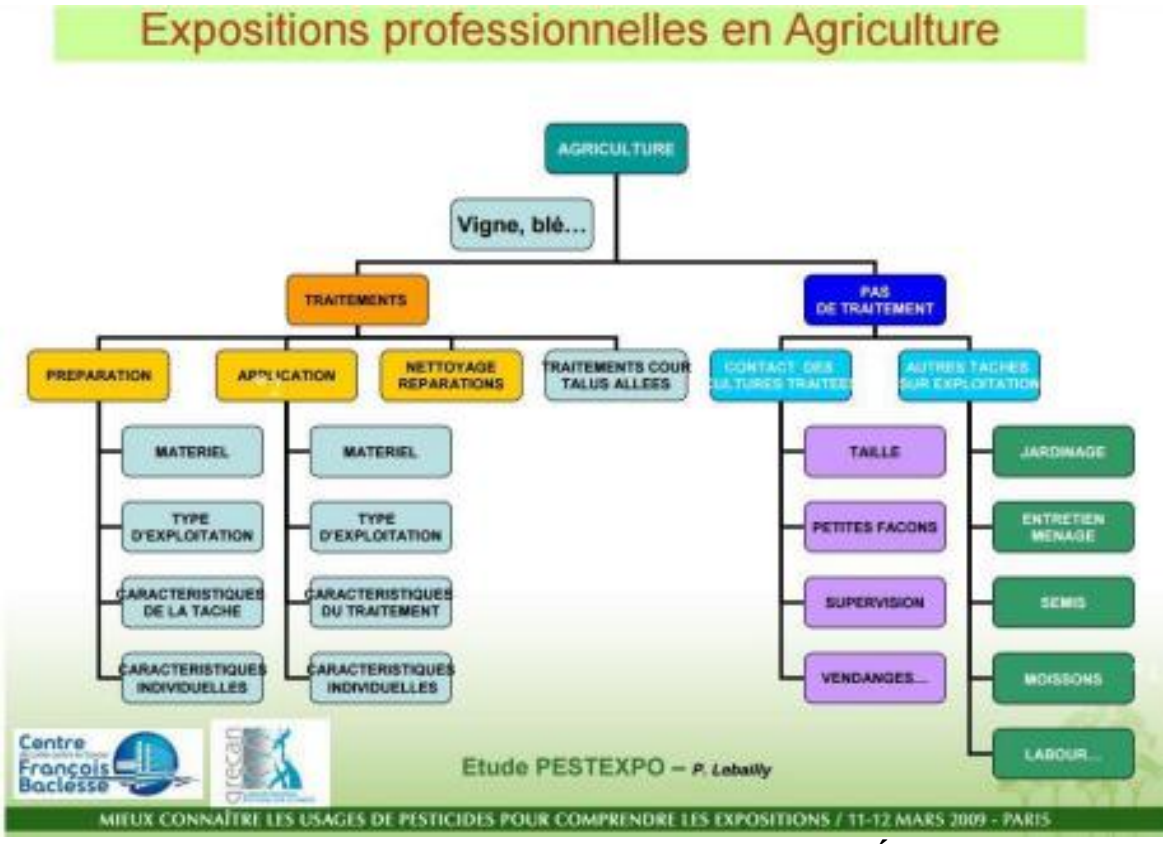


Figure 1.11 : Expositions des travailleurs agricoles (**LEBAILLY, Étude pestexpo, 2009**).

- Effets néfastes de pesticides chez les consommateurs

Si un lien a été établi entre plusieurs pathologies et certaines substances bioactives de pesticides trouvées dans les aliments traités, beaucoup d'études dans ce domaine sont peu concluantes ou se contredisent (**Demereaux *et al.*, 2020**). Toutes fois, une consommation d'aliments contaminés par les résidus toxiques des pesticides provoqueraient des troubles de santé très graves pour le consommateur. Ainsi certaines études concluraient qu'une exposition à l'endrine et au DDT favoriserait le développement de tumeurs mammaires (**Reuber, 1978 ; Scribner et Mottet, 1981, Robison *et al.*, 1985**). Les pesticides organochlorés comme DDT, chlordane, dieldrine, endosulfan heptachlore, dicofol, hexachlorobenzene, lindane, methoxychlor ont des effets perturbants sur les fonctions reproductrices et le système endocrinien **(Colborn *et al.*, 1993**). Les risques modérés liés à une mauvaise application incluent des maux de tête, des éruptions cutanées ou encore des troubles de la vision (**Rekha *et al.*, 2006**). Au Canada, plusieurs aliments font l'objet de contamination aux résidus de pesticides chimiques. Chez les bébés et les enfants qui en développement sont les plus vulnérables aux impacts des effets de ces résidus en raison de l'interférence de certains pesticides avec la synthèse de l'acide

désoxyribonucléique (ARN) et de l'immaturité de leurs mécanismes de détoxification (**Shettler *et al.*, 2000**). Selon l'IRPeQ, la population canadienne est susceptible d'ingérer quotidiennement des pesticides qualifiés de « cancérigènes probables », et parmi ces pesticides on peut considérer entre-autres le captane, le carbaryl, le diméthoate, l'imazalil, l'iprodione, le manèbe, le mancozèbe, l'O-phényphénol et la perméthrine (**Samuel *et al.*, 2010**). L'Agence de la règlementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) cherchant à interdire définitivement les pesticides des familles des OC (Organochlorés), des OP (Organophosphorés) et des carbamates. Cependant, leurs effets néfastes perdurent sur des années et sont responsables de certaines affections comme les incidences de cancers, de troubles reproductifs, de problèmes liés à la glande thyroïde et aux organes détoxifiants comme les reins et le foie risquent de prendre de l'ampleur chez les adultes (**Boileau Eve, 2015**).

1.2.7.2 Avantages des pesticides chimiques

L'objectif fixé par les grands décideurs du monde en termes de sécurité alimentaire est bel et bien une autosuffisance alimentaire mondiale. En dépit, de ces objectifs jugés souvent de prétentieux, plusieurs difficultés sont apparues provoquant ainsi la mécanisation, l'utilisation d'engrais et de pesticides de synthèse, l'utilisation de variétés hybrides et d'organismes génétiquement modifiés (OGM). Il est donc très difficile, voire impossible, d'isoler l'impact spécifiquement attribuable aux pesticides par rapport aux autres composantes du système (**Rapport BASIC, 2021**).

- Rendements agricoles

L'un des objectifs principaux des pouvoirs publics dans la période de l'après-guerre était l'augmentation des rendements agricoles et des volumes produits à l'échelle internationale, dans le but de répondre à la croissance des besoins alimentaires mondiaux (**Rapport BASIC, 2021**). Les décideurs mondiaux ont mis en place une politique de développement agricole reposant sur l'usage combiné de machines, d'engrais, de pesticides et de variétés hybrides et d'OGM. Par conséquent, de la période de 1960 à 2016 des résultats plus que satisfaisants se traduisant par l'augmentation de 50% des surfaces cultivables, les rendements moyens globaux ont plus que doublé (passant de 2,5 tonnes/hectare à 6,5 tonnes/hectare), permettant ainsi une multiplication par 3,4 de la production végétale agricole mondiale (de 2588 millions de tonnes en 1960 à 8923 millions de tonnes en 2016)

(**Phillips McDougall, 2018**). D'après des analyses des chercheurs Allemands de l'université de Bonn, une interdiction de l'utilisation des pesticides de synthèse engendrerait une perte des rendements agricoles compris entre 20 et 50% sur les principales cultures comme riz, blé, maïs, soja et coton car ces cultures ont tendance à être vulnérables aux maladies et ravageurs (**Oerke, 2006**). Cependant, l'enjeu de la sécurité alimentaire revient au centre des débats car selon les estimations des Nations Unies, la population mondiale serait estimée à 9,2 milliards d'habitants d'ici 2050, ce qui nécessiterait une augmentation supplémentaire de 60% de la production agricole mondiale, rendant ainsi l'enjeu de productivité toujours aussi pressant (**FAO**, **Nourrir la Planète de manière durable, 2013** consulté le 17 mai 2022,https://www.un.org/fr/chronicle/site-search)..

- Visibilité du revenu des producteurs et pouvoir d'achat des consommateurs

L'avènement et l'utilisation des pesticides chimiques de synthèse à partir du milieu du 20ème siècle a permis aux agriculteurs de faire des gains de productivité sans précédent avec l'augmentation des rendements agricoles moyens mondiaux du blé, du maïs et du riz qui ont été multipliés par 2,5 à 3 depuis 1960 (**Phillips McDougall, 2018**). De telles croissances en termes de rendement agricole donne une bonne santé financière aux agriculteurs d'autant plus que l'achat des pesticides de synthèse représente un coût modique pour eux (de 1% à 6% de leurs charges) (**Rapport BASIC, 2021**).

A la fin de la chaîne alimentaire, les consommateurs sont considérés comme les grands gagnants avec l'utilisation des pesticides chimiques de synthèse. En effet, la part moyenne du budget des ménages consacrée à l'alimentation a fortement baissé sur les dernières décennies, par exemple en France le budget a été divisée par 2 depuis 1960 et par 3 aux Etats-Unis sur la même période (**ADEME, 2017**).

- Emplois

L'instauration d'une agriculture moderne et économique dans la période de l'après-guerre a permis de mettre en place des industries de production des pesticides chimiques, des engrais et autres produits phytosanitaires dans le but d'augmenter la production agricole. Ainsi, d'après une étude d'Oxford Economics en 2019 (**Rapport BASIC, 2021**), le secteur des pesticides de synthèse représenterait environ 15 700 emplois directs de

professionnels et combinés aux fournisseurs on atteindrait selon cette même étude un total de 60 400 emplois en Europe.

1.2.8 Réglementation sur l'utilisation des pesticides chimiques de synthèse

Malgré, les critiques moins élogieux sur l'utilisation des pesticides chimiques de synthèses de la part des grands défenseurs de la protection de l'environnement, fort est de constater, cependant, qu'une interdiction d'usage des pesticides de synthèse engendrerait un autre problème majeur qui est la survie de l'humanité du point de vue alimentaire. C'est dans cette optique, que les décideurs politiques mondiaux (FAO, OMS) en accord avec les professionnels du secteur de production des pesticides chimiques de synthèse, les experts en matière de protection de l'environnement et toutes les autres parties concernées ont décidé de mettre en place un cadre législatif dans le but de réduire les effets néfastes des pesticides sur l'environnement et sur la santé des consommateurs (**Rapport BASIC, 2021**).

Les normes de la commission du Codex Alimentarus fixent des seuils de résidus de pesticides (exprimées en mg.kg-1) dans les denrées alimentaires, il s'agit de limites maximales de résidus de pesticides (LMR) pour les pesticides homologués et de limites maximales de résidus de pesticides d'origine étrangère (LMRE) pour les pesticides non homologués et les pesticides polluants organiques persistants (**Gbénonchi, 2008**). Ainsi, certains de ces produits font l'objet d'un contrôle strict, c'est le cas des dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) pour lesquels la LMRE est fixée, dans certains aliments, par la FAO et l'OMS (Tableaux 2. 4) et par certains pays (**FAO/OMS, 1998**) (Tableau 3).

Tableau 1.2 : LMRE pour le DDT dans les aliments végétaux du Codex Alimentarius (mg.kg-^{1}) (**FAO/OMS, 1998**)

Aliments	Fruits (sauf raisins)	Graines céréalières	Légumes	Carotte
Normes FAO/OMS	1	0,1	1	0,2

.

Tableau 1.3 : Limites maximales du référentiel français (mg.kg-^{1}) (**http://e-phy.agriculture**)

Produits alimentaires	Aldrine	Dieldrine	DDT	Endosulfan	Endrine	Lindane
Céréales	0,01	0,01	0,05	0,05	0,01	0,01
Fruits frais ou séchés	0,01	0,01	0,05	0,01	0,01	0,01
Légumineuses fraîches ou séchées	0,01	0,01	0,05	0,05	0,01	0,01

Tableau 1.4 : LMRE d'heptachlore et de son époxyde, (mg.kg-^{1}) (**FAO/OMS, 1998**)

Produits alimentaires	FAO/OMS	Israël	USA	Hongrie
Agrumes	0,01	0,01	0,05	
Carottes	0,20	0,20	0,00	0,05
Céréales brutes (en grains)	0,02	0,02	0,00	0,02
Légumes	0,05	0,05		0,05

Au niveau du Canada, deux institutions ont la charge de la législation de l'utilisation des pesticides de synthèse dans les denrées alimentaires et dans l'environnement. Il s'agit, au niveau provincial du Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MDDELCC) dont la responsabilité est d'assumer la gestion des ventes et usage des pesticides et au niveau fédéral de l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) qui est sous l'égide de Santé Canada et dont le rôle principal est de veiller au respect de la Loi sur les Produits Antiparasitaires (LPA), d'homologuer les pesticides et de déterminer les limites maximales permises de résidus (LMR) dans les aliments en fonction de leur toxicité, qu'ils soient importés, vendus ou utilisés au Canada (**Québec. Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs (MDDEFP), 2002**).

1.3 Biopesticides

1.3.1 Définition

Les biopesticides peuvent se définir au sens large comme des pesticides d'origine biologique, c'est-à-dire, des organismes vivants ou substances d'origine naturelle synthétisée par ces derniers, et plus généralement tout produit de protection des plantes qui n'est pas issu de la chimie de synthèse (**Rapport final – Volet Entomologie Canada, 2006**). En d'autres termes, les biopesticides sont développés à partir d'organismes vivants naturels tels que les animaux, les plantes et les micro-organismes (bactéries, champignons et virus) et peuvent lutter contre les insectes nuisibles aux plantes grâce à leur mode d'action non toxique et écologique (**Leng *et al.*, 2011 ; Lepoivre, 2003 ; Villaverde *et al.*, 2016 ; Zaki *et al.*, 2020**). En plus, d'avoir plusieurs avantages, les biopesticides s'avèrent être une alternative très prometteuse car ils sont biodégradables et ne laissent pas de résidus nocifs.

1.3.2 Historique

L'utilisation des biopesticides serait un concept datant depuis le début du 7ème siècle par l'utilisation des espèces végétales telles que *Illicium lanceolatum* contre des insectes ravageurs de culture (**Leng *et al.*, 2011**). De même, au Moyen-Âge, des végétaux comme les aconits étaient utilisés contre les rongeurs et des récits indiens datant du 17e siècle rapportent l'utilisation de racines de *Derris* et de *Lonchocarpus* pour leurs propriétés

insecticides, au début du 19ème siècle de nombreux savants espèrent également pouvoir utiliser les cryptogrammes pour détruire les ennemies des récoltes et cela deviendra une réalité avec les travaux et application d'**Eugène le moult** sur le hanneton à l'extrême fin du 19ème siècle **(www.inra.Fr/itemet/Hebergement/OPIE-insectes/luttebio.htm**). Ainsi, l'un des premiers microorganismes utilisés dans la lutte biologique est *Metarhizium anisophiae* utilisé comme le premier pathogène contre les insectes ravageurs par le Russe Elitchnikoff, le père de la lutte microbiologique dans les années 1880 (**De Kouassi ,2001**). Les bactéries sont considérées comme les microorganismes les mieux adaptés à la lutte biologique contre certains ravageurs de culture, parmi ces bactéries *Bacillus Thuringiensis* est l'un des bacilles les mieux adaptés et le plus connu, faisant de lui le premier choix sur le marché des biocides (**Rapport final - Volet Entomologie. Canada, 2006**).

1.3.3 Différentes catégories de biopesticide

1.3.3.1 Biopesticides d'origine végétale

Certaines plantes sont reconnues et utilisées dans plusieurs régions du monde comme productrices de substances actives, le plus souvent des métabolites secondaires, ayant des propriétés insecticides, aseptiques ou encore régulatrices de la croissance des plantes et des insectes. Ces molécules ayant des activités biocides ou répulsives des bioagresseurs sont obtenues à partir de différentes parties des plantes telles que les fleurs, les feuilles, les écorces, la sève, le bois, les racines, les gousses, les bulbes, les rhizomes, les fruits et les graines à l'état sec ou frais (**Deravel *et al.*, 2014 ; Lengai et Muthomi, 2018 ; Werrie *et al.*, 2020**). Ainsi, les auteurs **Deravel *et al.*, (2014)** et **Lengai et Muthomi, (2018)** considèrent comme biopesticides d'origine végétale, les extraits des plantes (frais et sec), les huiles essentielles, les huiles végétales et les plantes à pesticides intégrés. De plus, les biopesticides d'origine végétale peuvent être utilisés dans la lutte contre les affections phytopathogènes (champignons et bactéries) et contre les ravageurs de culture en champ et en stocks pour leur effet répulsif de contact ou fumigant (**Guèye *et al.*, 2011 ; De Clerck *et al.*, 2020**). Le neem ou le margousier (*Azadirachta indica A.Juss*.), originaire de l'Inde, se classe par excellence comme l'une des plantes biopesticides le plus étudié au monde pour sa richesse en molécules bioactives telles que l'azadirachtine, la nimbidine et la nimbidinine. Ces extraits frais et secs, huiles essentielles ont été évalués sur plus de 450 espèces d'insectes ravageurs dans différents pays du monde (**Guèye *et al.*, 2011 ; Senthil-Nathan, 2015**). En outre, d'autres plantes possèdent des caractéristiques biocides contre les

bioagresseurs comme le pyrèthre, une plante herbacée vivace de la famille des *Asteracées*, est cultivée pour ses fleurs contenant les pyréthrines attaquant le système nerveux des insectes (*Tanacetum cinerariifolum*). Le Kenya et la Tanzanie furent les deux premiers producteurs africains des fleurs séchées du pyrèthre en 2019 (**Grdiša *et al.*, 2009**). Aussi, le piment (*Capsicum frutescens* L.), une plante comestible de la famille des Solanacées, est utilisé dans la protection des plantes contre certains pathogènes (bactéries) et ravageurs grâce à ses divers composés phénoliques comme la capsaïcine (**Koffi-Nevry *et al.*, 2012**). Une liste exhaustive de quelques plantes à effets bénéfiques en phytoprotection est disponible dans les travaux de **Anjarwalla *et al.*** (**2016**) ; **Yarou *et al.*** (**2017**) et de ceux de **De Clerck *et al.*** (**2020**).

1.3.3.2 Biopesticides d'origine animale

Les biopesticides d'origine animale sont des ennemis naturels comme les prédateurs ou les parasites, ou des molécules dérivées d'animaux, souvent d'invertébrés comme les venins d'araignées, d'abeilles, de scorpions ; des hormones d'insectes, des phéromones, etc (**Leng *et al.*, 2011 ; Deravel *et al.*, 2014**). Les substances généralement utilisées comme des biopesticides d'origine animale sont des substances sémiochimiques qui sont des messages chimiques produits par un organisme induisant une réponse comportementale chez des organismes de même espèce ou d'espèce différente. Les plus utilisés sont les phéromones sexuelles d'insectes qui sont employées dans des pièges de surveillance, des systèmes de leurre et de piège mortel ou pour la perturbation de l'accouplement d'un ravageur ciblé (**Deravel *et al.*, 2014 ; Lengai et Muthomi, 2018**). Les nématodes entomopathogènes sont essentiellement utilisés comme biopesticide d'origine animale contre les insectes nuisibles aux végétaux présents dans les jardins, les pépinières, les plantations d'agrumes et les cultures de canneberges ou de champignons (**Griffin *et al.*, 2005 ; Tabib et Kallel, 2016**). En plus d'avoir un large éventail de proies, les biopesticides d'origine animale ont l'aptitude de combattre les prédateurs ou ravageurs sans causer de dommages à la plante hôte (**Leng *et al.*, 2011 ; Sahayaraj, 2014 ; Lengai et Muthomi, 2018**). L'utilisation des biopesticides d'origine animale connait un vrai essor et bon nombre de fermiers les ont adoptés en Asie, en Europe et en Amérique et des formes commercialisables sont identifiées sur le marché de contrôle des ravageurs (**Leng *et al.*, 2011 ; Glare *et al.*, 2012 ; Deravel *et al.*, 2014 ; Kumar et Singh, 2015 ; Nemakanga *et***

***al.*, 2018**). Cependant, malgré les investigations des uns et des autres dans la mise en place de biopesticides d'origine animale performants et très efficaces contre des ravageurs, l'étape la plus importante est l'essai en champs car ces biopesticides peuvent montrer des performances moindres lorsqu'ils sont lâchés dans les champs (**Sahayaraj, 2014**).

1.3.3.3 Biopesticides d'origine microbienne

Les bactéries, les virus et les champignons sont de plus en plus utilisés comme de nouvelles armes biologiques dans la lutte et la préservation des cultures contre ses potentiels agresseurs ou ravageurs et ces biopesticides microbiens représentent environ 30% du marché des biopesticides (**Jacques *et al.*, 2014**). Les mycopesticides représentaient 10 % du marché mondial des biopesticides, contre 75 % pour les biopesticides bactériens en 2016 (**Zaki *et al.*, 2020**). L'utilisation de biopesticides microbiens révèle de nombreux avantages parmi lesquels une dissémination facile, une spécificité de leur action sur certains organismes cibles, une efficacité à des faibles doses d'administration initiale ainsi qu'une persistance et une ubiquité dans le pathosystème (**Sellami *et al.*, 2015**). Plusieurs auteurs dans leurs études ont spécifié que les biopesticides microbiens en plus de leur rôle de protection des cultures s'avèrent être des promoteurs directs de la croissance par la production des phytohormones (phytostimulation), par la solubilisation du phosphate et par la fixation biologique de l'azote atmosphérique (biofertilisation), par la production des agents dépolluants (bioremédiation), (**Ongena et Jacques, 2008 ; Cawoy *et al.*, 2011; Ngalimat *et al.*, 2021**).

1.3.3.3.1 Biopesticides d'origine bactérienne

Les bactéries sont généralement les plus utilisées dans la formulation des insecticides et une centaine de bactéries potentielles ont été identifiées dans ce sens. Ainsi, trois grandes familles de bactéries entomopathogènes sont utilisées dans la lutte biologique à savoir la famille *Bacillaceae*, *Enterabacteriaceae*, *Pseudomonaceae* (**Clotier et Clotier, 1992** ; **De Kouassi, 2001**). Deux espèces de bactéries entomopathogènes représentent essentiellement la famille des entomopathogènes dans la pratique agricole depuis une vingtaine d'années (*Bacillus thuringiensis* et *Bacillus popilliae*) (**Bailly, 1994 ; Demarly et Sibi 1996**). Les modes d'action des bactéries entomopathogènes se résument généralement en trois points soit par concurrence spatiale et/ou nutritive, soit en induisant une résistance systémique chez la plante ou soit par antibiose directe au travers des différents métabolites que ces

bactéries synthétisent (**Jacques *et al.*, 2014**). Le marché des biopesticides bactériens est dominé à environ 50% par le genre *Bacillus* Cohn (**Cawoy *et al.*, 2011**). Quant à l'espèce *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) elle représentait à elle seule plus de 90% du marché des bio-insecticides en 2006 (**Cawoy *et al.*, 2011 ; Glare *et al.*, 2012 ; Deravel *et al.*, 2014 ; Sellami *et al.*, 2015**).

1.3.3.3.2 Biopesticides d'origine virale

Partant, de la capacité de contamination de tous les êtres vivants possibles, les virus font leur entrée comme moyens de lutte contre les bioagresseurs ou ravageurs des cultures agricoles. Ainsi, certains virus ont la capacité de réduire la pathogénicité de certains champignons phytopathogènes, on parle alors de l'hypovirulence qui est l'expression d'une virulence réduite d'un micro-organisme à la suite de la présence d'un virus (**Muslim *et al.*, 2003 ; Boland, 2004 ; Sharma *et al.*, 2018**). Le tout premier biopesticide à base de virus est mis en évidence en 1975 pour lutter contre le ver de l'amande (*Helothis zea*). Depuis lors, les recherches ont permis de mettre sur le marché une multitude de biopesticides à base de *reoviridea* comme le nom de virus de la polyédrose cytoplasmique (cypovirus), un agent pathogène contre les insectes prédateurs comme *Helicoverpa armigera* Hübner et certains *baculoviridae* comme par exemple *Spodoptera exigua* multiple *nucleopolyhedrovirus* qui infecte les larves de *Spodoptera exigua* Hübner et *Cydia pomonella granulovirus* infectant les larves ou insectes adultes d'arthropodes (**Thakore, 2006 ; Berling *et al.*, 2009; Zaki *et al.*, 2020**). Cependant, certains biopesticides à base de virus ont été développé pour s'attaquer aux bactéries dits bactériophages qui ont l'aptitude à perturber les activités bactériennes (**Jones *et al.*, 2012 ; Ramírez *et al.*, 2020**).

1.3.3.3.3 Biopesticides d'origine fongique

A l'instar, des virus et des bactéries, les champignons jouent également un rôle important dans la régulation et le biocontrôle des ravageurs de cultures agricoles. Les champignons filamenteux sont les microorganismes les plus exploités dans la lutte contre les perturbateurs des cycles biologiques des plantes tels que les nématodes, les bactéries, les champignons phytopathogènes et surtout contre les insectes ravageurs (Baron et al., 2019). En plus, d'avoir un avantage par rapport aux virus et aux bactéries, les mycoinsecticides peuvent être conditionnés sous diverses formes parfois être combinés avec des matériaux synthétiques en vue d'améliorer leur pouvoir infectieux et leur

persistance au sein de la population des ravageurs ciblés et ainsi réduire la fréquence de traitement des champs (**Shah et Pell, 2003 ; Bawin *et al.*, 2015**). Il existe environ 750 espèces fongiques pouvant agir comme biopesticides (**Mantzoukas et Eliopoulos, 2020**). L'un des intérêts majeurs dans l'utilisation des champignons comme biopesticides est la relation de symbiose qu'ils peuvent parfois entretenir avec leur hôte. En effet, les mycopesticides colonisent parfois les tissus de leur plante hôte et agissent comme agents antagonistes des phytopathogènes grâce à la synthèse des divers métabolites à activité antimicrobienne, à la compétition nutritive et spatiale, à la prévention de la colonisation des tissues des plantes par des phytopathogènes et à l'induction de résistance chez l'hôte (**Narayanasamy, 2013**). D'autres mycopesticides contribuent à la solubilisation du phosphore dans le sol et à la synthèse des phytohormones (**Baron *et al.*, 2019 ; Guzmán-Guzmán *et al.*, 2019 ; Barra-Bucarei *et al.*, 2020**). Par ailleurs, il existe des nombreux produits à base de champignons microscopiques tels que *Paecilomyces lilacinus* (Thoms) Samson, *Candida oleophila* Montrocher, *Beauvaria bassiana* (Bals.- Criv.) Vuill., *Fusarium oxysporum* Schltdl., *Trichoderma harzianum* Pers., *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin, *Verticillium lecani*i (Zimm.) Viégas qui sont commercialisés comme biopesticides microbiens (**Butt *et al.*, 2009 ; Dabire *et al.*, 2016 ; Li *et al.*, 2017 ; Zaki *et al.*, 2020**).

1.3.3.4 Avantages et inconvénients des biopesticides

Tableau 1.5 : Avantages et inconvénients des biopesticides (**Calderón Alvarez *et al.*, 2012**)

Avantages	Inconvénients
- Restreindre ou éliminer l'utilisation d'insecticides chimiques	- Lutte souvent faite en prévention et moins efficace lorsque curative
- Moins toxique que les pesticides chimiques	- Effet moins drastique que les pesticides chimiques ou de synthèse
- Plus efficace parce que plus spécifique et ciblé	- Seuil de tolérance très bas pour les ravageurs
- Diminuer les risques de développer de la résistance	- Efficacité pas toujours constante d'une production à l'autre et souvent mal connue
- Bonne alternative au remplacement des pesticides chimiques	- Pas toujours efficace lors d'une grande activité de l'agent pathogène
- Plus grande spécificité d'action	- Conditions d'entreposage des produits biologiques très contraignants
- Leur condition d'utilisation améliore est plus satisfaisante pour les travailleurs agricoles	
- leur utilisation ne nécessite pas un délai de récolte des produits agricoles	
- Offrir aux consommateurs des produits sains	
- Avoir une meilleure presse auprès des consommateurs	

CHAPITRE 2

HYPOTHESES ET OBJECTIFS

2.1 Hypothèse de recherche

Cette étude s'effectue autour de cinq hypothèses à vérifier :

- **Hypothèse 1** : les pesticides chimiques ont un effet plus efficace dans la lutte contre les moisissures toxinogènes des aliments ;
- **Hypothèse 2** : le surnageant bactérien inhibe la croissance des moisissures toxinogènes des aliments ;
- **Hypothèse 3** : le surnageant bactérien et le pesticide chimique influencent les caractéristiques biochimiques et physico-chimiques de l'orange et de la pomme de terre ;
- **Hypothèse 4** : Les restaurateurs ont une connaissance approfondie des pesticides chimiques et biologiques et les utilisent de façon adéquate pour la conservation des produits alimentaires ;
- **Hypothèse 5** : Une combinaison du surnageant bactérien et du pesticide chimique peut aboutir à une inhibition totale ou partielle des moisissures ou signes d'altération post-récolte.

2.2 Objectifs de recherche

2.2.1 Objectif général

L'objectif général de cette étude est d'étudier les effets bénéfiques d'un biopesticide et d'un pesticide chimique contre les moisissures toxinogènes retrouvées sur les oranges et les pommes de terre, ainsi que leurs effets sur les caractéristiques physico-chimiques et biochimiques de ces produits.

2.2.2 Objectifs spécifiques

- Effectuer un sondage ou une enquête auprès des restaurateurs pour leur choix entre les biopesticides et les pesticides de synthèse ;
- Déterminer l'effet d'un surnageant bactérien et d'un pesticide chimique dans la conservation d'oranges et de pommes de terre contre des moisissures toxinogènes ;
- Evaluer les effets protecteurs de la combinaison des deux pesticides (chimiques et biologiques) ;

- Evaluer les caractéristiques biochimiques et physico-chimiques des oranges et des pommes de terre après conservation avec le surnageant bactérien et la solution de pesticide chimique.

CHAPITRE 3

MATERIELS ET METHODES

3.1 Matériels

Le matériel d'étude est composé de matériel végétal constitué de pommes de terre et d'oranges achetées au marché local (Walmart de Dieppe, NB), et de matériel biologique constitué de souche de *Bacillus subtilis subsp. spizizenii* ATCC6633 fournit par la compagnie EZ-PEC (Canada) d'une part, de la poudre de soufre (Safer's, Canada) d'autre part utilisée comme pesticide chimique.

3.2 Méthodes

3.2.1 Enquête

Cette étude a démarré par une enquête auprès de quelques restaurateurs agréés ou détenteurs d'opération de la province du Nouveau-Brunswick et de l'Agence Canadienne d'inspection des aliments (ACIA). L'enquête a été conduite auprès d'un échantillon de 60 responsables de restaurants de la ville de Moncton. L'enquête a consisté en interrogation par contact direct et par courriel à travers leur adresse électronique. Cette enquête a eu pour but de comprendre les difficultés associées à la conservation de leurs produits afin d'évaluer leurs connaissances et de savoir les raisons qui les motivent dans l'utilisation des pesticides chimiques et biologiques.

3.2.2 Echantillonnage

L'échantillonnage, a consisté à sélectionner et à acheter plus d'une cinquantaine de pommes de terre et plus d'orange à Walmart de la ville de Dieppe. Au total, 108 échantillons dont 54 pommes de terre et 54 oranges ont prélevés. Les échantillons ont été transportés dans une glacière hermétique jusqu'au Laboratoire de Microbiologie et de Chimie Alimentaire de l'université de Moncton.

3.2.3 Préparation de la souche de *Bacillus subtilis* ATCC 6633

La préparation des souches a été réalisée selon les étapes suivantes :

1) Retirer les flacons de granulés lyophilisés du congélateur (2°C-8°C) et les laissés à la température ambiante pendant 30 minutes avant de les ouvrir.
2) Pendant que les granulés se dégèlent, préchauffer le liquide de suspension à 38°C durant pour 30 minutes.

3) À l'aide d'une pince stérile, transférer 2 pastilles dans le flacon de 2 mL de liquide de suspension. Boucher et fermer immédiatement le flacon de pastilles, et remettre le reste du matériel lyophilisé au congélateur 2°C-8°C.
4) Fermer immédiatement le flacon avec le matériau hydraté et le placer dans un incubateur à 38°C pendant 30 minutes pour assurer une hydratation complète.
5) Immédiatement après l'incubation, mélanger au vortex le matériel hydraté jusqu'à ce que les granulées soient complètement dissous et que la suspension soit homogène. Les particules de charbon de bois, qui peuvent être visibles dans la suspension hydratée, ne compromettront pas la croissance du micro-organisme.
6) À l'aide d'une pipette stérile, transférer un volume de 2 mL de la suspension hydratée égal à 0,5 % à 1,0 % du volume du produit à contrôler. Un ajout de 0,5 % à 1,0 % de micro-organismes se traduira automatiquement par une concentration de 1.10^5 à 1.10^6 UFC par ml de produit.
7) Ensemencer et étaler la suspension hydratée sur deux boîtes de pétri contenant le milieu Luria-Bertani broth (LB) puis incuber à 30ºC pour 24h. L'ensemencement doit être réalisés dans les 30 minutes suivant l'hydratation. Jeter après décontamination tout matériel hydraté restant conformément au protocole du laboratoire pour l'élimination des matériaux présentant un risque biologique.

3.2.4 Production de biopesticides à base de *Bacillus subtilis* ATCC 6633

3.2.4.1 Préparation des précultures

Un erlenmeyer contenant 60 mL de milieu extrait de levure peptone-dextrose (yeast extract-peptone-dextrose), (YPD) a été inoculé avec une colonie de préculture âgée de 24 heures obtenues sur boîtes de pétri ensemencées la veille. Le milieu YPD inoculé a été incubé à 30ºC pendant 8 heures sous une agitation de 105 rpm. Ces cultures servent à inoculer 400 mL de milieu de levure peptone-glycérol (YPG) contenu dans un erlenmeyer de 1 litre.

3.2.4.2 Production de surnageant bactérien

Quatre cents millilitres (400 mL) d'YPG ont été inoculés avec les précultures de 60 mL dans un Erlenmeyers de 1 litre. Le milieu a été incubé à 30ºC sous une agitation de 100 rpm pendant 48 heures. Après incubation, le milieu a été centrifugé à 6000 rpm pendant 10

minutes. Le surnageant a été recueilli dans un bocal stérile et conservé à 4ºC pour les tests de conservation.

3.2.4.3 Préparation de la solution de soufre (Safer's, Canada)

Les étapes ont consisté à :

- Peser 10 grammes du soufre à l'aide d'une balance (10g pour 1 litre d'eau) ;
- Prélever 1 litre d'eau distillée dans une éprouvette ;
- Faire le mélange et agiter rigoureusement pour éviter toute sédimentation

3.2.5 Conservation de la pomme de terre et de l'orange par immersion

Le test de conservation de la pomme de terre et de l'orange par immersion dans le surnageant et dans la solution de soufre a été réalisé selon la technique décrite par **Cissé** (**2012**) avec quelques modifications. Cette technique consiste à immerger les pommes de terre et les oranges dans le surnageant contenus dans des récipients. Au total, cent huit (108) échantillons dont 54 oranges et 54 pommes de terre ont été soigneusement lavés dans un récipient avec de l'eau de robinet et rincées trois fois avec de l'eau distillée stérile. Ensuite, ils ont été désinfectés avec de l'éthanol à 70ºC pour ainsi éviter toute contamination préexistante et avant l'usage de différents traitements. Chaque groupe d'échantillon ou produit (orange ou pomme de terre) a été réparti en quatre lots en raison de 4 unités par lot. Pour chaque produit, un lot a été immergé pendant 2-3 minutes dans le surnageant bactérien et un autre lot aliment dans la solution de soufre en fonction de la concentration (10 grammes pour 1 litre d'eau distillée) prescrite par le fabricant. Par ailleurs, un second lot de quatre de chaque produit a été utilisé comme témoin c'est-à-dire sans traitement. Ces lots témoins ont été conservés comme témoin pendant un certain nombre de jours jusqu'à l'apparition des premiers signes d'altération ou de pourriture. Un autre groupe de lot de produit (4 lots de chaque produit) a été conservé de la même manière comme le témoin excepté que ce groupe de lot a subi des traitements dès l'apparition des premiers signes d'altération. En effet, les aliments ont été répartis en 4 aliments par lot et chaque lot a reçu un type de traitement. Tout d'abord, un lot a été traité avec le surnageant bactérien, le deuxième lot a reçu un traitement à la solution de pesticide chimique et le dernier lot a été traité simultanément avec le surnageant bactérien et la solution de pesticide chimique à concentration réduite (soit 3.30g pour 1 litre d'eau distillée). Le traitement a commencé par

l'application de la solution du pesticide chimique et après un délai de 10 minutes, le même produit a ensuite été plongé dans le surnageant de biopesticide bactérien. Après ces différents traitements, les produits ont été conservés à température ambiante dans des récipients stériles et ouverts dans un coin du laboratoire sans aucune présence physique ou chimique pendant une période de 15 jours voire plus en fonction du type d'aliments et jusqu'à l'apparition de signes d'altération ou de pourriture.

3.2.6 Test d'antagonisme

Après les tests de conservation des échantillons d'orange et de pommes de terre sur 4 semaines. Nous avons utilisé la méthode d'exposition indirecte comme décrite par **Sivan et Chet, (1989)** avec quelques modifications. Cette méthodologie repose sur l'exposition d'une souche de moisissure à une souche bactérienne dans un milieu solide ou liquide. Par ailleurs, elle implique également l'exposition de la même moisissure au surnageant de la même souche bactérienne, afin de déterminer leur capacité respective à inhiber la croissance mycélienne. Cette technique a été réalisée sur différents types de milieu de culture :

- Exposition de surnageant bactérien et des moisissures en milieu liquide

Les étapes ont consisté à :

- Prélever et mettre dans les tubes à essai 4 mL du surnageant bactérien ;
- Préparer un mélange de 4 mL de milieu LB liquide et ajout de moisissures prélevées sur les échantillons d'orange conservés ;
- Ajouter 1 mL du mélange de milieu LB liquide contenant les moisissures dans 4 mL de surnageant bactérien ;
- Incuber le mélange à 30°C pendant 72h ;
- Faire une observation des tubes après incubation.

- Exposition de la souche bactérienne et des moisissures en milieu liquide

Les étapes ont consisté à :

- Préparer 4 mL du milieu LB dans quatre tubes à essais ;

- Préparer une solution mère par inoculation de 4 mL du milieu liquide LB avec une colonie de la souche bactérienne et mélanger ;
- Faire une dilution de la solution mère de 10^{-1} à 10^{-3} et mélanger chaque dilution ;
- Préparer 4 mL de milieu LB et l'inoculer avec des moisissures prélevées sur les échantillons d'orange conservés ;
- Ajouter 1 mL du mélange milieu LB et moisissures prélevées à chacune des différentes dilutions bactériennes à la solution mère ;
- Incuber les milieux à 30°C pendant 72h.

- Exposition de surnageant bactérien et des moisissures en milieu solide

Les étapes ont consisté à :

- Préparer et couler dans des boites de Pétri le milieu gélosé OGA ;
- Diviser la même boîte de Pétri en deux parties égales pour ensemencer sur une partie la moisissure et sur l'autre partie le surnageant bactérien ;
- Incuber les boites à 30°C pendant 72h.

- Exposition de la souche bactérienne et des moisissures en milieu solide

Les étapes ont consisté à :

- Préparer et verser le milieu gélosé OGA dans des boîtes de Pétri ;
- Diviser chaque boîte de Pétri en deux parties égales ; ensemencer une moitié avec la moisissure et l'autre avec la souche bactérienne ;
- Préparer une solution mère en ajoutant 4 mL de milieu LB, puis réaliser une dilution de 10^{-1} à 10^{-3} après mélange ;
- Préparer un mélange composé de 4 mL de milieu LB et de moisissures prélevées sur des échantillons d'orange conservés ;
- Inoculer chaque partie des boîtes de Pétri avec 0,5 mL de solution de moisissure et 0,5 mL de solution bactérienne en fonction des différentes dilutions ;
- Incuber les boites à 30°C pendant 72h.

3.2.7 Production de jus des oranges conservées

3.2.7.1 Tri et lavage des oranges

Les oranges ont été lavées avec de l'eau de robinet supplémentée du savon liquide et de quelques gouttes de Nacel (hypochlorite de sodium).

3.2.7.2 Epluchage et découpage

Après lavage et rinçage, les oranges ont été épluchées et découpées en de petits morceaux à l'aide d'un couteau stérile et inoxydable.

3.2.7.3 Broyage, pressage et filtration des pulpes d'orange

Le broyage, le pressage et la filtration des pulpes d'orange ont été effectué à l'aide d'un extracteur de jus multifonctionnel fabriqué par la compagnie Plastaket (Californie-USA). Cette machine est dotée à la fois d'un broyeur, d'un presseur et d'un filtreur qui permet de recueillir graines résiduelles et la pâte de la pulpe.

3.2.8 Analyses physico-chimiques des jus d'orange extraits

3.2.8.1 Mesure du potentiel d'hydrogène pH

Le pH est l'une des caractéristiques majeures dans la détermination de la qualité des jus obtenus à partir des fruits. Il sert à quantifier la concentration en ions H+ de jus qui lui confèrent son caractère acide ou basique. Pour se faire, l'électrode du pH-mètre a été introduite dans 10 mL de jus des échantillons d'orange et la valeur numérique de pH a été lue sur l'écran. Pour chaque échantillon, 3 essais ont été réalisés (**Mathieu, 1998**).

3.2.8.2 Détermination de l'acidité titrable (**NF V04-369, 1994**)

La teneur en acide titrable représente la quantité d'acide fort et d'acide faible présente dans un produit. L'acidité titrable des échantillons prélevés a été déterminée par titration de 20mL d'échantillon de jus avec de la soude (NaOH 0,1N) en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré. La fin du dosage a été marquée par le virage à la coloration rose. Les résultats obtenus représentent la moyenne de 3 essais. L'acidité titrable a été calculée par la formule ci-dessous :

$$AT = (\mathrm{nb.V\,b.M})/(Va.P)$$

AT (g/l) : acidité titrable

n_b : normalité de la solution d'hydroxyde de sodium (0,1N).

v_b : volume de la solution d'hydroxyde de sodium (0,1N).

M : masse moléculaire de l'acide citrique (192,13g).

V_a : volume de jus (ml).

P : nombre de protons portés par l'acide citrique (3).

3.2.8.3 Taux d'humidité

Le taux d'humidité des jus d'orange est déterminé selon la méthode (**AOAC, 2005**), celle-ci est basée sur la perte de masse des échantillons de jus d'orange après un séchage au four à chaud à 100ºC (Four Isotemp, Canada) jusqu'à l'obtention d'une masse constante. La perte d'eau correspond à la masse d'eau perdue. Cette méthode nécessite plusieurs étapes :

- Prénuméroter les plateaux d'aluminium vide s'ils ne sont pas déjà numérotés (ou les creusets), puis les placer à sécher dans le four ventilé (réglé à 100 ± 1°C) pendant 15 min. Puis les refroidir dans le dessiccateur (Dessiccateur Fisher, Canada) pendant 15 minutes.
- Les peser précisément au mg près, noter ce poids.
- Ajouter dans le plateau (ou creuset) une portion de l'échantillon homogénéisé (de 2 à 10 g).
- Faire sécher les échantillons dans un four à 100°C pendant 12-24 heures (ou à 125°C pendant 1.5 h).
- Faire refroidir au dessiccateur jusqu'à ce que la température finale soit égale à la température ambiante.
- Peser au mg près précisément et noter ce poids.
- Le % d'humidité est déterminé en fonction de l'équation ci-dessous:

$$H\ (\%) = \frac{\mathrm{m1} - \mathrm{m2}}{\mathrm{m1} - \mathrm{m0}} * 100$$

H (%) : taux d'humidité

m_1 : masse du creuset +masse de l'échantillon

m_2 : masse du creuset après perte séchage

m_0 : masse connue du creuset

3.2.8.4 Teneur en cendres (**AOAC, 2005**)

La teneur en cendres des échantillons est obtenue selon la méthode par l'Association of Official Analytical Chemists (**AOAC, 2005**) qui consiste à incinérer dans un four chauffe à 550°C une portion représentative de l'échantillon (5g) jusqu'à l'obtention d'une masse constante. Cette méthode se fait en plusieurs étapes :

- S'assurer que les creusets sont propres, puis les prénuméroter (s'ils ne le sont pas déjà), ensuite les placer dans le four à calciner régler à 550°C pendant 1 heure. Puis les refroidir dans le dessiccateur pendant 30 minutes;
- Les peser précisément au mg près, noter ce poids précis;
- Ajouter dans les creusets une portion de l'échantillon humide homogénéisé (5 g). Faire cendrer (avec le couvercle) dans le four pendant 12 à 24 h à 550°C;
- Sortir du four et faire refroidir au dessiccateur jusqu'à l'obtention de la température ambiante;
- Peser au mg près précisément et noter ce poids;
- Déterminer la teneur en % de cendres en fonction de l'équation ci-dessous :

$$\textbf{cendres}\ (\%) = \frac{(m2 - m0)}{(m1 - m0)} \times 100$$

Avec :

-m_2 : masse du creuset + cendre

-m_1 : masse de l'échantillon humide + creuset

-m_0 : masse du creuset seul

3.2.8.5 Détermination de l'indice de réfractométrie ou Degré Brix

Le degré Brix est le pourcentage en masse de saccharose d'une solution aqueuse. Il est mesuré à l'aide d'un refractomètre en mettant une goutte de la purée ou du jus sur l'écran du réfractomètre et en lisant directement la valeur affichée à travers une source lumineuse. La valeur lue sur le réfractomètre est exprimée en °Bx (± 0.1). Celle-ci exprime la masse totale de sucres solubles en gramme (g) présents dans la matrice pour 100 g de produit (**Kasse, 2015)**.

3.2.9 Analyses biochimiques des jus d'orange

3.2.9.1 Teneur en acide ascorbique ou en vitamine C

Le dosage de la vitamine C des échantillons de jus d'orange a été réalisé selon la méthode décrite par (**Damien *et al.*, 2002**). Brièvement :

- Dans un erlenmeyer, introduire avec une pipette jaugée 10 mL de jus (V1) ;
- Ajouter une pointe de spatule d'amidon qui sert d'indicateur coloré ;
- Ajouter avec la burette graduée un volume 20 mL (V_2) d'iode à concentration $[C_2]5\times10^{-3}$mol/L ;
- La solution devient noire, due à l'excès d'iode ;
- Nettoyer la burette graduée, la rincer et la remplir avec une solution de thiosulfate de sodium à $[C_3]$: 5×10^{-3}mol/L et doser la solution jusqu'à disparition complète de la coloration noire ;
- Faire un dosage rapide et précis, et noter le volume (V_3) de thiosulfate de sodium versé à l'équivalence.

❖ **Les différentes équations du dosage de la vitamine C**

a) Equation bilan de la réaction d'oxydoréduction entre (I_2/I^-) et ($C_6H_6O_6/C_6H_8O_6$) :

$$I_2\,(aq) + C_6H_8O_6\,(aq) = 2I^-(aq) + C_6H_6O_6\,(aq) + 2H^+$$

Equation 1

b) Equation bilan de la réaction d'oxydoréduction (I_2/I^-) et ($S_4O_6^{2-}/S_2O_3^{2-}$)

$$I_2(aq) + 2S_2O_3^{2-}(aq) = 2I^-(aq) + S_4O_6^{-2}\,(aq)$$

Equation 2

❖ **Calcul de la concentration de la vitamine C**

a) Relation entre $n(I_2)$ ayant réagi avec la vitamine C et n $(C_6H_8O_6)$

De l'équation (1) on a : $n(C_6H_8O_6) = n(I_2)$ ayant réagi avec la vitamine C

b) Relation entre : $n(I_2)$ ayant réagi avec la vitamine C et (I_2) ayant réagi avec l'ion thiosulfate.

De l'équation (2) on a : $n(I_2)$ ayant réagi avec l'ion thiosulfate = $n\ (S_2O_3^{-2})/2$

c) Relation entre : $n(C_6H_8O_6)$, $n(I_2)$ total et n $(S_2O_3^{2-})$ à l'équivalence

$n(I_2)$ total = $n(I_2)$ ayant réagi avec la vitamine C + $n(I_2)$ ayant réagi avec l'ion thiosulfate

d) On en déduit la relation entre I_2, $C_6H_8O_6$ et $S_2O_3^{2-}$: $n(I_2)$ total = $n_1(C_6H_8O_6)$ + n $(S_2O_3^{2-})$ / 2

La quantité n_1 de vitamine C pour le volume V_1 de jus puis dans le volume totale V_0 de jus de fruit.

$$n_1\ (C_6H_8O_6) = n\ (I_2)\ total - n\ (S_2O_3^{2-})/2$$

$$n_1\ (C_6H_8O_6) = C_2 \times V_2 - C_3 \times V_3\ éq\ /2$$

3.2.9.2 Teneur en sucres

La teneur en sucres totaux a été déterminée selon la méthode au phénol-sulfurique telle que décrite par **Dubois *et al.* (1956)**. Un volume de 100 µL d'extrait éthano-soluble ont été prélevés et introduits dans un tube à essai. A cette solution, ont été ajoutés successivement 0,9 mL d'eau distillée, 1 mL de phénol (5%, p/v) et 5 mL d'acide sulfurique concentré. Le tube a été laissé au repos pendant 10 minutes. La lecture de la densité optique (DO) s'est faite à 490 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (Spectrometer T80, Allemagne). Un étalonnage à partir d'une solution d'étalon de glucose de 0,1 mg/mL a été réalisée pour la détermination de la teneur en sucres totaux. Les tests ont été répétés en triplicata et la moyenne des trois essais a été retenue.

3.2.9.3 Teneur en gras (**AOAC, 2005)**

La méthode de l'*Association of Official Analytical Chemists* (**AOAC, 2005**) a été utilisée pour déterminer la teneur en gras des échantillons de jus d'orange dans cette étude. Le processus d'extraction a été effectué par immersion dans une solution d'éther de pétrole puis par rinçage. Les gras ont été extraits des échantillons des jus d'orange préalablement séchés (100°C ou 125°C pendant 30 minutes). Après évaporation du solvant d'extraction la quantité de gras est obtenue.

3.2.9.4 Teneur en protéines

Les protéines totales ont été déterminées à partir du dosage de l'azote total selon la méthode de kjeldhal **AOAC (1990)**. Elle comprend une phase de minéralisation, suivie d'une phase de distillation et d'une phase de titrage par l'acide sulfurique. Une masse de 5g d'échantillon (m_e) est minéralisée dans un matras de Kjeldahl (Bloc Digest 6, JP Selecta, Espagne) entre 405ºC et 415ºC pendant 2 heures, en utilisant 20 mL d'acide sulfurique concentré et une pincée de catalyseur de minéralisation (sélénite et sulfate de potassium). Après refroidissement du tube à la température ambiante, le minéralisât a été transvasé dans une fiole de 100 mL et complété avec de l'eau distillée (75 mL). Par la suite, 10 mL du mélange prélevé ont été ajoutés à 10 mL de solution de NaOH 40% (p/v) et le tout est placé dans le réservoir du distillateur. L'allonge du réfrigérant du distillateur a ensuite été plongée dans un bêcher contenant 20 mL d'acide borique additionné d'un indicateur mixte (rouge de méthyle + vert de bromocrésol). La distillation a été effectuée pendant 10 minutes. Le distillat obtenu a été extrait par une solution 0,2N d'acide sulfurique jusqu'au virage du vert au rose (V1). Un essai à blanc (V0) a été réalisé et la teneur en protéines totales a été déterminée par la formule suivante :

$$\textbf{\% Protéine} = (V_1 - V_0) \times 1.4007 \times N \times 6.25/g \text{ échantillon}$$

V_1 et V_0 sont les volumes de HCl (0.2 N) standardisé pour titrer l'échantillon et le blanc respectivement.

N : concentration du HCl standardisé
g : poids d'échantillons en grammes
6,25 : facteur de conversion

3.2.10 Analyse des échantillons de pomme de terre

3.2.10.1 Extraction des composés phénoliques des pommes de terre

Les polyphénols sont de petites molécules naturelles composées d'un ou plusieurs groupes d'hydroxyles phénoliques. Ce sont des métabolites secondaires courants dans le règne végétal (**Ghani, 2020**). Dans le cadre de notre étude, l'extraction des polyphénols des échantillons de pommes de terre a été réalisée avec l'appareil Soxhlet (Sigma Aldrich, Canada).

Les tubercules de pommes de terre ont été triés par groupes de deux à trois, atteignant ainsi un poids total de 2,324 kg par échantillon. Ensuite, ces tubercules ont été découpés en cubes pour faciliter le processus de broyage. Une fois cette étape terminée, le broyat obtenu a été placé au congélateur (-80°C) pendant 24 heures. Le broyat de pommes de terre congelé a été lyophilisé pour obtenir une fine poudre de pommes de terre, appelée lyophilisat. La durée de ce processus dépend du type de lyophilisateur et de la quantité de produit à lyophiliser.

A partir de ce stade, 5g de chaque lyophilisat est pesé et mis dans du papier Whatman. De l'éthanol 70°C (175mL) a été ajouté dans le ballon puis chauffé pour initier le processus d'extraction. L'extraction a été interrompue après cinq cycles, lorsque le liquide entourant la cartouche devient transparent, signalant que le solvant n'extrait plus de substance solide. Le temps total de traitement a été de deux heures. Le mélange contenu dans le ballon (Sigma Aldrich, Canada), composé du solvant et des substances solubilisées, a été mis à évaporer complètement à l'aide d'un évaporateur rotatif (Brinkmann Instruments, New York-USA) équipé d'une pompe à vide, à une température de 55 °C, afin de retirer tout le solvant (éthanol). Cependant, après l'évaporation, une dernière lyophilisation est réalisée pour purifier davantage afin d'obtenir des polyphénols purs.

3.2.10.2 Dosage des phénols totaux des extraits de la pomme de terre par la méthode de **Folin-Ciocalteu** (**F-C**)

Les polyphénols suscitent beaucoup d'intérêt croissant à cause des propriétés antioxydantes qui sont bénéfiques pour la santé et dans l'industrie en tant qu'additifs (**Öksüz *et al.*, 2015**). Les composés phénoliques des pommes de terre ont été déterminés selon la méthode proposée par **Folin et Ciocalteu** (**1927**). C'est une méthode qui permet de

quantifier les composés phénoliques totaux contenus dans les extraits de pommes de terre. Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstènes et de molybdène (**Ribereau,1968**). La présence de carbonate de sodium rend le milieu légèrement alcalin qui se traduit par une coloration bleu foncé (**Vuorela, 2005**). La coloration produite, dont l'absorption maximale à 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits de pommes de terre (**Ghazi et Sahraoui, 2005**).

Le dosage des polyphénols s'est fait de la manière suivante : on a prélevé 0,1 mL de l'extrait final de pomme de terre auquel on a ajouté 7,9 mL d'eau distillée (ED) et 0,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu, et le tout est homogénéisé et mis au repos pendant 5 minutes à l'abri de la lumière. A la suite de cette étape, 1,5 mL d'une solution de carbonate de sodium (Na2CO3 ; 20% m/v) a été ajouté au mélange et incubé à température ambiante pendant 90 minutes avant de mesurer son absorbance à 765 nm au spectrophotomètre en UV-visible. Ensuite, une courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant différentes concentrations d'acide gallique et la quantité des composés phénoliques totaux dans le contenu dans les échantillons a été déterminé et exprimée en termes d'équivalents d'acide gallique (GAE) en mg pour 100 g de pommes de terre lyophilisées.

3.2.10.3 Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Une solution initiale contenant 3 g/L d'acide gallique a été préparée. Des dilutions variées de cette solution, allant de 50 à 500 mg/L, ont été réalisées avec de l'eau distillée stérile. L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 765 nm pour chaque dilution. Une courbe d'étalonnage a été établie avec les absorbances des concentrations standard. La concentration des composés phénoliques dans les échantillons de pommes de terre a été déterminée en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage ($y = ax + b$), où y représente l'absorbance et x la concentration du standard.

3.2.11 Analyses statistiques des valeurs

Les analyses statistiques des résultats des tests réalisés sur les échantillons de jus d'orange conservés et sur les échantillons de pommes de terre ont été effectuées avec le logiciel SPSS (version 2021, IBM) d'une part pour le calcul des moyennes, des écarts types.

Et d’autre part, le logiciel SPSS a été utilisé pour réaliser les analyses de variance à un facteur (ANOVA 1) pour mettre en évidence les différences statistiques entre les moyennes obtenues.

CHAPITRE 4

RESULTATS ET DISCUSSION

4.1 Résultats

4.1.1 Enquête auprès des restaurants du grand Moncton

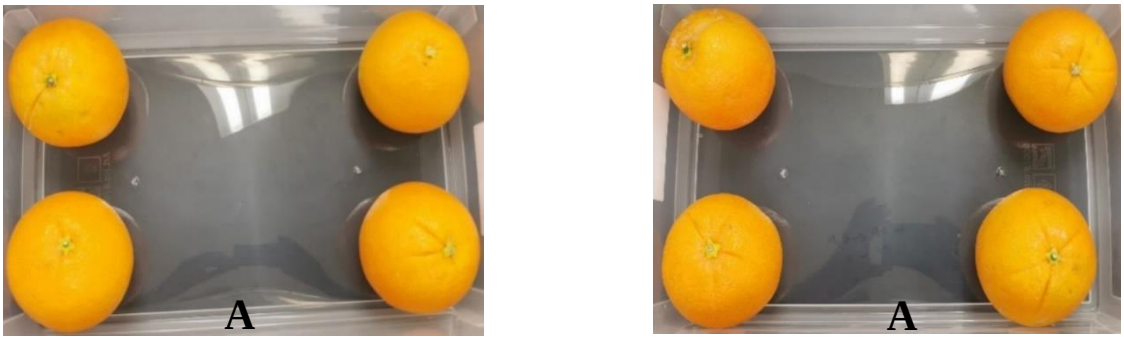
Les résultats qui découlent de cette enquête ne sont pas ceux espérés lors de l'élaboration de cette étude. En effet, sur plus d'une cinquantaine de restaurant contactées par mail, aucun de ces restaurants n'a donné de réponse à nos messages et cela malgré l'approbation du Comité d'éthique de la recherche avec les êtres humains de l'Université de Moncton. Par la suite, nous avons réorientés l'enquête par la distribution physique des fiches d'enquête dans les restaurants mais cela n'a abouti finalement qu'aux résultats de six (6) restaurants qui ont acceptés de répondre aux questionnaires. Les résultats obtenus durant cette enquête révèlent l'absence de transparence sur certaines méthodologies et pratiques de la part des restaurateurs. Par ailleurs, les résultats montrent que ceux qui ont accepté de se soumettre à cet exercice n'ont pas une connaissance claire de biopesticides et de leurs apports bénéfiques pour les consommateurs et leur possible simplification dans la protection de l'environnement.

4.1.2 Tests de conservation des échantillons de pommes de terre et d'oranges

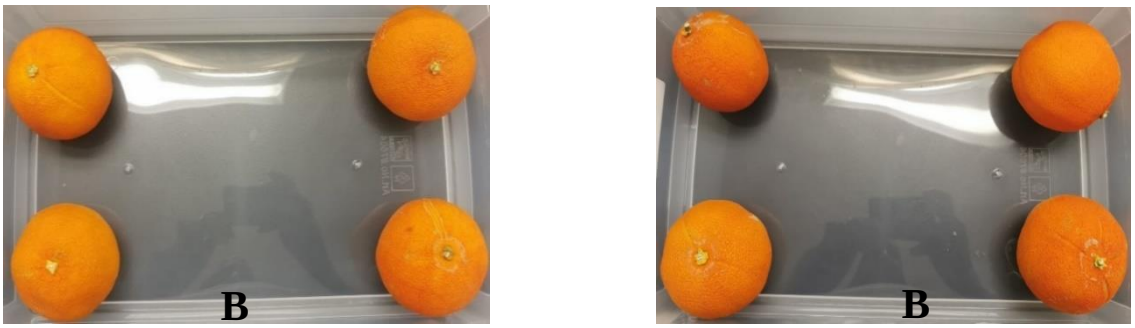
4.1.2.1 Traitement des oranges

4.1.2.1.1 Oranges traitées avec le biopesticide

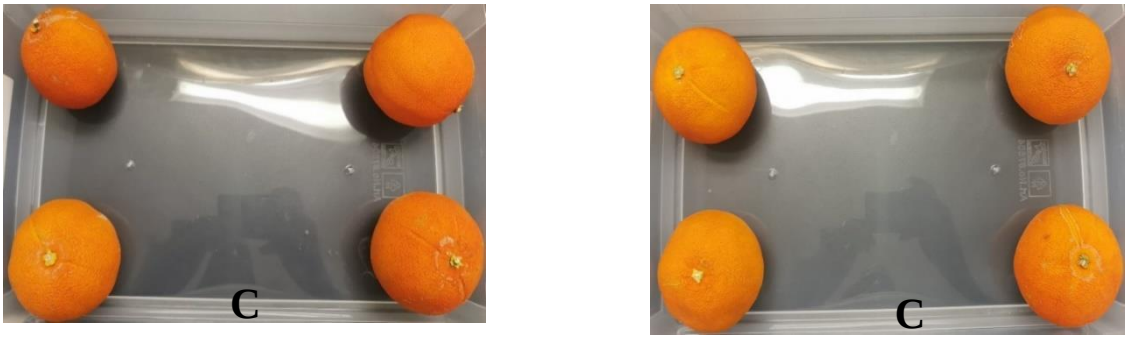
Suite à nos tests, les oranges conservées uniquement avec le biopesticide n'ont montré aucun signe de détérioration après 4 semaines. Cependant, après deux semaines le début de l'expérience, on observe une coloration plus intense et un aspect plus sec de l'écorce a été observé. Après 4 semaines de conservation, nous avons constaté la perte de deux oranges attaquées par des moisissures parmi les 12 échantillons initiaux, ainsi que quelques flétrissements de l'écorce des autres oranges, sans que cela n'affecte leur aspect interne.



INSTANT T_0 AU DEBUT DE LA CONSERVATION



APRÈS DEUX SEMAINES DE CONSERVATION



APRÈS QUATRE SEMAINES DE CONSERVATION

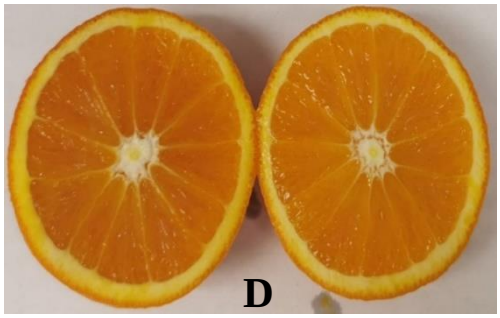


Figure 4.1 : Effet du surnageant bactérien sur les aspects externes et internes des oranges dans le temps (A : instant t_0; B : après 2 semaines de conservation; C : après 4 semaines de conservation; D : aspect interne après 4 semaines de conservation).

4.1.2.1.2 Oranges traitées avec le pesticide chimique

Les oranges conservées avec le pesticide chimique se sont bien maintenues pendant 4 semaines, à l'exception de deux d'entre elles qui ont été contaminées par des moisissures en moins d'une semaine. Pour les autres oranges, nous avons noté des signes de flétrissement sur l'écorce, sans impact sur leur aspect interne. Contrairement à celles conservées avec le biopesticide, les oranges traitées avec le pesticide chimique ont conservé une meilleure fraîcheur.

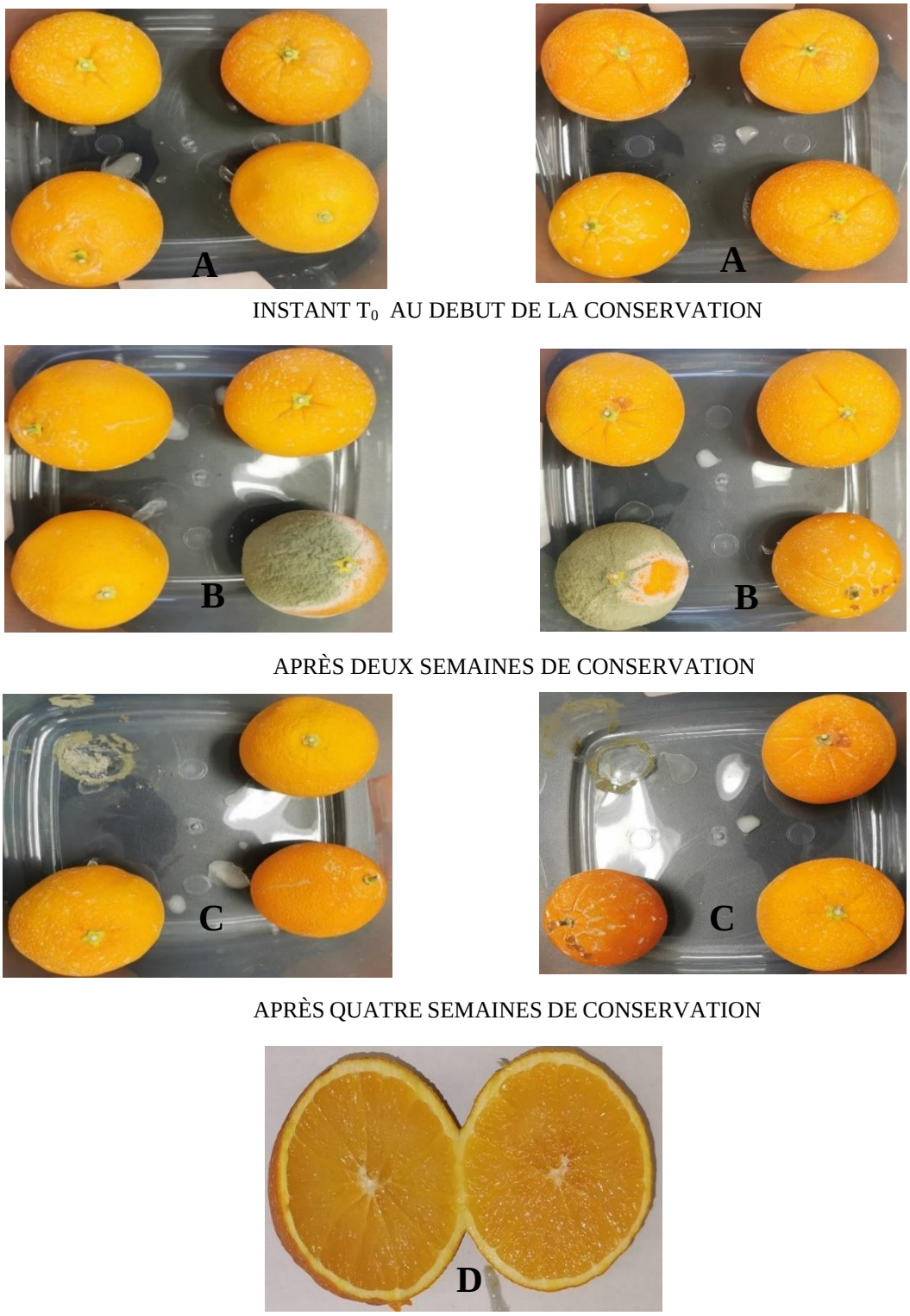


Figure 4.2 : Effet du pesticide chimique sur les aspects externes et internes des oranges dans le temps (A : instant t_0; B : après 2 semaines de conservation; C : après 4 semaines de conservation; D : aspect interne après 4 semaines de conservation).

4.1.2.1.3 Oranges témoins

Les échantillons témoins d'oranges, non conservés avec le surnageant bactérien ni avec le pesticide chimique, ont montré des signes de détérioration après deux semaines (voir image B), avec une perte de 6 oranges sur 12. De plus, les oranges restantes ont montré des signes de flétrissements, l'apparition de taches noires et une perte de fraîcheur de leur écorce, bien que leur aspect interne soit resté intact (voir images C et D).

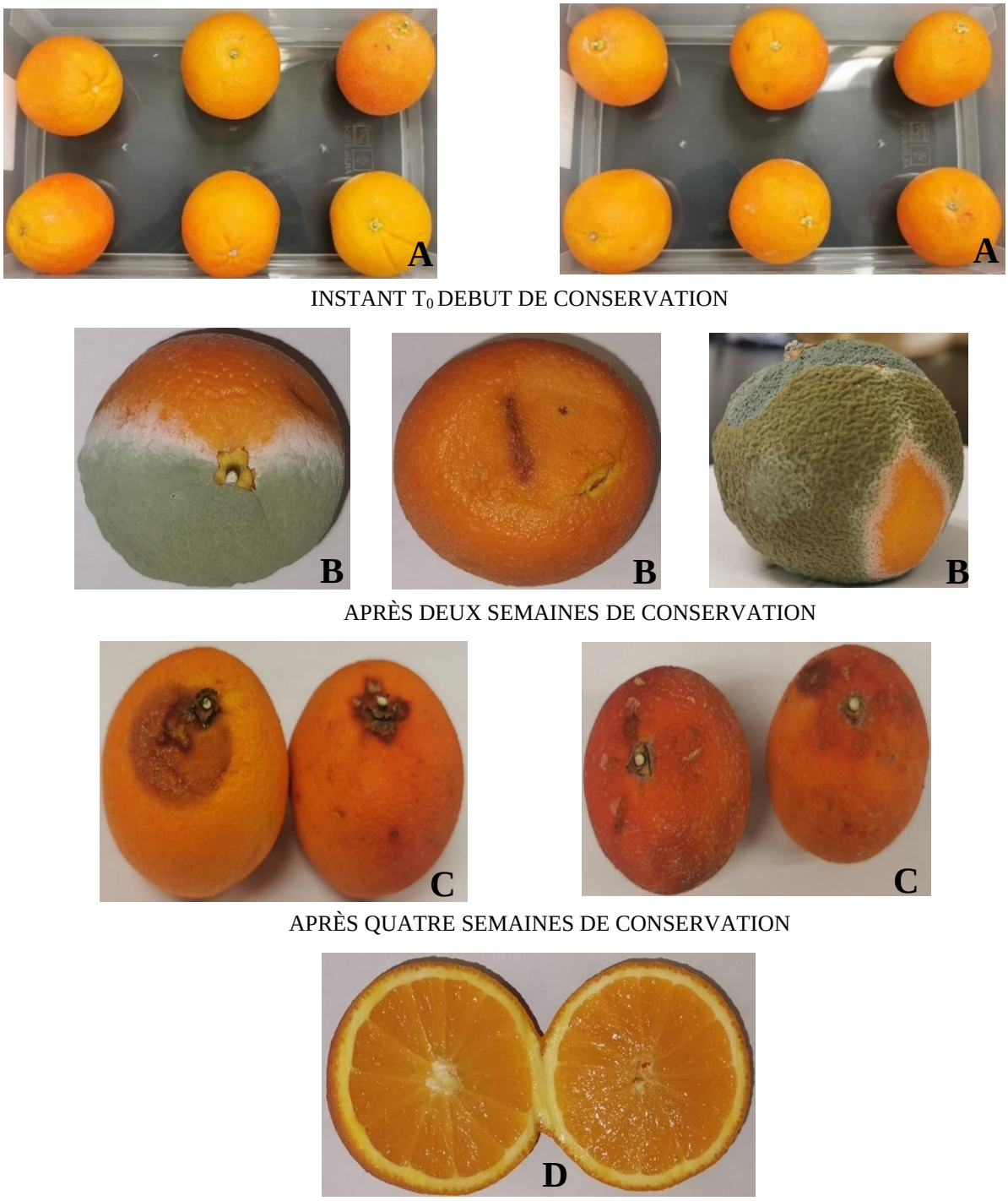


Figure 4.3 : Évolution dans le temps des aspects externes et internes des oranges témoins sans traitements (A : instant t_0; B : après 2 semaines de conservation; C : après 4 semaines de conservation; D : aspect interne après 4 semaines de conservation).

4.1.2.1.4 Oranges témoins traitées 2 semaine après le début d'expérience

Les échantillons témoins d'oranges, traités deux semaines après l'apparition des premiers signes de détérioration avec le surnageant bactérien, le pesticide chimique et leur combinaison, ont montré que ces trois traitements n'ont pas réussi à inhiber leur dégradation une fois entamée. Nous avons observé une perte de fraîcheur, ainsi qu'une aggravation des flétrissements et des taches noires, sans que l'aspect intérieur de ces oranges ne soit réellement affecté.

DEUX SEMAINES APRÈS CONSERVATION ET DEBUT DES TRAITEMENTS

APRÈS UNE SEMAINE LE DEBUT DES TRAITEMENTS

APRÈS DEUX SEMAINES DE TRAITEMENT

Figure 4.4 : Aspect externe et interne des oranges témoins conservées pendant deux semaines sans traitement et ayant été traitées puis reconservées pour deux autres semaines (A : avec surnageant bactérien; B : avec fongicide chimique; C : avec surnageant bactérien + pesticide chimique).

4.1.2.2 Pommes de terre

4.1.2.2.1 Pommes de terre traitées avec le surnageant bactérien

Suite aux tests de conservation avec le surnageant bactérien, les pommes de terre n'ont montré aucun signe de détérioration après 4 semaines de conservation. Cependant, les résultats indiquent la perte de 2 échantillons attaquées par des germes pathogènes sur les 12 (voir image C), ainsi que l'apparition de quelques flétrissements et de bourgeons, sans que l'aspect interne ne soit affecté.

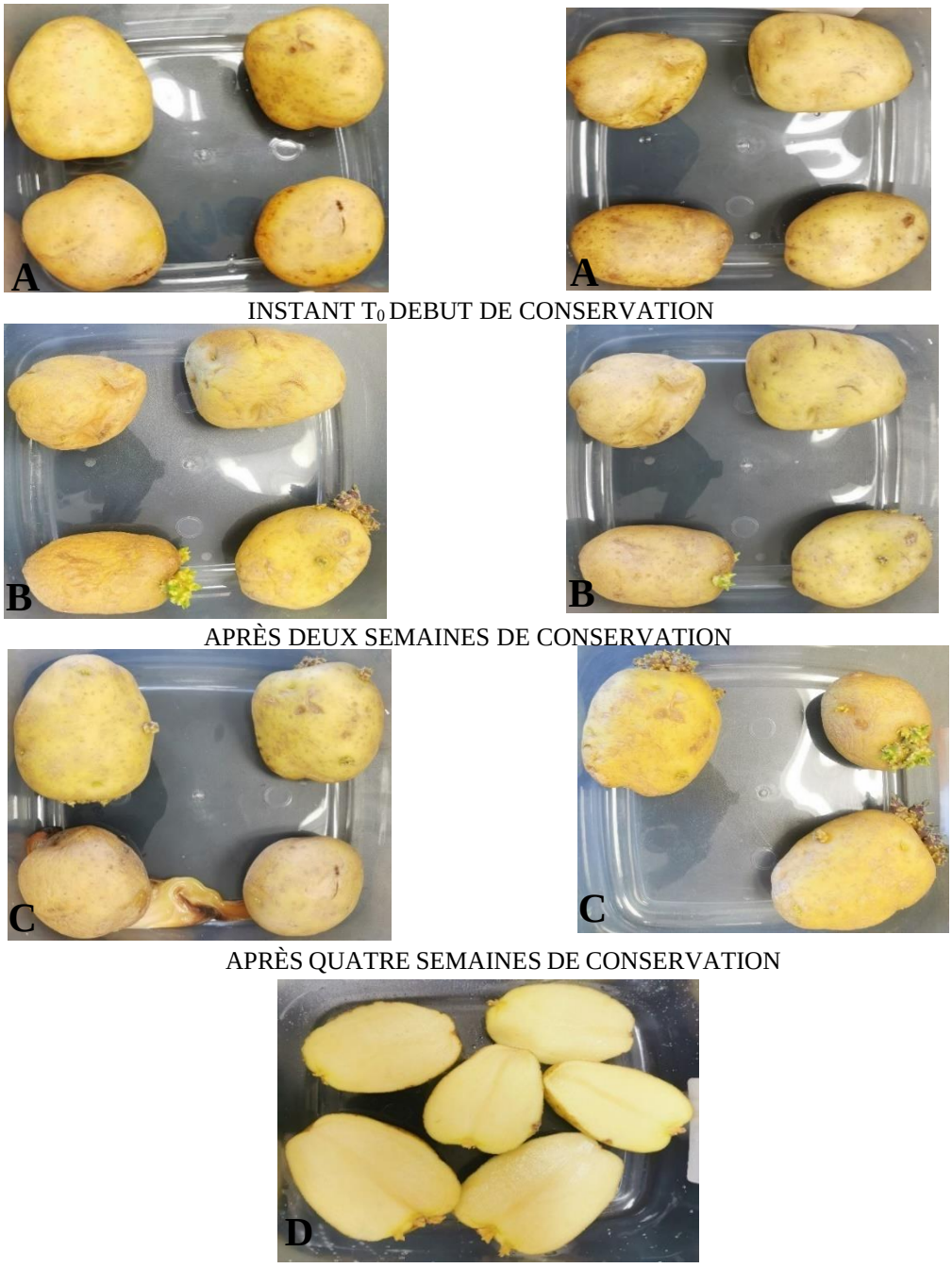
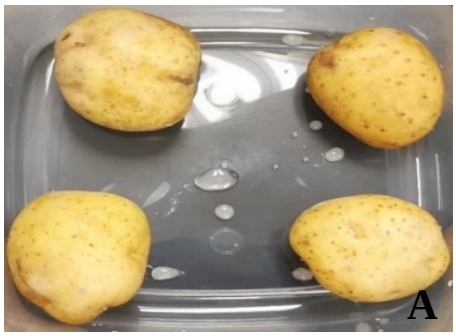


Figure 4.5 : Effet du surnageant bactérien sur les aspects externes et internes des pommes de terre dans le temps (A : instant t_0; B : 2 après semaines de conservation; C : après 4 semaines de conservation; D : aspect externe après 4 semaines de conservation).

4.1.2.2.2 Pommes de terre traitées avec le pesticide chimique

Les pommes de terre traitées avec le pesticide chimique n’ont montré aucun signe de détérioration après 4 semaines de stockage. Aucun des 12 échantillons examinés n'a subi de perte. De plus, aucune altération interne n’a été notée (voir image D), à l'exception des bourgeons et de quelques flétrissements sur la pelure.



INSTANT T_0 AU DEBUT DE LA CONSERVATION

APRÈS DEUX SEMAINES DE CONSERVATION

APRÈS QUATRE SEMAINES DE CONSERVATION

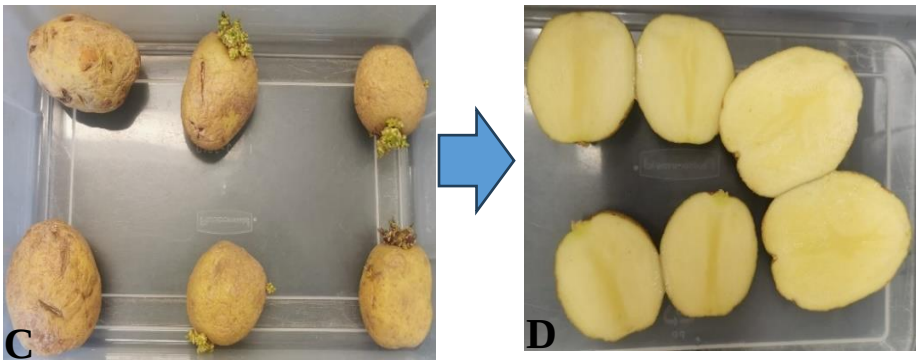
Figure 4.6 : Effet du pesticide chimique sur les aspects externes et internes des pommes de terre dans le temps (A : instant t_0; B : après 2 semaines de conservation; C : après 4 semaines de conservation; D : aspect externe après 4 semaines de conservation).

4.1.2.2.3 Pommes de terre témoin

Les échantillons témoins de pommes de terre sont demeurés intacts, sans aucun signe de détérioration, tant à l'extérieur qu'à l'intérieur, pendant quatre semaines. Cependant, nous avons enregistré deux pertes attaquées par des germes pathogènes sur les 12 échantillons.

INSTANT T_0 AU DEBUT DE LA CONSERVATION

APRÈS DEUX SEMAINES DE CONSERVATION



APRÈS QUATRE SEMAINES DE CONSERVATION

Figure 4.7 : Évolution dans le temps des aspects externes et internes des pommes de terre témoins conservées (A : instant t_0; B : après 2 semaines de conservation; C : après 4 semaines de conservation; D : aspect externe après 4 semaines de conservation).

4.1.3 Test d'antagonisme entre moisissures et bactéries ou entre biopesticides et moisissures

4.1.3.1 Antagonisme entre surnageant bactérien et les moisissures en milieu liquide

Les résultats des tests d'antagonisme réalisé entre le surnageant bactérien et les moisissures n'ont révélé aucune croissance mycélienne dans les différents tubes à essai au bout de 3 jours d'incubation à 30°C. Ce qui met en évidence l'action inhibitrice du surnageant bactérien sur la moisissure en milieu liquide.

A : J_0 B : J_4 C : J_8

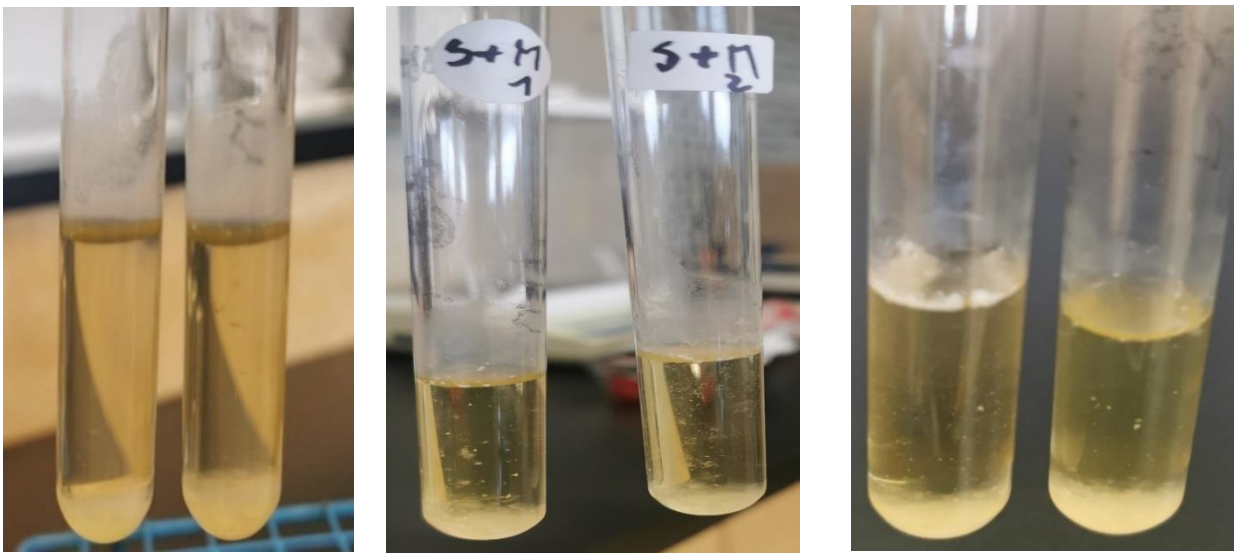


Figure 4.8 : Résultats de test d'exposition en milieu liquide entre surnageant et moisissures prélevées sur les oranges sur une période de 8 jours (A : J_0 ; B : J_4 ; C : J_8)

4.1.3.2 Antagonisme entre la souche bactérienne et les moisissures en milieu liquide

Dans ce test on a constaté qu'au bout de 3 jours d'incubation à 30°C il y'avait l'apparition de deux phases, un dépôt cellulaire et un amas blanchâtre en contact avec l'air dans les différents tubes à essai, signe d'une bonne croissance des moisissures dans les milieux de culture. Un tel résultat démontre l'incapacité de la souche bactérienne à inhiber la croissance de la moisissure.

A : J_0 B : J_4 C : J_8

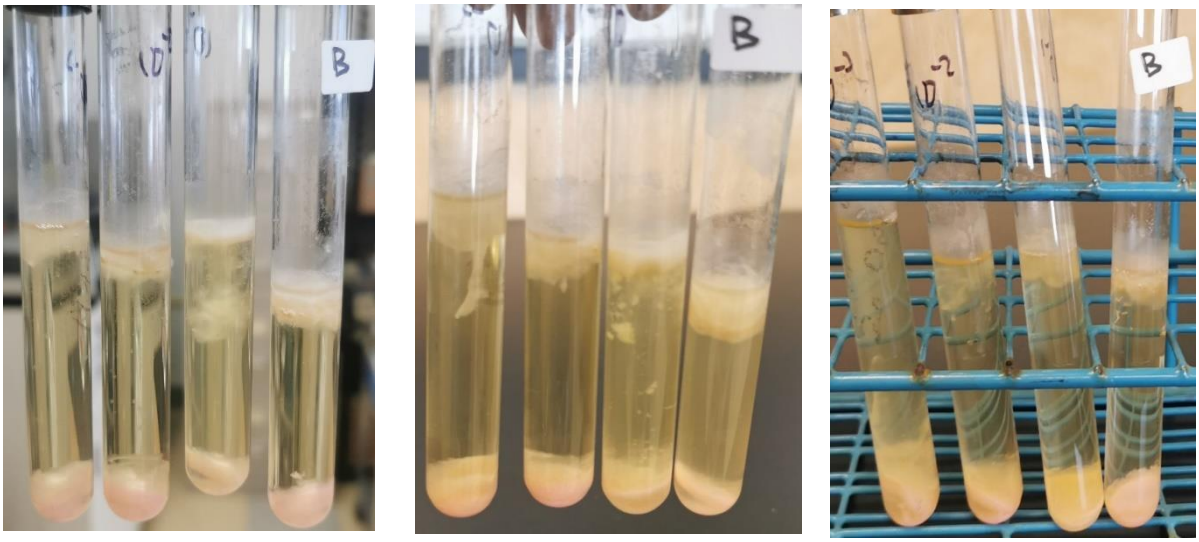


Figure 4.9 : Résultats de test d'exposition en milieu liquide entre bactéries et moisissures prélevées sur les oranges sur une période de 8 jours (A : J_0 ; B : J_4 ; C : J_8)

4.1.3.3 Antagonisme entre surnageant bactérien et les moisissures en milieu solide

Les résultats ont montré une croissance des moisissures dans les différentes boites de Pétri au bout de 3 jours d'incubation à 30°C, et aucune action inhibitrice du surnageant n'était visible sur les boites de pétri.

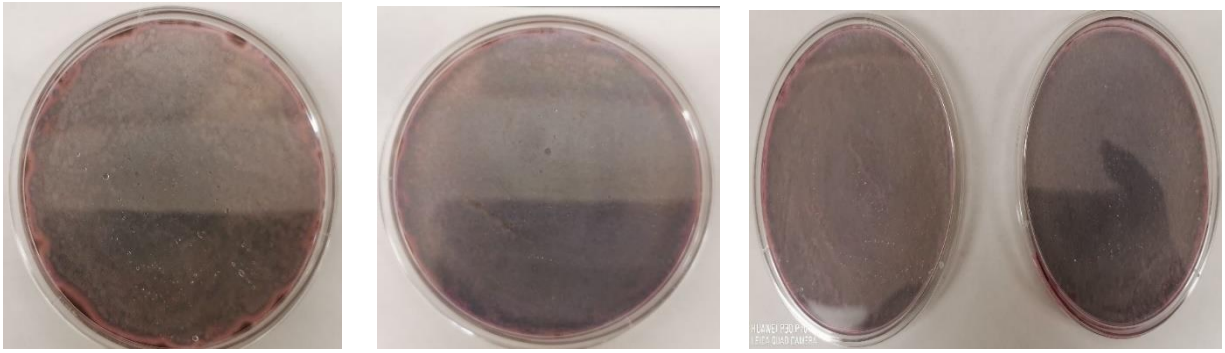


Figure 4.10 : Résultats de test d'exposition sur milieu solide entre le surnageant bactérien et la moisissure prélevée sur les oranges après une incubation à 30°C pendant 3 jours.

4.1.3.4 Antagonisme entre souche bactérienne et les moisissures en milieu solide

Les résultats ont montré une croissance des moisissures au bout de 3 jours d'incubation à 30°C sur les différentes boites de Pétri. Aucune action inhibitrice de la souche bactérienne n'était observable sur les boites de pétri malgré l'utilisation de différentes dilutions de la souche bactérienne (solution mère, 10^{-1}, 10^{-2} et 10^{-3}).

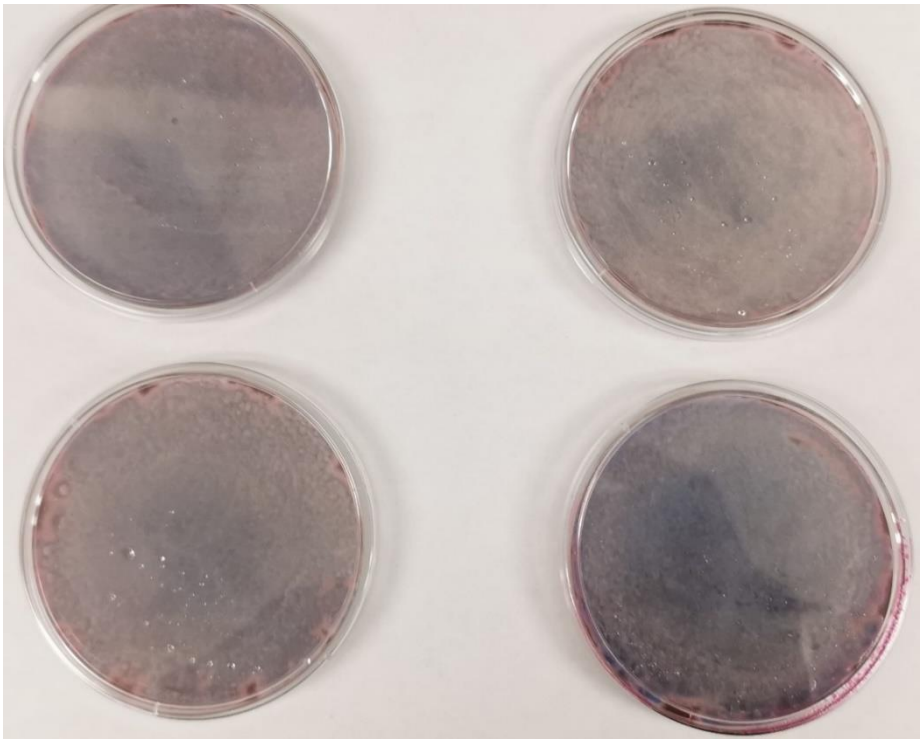


Figure 4.11 : Résultats de tests d'exposition en milieu solide entre la bactérie et la moisissure prélevée sur les oranges après une incubation à 30°C pendant 3 jours.

4.1.4 Paramètres physico-chimiques des jus d'orange

Les paramètres physico-chimiques des jus d'oranges analysés dans cette étude sont consignés dans le **tableau 3.1**. Le pH est un indicateur de la qualité chimique et biochimique des aliments. Ainsi, les jus d'orange analysés sont caractérisés par un pH acide dont les valeurs varient de 3,74 ± 0,01 à 3,91 ± 0,01. On constate que les jus d'orange conservés avec le biopesticide (3,74 ± 0,00) et le pesticide chimique (3,74 ± 0,01) sont les plus acides et sont significativement différents du jus d'orange du témoin 1 (3,91 ± 0,01) conservés sans le surnageant bactérien ou le pesticide chimique. Aussi, il existe une différence significative entre le jus naturel témoin 2 (3,83 ± 0,02) et le jus témoin 1 dont les oranges ont été conservées sans le surnageant bactérien ou le pesticide chimique. Quant à l'acidité titrable, le degré Brix et la teneur en cendre on constate qu'aucun des jus d'orange ne présente une différence significative au seuil de confiance de 5% avec des valeurs qui varient entre 7,85 ± 0,64 à 8,61 ± 0,57 pour l'acidité titrable, 12,36 ± 0,32 à 13,43 ± 0,21 pour le degré Brix, et de 0,2 ± 0,03 à 0,25 ± 0,06 pour la teneur en cendre des jus d'orange. Pour le taux d'humidité entre les jus, les analyses statistiques ont mis en évidence une différence significative entre le jus des oranges conservées avec le pesticide chimique (89,38 ± 0,31) et les autres jus d'orange. Les valeurs du taux d'humidité des jus d'orange varient entre une valeur maximale de (90,19 ± 0,1) de jus (témoin 1) conservés sans le surnageant bactérien ou le pesticide chimique et une valeur minimale de (89,38 ± 0,31) pour le jus d'oranges conservés avec le pesticide chimique.

Tableau 4.1 : Paramètres physico-chimiques des jus d'orange

Paramètres Physico-chimiques	Jus témoin 1 (conservé sans PC et BP)	Jus conservé avec surnageant bactérien	Jus conservé avec fongicide chimique	Témoin 2 (Jus naturel temps To)
pH	3,91 ± 0,01[b]	3,74 ± 0,00[a]	3,74 ± 0,01[a]	3,83 ± 0,02[c]
Acidité titrable (%)	7,98 ± 0,81[a]	8,62 ± 0,57[a]	8,26 ± 0,63[a]	7,85 ± 0,64[a]
Degré Brix	13,7 ± 0,5[a]	13,43 ± 0,21[a]	12,9 ± 0,17[a]	12,36 ± 0,32[a]
Cendres (%)	0,2 ± 0,03[a]	0,23 ± 0,2[a]	0,23 ± 0,1[a]	0,25 ± 0,06[a]
Humidité (%)	90,19 ± 0,1[a]	90,09 ± 0,10[a]	89,38 ± 031[b]	89,97 ± 0,01[a]

Sur une même ligne les valeurs numériques portant les mêmes lettres alphabétiques ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5%.

4.1.5 Paramètres biochimiques des jus d'orange

Le **tableau 4.2** présente les valeurs en protéines, glucides, acides gras, en Vitamine C, et en énergie des jus d'orange dont les oranges ont été conservées avec ou sans le biopesticide bactérien ou le pesticide chimique.

Tous les jus d'orange conservés (surnageant bactérien, pesticide chimique, témoin 1) et le jus naturel (témoin 2) ne présentent aucune différence significative au seuil de 5% quant à leur teneur en protéines avec des valeurs qui varient de 0,64 ± 0,02 pour le jus naturel (témoin 2) à 0,55 ± 0,02 pour le jus des oranges conservées avec le surnageant bactérien.

L'analyse des sucres présentes dans les jus d'orange révèle que le taux de sucres dans ces jus varie de 6,17 ± 0,18 à 9,75 ± 0,43. Toutefois, ce sont les jus dont les oranges ont été conservées avec le surnageant bactérien et le pesticide chimique qui donnent des valeurs supérieures, avec respectivement 9,24 ± 0,91 et 9,75 ± 0,44%. En effet, ces analyses mettent en évidence une différence significative du taux de sucres entre les jus des oranges

conservées avec le surnageant bactérien et le pesticide chimique et les jus d'orange des témoins 1 et 2.

Concernant les teneurs en lipide des jus d'orange analysés, elles varient de 0,03 ± 0,54 à 0,02 ± 0,01%. Les jus obtenus des oranges conservées avec le biopesticide et le pesticide chimique enregistrent les plus faibles teneurs en lipides avec des valeurs respectives de 0,02 ± 0,01 et de 0,05 ± 0,04%. Il n'existe aucune différence significative entre le jus d'orange du témoin 1 et les jus des oranges conservées avec le biopesticide et le pesticide chimique ainsi qu'avec le jus des oranges du témoin 2.

Par ailleurs, la quantité de vitamine C analysée dans les différents échantillons de jus d'orange révèlent que c'est le jus des oranges du témoin 2 qui contient une grande quantité de vitamine C (160,26 ± 3,17). Tandis que la quantité de vitamine C de jus des oranges conservées avec le surnageant bactérien, le pesticide chimique et le témoin 1 sont respectivement 63,44 ± 15,54, 63,88 ± 10,29 et 64,17± 12,55. Ces différentes valeurs se traduisent par une différence significative au seuil de 5% par rapport au jus obtenu à partir des oranges du témoin 2.

Enfin, l'analyse des jus d'orange met en évidence l'apport énergétique en calorie et en joule des jus d'orange produits. Les quantités d'énergie en calorie et en joule des jus d'orange varient entre 40,50 Cal ± 1,51 à 52,62 Cal± 1,51 et de 166,65 J ± 0,87 à 227,29 J ± 1,16. Le jus obtenu à partir du témoin 1 présente la quantité en énergie la plus élevée en calorie et en joule (52,62 Cal et 227,29 J) pour 100 grammes de jus. Les quantités d'énergie en calories des jus d'orange conservés avec le surnageant bactérien, le pesticide chimique, et le témoin 2 ne montrent pas de différence significative au seuil de 5 % entre eux, à l'exception du témoin 1. Il n'y pas de différence significative entre le surnageant bactérien, le pesticide chimique et le témoin 2 aussi bien dans le cas de l'énergie exprimée en cal/100g qu'en Kj/100g.

Tableau 4.2 : Paramètres biochimiques des jus d'orange

Paramètres Biochimiques	Jus témoin 1 (conservé sans PC et BP)	Jus conservé avec surnageant bactérien	Jus conservé avec fongicide chimique	Témoin 2 (Jus naturel temps To)
Protéines (%)	0,63 ± 0,03[a]	0,55 ± 0,02[a]	0,60 ± 0,02[a]	0,64 ± 0,02[a]
Glucides (%)	6,17 ± 0,18[b]	9,24 ± 0,91[a]	9,75 ± 0,44[a]	8,67 ± 0,47[ab]
Gras (%)	0,03 ± 0,54[a]	0,02 ± 0,01[a]	0,05 ± 0,04[a]	0,06 ± 0,01[a]
Vitamine C/100 mL	63,44 ± 15,54[a]	63,88 ± 10,29[a]	64,17 ± 12,56[a]	160,26 ± 3,17[b]
Energie cal/100g	52,62 ± 1,51[b]	40,50 ± 0,49[a]	42,5 ± 0,54[a]	40,54 ± 1,37[a]
Energie Kj/100g	227,29 ± 1,16[b]	166,65 ± 0,87[a]	181,63 ± 1,55[a]	169,53 ± 1,28[a]

Sur une même ligne les valeurs numériques portant les mêmes lettres alphabétiques ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5%. Kj : Kilojoule, Cal : Calories

4.1.6 Quantification des composés phénoliques des extraits de pommes de terre

4.1.6.1 Résultats de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les mesures d'absorbance de l'acide gallique sur une plage de concentrations (0, 50, 100, 200, 300, 400, 500 mg/mL) ont été utilisées pour établir une courbe de régression, représentée par l'équation y = 0,004x + 0,0539, avec un coefficient de corrélation R^2=0,9986. Cette courbe a ensuite permis de quantifier la teneur en composés phénoliques des extraits de pommes de terre, exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

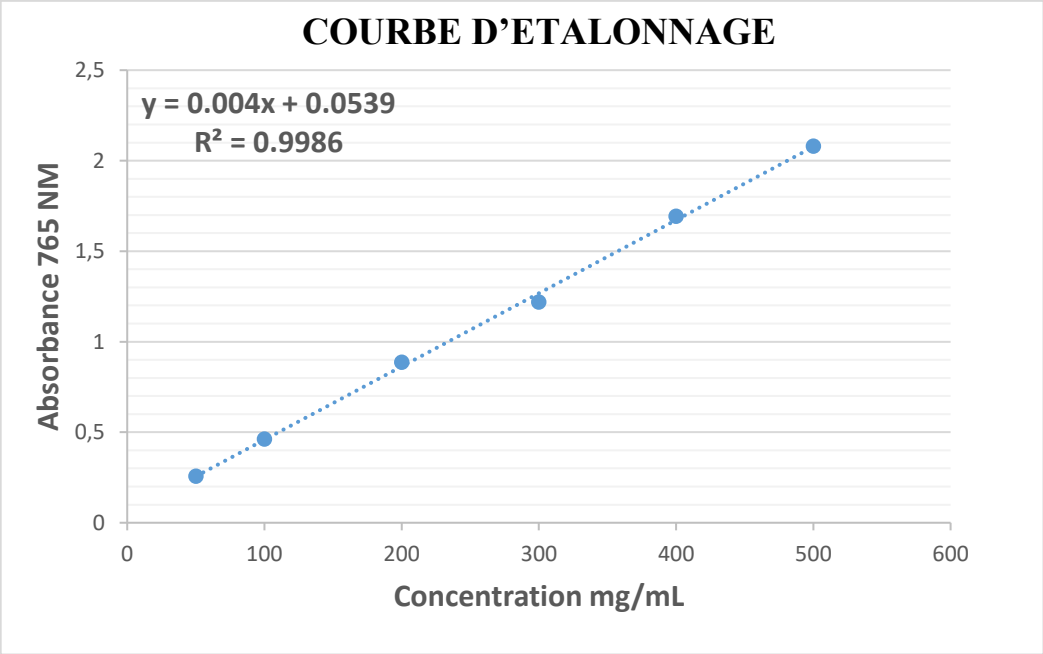


Figure 4.12 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

4.1.6.2 Résultats de la teneur en polyphénols des pommes de terre

La **figure 4.13** présente les teneurs en polyphénols dans les extraits de pommes de terre qui varient de 28,53±1,25 à 104,61±4,59 mgEAG/100g. Les pommes de terre traitées avec le pesticide chimique affichent la concentration la plus élevée qui est de 104,61±4,59 mgEAG/100g. Tandis que, les pommes de terre du témoin 1, celui conservé avec le surnageant bactérien, et le témoin 2, présentent des teneurs en polyphénols respectives de 28,53±1,25 mg EAG/100g, 48,03±1,32 mg EAG/100g, et 89,28±4,18 mg EAG/100g. Les résultats indiquent qu'il n'y a pas de différence significative entre les teneurs en polyphénols des pommes de terre traitées avec le pesticide chimique et celles du témoin 2. En revanche, une différence est observée entre ces dernières et le témoin 1, ainsi que les pommes de terre traitées avec le surnageant bactérien. De plus, une différence significative est également constatée entre le témoin 1 et les pommes de terre traitées avec le surnageant bactérien.

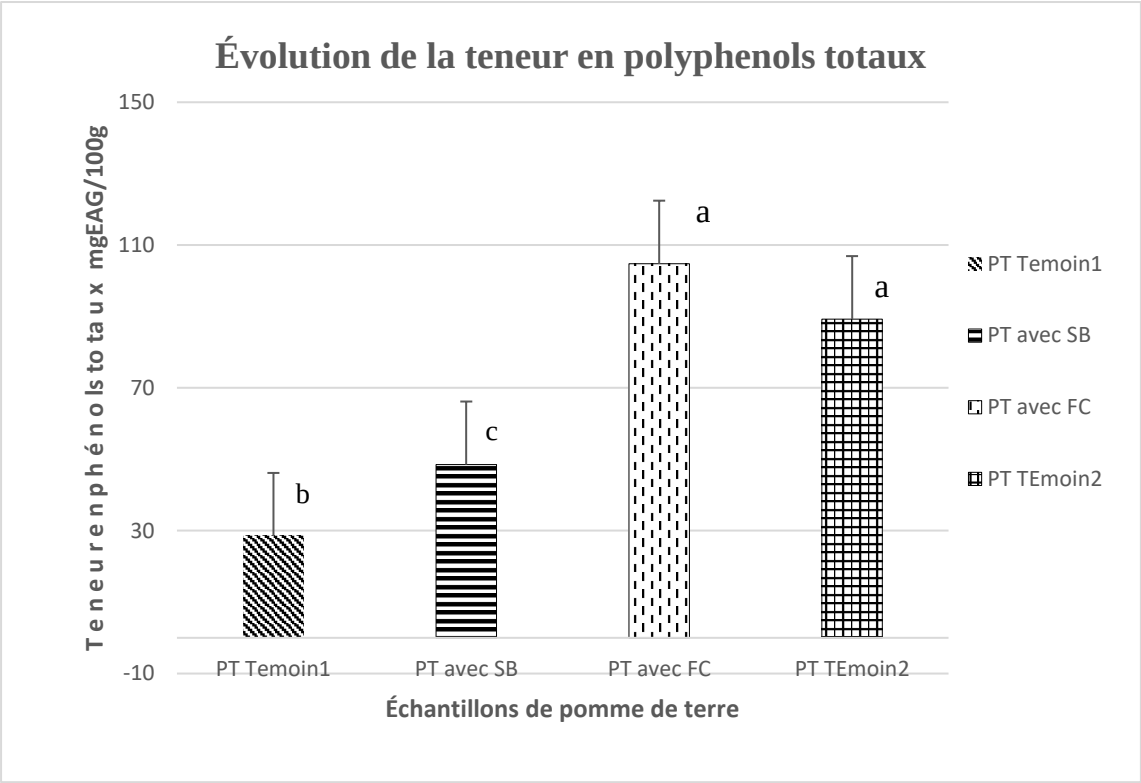


Figure 4.13 : Teneur en polyphénols totaux des extraits de pomme de terre mgEAG/100g (SB : surnageant bactérien, PT : pomme de terre, PC : pesticide chimique). Les graphiques portant les mêmes lettres alphabétiques ne sont pas statistiquement différents au seuil de 5%.

4.2 Discussion

L’orange comme la pomme de terre ont des qualités physico-chimiques, nutritionnelles et biochimiques qui attirent les consommateurs. Toutefois, ces qualités nutritives attirent les organismes pathogènes d’altérations (mycélienne, bactérienne, …) qui sont responsables des maladies post-récoltes. Partant, de cette optique il est impératif de mettre en place des techniques et méthodologies adaptées pour éliminer ou inhiber la croissance des champignons et bactéries pathogènes des fruits et légumes. L'utilisation du surnageant de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et du pesticide chimique aurait fait preuve d’une efficacité notable contre la croissance des moisissures et des bactéries pathogènes responsables de l'altération des oranges et des pommes de terre. Ces deux produits garantissent la protection des échantillons d'orange et de pomme de terre contre ces agents pathogènes (moisissures toxinogènes et bactéries d’altération, …) pendant une période de plus de 4 à 6 semaines. Ces résultats sont conformes à ceux de **Boraud *et al*.** (**2015**), qui ont observé des effets similaires pour la conservation des mangues de variété Kent avec *Bacillus subtilis* GA1. De plus, **Koffi** (**2018**) a également rapporté des protections semblables pour les ananas traités avec le surnageant de *Bacillus subtilis* ainsi qu'avec les cellules elles-mêmes. La combinaison du surnageant de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et du pesticide chimique à concentration réduite (1/3) n’assure pas cependant une meilleure protection des échantillons. En effet, les signes d'altération sont apparus après seulement 2 semaines de conservation pour les oranges, alors que les pommes de terre sont restées intactes pendant plus de 4 semaines. Ces observations pourraient s'expliquer par le fait que les deux substances exercent un effet inhibiteur l'une sur l'autre, ou que leur efficacité est spécifique à un type particulier d'échantillon, nécessitant peut-être une augmentation de la concentration du pesticide chimique. Ainsi, dans cette même optique **Hong *et al.* (2014)** ont démontré que le bicarbonate de sodium à faible dose, le traitement à l'eau chaude (HW) ou l’utilisation *B. amyloliquefaciens* à 25 ° C, contre la moisissure verte et bleue et la pourriture aigre, causées par *P.digitatum, P. italicum et G.citri-aurantii* dans des fruits de mandarine n'était pas aussi efficace comme le traitement fait uniquement au pesticide chimique. Cependant, dans notre étude certaines oranges traitées avec le surnageant de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et le pesticide chimique présentent des tâches sur leur peau, bien que l'intérieur de ces fruits n’ait pas été affecté. L'apparition de ces tâches pourrait être due au vieillissement de l'écorce du fruit, lié à sa physiologie, malgré le lavage post traitement des

oranges. Par ailleurs, il a été constaté que quel que soit le surnageant ou la souche bactérienne elle-même les tâches noires apparaissent toujours **(Koffi, 2018)**.

Les jus d'orange analysés sont caractérisés par un pH acide (3,74-3,91). Ces valeurs comprises entre 3,5 et 4,5 sont des valeurs recommandées pour un jus d'orange de qualité selon **Cheftel et Cheftel, (1977)**. La valeur du pH du jus d'oranges du témoin 1 (3,91) est significativement différente de celle du témoin 2 (3,83), tout comme leurs pH par rapport aux pH des jus d'oranges conservées en présence de biopesticides et de pesticides chimiques. Cette différence pourrait s'expliquer par l'état physiologique des oranges, car le témoin 1 conservé présentait déjà des signes de flétrissement sur son écorce tant disque le témoin 2 n'ayant pas été traité et conservé était plus frais. Ces résultats sont similaires aux résultats de **Meziane, (2018)** et de **Clotteau, (2002)** qui sont respectivement 4,06 et 3,84. Cependant, les pH des jus d'oranges conservées avec biopesticides et pesticides chimiques sont les plus acides avec des valeurs très proches respectivement 3,74 et 3,74. Nos résultats sont également similaires aux résultats de **Fatima, Khadidja et Madiha, (2017)**. Au cours, de leur étude comparative entre les jus d'orange industriels et les jus d'orange artisanaux, elles ont noté la variation des valeurs du pH entre 3,55 et 3,93 chez différentes variétés d'orange. D'autres auteurs comme, **Ndife *et al.* (2013**) ont trouvé également des valeurs du pH entre 3.23 et 4.08 pour différents types de jus d'orange. En revanche, **Ibticem** et **Boutheyna (2023)** ont observé des valeurs de pH très élevées par rapport à la norme établie par le Codex Alimentarius (entre 3 et 4,5) pour les jus de fruits frais destinés à la conservation. Ils ont mesuré un pH de 5,4 pour le jus emballé en plastique (JEP) et de 4,98 pour le jus d'orange naturel (JON), tandis que le jus emballé sombre (JES) a un pH de 3,3. Le pH acide est un obstacle à la contamination mycélienne ou bactérienne des jus frais car il inhibe leur croissance. Ceci nous permet de dire que nos jus sont alors sans crainte de contamination (**Hatcher *et al.*, 1992 ; Jay, 2000**). Selon **Messaid, (2008)**, la variation du pH est liée à plusieurs facteurs : le degré de maturité, les conditions climatiques, la nature du sol et la région. Quant aux jus industriels, la valeur du pH dépend essentiellement du procédé de fabrication du jus final avec ajout entre autres : des sucres, régulateur d'acidité, d'arôme, de colorants, d'acide (citrique, maliques, oxaliques, tartriques, galacturoniques, quiniques). Peu d'études existent sur les effets directs des pesticides chimiques et du surnageant bactérien sur les paramètres physico-chimiques et organoleptiques des fruits. Néanmoins, certains auteurs ayant utilisé d'autres méthodes de conservation et de

bioprotection des fruits post-récolte ont obtenus des résultats satisfaisants. Ainsi, dans une étude menée par **Yardjouman *et al.* (2022)** sur l'instauration d'un système de conservation post-récolte des mangues de variété Kent en utilisant le froid et l'hexanal, il a observé que le pH des échantillons de mangues augmente progressivement tout au long de la période de stockage, quel que soit le type de traitement post-récolte (froid, température ambiante, hexanal), ce résultat est plutôt contraire à nos résultats. Nous pouvons cependant dire que le caractère plus acide des jus obtenus des oranges conservées avec le surnageant bactérien et le pesticide chimique par rapport aux jus des témoins 1 et 2 serait dû à d'autres facteurs. En effet, les travaux de **Zeyneb et Bouchra, (2017)** permettent de justifier nos résultats. Ces auteurs ont pu démontrer que l'augmentation de la température peut influencer le pH du jus d'orange en le rendant plus acide.

Les valeurs de l'acidité titrable des jus d'orange analysés sont comprises entre 7,85% et 8,62%. L'acidité dans les jus d'orange est attribuée, selon **Kaanane *et al.* (1998)** à l'acide citrique, présent à une proportion de 95 %, et à l'acide malique, présent à une proportion de 5 %. L'application du surnageant bactérien et du pesticide chimique sur les oranges a permis de préserver leur acidité, contrairement aux résultats de **Cissé (2012)** qui après enrobage des mangues dans un film de chitosane incorporant le système enzymatique lactopéroxydase, l'acidité des mangues conservées diminue significativement par rapport à la valeur de référence. Nos résultats d'acidité titrable obtenus sont similaires à ceux de **Clotteau, (2002)** et de **Meziane, (2018)** avec des teneurs respectives de 7,9 % et 7,07%. Ces auteurs ont réalisé ces analyses sur du jus pur d'orange fraiche sans addition de conservateurs, d'acides organiques, ou de colorants. Les travaux sur d'autres fruits tropicaux soutiennent également nos résultats. C'est le cas des résultats des travaux de **Kameni *et al.* (2003)** qui ont révélé une teneur en acidité titrable de 17,9% pour la mangue de variété Amélie. En revanche, nos résultats ne sont pas en accords avec ceux de **Fatima, Khadidja et Madiha, (2017).** Ces dernières ont obtenu pour des jus d'orange traditionnels des oranges de variétés *valencia* et *sanguinelli* des teneurs respectives en acidité titrables de 3,84 ± 0,23 et de 3,37 ± 0,19. Cette analyse montre que l'acidité des jus d'orange varie en fonction du degré de maturité, la variété, la zone de production comme soutenu par **Fatima, Khadidja et Madiha, (2017)**. L'acidité totale permet de préserver la qualité microbiologique du produit, prolongeant ainsi sa durée de conservation. De plus, elle

favorise la rétention de la vitamine C et contribue à maintenir la stabilité organoleptique du produit, notamment : sa couleur, sa saveur et son goût (**François, 1994**).

Dans l'industrie agroalimentaire, le degré Brix ou la teneur en solides solubles totaux indique la quantité de sucres présente dans le jus de fruit, plus le degré Brix est élevé, plus l'échantillon est sucré. Il dépend essentiellement des matières solides (pulpe des fruits, sucre, glucose et autres ingrédients) dissoutes dans l'eau de jus. Selon **Sadler et Murphy, (2010)** le degré Brix des jus d'orange est compris entre 9° et 14° ce qui est conforme à nos résultats obtenus qui varient entre 12,36 et 13,7. Cependant, l'analyse statistique de nos résultats ne montre aucune différence significative entre le degré Brix des jus obtenus à partir des oranges conservées de surnageant bactérien, le pesticide chimique et les jus obtenus à partir des oranges des témoins 1 et 2. Des résultats similaires ont été observés par **Cissé, (2012)**, après comparaison de la teneur en solides solubles totaux entre les mangues enrobées au chitosane et les mangues non enrobées. Leurs résultats ont montré que la teneur en solides solubles totaux augmentaient dans toutes les mangues et aucune différence significative n'a été observée entre elles. Il en est de même pour les mangues traitées avec le système enzymatique et les mangues non traitées. En revanche, d'autres études ont montré d'autres facteurs pouvant influencer les valeurs du degré Brix des jus d'orange. En effet, les analyses physico-chimiques de trois jus d'orange industriels réalisées par **Nora et Samia, (2016)** révèlent que le degré Brix des jus industriels est fortement influencé par les différents traitements et l'ajout des ingrédients qui rentrent dans la formulation de ces jus. Les résultats obtenus révèlent que seul le jus d'orange de marque « Ryhane » est conforme aux normes de l'Association Française de Normalisation (AFNOR) dont la valeur du degré Brix varie entre 12°et 14° alors que les deux autres jus d'orange industriels (Mistral et Ramy light) ont des valeurs qui ne sont pas conformes aux normes de AFNOR. En outre, les résultats obtenus par **Kajad (2021)** montrent qu'il y a l'existence d'une variation de part et d'autre des valeurs du degré Brix des différents échantillons. Ainsi, une diminution notable du degré Brix par rapport au groupe témoin a été observée, en particulier avec l'utilisation de faibles concentrations d'acide salicylique (0,5% d'AS), ainsi qu'avec *Bacillus amyloliquefasciens* SF14 utilisé seul ou en combinaison avec l'acide salicylique à 0,5%. A partir de l'analyse des résultats précédents nous pouvons conclure que le degré Brix ou la teneur en solides solubles totaux le rapport entre le degré Brix et l'acidité titrable est essentiel pour évaluer la maturité et la saveur d'un fruit. Lorsque le taux de sucres augmente

(exprimé en °Brix), la concentration en acides organiques diminue (acidité titrable), indiquant un stade de maturité plus avancé du fruit (**Sadler et Murphy, 2010**).

Les jus d'orange analysés ont de faibles teneurs en cendres qui variant entre 0,2 ± 0,03% et 0,25 ± 0,06% (200 ± 0,03 mg/100 g et 250 ± 0,06 mg/100 g), ces valeurs ne correspondent pas aux normes de **AFNOR V 76-005** de 5 décembre 1994 pour les jus d'orange qui préconisent un intervalle de 280 mg/100g à 500 mg/100g. Les cendres sont des résidus issus de l'incinération de la matière organique (**Multon *et al.*, 1991**). Sa présence dans le jus de fruit traduit la présence potentielle en micronutriment comme Na, K, Fe, Mg et Ca dans ce jus. Nos résultats indiquent qu'il n'y a pas de différence significative entre les jus issus des oranges conservées avec le surnageant bactérien, le pesticide chimique et les jus des oranges témoins 1 et 2. La faible teneur en cendre des jus pourrait se traduire par la longue durée de conservation des oranges, car selon **Park *et al.* (1983)** la teneur en minéraux des oranges diminue généralement au fur et à mesure que la saison est longue. Par ailleurs, nos résultats sont différents de ceux de **Fatima, Khadidja et Madiha, (2017)** où les teneurs en cendre de leurs échantillons étaient comprises entre 2 ± 0,28% et 2,5 ± 0,57%, et qui sont légèrement supérieures à la gamme obtenue par **Ndife *et al.* (2013)** dans de différentes marques de jus d'orange avec des valeurs de 0,64 à 1,32%. L'analyse effectuée par **Kajad (2021)** a mis en évidence une différence significative dans les niveaux de cendres entre le jus des oranges traitées seulement avec de l'acide salicylique (AS) 0,5%, avec l'antagoniste SF14 utilisé seul ou en combinaison avec l'AS à 0,5%, et les oranges témoins.

Les analyses des jus d'orange révèlent des taux d'humidité élevés (variant entre 89,38 ± 0,31% et 90,19 ± 0,1%), avec une différence significative observée uniquement entre le jus provenant des oranges conservées avec le pesticide chimique et les aux autres échantillons. Des taux élevés d'humidité peuvent s'expliquer par le fait que les fruits tropicaux, comme l'orange qui est non-climatérique, ont une teneur naturellement élevée en eau. Nos résultats sont sensiblement proches de ceux obtenus par **Meziane (2018)** qui est de 88,26 % pour le jus pur d'orange. Nos valeurs sont comprises dans l'intervalle établi par **Robards et Antolovich (1995)** ainsi que par **Ting (1980)**, qui se situe entre 87% et 92% pour le taux d'humidité des jus d'orange.

Selon le tableau de la composition biochimique du jus d'orange établi par **Ahmed *et al.* (1978)**, la valeur protéique d'un jus d'orange est comprise entre 0,58 – 1,29 g pour 100g

de jus. Les jus d'orange analysés dans notre étude ont des teneurs en protéines faibles (0,55% à 0,64%). Nos résultats sont donc conformes. Par ailleurs, selon **Hassan et Othman (2011**), les jus de fruits ont une teneur en protéine généralement très faibles. De peu, nos résultats présentent une similitude notable avec ceux de **Chuku et Chinaka, (2014**), révélant une teneur en protéines de 0,51%. En comparaison avec d'autres études précédentes, nos résultats surpassent ceux de **Fatima, Khadîdja et Madiha (2017**) qui ont rapporté des taux de 0,26% pour le jus d'orange industriel, et entre 0,35% et 0,43% pour des jus artisanaux. Ainsi, la faible teneur en protéines de leurs jus d'orange pourrait s'expliquer par le mode de production de ces jus ou même de celles des oranges elles-mêmes. En revanche, une étude antérieure menée par **Chaudhary et Verma (2011**) a démontré une teneur en protéines nettement plus élevée, atteignant 1,975%. **Onifade et Agboola (2003)** soutiennent que l'augmentation de la teneur en protéines dans les aliments est attribuable à l'activité de certains microorganismes qui synthétisent plusieurs protéines enzymatiques. Tandis que, **Musa *et al.* (2010) et Eshun *et al.* (2013)** soutiennent que la richesse en protéines d'un aliment est étroitement liée à sa variété génétique. Cet état de fait explique certainement la variabilité des teneurs observées en fonction de différents types d'aliments testés.

Les agrumes, notamment le jus d'orange, renferment principalement trois sucres simples : le saccharose, le glucose et le fructose. Ces sucres constituent environ 80% des glucides dans le jus d'orange (**Kelebek, 2009**). Les jus d'orange conservés avec le surnageant bactérien et le pesticide chimique présentent les taux en glucides les plus élevés (9,24% à 9,75%), par rapport aux jus des témoins 1 et 2 (6,17% et 8,67%). Ces résultats révèlent une différence significative entre le témoin 1 et les jus conservés avec le surnageant bactérien ainsi qu'avec le pesticide chimique. On pourrait affirmer que les conservateurs appliqués à ces oranges permettraient de préserver la quantité de glucides dans les oranges. Cependant, l'étude menée par **Fanny (2022**) sur la conservation post-récolte de la tomate révèle aucune différence significative dans les taux de sucres solubles entre les différents échantillons de tomates, qu'elles aient été traitées à une température basse ou élevée, avec ou sans hexanal. À l'exception de l'échantillon témoin et de celui récolté au stade Breaker, traité à l'hexanal lors de la récolte et conservés à 12°C, qui affichent respectivement des taux de sucres de 5,5 % et 5,3 %. Sur la base d'une comparaison entre un fruit non climactérique (l'orange) et un autre climactérique (la tomate), il serait peu probable de conclure que le surnageant

bactérien et le pesticide chimique ont un effet sur le taux de sucre dans les aliments, d'autant plus qu'il n'y a aucune différence significative entre les oranges conservées avec le surnageant bactérien et celles traitées avec le pesticide chimique. Par ailleurs, selon **Paul et Rohrbach (1985**), la température de stockage pourrait favoriser la diminution de la quantité de sucres, si le temps de conservation est prolongé. Les auteurs **Ting (1980**) et **Robards et Antolovich (1995)**, rapportent que la teneur en glucides d'un jus d'orange varie entre 10 à 12 g/100g. La faible teneur en glucides des jus pourrait s'expliquer par le fait que les jus purs sont exempts de tout traitement et ajout de sucre de table, comme rapporté par **Nora et Samia (2016**). De plus, **Fatima, Khadîdja et Madiha (2017**) ont fait le même constat de la teneur de sucres totaux chez le jus d'orange industriel et les jus d'orange artisanaux obtenus des variétés *valencia* et s*anguinelli*. La teneur en sucres totaux du jus industriel est de 14,46% du fait de l'ajout d'édulcorants ou sucres de table tandis que les jus artisanaux de *valencia* et *sanguinelli* ont respectivement 12,46% et 13,52%. Les oranges conservées avec le surnageant bactérien et le pesticide chimique présentent des teneurs en glucides (9.24% et 9.75%) similaires à celles rapportées pour différentes marques de jus d'orange industriel testés par **Ndife *et al.* (2013**), se situant entre 9,15% et 14,25%. Nos résultats se situent dans cet intervalle. Selon, la fiche de valeur nutritive de la compagnie de fabrication de jus d'orange 100% pur « TROPICANA », le taux de glucide dans une portion de 250 mL de jus est de 23 grammes soit 9% (https://www.tropicana.ca/fr/products/jusd%E2%80%99orange tropicana%C2%AE-pur-%C3%A0-100-beaucoup-de-pulpe-0, consulté le 01/05/2024).

Comme la majorité des agrumes, l'orange est caractérisée par une faible teneur en gras. Dans le cas de notre étude, nos jus d'orange sont caractérisés par une faible teneur en gras avec des valeurs se situant entre 0,02 et 0,06%. Le gras du jus d'orange à deux origines : le gras provenant du flavedo (couche externe coloré de l'écorce d'un agrume) qui est introduit dans le jus lors de son extraction industrielle et le gras issu de l'endocarpe avec une très faible teneur. Ainsi, dans un jus de 100 g contenant entre 80 et 100 mg de lipides totaux, une proportion de 4 à 6 mg provient de l'endocarpe, selon l'étude menée par **Nagy et Shaw (1990)**. Peu d'études mentionnent la teneur réelle en lipides dans les jus d'orange, la teneur retrouvée dans la bibliographie fait état de moins de 2%. En outre, d'autres auteurs dont les résultats sont similaires aux nôtres mentionnent des teneurs en lipides comprises

entre 0,0 et 0,56 g pour 100 grammes de jus d'orange (**Ahmed *et al.*, 1978 ; Bourokaa, 2012**).

A la lumière des résultats obtenus sur la teneur en Vitamine C, on peut observer une différence significative de la teneur en Vitamine C entre le jus d'orange du témoin 2 qui est de 160,26 ± 3,17 mg/mL et celles des autres jus d'orange. La teneur en Vitamine C des jus d'orange du témoin 1 et des jus des oranges conservées avec le surnageant bactérien et le pesticide chimique sont respectivement de l'ordre de 63,44 ± 15,54, 63,88 ± 10,29 et de 64,17 ± 12,55. Nos résultats sont similaires à ceux de **Sihem et Bibia (2014**) qui, dans leurs analyses, ont observé, les effets des traitements technologiques sur la Vitamine C des jus d'orange, notamment avec une teneur élevée de 117 mg pour le jus d'orange avec pulpe avant stérilisation et conservation. En revanche, les jus d'orange ayant été pasteurisés et conservés présentaient des teneurs en Vitamine C inférieures à 100 mg. Cette observation a également été confirmée par **Meziane (2018**), qui a constaté que le jus pur naturel présente une teneur en Vitamine C de 43,83 mg/100g, tandis que les jus industriels affichaient des valeurs inférieures à 40 mg/100g. En outre, une étude comparative entre les jus d'orange industriels et les jus d'orange artisanaux menée par **Fatima, Khadîdja et Madiha (2017**) a révélé une différence significative en teneur en Vitamine C. En effet, le jus d'orange commercial présente une teneur en Vitamine C significativement plus faible, d'environ 12,90 ± 0,01 mg/mL, par rapport aux jus d'oranges artisanaux valencia et sanguinelli, qui affichent respectivement des valeurs de 25,10 ± 0,80 mg/mL et de 27,86 ± 3,09 mg/mL. D'après **Favier *et al.* (1993**), la teneur moyenne en Vitamine C du jus d'orange frais est de 44,0 mg/100g, avec une valeur minimale de 15,0 mg/100g. La variabilité des teneurs en acide ascorbique (Vitamine C) des oranges est influencée par divers facteurs tels que les variations saisonnières et annuelles du soleil, l'humidité, la variété du fruit, la position des fruits sur l'arbre et leur degré de maturité (**Nagy, 1980**). En plus des facteurs précédemment mentionnés, d'autres éléments peuvent également jouer un rôle, comme la sensibilité de la Vitamine C à l'air et en milieu aqueux (**Lee et Kader, 2000 ; Silva 2005**). Selon une étude de **Gil-Izquierdo *et al.* (2002)**, la Vitamine C étant réputée thermosensible n'a pas signalé de perte à l'issu d'une pasteurisation à l'échelle industrielle à 95°C pendant 30s. Des observations similaires sont mentionnées par **Parkhez-Moreno *et al.* (2005**) qu'une faible pasteurisation (70°C/30s) n'occasionne pas de perte. Cependant, une forte pasteurisation (90°C/1min) peut entraîner une perte de 8% de la teneur en vitamine C. Au regard, de ces

analyses plusieurs auteurs ont mis en évidence le rôle dommageable de l'oxygène dissous, la lumière, le résidu résiduel de H_2O_2 et la présence d'ions métalliques sur la teneur en Vitamine C des jus de fruit (**Belliot, 2003** ; **Ozkan *et al.* 2004**). **Solomon *et al.* (1995)** ont noté que dans les jus d'orange désaérés conservés pendant 30 jours dans des récipients non étanches, la Vitamine C avait disparu simultanément à la suite d'une augmentation de la concentration en oxygène dissous.

L'analyse des résultats indique que les pommes de terre conservées avec le pesticide chimique et celles du témoin 2 présentent les teneurs en polyphénols les plus élevées (104,61 mg EAG/100 g et 89,28 mg EAG/100 g), sans qu'il y ait de différence significative entre elles. En revanche, elles diffèrent significativement des pommes de terre du témoin 1 et de celles conservées avec le surnageant bactérien, qui sont également significativement différentes entre elles. Dans le cas général, la teneur en polyphénol de la pomme de terre sans pelure est environ 23,1 mg EAG/100g (https://www.lanutrition.fr/forme/les-fruits-et-legumes-les-plus-riches-en-polyphenols consulté le 23/05/2024). En effet, selon **Kadi *et al.* (2018)** les pelures de pomme de terre présentent des teneurs en composés phénoliques 10 fois plus élevées que celles de la chair. Nos résultats ne concordent pas avec ceux de **Dako *et al.* (2021)** qui ont obtenu des teneurs en polyphénols très élevées (286,7 ± 11,5 à 381,6 ± 4,9 mg EAG/100g) pour la même variété de pomme de terre par rapport à nos résultats actuels. Nous croyons que cela peut être dû à des différences dans les conditions de cultures ou encore dans les conditions d'extractions. En effet, son étude souligne l'impact de divers paramètres tels que les méthodes d'extraction (incubation à 30°C et 60°C pendant 24h, incubation à 65°C pendant 1h, incubation par micro-ondes), la température d'extraction, ainsi que le traitement avec ou sans éthylène. En outre, la teneur en polyphénols dans les pommes de terre dépend de plusieurs facteurs tels que la situation géographique, la variété, les conditions climatiques, la période de récolte et le mode d'extraction (**Kebbab, 2014**). L'étude réalisée par **Samia et Yasmina (2022)** révèle que l'effet de la cuisson exerce une grande influence sur la teneur des polyphénols dans les pommes de terre. Ainsi, cette étude montre que la pomme de terre crue est plus riche en polyphénols totaux que les autres pommes de terre cuite à la vapeur, cuite dans l'eau, à la braise, dans l'huile ou cuit au four. Par ailleurs, **Patil et Pike (1995), Prakash *et al.* (2007),** et **Ichrak Hichri (2019)** ont tous mené des analyses sur les polyphénols sur différentes parties des variétés d'oignons. Leurs résultats convergent et indiquent que les pelures et les tiges affichent les teneurs les plus

élevés de composés phénoliques et de flavonoïdes, alors que les bulbes présentent des teneurs plus faibles. Au regard de ces multiples constats, on pourrait affirmer que le traitement avec le surnageant bactérien et le pesticide chimique n'a pas eu d'influence sur la teneur des polyphénols totaux des pommes de terre analysées. Il faut cependant noter que les polyphénols qui sont des métabolites secondaires sont inducibles par élicitation comme moyen de défense suite à l'attaque par des pathogènes. Ces résultats ne permettent pas de conclure que le surnageant bactérien et le pesticide chimique ont eu un effet significatif sur la teneur en polyphénols des échantillons de pomme de terre.

CONCLUSION

Cette étude a été réalisé dans le but d'étudier le rôle du surnageant de *Bacillus subtilis* ATCC3366 et du pesticide ou fongicide chimique (Safer's, Canada) en tant que substances protectrices post-récolte pour l'orange et pour la pomme de terre. Elle a permis également d'analyser leurs effets sur les caractéristiques physico-chimiques et biochimiques de ces deux aliments. A la lumière des résultats obtenus, les oranges ont été bien conservées sur une période de 4 semaines et les pommes de terre ont été également bien conservées sur plus de 4 semaines. Ces résultats sont satisfaisants, car ils montrent une bonne préservation de la qualité sanitaire de ces aliments. Ils confirment également nos hypothèses concernant la conservation des oranges et des pommes de terre avec le surnageant bactérien et le pesticide chimique.

Les analyses physico-chimiques du jus produit à partir des oranges ont relevé que les oranges sont caractérisés par un pH acide, une forte teneur en acidité titrable et un taux élevé d'humidité. Ces jus d'orange sont marqués par des teneurs en protéine supérieure à 0,55% tandis qu'on note une différence significative au niveau de la teneur en glucides entre les jus obtenus à partir des oranges traitées avec le surnageant bactérien, le pesticide chimique et les oranges du témoin 1. Aussi la teneur en vitamine C la plus élevée a été retrouvé dans le jus d'orange du témoin 2 tandis qu'aucune différence significative n'a été observé au niveau de la teneur en gras entre les différents échantillons. Quant aux échantillons de pommes de terre, la teneur en polyphénols totaux a été marquée par une différence significative entre les pommes de terre traitées avec le pesticide chimique et la pomme de terre témoin 1 tandis qu'aucune différence significative n'a été observée entre le pesticide chimique et le témoin 2. Cependant, les différences significatives des teneurs en polyphénols entre les pommes de terre conservées avec le surnageant bactérien et le témoin 1 suggèrent que la variation des paramètres physico-chimiques et biochimiques observés chez les oranges et les pommes de terre n'est pas nécessairement due à l'effet du surnageant bactérien ou du pesticide chimique. Cela confirme partiellement l'hypothèse selon laquelle ces substances pourraient influencer les paramètres physico-chimiques et biochimiques des oranges et des pommes de terre.

Par ailleurs, il est à noter que la combinaison du surnageant bactérien et du pesticide chimique n'a pas réussi à inhiber ou éliminer les altérations post-récolte, ce qui ne permet pas de confirmer l'hypothèse selon laquelle leur association pourrait inhiber partiellement

ou totalement les moisissures toxinogènes. Compte tenu de ces résultats, il semble que le surnageant bactérien et le pesticide chimique soient plus efficaces en prévention qu'en traitement. Néanmoins, leur utilisation en tant que substances de lutte contre la prolifération des moisissures mycotoxinogènes a donné des résultats plus ou moins satisfaisants. Il serait donc pertinent de suggérer le remplacement partiel de certaines molécules de synthèse utilisées contre les pathogènes alimentaires par des biopesticides, qui présentent des avantages significatifs, étant généralement plus respectueux de la santé des consommateurs et ayant un impact environnemental réduit.

Forces et limites de cette étude

Forces :

- Utilisation de biopesticide est plus écologique (Eco-friendly)
- Moins dispendieux et plus facilement accessible
- Excellente alternative face aux pesticides chimiques
- S'assurer que les oranges à traiter n'ont subi aucun traitement préalable avant l'étude
- Tester les biopesticides et pesticides sur des pathogènes post-récolte de pomme de terre en milieux solides

Limites :

- Répéter les expériences dans le temps ou dans l'espace au moins une 2e fois
- Approfondir certains volets de l'étude. Exemple : Faire une série de différentes dilutions ou concentrations des biopesticides.
- S'assurer que les oranges à traiter n'ont subi aucun traitement préalable avant l'étude
- Tester les biopesticides et pesticides sur des pathogènes post-récolte de pomme de terre en milieux solides
- Absence de spécificité des souches bactérienne par rapport à un type d'aliment.
- Effectuer plusieurs essais et tests
- Capacité d'adaptation du surnageant bactérien à l'aliment contrairement au pesticide chimique

PERSPECTIVES

La bioconservation de l'orange à partir de surnageant bactérien est une perspective intéressante à exploiter davantage afin de trouver des alternatives (longue durée) aux pesticides de synthèse. En plus de cette étude, d'autres travaux pourraient s'orienter :

- Sur la production industrielle de surnageant bactérien pour optimiser la lutte et vulgariser ces substances auprès des producteurs et commerçants de fruits ;
- Étudier l'applicabilité de la bactérie ou de son surnageant depuis un champ expérimental de production alimentaire ;
- Faire une classification spécifique de tous les biopesticides ou de surnageant bactérien en vue d'adapter les luttes contre les pathogènes vers ses types d'aliments.

RECOMMANDATIONS

- Mettre en place un organisme de suivi quant à l'utilisation des substances chimiques dans les établissements et restaurants ;
- Mener des campagnes de sensibilisation auprès des producteurs et des restaurateurs sur les conséquences de l'utilisation abusive des produits chimiques de synthèse ;
- Sensibiliser et faire la promotion des biopesticides auprès des populations sur les bienfaits de l'utilisation de ces produits sur la santé et la protection de l'environnement ;
- Respecter les prescriptions du fabricant concernant l'utilisation des pesticides chimiques pour la conservation des fruits.

Références bibliographiques

Abramson, D., Hulasare, R., White, N.D.G., Jayas, D.S., Marquardt, R.R., (1999) Mycotoxin formation in hulless barley during granary storage at 15 and 19% moisture content. Journal of Stored Products Research, 35 (3): 297–305. activities of phenols from onion (Allium cepa). Food Chemistry 102, 1389-1393.

Adams R.P. 2001. Identification of essential oil components by gaz chromatography/quadrupole mass spectrodcopoy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL.

Adams, M.R., Moss, M. (2002). Toxingenic Fungi, ln« Food Microbiology ». Rsc, Uk: 282-301.

Adams, Moss, M. (2002) Toxingenic Fungi in Food microbiology, RSC, UK, 46.

Adhya T.K, Sudkaber-Barik, Sethunathan N., (1981a)- Stability of commercial formulation of fenitrothion, methyl parathion and parathion in anaerobic soils- Journal Agriculture Food Chemistry, 29, pp. 90-93.

Ahmed E.M., Dennison P.A., Shaw P.E. (1978). Effect of selected oil and essence volatile.

Ahmed, E. M.; Dennison, R. A.; Dougherty, R. H.; Shaw, P. E. 1978a. Effect,of non Volatile Orange Juice Components, Acid, Sugar, and Pectin on the Flavor Threshold of d-limonene in Water. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 26 (1): 192-194.

Ahmed, E. M.; Dennison, R. A.; Dougherty, R. H.; Shaw, P. E. 1978b. Flavor and Odor Thresholds in Water of Selected Orange Juice Components. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 26 (1): 187-191.

Ahmed, E. M.; Dennison, R. A.; Dougherty, R. H.; Shaw, P. E. 1978c. Effect of Selected Oil and Essence Volatile Components on Flavor Quality of Pumpout Orange Juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 26 (2): 368-372.

Ait Abdelouahab N. 2001. Microbiologie alimentaire. Office des publications universitaires, 52 p.

Alex S., Ilan C., 1989. Degradation of Fungal Cell Walls by Lytic Enzymes of *Trichoderma harzianum*. https://doi.org/10.1099/00221287-135-3-675.

Amenan F.A., (2022). Mise En Place D'une Methode De Conservation De La Tomate (Solanum Lycopersicum) Par L'application Du Froid Et D'extraits Vegetaux Aux Effets Anti-Mûrissement Et Antifongique. Thèse Doctorat : Avignon Université & Université Nangui Abrogoua, Côte D'ivoire-France.

Anjarwalla P., Belmain S., Sola P., Jamnadass R., Stevenson P. C., 2016. Guide des plantes pesticides. In KewOrgWorld Agroforestry Center (ICRAF). https://www.kew.org/sites/default/files/Pesticidal plants - handbook - French.pdf.

Anonyme, 2009. Mangues, focus in Spore, magazine bimestriel du Centre Technique de coopération Agricole (CTA), N°140, Avril 2009. 16 p. http: /spore.cta.int (Consulté le 24 - 06 - 2019)

AOAC, 1990. Official method 925, 10. Official Methods of Analysis, 16 éd. Association of Official Analytical Chemist International, Gaithersburg, MD

ARLA. 2003. Registered Microbials and Pheromones in Canada.6 pp.

Aulagnier, F., Poissant, L. (2005). Some Pesticides Occurrence in Air and Precipitation in Québec, Canada. *Environmental Science & Technology.* vol. 39, p. 2960-2967.

Aziz, N.H., Moussa, L.A.A. (2002) Influence of gamma-radiation on mycotoxin producing moulds and mycotoxins in fruits. Food Control, 13 (4-5): 281–288.

Baldi I, Lebailly P, Mohammed-Brahim B, Letenneur L, Dartigues JF, Brochard P. 2003. Neurodegenerative diseases and exposure to pesticides in the elderly. American Journal of Epidemiology. 157(5):409-414.

Ban koffi L., Alloue-boraud W. A. M., Assamoi J., Koussemon M., Ongena M., 2015. Study of protective effect of *Pseudomonas fluorescens* F19 against microorganisms responsible of tomato fruits (*Lycopersicon esculentum* Mill) spoilage in Côte d'Ivoire. *International Journal of Innovative and Applied Research,* **3**(9): 9-16.

Bankole, S. A., Mabekoje, O. O. (2004). Occurrence of aflatoxins and fumonisins in preharvest maize from south-western Nigeria. *Food Additives & Contaminants*, *21*(3): 251–255. https://doi.org/10.1080/02652030310001639558

Baron N. C., Rigobelo E. C., Zied D. C., 2019. Filamentous fungi in biological control: Current status and future perspectives. Chilean Journal of Agricultural Research, 79(2): 307–315.

Barra-Bucarei L., González M. G., Iglesias A. F., Aguayo G. S., Peñalosa M. G., Vera P. V., 2020. Beauveria bassiana Multifunction as an Endophyte: Growth Promotion and Biologic Control of Trialeurodes vaporariorum, (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Tomato.Insects, 11(9): 591.

Bawin T., Seye F., Boukraa S., Zimmer J.-Y., Delvigne F., Francis F., 2015. La lutte contre les moustiques (Diptera: Culicidae): diversité des approches et application du contrôle biologique. The Canadian Entomologist, 147(4): 476–500.

Belliot J. P. (2003). Stabilité des vitamines. In Les vitamines dans les industries agroalimentaires, pp. 289 [C Bourgeois, editor]. Paris : TEC & DOC, Lavoisier.

Belmonte V., A. A.Garrido F., Martinez V. J.L.,2005. monitoring of pesticides in agricultural water and soil sample from Andalusia by liquide chromatography coupled to mass spectrpmetryAnalyticaChimica, ACTA, 538: 117-127.

Benaouta, Bouhariche, Bouilouta, (2017). Etude comparative entre les jus d'orange industriels et les jus d'orange artisanaux. Mémoire de Master Académique en Biologie : Université Mohamed Seddik Benyahia-Jijel, Algérie.

Benmessaoud N. 2010. Biodiversité fongique du sable de Plage (Beau Séjour, Eden, les Andalouses et Madagh) du Littoral algérien. Mémoire de magistère, Université d'Oran, Oran, 155p.

Berling M., Christine Blachere-Lopez, Olivier Soubabere, Xavier Lery, Antoine Bonhomme, Benoît Sauphanor, Miguel Lopez- 2009. Cydia pomonella granulovirus Genotypes Overcome Virus Resistance in the Codling Moth and Improve Virus Efficiency

by Selection against Resistant Hosts.Applied and Environmental Microbiology, 75(4): 925–930.

Blackwell, Vilgalys, Taylor, 1998. Fungi, Eumycota. In The Tree of Life, D.R. Maddison et W.P. Maddison editor, University of Arizona.

Blanc, P.J., Loret, M.O., Goma, G., (1995b) Production of citrinin by various species of Monascus, Biotechnology Letters 17 (3): 291.

Boileau, 2015. Écotoxicologie Et Impacts Sanitaires Des Pesticides En Réponse À L'augmentation Des Ravageurs Amenés Par Les Changements Climatiques : Portrait, Perspectives Et Recommandations. Mémoire Grade De Maitrise. Université De Sherbrooke, Canada.

Boiron, P. 1996. Organisation et biologie des champignons.Edition Nathan. P: 13-19-69-79.

Boland G. J., 2004. Fungal viruses, hypovirulence, and biological control of Sclerotinia species. Canadian Journal of Plant Pathology, 26(1): 6–18.

Bonnet C., 2000. Développement de bios essais sur sédiments et applications à l'étude, en laboratoire, de la toxicité de sédiments dulçaquicoles contaminés. Thèse, Université de Metz, Metz, France, 309 pp.

Boraud M., Ban Koffi L., Dadie T., Dje K., Ongena M., 2015. Utilisation de *Bacillus subtilis* GA1 pour la lutte contre les germes d'altération de la mangue en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal&Plant Sciences*, **25:** 3954-3956.

Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P. 1990. Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies, p : 34-428.

Bouchet P. H., Guignard J.L., Villard J. 1999. Les champignons, Mycologie fondamentale et appliquée. Ed. Masson, Paris. 194p.

Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J. 1989. Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris. 216- 244.

Butt T. M., Jackson C., Magan N., 2009. Introduction – Fungal Biological Control Agents: Progress, Problems and Potential.In T. M. Butt, C. Jackson, & N. Magan (Eds.), Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential. CABI Publishing. 311–346.

Cahagnier, B., Dragacc, S., Frayssinet, C., J.M. Frémy, Hennebert, G.L., Lesage-meessen, L., Multon, J.L., Richard-Molard, D., Roquebert, M.F. (1998). Moisissuers des aliments peu hydrates. Lavoisier Tec&Doc, France.

Cairns T., Sherma J. 1996. Emerging strategies for pesticide analysis.CRC Press, Boca Raton. Florida. USA. (754): 125-135.

Calderón-Alvarez C., Charlotte E., E. Causton, Mark S. Hoddle, Christina D. Hoddle, Roy van Driesche, Edward J., 2012. Monitoring the effects of *Rodolia cardinalis* on *Icerya purchasi* on the Galapagos Islands. *BioControl*, **57**, 167-179.

Calvet R. 2000. Le sol propriétés et fonctions, constitution et structure phénomènes aux interfaces. Tome 1. Edition France agricole. Paris (France), pp. 83-90.

Canada. Environnement Canada (2011). Présence et concentrations des pesticides prioritaires dans certains écosystèmes aquatiques canadiens. *In* Gouvernement du Canada. *Monitoring et surveillance de la qualité des eaux douces*. http://www.ec.gc.ca/eaudouce-freshwater/5EEF7087-5907-4E79-8EFE 37E6541E6FCF/PresenceEtConcentrationsDesPesticidesPrioritairesAquatiquesCanadiens%20FINAL-s.pdf (Page consultée le 2 octobre 2014).

Carson L., 1962. Silent spring. Riverside Press, Cambridge, MA, USA

Castegnaro M. (1999). Risques cancérogènes - Les aflatoxine. Dans « Les rnycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque" de conseil supérieur d'hygiène publique de France. Technique et Documentation, Paris, p : 22

Castegnaro M., Barek J., Jacob J., Kirso U., Lafontaine E., Sansone E., Telling, G., Vu Duc M. (1991) Laboratory decontamination and destruction of carcinogens in laboratory wastes: Some mycotoxins. *IARC Scientific Publications* 113.

Cawoy H., Bettiol W., Fickers P., Ongena M., 2011. Bacillus-based biological control of Plant Diseases.In M. Stoytcheva (Ed.), Pesticides in the Modern World – Pesticides Use and Management. Intech Open, pp. 273– 302.

Chabasse D. 2008. Classification des champignons d'intérêt médical. EncyclMédChir (Editions scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8-088- B-10, 9p.

Chabasse D., Bouchara J.P., DE Gentile L., Brun S., Cimon B., Penn P. 2002. Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation n°25, Bioforma. 59p.

Chandler L. A., Schwartz S. J, 1988. Isomerization and losses of trans-*β*-carotene in sweet

Chapeland- Leclerc, F., Papon N., Noël T., Villard J. (2005) Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicoses). Revue Française des Laboratoires, 373.

Chaudhary, M., Verma S.,2011. Analysis of the physicochemical properties of the processedFruits and vegetable products.International Journal of Pharma and Bio Sciences.Vol 2.661-665.

Cheftel J-C., Cheftel H. (1977). Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Volume2. Technique et documentation. Paris.

Chen, M., Tao, L., McLean, J., Lu, C. (2014). Quantitative Analysis of Neonicotinoid Insecticide Residues in Foods: Implication for Dietary Exposures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 62, p. 6082-6090.

Christieans, S. (2015). Nouvelles technologies alternatives à la désinfection chimique : Intérêts, limites, avenir. In "**Workshop EcoSec**", Clermont-Ferrand (France).

Chuku, L. C., Chinaka, N. C. (2014). Protein and mineral element levels of some fruit juices (Citrus spp.) in some Niger Delta areas of Nigeria. International Journal of Nutrition and Food Sciences, 3, 58-60.

Cissé M., 2012. Immobilisation d'un système lactoperoxyde dans un enrobage de chitosane dans le but de prolonger la conservation des mangues. Thèse de doctorat, Université Montpellier Supagro, France, 159p.

Clotteau, M. (2002). Production d'un jus d'orange par couplage traitement enzymatique et microfiltration tangentielle. Thèse de Master of Science. ENSIA.

Cohen S.Z., Creeger S.M., Carsel R.F., Enfield C.G., 1984. Potential for pesticide contamination of groundwater resulting from agricultural uses. In R.F. KRUGER & J.N. SEIBER : Treatment and disposal of pesticide wastes. ACS Symp. Series no. 259. Americal Chemical Society, Washington, DC, USA, 297-325.

Colborn T, vom Saal FS, Soto AM. 1993. Developmental effects of endocrinedisruptingchemicals in wildlife and humans. Environmental Health Perspectives 101(5):378-384.

Cole, R.J, Jarvis, B.B., Schweikert, M.A. (2003) Handbook of secondary fungal metabolites. Academic Press (Elsevier Science), USA, Volume III : 615-624.

Comerio, R., Fernandez Pinto, V.E., Vaamonde, G. (1998) Influence of water activity on Penicillium citrinum growth and kinetics of citrinin accumulation in wheat, International Journal of Food Microbiology, 42: 219–223.

Cope O.B., 1965. Agricultural chemicals and freshwater ecological systems. In C. CHICHESTER : Research in pesticides. Academic Press, New York, USA, 115-128.

Dabire T. G., Bonzi S., Somda I., Legreve A., 2016. Evaluation in vitro de l'activité antagoniste d'isolats de Trichoderma harzianum Pers. contre trois espèces fongiques pathogènes de l'oignon au Burkina Faso. Tropicultura, 34(3), 313–322.

Daivs,P.J. (2001). Molds, Toxic Molds, and Indoor Air Quality.www.library.ca.gov/crb/01/notes/v8n1.pdf

Damien F., Debruexlles Ph., Louveauxm, 2002. « Présentation et Dosage de l'acideascorbique » ICAFOC – Louvain-la-Neuve.

DasSarma, S. 2001. Halophiles.Encyclopedia of Life Sciences. pp. 1-9.

Davet P.1996. Vie microbienne du sol et production végétale. INRA. Paris. pp. 52-57.

De Clerck C., Maso S. D., Parisi O., Dresen F., Zhiri A. et Haissam Jijakli M., 2020. Screening of antifungal and antibacterial activity of 90 commercial essential oils against 10 pathogens of agronomical importance. Foods, 9(10).

Deravel J., Krier F., Jacques P., 2014. Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). Biotechnology, Agronomy and Society and Environment, 18(2): 220–232.

Dewailly E Ayotte P, Bruneau S, Gingras S, Belles-Isles M, Roy R. 2000. Susceptibility to infections and immune status in Inuits infants exposed to organochlorines. Environmental Health Perspectives 108:205-211.

Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Roben F. A., Smith F., 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analysis Chemical*, **28**, 350-356.

Echigo A., Hino M., Fukushima T., Mizuki T., Kamekura M., Usami R. 2005. Endospores of halophilic bacteria of the family Bacillaceaeisolated from non-saline Japanese soil may be transported by Kosa event (Asian dust storm). Saline Systems, 1:8.

Ei-Banna, A.A., Pitt, J.I., L. Leistner, (1987) Production of mycotoxins by Penicillium species, Systematic and Applied Microbiology, 10: 42–46.

Errami M., 2012. Devenir atmosphérique de bupirimate et transfert de ses métabolites (les diazines) dans l'atmosphère, sa dissipation dans les fruits de tomate et sa dégradation électrochimique. Thèse de doctorat en science d'ingénieur et qualité de l'Environnement. Université de Ibn Zohr et Université de rien Champagne-Ardenne, 8-9 p.

Étienne Dako, Christopher K. Jankowski, Yves-Marie Gnimassou, Diane Lebeau, (2021). Study of inhibition of germination of potato by ethylene.

Figarella J., Leyral A., Terret M. 2007. Microbiologie technique (Dictionnaire des techniques. Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine, Bordeaux, p 24-25.

Florent J. 1993.Les moisissures. In (Microbiologie industrielle, les micro-organismes d'intérêtindustriel). Ed .*Lavoisier Tec et Doc*. Paris. pp. 112-162.

Fournier J., Vedove A.D., Morin C., (2002). Formulation des produits phytosanitaires. In pesticides et protection et protection phytosanitaires dans une agriculture en mouvement. Edition ACTA, paris, 473-495p.

Frisvad, J. C., Viuf, T. B. (1986). Comparison of direct and dilution plating for detecting Penicillium viridicatum in barley containing ochratoxin. Dans King, A. D., Pitt, J. I., Beuchat, L. R. & Corry, J. E. L. (eds). Methods for the mycological examination of food. Plenum Press, New York.

Gagnon, C. (2013). Les pesticides et l'agriculture. *In* Partenaires Agricoles S.E.C. *Presse et nouvelles, Agri-Flash.* http://www.partenairesagricoles.ca/wp-content/uploads/2013/06/Agri-Flash_5-juin-2013.pdf (Page consultée le 24 août 2014).

Garbarino, J. R., Snyder-Conn, E., Leiker, T. J., Hoffman, G. L. (2002). Contaminants in Arctic Snow Collected over Northwest Alaskan Sea Ice. *Water, Air and Soil Pollution*, vol. 139, p. 183–214.

Genevès L. 1990. Champignons. In (Biologie Végétale : thallophytes et microorganismes). Ed. DUNOD. Paris. pp. 59-90.

Genevès L. 1992. Les thallophytes. In (Reproduction et dévloppement des végéteaux) Ed. DUNOD. Paris, pp. 5-16.

Gest A., 2009. Rapport information sur les pesticides Assemblée National.

Gil-Izquierdo A., Gil M.I., Ferreres F, 2002. Effect of processing techniques at industrial Scale on orange juice antioxidant and beneficial health compounds. Journal of Agricultural And Food Chemistry, 50 (18): 5114p

Giovannetti M., Turrini A., Strani P., Sbrana C., Avio L., Pietrangeli B., (2006). "Mycorrhizal fungi in ecotoxicological studies: Soil impact of fungicides, insecticides and herbicides.

Giry G., (1998) - Sorption de trois herbicides sur un sol limousin. Influence de coadsorbats organiques- Thèse de l'Université de Limoges, n 45.

Glare T., Caradus J., Gelernter W. et al., 2012. Have biopesticides come of age? Trends in Biotechnology, 30(5): 250–258.

Glare T., Caradus J., Gelernter W., 2012. Have biopesticides come of age? Trends in Biotechnology, 30(5): 250–258.

Graniti, A. (1991). Phytotoxins and their involvement in plant diseases. *Experientia* **47**, 751-755.

Grdiša M., Carović-Stanko K., Kolak I., Šatović Z., 2009. Morphological and Biochemical Diversity of Dalmatian Pyrethrum (Tanacetum cinerariifolium (Trevir.) Sch. Bip.). Agriculturae Conspectus Scientificus, 74(2): 73–80.

Greenlee AR, Arbuckle TE, Chyou PH. 2003. Risk factors for female infertility in an agricultural region. Epidemiology. 14(4):429-436.

Griffin C. T., Boemare N. E., Lewis E. E., 2005. Biology and Behaviour. In P. S. Grewal, R.-U. Ehlers, & D. I. Shapiro-Ilan (Eds.), Nematodes as Biocontrol Agents., pp. 47–64.

Guèye M. T., Seck D., Wathelet J. P., Lognay G., 2011. Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale : Synthèse bibliographique. Biotechnology, Agronomy and Society and Environment, 15(1):183–194.

Guide Technique IRSST, 2001. Les bioaérosols en milieu de travail : guide d'évaluation, de contrôle et de prévention. L'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST).

Guiraud J. P. 1998. Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris. P. 7-330.

Guzmán-Guzmán P., Porras-Troncoso M. D., OlmedoMonfil V. et Herrera-Estrella A., 2019. Trichoderma species: Versatile plant symbionts. Phytopathology, 109(1): 6–16.

Hetherington, A.C., Raistrick H. (1931). Studies in biochemistry of micro-organism XI. On the production and chemical constitution of a new yellow colouring matter, citrinin,

produced from glucose by Penicillium citrinum Thom. Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B—Biological Sciences, 220: 269–297.

Hildebrandt A., Guillamon M., Lacort S., Tauler R., Barcelo D., 2008. Impact of pesticides used in agriculture and vinyards to surface and growd water quality (North Spain), water research ISSN 0043-1354 CODEN WATRAG, vol. 42, n°13: 3315-3326.

Hong P., Hao W., Luo J., Chen S., Hu M., Zhong G. (2014). Combination of hot water, Bacillus amyloliquefaciens HF-01 and sodium bicarbonate treatments to control postharvest decay of mandarin fruit. Postharvest Biology and Technology, 88, 96–102. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.10.004.

Horikoshi K. 1999. Alkaliphiles: Some applications of their products for biotechnology. Revues de Microbiologie et de Biologie Moléculaire; 63: 735-750.

Ibticem, Boutheyna, (2023). Analyses physicochimiques de quelques catégories de jus d'orange commercialisés en comparaison avec le jus d'orange naturel. Mémoire du diplôme de master : Université Kasdi Merbah Ouargla, Algérie.

Indge B. 2004. La biologie de A à Z. 1100 définitions, édition : Dunod, Paris, 344p.

INRS.2002. Les maladies professionnelles. Guide d'accès aux tableaux du régime général et du régime agricole de la sécurité sociale.350 p.

INSPQ - Institut National de santé publique Québec (2002), Les risques à la santé associée à la présence de moisissures en milieu intérieur, Québec.

Jacques P., Krier F., Deravel J. Coutte, F., Béchet, M., Leclère, V., Chollet, M., Coucheney, F. et Boistel C., 2014. Les lipopeptides d'origine microbienne. Phytoma, 672: 38–42.

Janardhana, G.R., Raveesha, K.A., Shetty, H.S. (1999) Mycotoxin contamination of maize grains grown in Karnataka (India), Food and Chemical Toxicology 37 (8): 863–868.

Johanning, E.; Gareis, M.; Nielsen, K.; Dietrich, R., Martlbauer, E. (2002). Airborne Mycotoxin Sampling and Screening Analysis.

Jokanovic M.,2009. Médicale traitement of acute poisoning with organophosphorus and carbamate pesticide. Toxicology letters. 190 (2): 107-115.

Jones J., Vallad G., Iriarte, Fanny B., Obradović, Aleksa W., Mine H., Jackson, Lee E., Balogh, Botond H., Jason C., Momol, Timur M., 2012. Considerations for using bacteriophages for plant disease control. Bacteriophage, 2(4), e23857.

Jorgensen, K. (2005) Occurrence of ochratoxin A in commodities and processed food – a review of EU occurrence data, *Food Additives and Contaminants* **22** (Suppl. 1): 26–30.

K. J. Van Der Merwe, **Steyn P.**, **Fourie L.**, **Scott B.**, **Theron J.** (1965). Ochratoxin *A*, a Toxic Metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh. Nature **205** :1112–1113.

Kaanane A., Kane, Labuzat.P. (1998). Time and temperature effect on foods.

Kajad N., (2021). L'utilisation de la bactérie antagoniste Bacillus amyloliquefasciens SF14 avec l'acide salicylique pour lutter contre la pourriture verte des agrumes en post-récolte. Diplôme d'ingénieur d'Etat En Agronomie De l'école Nationale d'agriculture, Meknès-Maroc.

Kebbab R., 2014. Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margines d'olives de la variété Chamlal: évaluation de l'activité avant et après déglycosylation. Mémoire de Magister : Université Mouloud Mammeri de Tzi-Ouzou. 171 p.

Kelebek, H., Selli, S., Canbas, A., Cabaroglu, T. (2009). HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan. Microchemical Journal, 91(2):187-192.

Klein J. D., Lurie S., 1990. Prestorage heat treatment as a means of improving poststorage quality of apples. Journal of the American Society for Horticultural Science. 115: 255–259.

Koffi K. M., 2000. Le commerce, l'environnement et le développement durable en Afrique de l'Ouest et du centre dans une perspective sectorielle : cas de la production et de l'exportation de l'ananas, de la banane et de la mangue en Côte d'Ivoire. Séminaire du l'ICTSD. 13 - 14 Juillet Libreville (Gabon). OCAB CI, 14 p.

Koffi Y. F., 2018. Identifications phenotypique et genotypique des germes d'altération de l'ananas (*Ananas comosus L.)* et conservation à l'aide de biopesticides bactériens. Thèse doctorat : Université Nangui Abrogoua, Abidjan (Côte d'Ivoire).

Koffi Y. F., Alloue-Boraud W. A. M., Ban K. L., Dje K. M., 2017. L'ananas (Ananas comosus) : altérations et moyens de lutte. International Journal of Innovation Sciences and Research, 6(2): 976-981.

Koffi-Nevry R., Kouassi K. C., Nanga Z. Y., Koussémon M., Loukou G. Y., 2012. Antibacterial Activity of Two Bell Pepper Extracts: Capsicum annuum L. and Capsicum frutescens. International Journal of Food Properties, 15(5): 961–971.

Köhler, Triebskorn, "Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond?", **2013**.

Kristjansson J.K., Hreggvidsson G.O. 1995. Ecology and habitats of extremophiles. World Journal of Microbiology and Biotechnology;11: 17-25.

Kumar S., Singh A., 2015. Biopesticides: Present Status and the Future Prospects. Journal of Biofertilizers & Biopesticides, 06(02).

Kurata, H. (1990). Mycotoxins and mycotoxicoses. In: A.E. Pohland, V.R. Dowell and J.L. Richards, Editors, Microbial toxins in foods and feeds. Plenum Press, New York, USA, 249–259p.

Larpent Chantal, Elisabeth Bernard, Joel Richard, Sophie Vaslin, (1997). Polymerization in Microemulsions with Polymerizable Cosurfactants: A Route to Highly Functionalized Nanoparticles. Macromolecules 1997, (30) : 354-362

Larpent, J.P., Iarpent, M., Gourgaud. (1985). Editeurs des sciences et des arts. P: 119-112.

Lay-Yee M., Rose K J., 1994. Quality of 'Fantasia' nectarines following forced air heat treatments for insect disinfestation. HortScience. 29 : 663–666.

Le Bars P., Blanc P.J., Laussac J.P., Le Bars J., Loret M.O., Pareilleux A., Prome D., Prome J.C., Santerre A.L., Goma G. (1995a) Characterisation of monascidin A from Monascus as citrinin. International Journal of Food Microbiology 27: 201–213.

Lecellier A. 2013. Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. Thèse de doctorat d'état, université de Reims ChampagneArdenne, France, 194p.

Lee, S.K., Kader, A.A. (2000). Preharvest factors influencing vitamin c content of horticultural crops.Postharvest biology and technology, 20(3):207-220.

Leistra M., Boesten J.J.T.I., 1989. Pesticide contamination of groundwater in western Europe. Agriculture, Ecosystems and Environment, 26, 369-389.

Leng P., Zhang Z., Pan G., Zhao M., 2011. Applications and development trends in biopesticides. African Journal of Biotechnology, 10(86):19864–19873.

Lengai G. M. W., Muthomi J. W., 2018. Biopesticides and Their Role in Sustainable Agricultural Production. Journal of Biosciences and Medicines, 06(06):7–41.

Lepoivre P., 2003. Phytopathologie : Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte. De Boeck Supérieur. https://books.google.com/books?id=JpeG4zBh6sMC&pgi s=1

Li H., Han X., Zhao Y., 2017. Potential use of Beauveria bassiana in combination with Scleroderma guani for improved control of Apriona germari. Canadian Journal of Forest Research, 47(1):10–15.

Lozano E, 2006. Fruit manufacturing: scientific basis, engineering properties, and deteriorative reactions of technological importance. Edition Springer, United States of America. 157p.

MacCready K., 2004. The Mold Rush: The Onslaught of Mold-related bad faith suits against insurers and the price for homeowners, 15 Vill. Envtl. L.J. 89 (2004). 15:1-4

Madigan M.T., Martino J.M. 2006. Brock Biology of Microorganisms, 11th ed.; Pearson Education. Upper Saddle River, NJ, USA.

Malloch, D., 1997. *Moulds: their isolation, cultivation and identification*. Department of Botany,University of Toronto. . Moulds: their isolation, cultivation, and identification (nbm-mnb.ca) Consulté le 20/09/2024.

Mantzoukas S., Eliopoulos P. A., 2020. Endophytic entomopathogenic fungi: A valuable biological control tool against plant pests. Applied Sciences (Switzerland), 10(1).

Marouf A., Reynaud J. 2007. La botanique de A à Z. Edition : Paris.342p.

Mathieu J., 1998. Initiation à la physico-chimie du lait. Edition Lavoisier, Technique et documentation, Paris, 220 p.

Mathieu J., 1998. Initiation à la physico-chimie du lait. Edition Lavoisier, Technique et documentation, Paris, 220 p.

Mayer J., (1953). Glucostatic Mechanism of Regulation of Food Intake. Med 1953 ;(249):13-16

Mehravar, Sardari, (2011). Screening of antimicrobial membrane-active metabolites of soil microfungi by using chromatic phospholipid/polydiacetylene vesicles. Citation DataJournal de Mycologie Médicale, ISSN : 1156-5233, Vol : 21, Issue: 3, Page: 188-197.

Meister, U. (2004). New method of citrinin determination by HPLC after polyamide column clean-up. European Food Research and Technology 218 : 394–399.

Menegaux F, Baruchel A, Bertrand Y, Lescoeur B, Leverger G, Nelken B, Sommelet D, Hemon D, Clavel J. 2006. Household exposure to pesticides and risk of childhood acute leukaemia. Occupational and Environmental Medicine 63 (2):131-134.

Messaid H., (2008). Optimisation du processus d\'immersion - réhydratation du système dattes sèches - jus d\'orange. Thèse doctorat : Université M’hamed Bougara Boumerdès, Algérie.

Meziane Y., (2018). Caractérisation nutritionnelle, hygiénique et organoleptiques de quelques marques du jus d’orange industriel. Mémoire de Master : Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou, Algérie.

Mold-Help.(2001). Mycotoxin List. http://www.moldhelp.org/fungi.mycotoxins.currentresearch.htm

Morozkina E.V., Slutskaya E.S., Fedorova T.V., Tugay T.I., Golubeva L.I., Koroleva O.V. 2010. Extremophilic microorganisms: Biochemical adaptation and biotechnological application. Applied Biochemistry and Microbiology;46: 1- 14.

Mosbah-Natanson S., **(2008).** « Internationalisme et tradition nationale : le cas de la constitution de la sociologie française autour de 1900 », *Revue d'Histoire des Sciences Humaines*, **2008**/1 (n° 18), p. 35-62. DOI: 10.3917/rhsh.018.0035. URL: https://www.cairn.info/revue-histoire-des-sciences-humaines-**2008**-1-page-35.htm

Moussa KASSE, 2015. Amélioration de la conservation des mangues 4ème gamme par utilisation d'un enrobage, d'un traitement antimicrobien et du condionnenement sous atmosphère modifiée. Thèse doctorat: Universite Cheikh Anta Diop de Dakar-Senegal.

Muslim A., Horinouchi H., Hyakumachi M., 2003. Control of Fusarium Crown and Root Rot of Tomato with Hypovirulent Binucleate Rhizoctonia in Soil and Rock Wool Systems.Plant Disease, 87(6): 739–747.

Nagy, S.; Shaw, P. E. 1990. Factors Affecting the Flavour of citrus Fruit. In: Morton, I. D.; MacLeod, A.J. (Eds.) 1990. Food Flavours. Part C: The Flavour of Fruits. Elseiver. p: 93-124.

Narayanasamy P., 2013. Mechanisms of action of fungal biological control agents. In H. M. T. Hokkanen (Ed.), Biological Management of Diseases of Crops, 1, 691.

Nasraoui B., 2015. Les champignons et pseudo-champignons pathogènes des plantes cultivées : Biologie, Nouvelle systématique, Interaction pathologique. Publication de l'INAT, Tunisie 180 p.

Ndife, J., Awogbenja, D., Zakari, U. (2013). Comparative evaluation of the nutritional and sensory quality ofdifferent brands of orange-juice in Nigerian market. African Journal of Food Science, 7(12): 479-484

Nemakanga R., Matshidze P.E., Jideani A. I. O., Tshisikhawe P., 2018. The Exploration of Indigenous Knowledge on Management of Magonono in Enhancing the Production of Crops in Thulamela Municipality.African Renaissance, 15(4): 139–156.

Ngalimat M. S., Radin Shafierul Radin Yahaya, Mohamad Malik Al-adil Baharudin, Syafiqah Mohd. Yaminudin , Murni Karim, Siti Aqlima Ahmad, Suriana Sabri, 2021. A Review on the Biotechnological Applications of the Operational Group Bacillus amyloliquefaciens. Microorganisms, 9(3), 614.

Nguyen Minh Tri, 2007. Identification Des Espèces De Moisissures, Potentiellement Productrices De Mycotoxines Dans Le Riz Commercialise Dans Cinq Provinces De La Region Centrale Du Vietnam - Etude Des Conditions Pouvant Reduire La Production Des Mycotoxines. Thèse De L'institut National Polytechnique De Toulouse, France.

Nicklin J., Graeme K., Paget T., Killington R. 2000. L'essentiel en microbiologie. Edition Berti. P : 210-216.

Nielsen, K.F. (2002). Mould growth on building materials. Secondary metabolites, mycotoxins and biomarkers. Ph.D. Thesis. BioCentrum-DTU, Technical University of Denmark.Availablefrom<www.biocentrum.dtu.dk/mycology/staff/scientific_staff/nielsen_kristian_f/pdf/phdkfn.pdf

Njoku, P. C., Ayuk, A. A., Okoye, C. V. (2011). Temperatureeffects on vitamin C content in citrus fruits. Pakistan Journal of Nutrition, 10(12): 1168-1169.

Nora, Samia, (2016). Analyses physico-chimiques de trois marques du jus d'orange et dosage de l'aspartame et du benzoate de sodium. Mémoire de Master : Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie.

of Orange Juice. *Analyst. 120 (1): 1-28.*

Office of prevention, pesticides and toxic substances united states environmental protection agency Washington, D.C; (2006).

Oliva A, Spira A, Multigner L. 2001. Contribution of environmental factors to the risk of male infertility. Human Reproduction 16(8):1768-1776.

Olsen, M., Jonsson, N., Magan, N., Banks, J., Fanelli, C., Rizzo, A., Haikar, A., Dobson, A., Frisvad, J., Holmes, S., Olkku, J., Persson, S. J., Börjesson, T. (2003) Prevention of Ochratoxin A in Cereals. OTA PREV. Final Report. Quality of Life and Management of Living Resources. Project No. QLK1-CT-1999-00433.

Ongena M., (2014). Biopesticides : une protection plus naturelle pour les cultures. Université de Liège - http://reflexions.ulg.ac.be. 10p

Ongena M., Jacques P. 2008. Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. Trends in Microbiology, 16(3) : 115–125.

Özkan M., Kirca, A., Cemeroğlu (2004). Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices. Food chemistry,88 (4): 591-597.

Palou, *L. Penicillium digitatum, Penicillium italicum* (Green mold, Blue mold). In Postharvest Decay. Control Strategies; Bautista-Baños, S., Ed.; Academic Press, Elsevier Inc.: London, UK, **2014**; pp. 45–102. ISBN 978-0-12-411552-1.

Patil, B.S., Pike, L.M., 1995. Distribution of Quercetin Content in Different Rings of Various Colored Onion (Allium-Cepa L) Cultivars. Journal of Horticultural Science 70: 643-650.

Peduzzi R., Tonolla M., Boucher-Rodoni R. 2006. Milieux extrêmes : Conditions de vie en milieu alpin et milieu marin, Actes et contributions scientifiques : 9.

Pelosi, C., Barot, S., Capowiez, Y., Hedde, M., Vandenbulcke, F. (2014). Pesticides and Earthworms. A Review. *Agronomy and Sustained Development*, vol. 24, p. 199-228.

Pereira C., Angélica C., Ana Márcia L., Jorge L., Aylson C., Maurício P. (2013). “Wood chemistry & charcoal,” BioResources 8(3): 4574-4592

Pfohl-Leszkowicz, A., Castegnaro, M. (2005) Further arguments in favour of direct covalent binding of Ochratoxin A (OTA) after metabolic biotransformation. Food Additives & Contaminants, Volume 22, Supplement 1/2005.

Pfohl-Leszkowicz, A., Manderville R.A (2007) Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. Molecular Nutrition & Food Research, 51 (1):61-99.

Pfohl-Leszkowicz, A., Manderville R.A (2007) Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51 (1):61-99.

Pikuta E. V., Hoover R. B. 2007. Microbial extremophiles at the limits of life.Crit.Rev. Microbiol., 33, pp. 183-209.

Pitt J.I., Hocking A.D. Fungi and food spoilage. Eds Springer (**1997**).

Pitt, J.I., Hocking, A.D., Bhudhasamai, K., Miscamble, B.F., Wheeler, K.A., Tanboon, E.K.P. (1994). The normal mycoflora of commodities from Thailand. 2: Beans, rice, small grains, and other commodities. International Journal of Food Microbiology 23: 35– 53.

Pitt, J.I., Hoking, A.D. (1997). Fungi and Food Spoilage. Blackie Academic & Profesional, London- Weinheim- NewYork- TokyoMelbourne- Madras.

Plouffe, D., Bourgeois, G. (2012). Modèles bioclimatiques pour la prévision des risques associés aux ennemis des cultures dans un contexte de climat variable et en évolution. *In* Centre de recherche en agriculture et agroalimentaire du Québec. *Agrométéorologie*. http://www.craaq.qc.ca/Publications-du-CRAAQ/modeles-bioclimatiques-pour-la-prevision-des-risques-associes-aux-ennemis-des-cultures-dans-un-contexte-de-climat-variable-et-en-evolution/p/PAGR0105 (Page consultée le 12 juillet 2014).

Pohland, A. E., Nesheim, S., Friedman, L. (1992) Ochratoxin A: a review. Pure and Applied Chemistry, 64: 1029-1046. Potatoes as affected by processing treatments. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 36 (1), 133p.

Prakash, D., Singh, B.N., Upadhyay, G., 2007. Antioxidant and free radical scavenging *Food Chemistry* 2 (104) 783-790p.

Prescott, Harley, Klein. 1995. Les microorganismes et l'environnement. Dixième partie. In Microbiologie. Second edition. DeBoeck Wesmael S.A. Bruxelles. pp : 804-845.

Quérellou J., Guézennec J. 2010. Biotechnologie des extrêmophiles. Editions Tech. *Ing. BIO580*, pp. 1-13.

Ramírez M., Neuman B. W., Ramírez C. A., 2020. Bacteriophages as promising agents for the biological control of Moko disease (Ralstonia solanacearum) of banana. Biological Control, 149, 104238.

Rapport de recherche BASIC, 2021. Analyse de la création de valeur et des coûts cachés des produits phytosanitaires de synthèse.

Rapport final – Volet Entomologie, 2006. Recherche et développement de biopesticides et pesticides naturels à faible toxicité pour les organismes non ciblés et respectueux de l'environnement. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec (MDDEP).

Raven P.H., Evert F., Eichhorn Susan E. 2000. Biologievégétale, Edition : Paris. 968p.

Reuber MD. 1978. Carcinomas, sarcomas and other lesions in Osborne-Mendel rats ingesting endrin. Experimental Cell Biology 46(3):129-145.

Ritter, L., Solomon, K. R., Forget, J., Stemeroff, M., O'Leary, C. (1995). A Review of Selected Persistent Organic Pollutants. *In* World Health Organization. *IRIS, International Program Chemical Safety. http://www.who.int/entity/ipcs/assessment/en/pcs_95_39_2004_05_13.pdf (Page consultée le 18 septembre 2014).*

Robards, K., Antolovich, M, 1995. Methods for Assessing the Authenticity

Robison AK, Sirbasku DA, Stancel GM. 1985. DDT supports the growth of an estrogen-responsive tumor. Toxicology Letters. 27 (1-3) :109-113.

Sadler G. D., Murphy P. A., 2010. pH and Titratable Acidity. In: Nielsen S S. Food Analysis. Springer Science+Business Media, 219-225.

Sadler, G. D., Murphy, P. A. (2010). pH and titratable acidity Food analysis (219-238): Springer.

Saha, S. Dutta, D., Karmakar, R., Ray, D. P. (2012). Structure-Toxicity Relationship of Chloroacetanilide Herbicides: Relative Impact on Soil Microorganisms. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, (43). 307-314.3

Sahayaraj K., 2014. Basic and Applied Aspects of Biopesticides.In K. Sahayaraj (Ed.) Basic and Applied Aspects of Biopesticides. Springer India. New Delhi, pp. 384.

Samuel, O., St-Laurent, L., Buteau, S., Bourgault, M.-H., Belleville, D. (2010). Mesures de réduction de l'exposition aux pesticides dans les aliments : synthèse. *In* Gouvernement du Québec. *Institut national de santé publique du Québec, Nos productions, Publications*. http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/1165_MesuresReducPesticidesAliments.pdf (Page consultée le 6 janvier 2015).

Sanchez-Moreno C., Plaza L., Elez-Martinez P., De Ancos B., Martin-Belloso O., Cano M.P. (2005) Impact of high pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice in comparison with traditional thermal processing. J Agric Food Chem 53:4403-4409.

Satyanarayana T., Raghukumar C., Shivaji S., 2005. Extremophilic microbes : Diversity and perspective. Current Science 89:78-90.

Schiavon M., Perrin-Ganier C., Portal J.M., 1995. La pollution de l'eau par les produits phytosanitaires : état et origine. Agronomie, 15, 157-170.

Scribner JD, Mottet NK. 1981. DDT acceleration of mammary gland tumors induced in the male Sprague-Dawley rat by 2-acetamidophenanthrene. Carcinogenesis 2(12):1235-1239.

Sellami S., Tounsi S., Jamoussi K., 2015. La lutte biologique, alternative aux produits phytosanitaires chimiques. Journal Of New Sciences, Agriculture and Biotechnology, 19(5), 736–743.

Semal A., Fraselle J., Impens R., Kummert J., Lepoivre P., Meulimans M., Seilleur P., Vendrevenen J., Viseur J. 1993. Traite de pathologie végétale. Presse agronomique de gemblouxbelgique.178-194.

Senthil-Nathan S., 2015. A Review of Biopesticides and Their Mode of Action Against Insect Pests.In P. Thangavel & G. Sridevi (Eds.), Environmental Sustainability: Role of Green Technologies (Springer I),324 p.

Shah P. A., Pell J. K., 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. Applied Microbiology and Biotechnology, 61(5–6): 413–423.

Sharma M., Guleria S., Singh K., Chauhan A., Kulshrestha S., 2018. Mycovirus associated hypovirulence, a potential method for biological control of Fusarium species. Virus Disease, 29(2): 134–140.

Shestak, C. J., Busse, M. D. (2005). Compaction Alters Physical but not Biological Indices of Soil Health. *Soil Science Society of America Journal*, vol. 69, no 1, p. 236-246.

Sihem, Bibia, (2014). Evaluation de la qualité bactériologique des laits crus et pasteurisés. Mémoire de Master : UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA, Algérie.

Singh D., Sharma R. (2018). Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables and Their Management. In Postharvest Disinfection of Fruits and Vegetables. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812698-1.00001-7.

Sivan A., Chet, I. (1989). Degradation of Fungal Cell Walls by Lytic Enzymes.d mineral retention in broilers. Indian Vet. J., 87 (10): 1049-105.

Smith, J. E., Lewis, C. W., Anderson, J. G., Solomons, G. L. (1994) Mycotoxins in human nutrition and health. Research and Development European Commission.

Solomon O., Svanberg U., Sahlström A. (1995) Effect of oxygen and fluorescent light on the quality of orange juice during storage at 8°C. Food Chemistry, 53 (4): 363-368.

Spadaro, D., Droby, S. (2016). Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: the importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. Trends in Food Science & Technology, 47:39–49.

stability of Moroccan processed orange juice during storage. Journal of Food Science, 53

Susan P., April M., Nicholas A., Nancy J. (2011). Trichothecenes: From Simple to Complex Mycotoxins. *Toxins* **2011**, *3*(7): 802-814; **https://doi.org/10.3390/toxins3070802**.

Tabib M., Kallel S., 2016. Nature & Technologie Mise en évidence pour la première fois de la pathogénie des nématodes entomopathogènes du genre Heterorhabditis sur les œufs de criquets. Nature &Technologie, 14: 7–19.

Thakore Y., 2006. The biopesticide market for global agricultural use. Industrial Biotechnology, 2(3): 194– 208).

Thurman, E. M., Cromwell, A. E. (2000). Atmospheric Transport, Deposition and Fate of Triazine Herbicides and their Metabolites in Pristine Areas at Isle Royale National Park. *Environmental Science and Technology,* 34, p. 3079-3085.

Ting, S. V. 1980. Nutrients and Nutrition of Citrus Fruits. In: Nagy, S.; Atlaway, J. A. 1980. Citrus Nutrition and quality ACS Symposium Series. No. 143 American Chemical society. 3-24.

Tortora G. J., Funk B. R., Case C. L.2007. Microbiology air Introduction. Edition du Renoveau Pedagogique Inc. Saint-Laurent. 945 p.

Tozlovanu, M., Faucet-Marquis, V., Pfohl-Leszkowicz, A., Manderville, R. A. (2006) Genotoxicity of the Hydroquinone Metabolite of Ochratoxin A: Structure-Activity Relationships for Covalent DNA Adduction. Chemical Research in Toxicology, 19 (9): 1241 -1247.

Tron., 2001. Effets chroniques des pesticides sur la santé : état actuel des connaissances, Janvier.

Turner, W.B. (1971). Fungal Metabolites. Academic Press, London.

Turner, W.B., Aldridge, D.C. (1983). Fungal metabolites II; Academic Press, Inc.:London, New York.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA), 1977. Waste disposal practices and their effects on groundwater. Report to Congress, USEPA, Washington, DC, USA.

Uchikoba T., Mase T., Arima K., Yonezawa H., Kaneda M. 2001. Isolation and characterization of a trypsine-like protease from Trichoderma viride.Biol. Chem. 382: 1509-1513.

Van der Merwe, K.J.; Steyn, P.S., Fourie, L. (1965). Mycotoxins. Part 2. The constitution of ochratoxins A, B, and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* Wilh. *J Chem Soc* **87**, 7083-7088.

Velez F., Rachou E., Martelot M., Ducot B., Multigner L, Thonneau F. 2001. Male infertility risk factors in a French military population. Human Reproduction. 16(3):481-486.

Villaverde J., Sandín P., Sevilla B., López C., Alonso L. 2016. Biopesticides from Natural Products: Current Development, Legislative Framework, and Future Trends. BioResources, 11(2): 5618–5640.

Vincent C., Diagnostic Microbien 2002. Sécurité des aliments : facteurs d'émergence des dangers microbiens. *Bull. Acad. Vét. De France, 2002, 155, 11-18*.

Werrie P. Y., Durenne B., Delaplace P., Fauconnier M. L., 2020. Phytotoxicity of essential oils: Opportunities and constraints for the development of biopesticides. A review. Foods, 9(9), 1–24.

Whalley, A.J.S. (1994). Science in Parliament **51**, 19.

Yamina, Yassamina, 2017. Contribution A L'etude Toxicologique D'un Pesticide A Usage Domestique Sur Le Systeme İmmunitaire. Mémoire Du Diplôme De Master : Universite 8 Mai 1945 Guelma, Algérie.

Yao, Y., Tuduri, L., Harner, T., Blanchard, P., Waite, D., Poissant, L., Murphy, C., Belzer, W., Aulagnier, F., Li,Y.-F., Sverko, E. (2006). Spatial and Temporal Distribution of Pesticide Air Concentrations in Canadian Agricultural Regions. *Atmospheric Environment*, 40, 4339-4351 p.

Yardjouma S., (2022). Amélioration de la conservation au frais des mangues variété « Kent » de Côte d'Ivoire. Thèse doctorat : AVIGNON UNIVERSITÉ & UNIVERSITÉ NANGUI ABROGOUA, Côte d'Ivoire-France.

Yarou B., Pierre S., Françoise A., Armel M., Taofic A., François V., Frédéric F. 2017.Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (Synthèse bibliographique). Biotechnology, Agronomy and Society and Environment, 21(4): 288–304.

Yasmin, S., D'Souza, D. (2010). Effects of Pesticides on the Growth and Reproduction of Earthworm: A Review. *Applied Environmental Soil Science*, vol. 2010, doi:10.1155/2010/678360.

Zaki O., Weekers F., Thonart P., Tesch E., Kuenemann P., Jacques P., 2020. Limiting factors of mycopesticide development. Biological Control, 144 (April 2019), 104220

Zeyneb et Bouchra, (2017). Effet de la température sur la qualité des jus d'orange emballés en plastique. Mémoire du diplôme de master : UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA, Algérie.

(**MP**) ; Manuel of pesticide., **2007**. (5) : 1470-1473.

(**RIPS**) ; Rapport d'information sur les pesticides et leur impact sur la santé., **2012.**

http://www.botany.utoronto.ca/ResearchLabs/MallochLab/lloch/oulds/oulds.html.

https://fracademic.com/dic.nsf/frwiki/1328518#Historique, consulté le 18/05/2022

http://www.ibt.dtu.dk/mycology/staff/kfn/papers/Airborne-mycotoxin2002.pdf

ANNEXES

FICHE D'ENQUETE : RESTAURANTS

Date de l'enquête : |__|__| |__|__| |__|__|__|__|

J J M M AAAA

CARACTERISTIQUES DES PRODUCTEURS

1. Ville : ……

2. Age : 18-30 ans ☐ 31-45 ans ☐ 46-60 ☐ > 60 ans ☐

3. Nationalité : Canadienne ☐ Autres ☐ (Préciser) **.....**/

4. Sexe : Hommes ☐ Femmes ☐

5. Année d'expérience dans la culture : ≤ 3 ans ☐ 3-10 ans ☐ 11-20 ans ☐ > 20 ans ☐

DESCRIPTION DU RESTAURANT

6. Capacité d'accueil du restaurant : 10-30 ☐ 30-60 ☐ 60-120 ☐ 120-200 ☐ >200

7. Quantité de plat par jour : 10-30 ☐ 30-60 ☐ 60-120 ☐ 120-200 ☐ Autres (Préciser) **.....**/

8. période de forte clientèle : Hiver ☐ Printemps-été ☐ Automne ☐

9. Fréquence de livraison des aliments par les fournisseurs : journalier ☐ hebdomadaire ☐ mensuel ☐

10. Avez-vous des informations sur les traitements sanitaires des aliments de vos fournisseurs avant la récolte : Non ☐ Oui ☐

10.1 Si oui, la période de traitement…….

10.2 Si oui, la fréquence de traitement…….

10.3 Pesticides chimiques : Non ☐ Oui ☐

10.3.1Si oui, la période de traitement…….

10.3.2 Si oui, fréquence de traitement…….

10.4 Biopesticides : Non ☐ Oui ☐

10.4.1 Si oui, la période de traitement……

10.4.2 Si oui, la fréquence de traitement……..

11. Utilisez-vous un système de traitement sanitaire ou de conservation des aliments que vous recevez de vos fournisseurs : Non ☐ Oui ☐

11.1 Si oui, la période de traitement……..

11.2 Si oui, la fréquence de traitement……..

12. Quels types de traitement utilisez-vous ? Chimique ☐ Physique ☐ Biologique ☐ autres à préciser :……..

12.1 Chimique (Pesticides chimiques) :

12.1.1 Si oui, la période de traitement…….

12.1.2 Si oui, la fréquence de traitement……..

12.2 Biologique (Biopesticides) :

12.2.1 Si oui, la période de traitement……..

12.2.2 Si oui, la fréquence de traitement……..

12.3 Physique (Conservation au froid) :

12.3.1 Si oui, la période de traitement…….

12.3.2 Si oui, la fréquence de traitement…….

12.3.3 Si oui, la température de conservation des aliments les plus périssables …….....

13. Votre établissement a-t-il déjà fait l'objet d'une plainte pour intoxication alimentaire individuelle/collective du aux produits chimiques ou biologiques ? Non ☐ Oui ☐

13.1 Si oui, veuillez préciser le type d'intoxication chimique ou biologique……

13.2 Comment avez-vous corrigé cette non-conformité par l'utilisation : Chimique ☐ Physique ☐ Biopesticides ☐ autres à préciser :……..

13.3 Connaissez-vous des produits biopesticides utilisés dans le traitement/la conservation des denrées alimentaires ? Non ☐ Oui ☐

13.3.1 Si oui, quel a été le niveau d'efficacité du produit sur une échelle de 1 à 10 :…….

13.3.2 Si oui, quel a été votre niveau de satisfaction sur une échelle de 1 à 10 :…….

13.3.3 Quel serait votre choix parmi les produits : Chimiques ☐ Biopesticides ☐

13.3.4 Si oui pour les produits chimiques, veuillez énumérer deux avantages……

13.3.5 Si non pour les produits chimiques, veuillez énumérer deux inconvénients…….

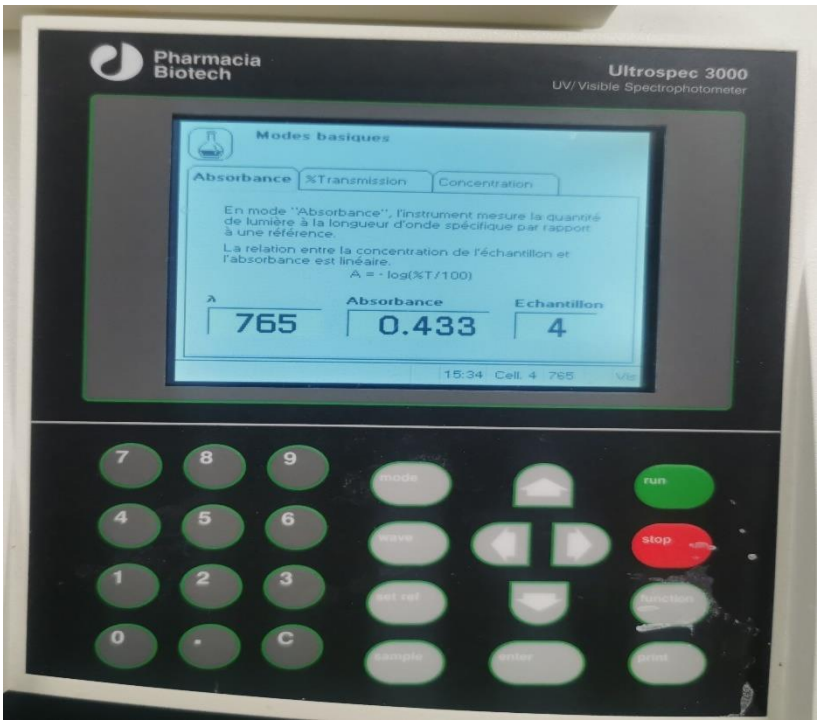
13.3.6 Si oui pour les biopesticides, veuillez énumérer deux avantages……..

13.3.7 Si non pour les biopesticides, veuillez énumérer deux inconvénients…….

13.4 Pensez-vous un jour remplacer les produits chimiques/pesticides au profit des biopesticides ? Non ☐ Oui ☐

<u>Annexe 1</u> : Fiche d'analyse d'enquête

<u>Annexe 2</u> : Expérience de dosage des polyphénols totaux au laboratoire

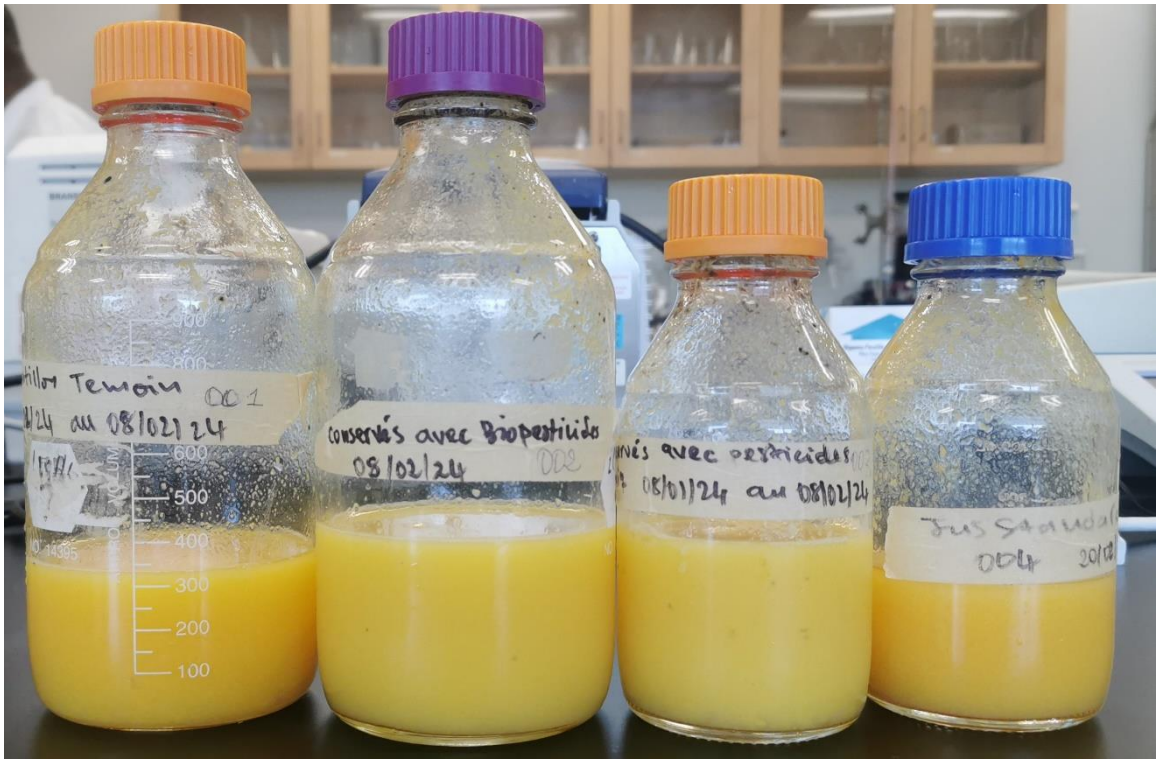


Annexe 2 : Lecture de l'absorbance au spectrophotomètre de la teneur de polyphénols totaux dans les échantillons de pomme de terre.

Annexe 3 :
Dispositif expérimental Soxhlet d'extraction des composés phénoliques à partir de la pomme de terre sèche.

<u>Annexe</u> 4 : Prélèvement des échantillons d'orange à Walmart de la ville de Dieppe, NB.

<u>Annexe</u> 5 : Conservation des échantillons d'oranges et de pommes de terre au laboratoire à la température ambiante.



Annexe 6 : Jus obtenus à partir des oranges conservées avec les souches de *Bacillus subtils* ATCC6633, la poudre de soufre et les oranges témoins.

Annexe 7 : Évolution des aspects externes et internes des pommes de terre après 6 mois de conservation avec le pesticide chimique.

Annexe 8 : Évolution des aspects externes et internes des pommes de terre témoins après 6 mois de conservation.

Annexe 9 : Évolution des aspects externes et internes des pommes de terre après 6 mois de conservation avec le surnageant bactérien.