

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE
JEAN LOROUGNON GUEDE



Année Académique

2021-2022

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du Diplôme de

MASTER

BIOTECHNOLOGIE AGROALIMENTAIRE ET BIOSECURITE
ALIMENTAIRE

OPTION : BIOSECURITE ALIMENTAIRE

Par

Numéro d'ordre :

058-2022

KOUADIO Kouassi Franck

Thème :

**Facteurs de risque de détérioration de la qualité de
l'huile brute de palme produite et vendue à Daloa
(Haut-Sassandra, Côte d'Ivoire)**

Soutenu, le 24 Septembre 2022

Jury

M. BEUGRE Grah Avit Maxwell, Professeur Titulaire, UJLoG

M. KONATE Ibrahim, Professeur Titulaire, UJLoG,

M. VOKO Bi Rosin Don Rodrigue, Maître-Assistant, UJLoG,

M. KOFFI Allali Eugène, Maître-Assistant, UJLoG,

Président

Directeur scientifique

Encadreur

Examineur

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	i
DEDICACES	iv
REMERCIEMENTS	v
LISTE DES ABREVIATIONS	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES FIGURES.....	ix
INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : GENERALITES	
1. PALMIER A HUILE	3
1.1. Historique et description.....	3
1.1.1. Systématique.....	4
1.1.2. Variétés de l'espèce <i>Elaeis guineensis</i> Jacq.	4
1.1.3. Conditions de production.....	5
1.2. Structure des fruits.....	5
1.3. Huile brute de palme.....	6
1.4. Technologie de production de l'huile de palme	6
1.4.1. Egrappage	7
1.4.2. Stérilisation	7
1.4.3. Broyage.....	7
1.4.4. Pressage du mix	7
1.4.5. Clarification et déshydratation de l'huile.....	8
1.5. Compositions biochimiques de l'huile brute de palme	9
1.5.1. Eléments majeurs	10
1.5.2. Eléments mineurs.....	10
1.5.2.1. Cérides.....	11
1.5.2.2. Phospholipides	11
1.6. Production de l'huile de palme en Côte d'Ivoire.....	11
1.7. Huile de palme : utilisation et importance.....	11
1.7.1. Au niveau alimentaire	11
1.7.2. Au niveau médical	12

1.7.3. Au niveau industriel.....	12
1.7.4. Au niveau économique.....	12
1.8. Altération fongique de l’huile de palme	13
1.8.1. Levures.....	13
1.8.2. Moisissures	13
DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES	
2. MATERIEL.....	15
2.1. Matériel d’étude.....	15
2.2. Matériel technique	15
3. METHODES	16
3.1. Présentation de la zone d’étude.	16
3.2. Echantillonnage	16
3.3. Analyse microbiologique.....	17
3.3.1. Préparation des milieux Sabouraud au chloramphénicol et EPT	17
3.3.2. Réalisation de la suspension mère et des dilutions décimales	17
3.3.3. Réalisation des dilutions décimales	17
3.3.4. Isolement des champignons	17
3.3.5. Dénombrement des charges fongiques	18
3.3.6. Purification.....	19
3.3.7. Identification des champignons	19
3.4. Analyse des paramètres physico-chimiques de l’huile.....	19
3.4.1. Détermination du pH de l’huile brute de palme.....	19
3.4.2. Détermination du taux d’humidité de l’huile brute de palme	19
3.4.3. Détermination de l’Indice d’acide (Ia) ou Acide Gras Libre (AGL).	20
3.5. Analyse des données.....	21
TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION	
4.RESULTATS	22
4.1. Teneurs des paramètres physico-chimiques en rapport avec l’activité microbiologique dans l’huile brute de palme.....	22
4.2. Niveaux de contamination des huiles brutes de palme par les champignons	24
4.3. Diversité des champignons contaminant les huiles brutes de palme à Daloa.....	24

4.4. Analyse des composantes principales (ACP)	30
5. DISCUSSION	31
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	33
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	35
ANNEXES	40

DEDICACES

Je dédie cette œuvre :

à mon père KOUADIO Koffi Daniel, que ce travail soit pour lui le témoignage de tes sages conseils et des sacrifices consentis pour moi. Trouve ici toute la considération et l'amour qu'un fils peut exprimer à l'égard de son père. Que Dieu te bénisse et prolonge tes jours.

à ma Mère KOUAME Amani Elyse qui a toujours été présente à mes côtés et qui a pris soin de moi, longue vie à toi et que les nobles désirs de son cœur se réalisent au-delà de tes espérances.

REMERCIEMENTS

J'adresse mes sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué à la réussite de ce travail, plus particulièrement :

- madame TIDOU Abiba Sanogo Épouse KONE, Professeur Titulaire d'Ecotoxicologie et Présidente de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, pour l'encadrement et la formation dont nous bénéficions au sein de cette institution, également pour sa volonté de faire de notre Université, une Université d'excellence ;
- monsieur KONE Tidiani, Professeur Titulaire d'Hydrologie et Vice-président de l'Université Jean Lorougnon Guédé Daloa, chargé de la Pédagogie, de la vie Universitaire, de la Recherche et de l'Innovation Technologique pour son engagement au service de l'Université ;
- monsieur AKAFFOU Doffou Sélastique, Professeur Titulaire de Génétique et Vice-président chargé de la Planification, de la Programmation et des Relations Extérieures de l'Université Jean Lorougnon Guédé, pour son implication au bien-être des étudiants ;
- madame TONESSIA Dolou Charlotte, Maître de Conférences de Phytopathologie et Directrice de l'UFR Agroforesterie, pour tous les efforts qu'elle accomplit pour le bon fonctionnement de ladite UFR ;
- monsieur BEUGRE Grah Avit Maxwell, Professeur Titulaire de Biochimie et Nutrition, Directeur du Laboratoire d'Agro-valorisation à l'Université Jean Lorougnon Guédé, Président de jury, pour sa contribution à l'amélioration de ce manuscrit ;
- monsieur KOUASSI Kouassi Clément, Maître de Conférences de Microbiologie et Sécurité Alimentaire et Vice-directeur de l'UFR Agroforesterie pour sa disponibilité et ses conseils ;
- monsieur ANGAMAN Djédoux Maxime, Maître de Conférences de Biochimie et Biologie Moléculaire à l'Université Jean Lorougnon Guédé, Responsable de la filière Biotechnologie, pour sa contribution à notre formation, ses encouragements et à l'intérêt qu'il nous porte. C'est un honneur et un privilège de compter parmi vos étudiants ;

- monsieur DIOMANDE Massé, Maître de Conférences de Biochimie-Nutrition et Technologie Alimentaire, à l'Université Jean Lorougnon Guédé, Responsable de parcours Biotechnologie / Biosécurité alimentaire, pour sa contribution à l'amélioration de ce manuscrit ;
- monsieur KONATE Ibrahim, Professeur Titulaire en Microbiologie des sols à l'Université Jean Lorougnon Guédé, Directeur Scientifique du mémoire, merci pour avoir accepté de diriger cette étude ;
- je remercie Monsieur VOKO Bi Rosin Don Rodrigue, Maître assistant de Microbiologie des sols, Encadreur Technique de ce mémoire, pour avoir accepté de m'encadrer mais aussi surtout pour sa disponibilité, ses conseils et suivi de la réalisation de ce mémoire ;
- monsieur KOFFI Allali Eugène, Maître-Assistant de Biochimie et Microbiologie, à l'Université Jean Lorougnon Guédé, examinateur, pour sa contribution à l'amélioration de ce manuscrit ;
- j'adresse mes remerciements les plus sincères à Monsieur Toualy Serge Ouina, Maître-Assistant en Microbiologie
- pour son aide à l'élaboration de ce mémoire ;
- je dis également merci à tous mes amis dont les noms ne figurent pas dans ce document et qui m'ont aidé d'une manière ou d'une autre dans la réalisation de ce travail ;
- je remercie l'ensemble des enseignants-chercheurs de l'Université Jean Lorougnon Guédé, particulièrement ceux du département Biochimie-microbiologie pour la qualité des enseignements ;
- je remercie mes devanciers surtout les doctorants qui nous ont suivi tout au long de la réalisation des expériences au laboratoire et dans la rédaction de ce manuscrit ;
- je remercie également mes camarades de promotion avec qui nous avons partagé des moments de joie, tout au long de l'année académique (2021-2022) et toutes les personnes qui de manière ou autres mon aidé dans m'ont parcours académique.

LISTE DES ABREVIATIONS

ΣC_i :	Sommes des Colonies
ACP :	Analyse en Composante Principale
AFNOR :	Association Française de Normalisation
AG :	Acide Gras
AGI :	Acide Gras Insaturé
CNRA :	Centre National de la Recherche Agronomique
AGL :	Acide Gras Libre
AGS :	Acide Gras Saturé
B.I.P.E.A :	Bureau Interprofessionnel d'Etude Analytique
CO ₂ :	Dioxyde de Carbone ;
CPO :	Crude Palm Oil
EPT :	Eau Peptonnée Tamponnée
H ₂ O :	Oxyde d'hydrogène (formule chimique de l'eau)
Ia :	Indice d'acide
ISO :	Organisation Internationale de Normalisation
KOH :	Hydroxyde de Potassium
N :	Normalité
NF :	Norme Française
O ₂ :	Dioxygène
pH :	potentiel Hydrogène
PKO :	Palm Kernel Oil
SM :	Suspension Mère
TH :	Teneur en Humidité
UFC :	Unité Formant Colonie
UJLoG :	Université Jean Lorougnon Guédé
USDA :	United States Departement of Agriculture
V :	Volume

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Teneur en acide gras d'huile brute de palme	10
Tableau II: charge des champignons recommandée dans l'huile brute de palme.....	18
Tableau III: Teneur des paramètres physico-chimiques des huiles de palme	23
Tableau IV: Descriptions macroscopique et microscopique des champignons	26
Tableau V: Richesse spécifique des champignons dans des huiles	29

LISTE DES FIGURES

Figure 1: photographie du palmier à huile (<i>Elaeis guineensis</i>).....	4
Figure 2: photographie de la graine de palme	5
Figure 3: Diagramme de production artisanale d'huile de palme.....	6
Figure 4: Broyage artisanal (a) et semi artisanal (b) des graines de palme.....	7
Figure 5: photographie de la technique de pressage du mix	8
Figure 6: Clarification et déshydratation artisanale	9
Figure 7: Composants principaux de l'huile brute de palme.....	9
Figure 9: photographie d'huile brute de palme artisanale.....	15
Figure 8: Situation géographique de la zone d'étude.....	16
Figure 10: Boîtes de Pétri avec des colonies morphologiquement différentes	18
Figure 11: Rapprochement des sites en fonction des paramètres physico-chimiques	23
Figure 12: Charges des champignons dans les huiles brutes de palme à Daloa.....	24
Figure 13: Rapprochement des sites en fonction de la richesse spécifique de champignon dans les huiles.....	29
Figure 14: Cercle de corrélation (ACP)	30

Annexes 1: Matériel technique de laboratoire	40
Annexe 2: Différents genres de contaminants fongiques	41

INTRODUCTION

L'huile brute de la pulpe de palme (huile CPO) connue sous le nom « huile rouge », est le premier produit extrait des fruits du palmier. Elle est préparée à partir du mésocarpe charnu du fruit du palmier à huile (*Elaeis guineensis*, Jacq.) au moyen de procédés mécaniques et physiques d'extraction des régimes de fruits du palmier à huile (Siew, 2011). Traditionnellement employée comme huile de cuisson, l'huile brute de palme ou l'huile rouge est aujourd'hui utilisée à travers de très nombreux dérivés et se retrouve dans des milliers de produits. Le principal débouché est l'industrie agroalimentaire qui consomme près de 80 % de l'huile de palme produite dans le monde, suivie des industries pharmaco-chimiques et cosmétiques (environ 10 %), et juste derrière (un peu moins de 10 %) les agrocarburants (OPEC, 2013). La consommation locale d'huile de palme comme aliment, se fait parfois sans aucune forme de transformation avec un taux de consommation d'environ 99 % et le reste réservé à d'autres usages (Aké *et al.*, 2015).

Selon l'USDA, la Côte d'Ivoire se positionnait en 2017-2018 comme le troisième producteur africain d'huile de palme, avec près de 17 % de la production totale, derrière le Nigéria (36 %) et le Ghana (18 %) (Maxime, 2020). Parmi de nombreuses unités nationales de production d'huile comme la SI2C, PALM NEGOCE CI, ICH, PALM-CI, HUILE ROUGE SAS etc..., qui utilisent des moyens industriels, se positionnent les huileries artisanales dont la production repose sur des techniques simples presque entièrement manuelles (Konan *et al.*, 2018). Contrairement à ce qui est le plus souvent admis, l'huile rouge artisanale est encore largement consommée en milieu urbain, même dans la capitale, Abidjan. A Daloa également, l'huile brute de palme est produite principalement dans les villages et vendue sur les marchés ou importée vers les grandes métropoles telles que Yamoussoukro, Bouaké et Abidjan. Ces huiles produites occupent une importante place dans l'alimentation locale.

L'huile obtenue grâce aux procédés artisanaux pourrait renfermer des facteurs de risque qui pourraient favoriser la prolifération des levures et moisissures. En effet, un taux d'humidité élevé dans un corps gras constitue un support de développement microbien, d'actions enzymatiques contribuant aux phénomènes d'hydrolyse et d'oxydation des corps gras et une durée de conservation plus réduite, surtout pour les huiles extraites par voie humide qui gardent de l'eau résiduelle (Karleskind, 1992 ; Ribier *et al.*, 1995). Cette teneur en eau est supposée variée selon la méthode employée pour la déshydratation finale (Fournier *et al.*, 2001). De même, l'hydrolyse enzymatique des triacylglycérols (lipolyse) par l'activité des levures et moisissures, conduit à une accumulation dans l'huile d'acides gras libres, de mono et diglycérides. Ces composés peuvent être à l'origine d'une altération des qualités organoleptiques

de l'huile et de ses produits dérivés. Une autre nuisance due à la croissance de certaines moisissures (principalement certains *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*), est la production d'éventuelles mycotoxines, thermostables et cancérigènes (Alifax, 1975).

Vu tout ce qui précède, cette présente étude vise à évaluer les facteurs de risque de détérioration de la qualité sanitaire et organoleptique liés à la présence des levures et moisissure dans l'huile brute de palme artisanale produite et vendue à Daloa. De façon spécifique, il s'agira de :

- déterminer les paramètres physico-chimiques en rapport avec l'activité métabolique des levures et moisissures dans huile brute de palme ;
- caractériser les levures et moisissures isolées de l'huile brute de palme artisanale, produite et vendue à Daloa.

Ce présent mémoire est structuré en trois parties, outre l'introduction et la conclusion, la première partie présente les généralités sur le palmier à huile. La deuxième partie présente la zone d'étude ainsi que le matériel utilisé et les méthodes mises en œuvre pour atteindre les objectifs visés. La troisième partie est consacrée aux résultats et à la discussion.

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

1. PALMIER A HUILE

1.1. Historique et description

Les palmiers produisant de l'huile appartiennent au genre *Elaeis* et aux espèces *Elaeis guineensis* Jacq. et *Elaeis oleifera* (kunth) Cortés. *Elaeis guineensis* Jacq. (Figure 1) est une espèce africaine cultivée depuis le début du XXème siècle (Jacquemard, 2012). C'est la seule espèce qui produit de l'huile avec un intérêt économique très important. L'espèce *Elaeis guineensis*, originaire d'Afrique tropicale humide est un lointain parent du cocotier (Rakotomalala, 2008). Elle doit son nom au botaniste Jacquin depuis 1963 et sa culture s'étendait du Sénégal jusqu'à l'Angola (Jacquemard & Baudouin, 1987). Il existe trois variétés de cette espèce mais le matériel actuellement planté est un hybride appelé *Tenera* qui a un rendement moyen de 20 tonnes de régimes à l'hectare (Durand-Gasselini *et al.*, 2010). Le palmier à huile est la seule plante permettant de produire deux huiles à savoir l'huile brute de palme extraite de la pulpe de graine et l'huile de palmiste extraite à partir de l'amande du noyau. Les palmiers sont des végétaux pérennes de grande taille (20 à 25 m de hauteur) mais pas des arbres au sens botanique du terme. On ne parle pas de tronc mais de stipe couronné de longues feuilles composées et entourant un bourgeon unique. L'inflorescence formée de fleurs groupées en épis, se localise à l'aisselle des feuilles. Ses racines superficielles se développent considérablement suivant l'horizontal. L'ensemble des épis constitue le spadice qui se transforme en régime. Ce dernier de forme globuleuse peut atteindre une masse de 25 kg plus ou moins hérissée de fortes épines. Ce régime se compose d'un support fibreux (la rafle) sur laquelle sont fixées les graines (65 à 80 % du poids des régimes frais). Le fruit est une drupe sessile, ovoïde, de longueur 3 à 5 cm, plus ou moins ventrue, logée dans une cupule scarieuse et desséchée (Komba, 2019 ; Alapetite, 2013).

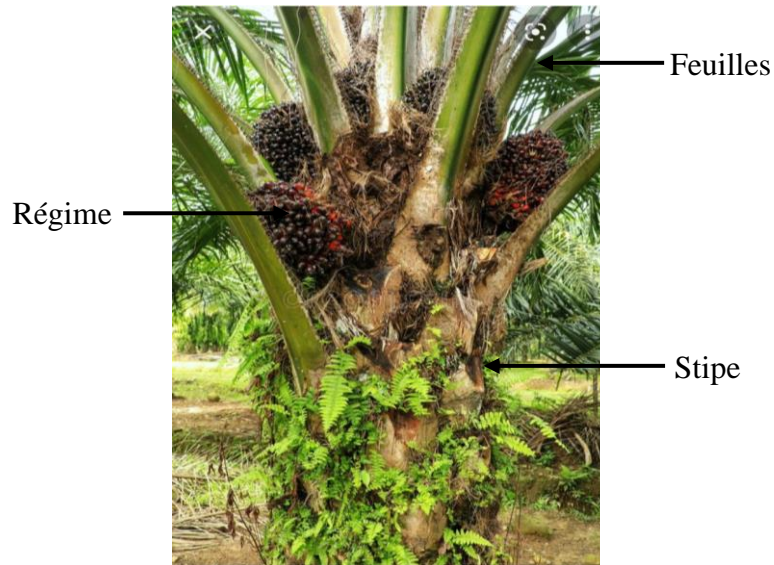


Figure 1: photographie du palmier à huile (*Elaeis guineensis*)

1.1.1. Systématique

La position systématique du palmier produisant l'huile brute de palme et l'huile de palmiste fait est donnée ci-dessous.

Super règne	:	<i>plantae</i>
Classe	:	<i>Equisetopsida</i>
Ordre	:	Arecales
Famille	:	<i>Arecaceae</i>
Genre	:	<i>Elaeis</i>
Espèce	:	<i>guineensis</i>

1.1.2. Variétés de l'espèce *Elaeis guineensis* Jacq.

Les trois variétés (*Dura*, *Tenera* et *Pisifera*) connues pour cette espèce comportent presque les mêmes organes que sont l'amande (albumen) donnant l'huile de palmiste et un embryon, la coque (endocarpe) qui entoure l'amande et la pulpe (mésocarpe) d'où on extrait l'huile de palme. Ces variétés *Dura*, *Tenera* et *Pisifera* sont caractérisées respectivement par une coque épaisse, une coque mince et une coque quasi-absente. Il est clairement démontré que le *Tenera* est l'hybride du croisement de la variété *Dura* et *Pisifera* (D × P). Ce croisement est beaucoup exploité pour la production de semences. En effet, le *Tenera* ayant moins de coque inutile que le *Dura*, a une production d'huile plus importante (Rakotomalala, 2008). Mise au

point par le Centre National de la Recherche Agronomique (CNRA), cette variété est la plus cultivée dans les grandes plantations de Côte d'Ivoire. La production moyenne en huile de palme s'élève à 352000 T par an (Konan *et al.*, 2018).

1.1.3. Conditions de production

Le palmier à huile est une plante qui pousse presque partout et qui est résistante à la fois au soleil et à l'eau. Pour une bonne production, il faut une insolation optimale de 2000 heures/an (165 heures/mois), une pluviométrie de 1800 mm/an (150 mm/mois), une humidité relative et une hygrométrie supérieure à 75 % et 60 % respectivement. La température annuelle moyenne la plus favorable est 26 °C avec des minima se situant autour de 18 °C pour les mois les plus froids (Komba, 2019). Pour une évolution et un rendement plus efficace, la nature du sol est aussi un élément très important même s'il arrive que les palmiers poussent sur presque tous les types de sol. D'autant que le sol est riche en humus et en minéraux, ils doivent être des sols profonds, meubles, perméables, à bon pouvoir de rétention en eau (Mensah, 1999).

1.2. Structure des fruits

Le fruit du palmier à huile ou noix de palme, est une drupe charnue, de forme ovoïde, sessile groupé (e) en régimes. Un régime peut porter jusqu'à 1500 drupes et peut peser jusqu'à 25 kg (De Berchoux *et al.*, 1986). Cet organe de la plante est structuré comme suite : la pulpe, de couleur jaune-orangé est à la base de l'huile de palme. Il renferme un noyau très dur ou coque à l'intérieur duquel on trouve la graine ou amande appelée palmiste qui fournit l'huile de palmiste. L'amande comprend un tégument mince et adhérent, un albumen cartilagineux et un embryon.



Figure 2: photographie de la graine de palme

1.3. Huile brute de palme

C'est une matière grasse végétale issue de la culture du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq). Le terme « huile de palme » associe souvent les deux grands types de produits (huile CPO et huile PKO) issus du palmier à huile. L'huile brute de palme (CPO) est obtenue à partir du mésocarpe fibreux (pulpe) et l'huile de palmiste brute (PKO) obtenue à partir de l'amande du noyau (le palmiste). Ce dernier type (PKO) a une composition plus proche de l'huile de coco (O'Keefe, 2000).

1.4. Technologie de production de l'huile de palme

L'huilerie de palme regroupe toutes les activités visant à séparer les régimes de palme en rafles, fruits, fibres, noix, jus bruts, huile brute, coques et amandes (Jacquemard, 2012). L'extraction moderne tout comme artisanale se fait selon un procédé quasi-identique. Les industries spécialisées ont en revanche des équipements à capacité plus élevée en raison des grandes productions. Le procédé artisanal d'extraction de l'huile de palme est illustré à travers le diagramme ci-dessous (figure 3) (Kouamé, 2017)

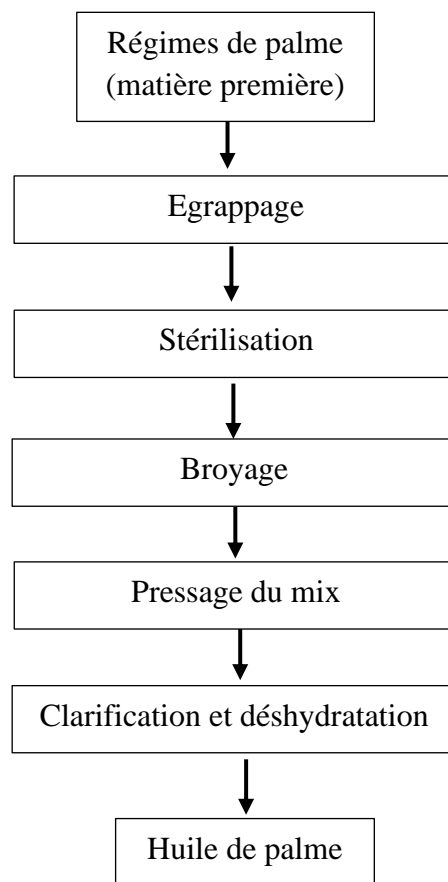


Figure 3: Diagramme de production artisanale d'huile de palme.

1.4.1. Egrappage

Tout débute par l'égrappage après récolte des régimes. Le principe consiste à détacher les fruits des régimes par abattement à la machette ou avec des bâtons. Une autre méthode traditionnelle consiste à laisser les régimes sous des feuilles ou à l'air pendant 3 à 5 jours afin de favoriser la séparation des fruits des régimes.

1.4.2. Stérilisation

C'est une étape importante du procédé car elle a pour objectif d'inactiver les enzymes responsables de la lipolyse et de l'oxydation. Elle permet aussi de réduire l'apparition d'acides gras et conditionne significativement la qualité de l'huile. Les fruits égrappés sont alors stérilisés dans des barriques métalliques de 200 litres, remplies d'eau bouillante durant 15 à 20 minutes.

1.4.3. Broyage

Les fruits stérilisés sont broyés dans un mortier jusqu'à l'obtention d'un mix à peu près homogène de pulpe et d'amande. Cette technique traditionnelle reste confinée à l'approvisionnement familial, du fait du faible volume d'huile extrait (Libert, 2011). Une autre méthode mécanisée observée par des communautés villageoises, s'inscrivant en tant qu'huilerie artisanale commence à se vulgariser en Afrique tropicale (figure 4b) (Libert, 2011).

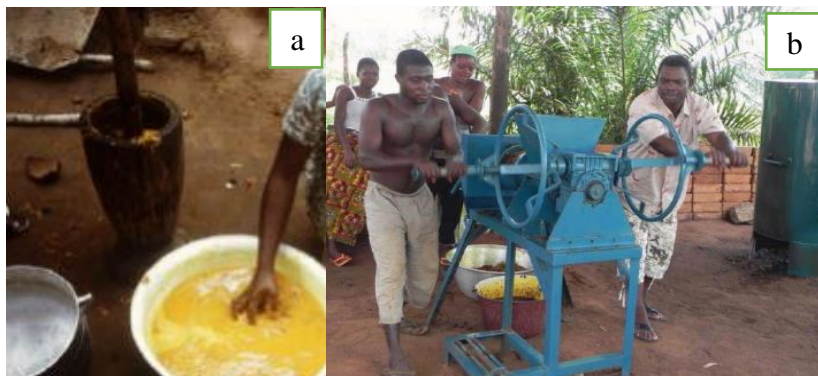


Figure 4: Broyage artisanal (a) et semi artisanal (b) des graines de palme.

1.4.4. Pressage du mix

Les fruits broyés (le mix) vont être pressés. Mais d'abord, ils subissent un léger chauffage afin d'accroître le taux d'extraction d'huile. Selon le mode de fonctionnement, trois types de presse sont connus (De Theux, 2004). Ainsi :

- les presses à vis verticale : le mix est placé dans un cylindre perforé, un plateau ajusté à la taille du cylindre est progressivement descendu par un système de vis verticale. Un bras de levier est utilisé pour tourner la vis (figure 5).
- les presseoirs continus à vis (type COLIN) : ce type de presseoir est muni de deux vis sans fin à axe commun horizontal. La première pousse le produit vers une seconde vis qui tourne en sens inverse et qui presse le produit. Les taux d'extraction de ce type de matériel est d'environ 22 %.
- les presses hydrauliques manuelles : elles fonctionnent avec un système de vérin vertical à la place de la vis.



Figure 5: photographie de la technique de pressage du mix

1.4.5. Clarification et déshydratation de l'huile

C'est l'étape ultime de la production qui déterminera la qualité de l'huile. Il s'agit de séparer l'huile, l'eau et les boues par l'action thermique. Traditionnellement, elle s'effectue généralement en marmite faite d'aluminium ou en fût (figure 6), chauffé jusqu'à ébullition contrôlée. Une fois la séparation atteinte, l'huile flottant au-dessus de l'eau est récoltée à la louche (Libert, 2011). Cette étape précédente est appelée clarification. Cette huile est ensuite frite (déshydratation) à nouveau dans une marmite en aluminium pour éliminer les dernières traces d'eau. On peut également utiliser un clarificateur fonctionnant en continu. Un grand fût contient un autre fût plus petit. L'huile est introduite par le bas et, avec l'effet de la chaleur, le mélange se décante. Les boues et l'eau vont au fond tandis que l'huile surnage et passe dans le fût intérieur. De là, l'huile brute obtenue peut encore subir l'ébullition afin d'éliminer le maximum d'eau.



Figure 6: Clarification et déshydratation artisanale

1.5. Compositions biochimiques de l'huile brute de palme

L'huile de palme a une composition biochimique (figure 7) assez grande et importante qui résume de 90 à 95 % en composés majeurs à savoir les acides gras et 1 à 5 % en composés mineurs (Morin & Pages-Xatant, 2012).

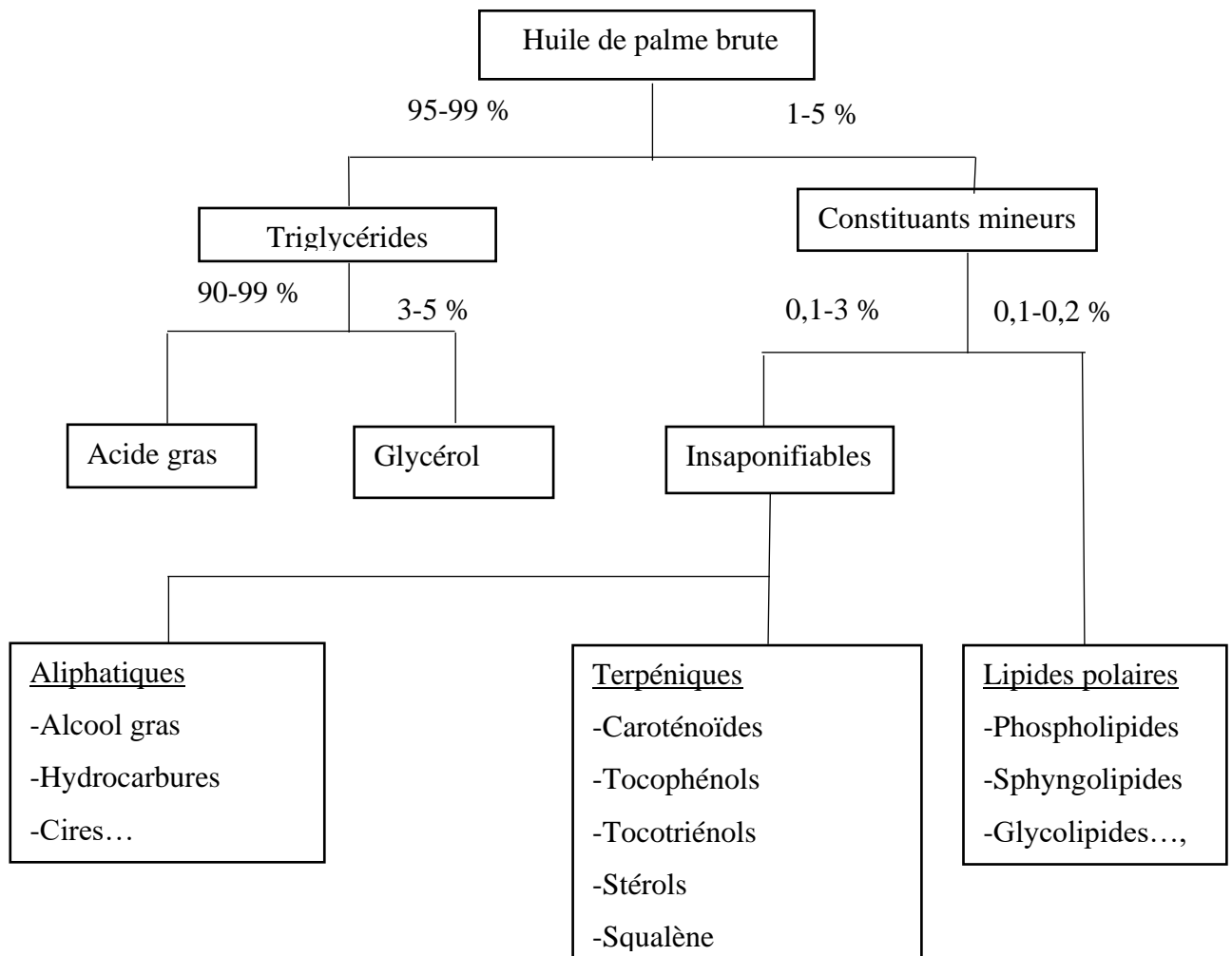


Figure 7: Composants principaux de l'huile brute de palme.

1.5.1. Eléments majeurs

Environ 50 % d'acides gras saturés (AGS) et 50 % d'acides gras insaturés (AGI) (tableau I) composent l'huile brute de palme (Mondé *et al.*, 2009). Ils constituent les éléments majeurs d'huile de la pulpe des graines de palme. Parfois à température ambiante, l'huile prend en masse à cause de sa teneur élevée en acide gras saturé. Les principaux AG de l'huile de palme sont les acides myristique (C14 :0), palmitique (C16 :0), stéarique (C18 :0), oléique (C18 :1) et linoléique (C18 :2). Ils forment des fractions glycériques comme les autres corps gras d'origine végétale renfermant des triglycérides (les acides gras estérifiant) (Sambanthamurthi *et al.*, 2000 ; Lecerf, 2013)

Tableau I: Teneur en acide gras d'huile brute de palme

Acide gras saturés	45 - 55
Acide laurique C12 :0	< 0,5
Acide myristique C14 :0	0,5 - 2
Acide palmitique C16 :0	39,5 - 47,5
Acide stéarique C18 :0	3,5 - 6
Acide gras monoinsaturés	38 - 45
Acide oléique C18 :1n-9	36 - 44
Acide gras polyinsaturés	9 - 12
Acide linoléique C18 :2n-6	9 - 12
Acide linoléique C18 :3n-3	< 0,5

(Sambanthamurthi *et al.*, 2000 ; Sundram *et al.*, 2003 ; Mondé *et al.*, 2009 ; Lecerf, 2013).

1.5.2. Eléments mineurs

Lors de l'extraction d'huile à partir du mésocarpe, les TG (Triglycérides) hydrophobes attirent d'autres composants cellulaires solubles dans l'huile. Il s'agit des constituants dits « mineurs » de l'huile de palme. Ces derniers sont représentés par les phosphatides, les stérols, les pigments, la vitamine E, les traces de métaux, des monoglycérides, des diglycérides et des acides gras libres (Sambanthamurthi *et al.*, 2000). Les constituants mineurs peuvent être divisés en deux groupes. Le premier groupe se compose des dérivés d'acides gras (les saponifiables) tels que les glycérides partiels (mono et diglycérides), les phosphatides, les esters et les stérols. Le deuxième groupe est constitué de composés non liés chimiquement aux acides gras (les insaponifiables) qui représente 0,2 à 2 % d'un lipide non raffiné. Ces constituants chimiques sont extrêmement variés en nature et en proportions. Les principaux sont des hydrocarbures

divers, des composés terpéniques (alcools triterpéniques, 4-méthylstérois, stérois), des alcools gras, des vitamines liposolubles (vitamines A, D, E (tocophérols et tocotriénols)) et des constituants extrêmement divers (Morin & Pages-Xatant., 2012).

1.5.2.1. Cérides

Les cérides sont des esters d'acides gras et de mono (éventuellement di) alcools de masse moléculaire suffisamment élevée pour que ces alcools soient insolubles dans l'eau. Parmi eux, on compte : les cires naturelles (esters d'acides gras et mono alcools aliphatiques), les stérides (esters de stérois, de méthyl-stérois ou d'alcools triterpéniques), les caroténo-cérides (esters d'acides gras et d'hydroxy-caroténoïdes ou xanthophylles).

1.5.2.2. Phospholipides

Les phospholipides ou phosphatides présents dans les corps gras végétaux bruts (jusqu'à 2 % de certaines huiles), sont essentiellement des phosphoglycérides (c'est à dire des dérivés du phosphoryl-3-glycérol), des sphingolipides (dérivés de la phytosphingosine) et des phospholipides comportant en outre des motifs glucidiques (glycolipides) (*Sambanthamurthi et al.*, 2000).

1.6. Production de l'huile de palme en Côte d'Ivoire

La Côte d'Ivoire fait partie des premiers producteurs d'huile de palme en Afrique, avec une production atteignant 560 000 tonnes en 2018. Cette production totale est issue en moyenne de 55 % de régimes issus de plantations villageoises et 45 % de régimes issus de plantations industrielles (Dubos *et al.*, 2020). L'huile de palme produite en Côte d'Ivoire regroupe celles issues des grandes huileries et petites et moyennes huileries. Au moins 2 236 000 tonnes de régimes de palme sont issues de quelque 290 000 ha de plantation dont 70 % sont détenus par des planteurs villageois (Dubos *et al.*, 2020).

1.7. Huile de palme : utilisation et importance

1.7.1. Au niveau alimentaire

L'huile de palme continue d'être aujourd'hui une denrée importante et spécifique pour certains plats culinaires. Sa substitution avec d'autres huiles rend parfois impossible dans la formulation du produit fini (savon soda). Elle est également responsable de la couleur et du goût de certaines plats courants tels que le fofou à base de banane, d'igname ou de manioc. L'utilisation de l'huile de palme est difficile dans les pays tempérés en raison de son point de fusion trop faible (Jacquemard, 2012).

1.7.2. Au niveau médical

Dans le domaine médical, l'huile de palme possède un pouvoir inhibiteur de la biosynthèse du cholestérol endogène, de l'agrégation plaquettaire et elle réduit la pression sanguine (Edem, 2002 ; Osim *et al.*, 2002). Elle est aussi une bonne source de tocophérols, notamment la vitamine E, aux propriétés anti-oxydants, et de β -carotène (base de la biosynthèse de la vitamine A) (Jacquemard, 2012). L'utilisation modérée de l'huile de palme rouge est très avantageuse pour l'activité enzymatique, la prolifération des globules rouges et l'amélioration des fonctions du système immunitaire. En effet, une consommation exagérée provoque des effets toxiques sur le rein, le foie, le cœur, les poumons et les cellules reproductrices mais un effet toxique moins que l'huile raffinée (Edem, 2002). De façon générale, l'absence d'acides gras trans, une faible dose d'acides saturés et une prédominance d'acides gras poly et monoinsaturés dans l'huile végétale serait une bonne configuration pour la santé (Shimizu & Desrochers, 2012).

1.7.3. Au niveau industriel

L'huile constitue la matière première dans les industries de raffinerie, d'oléo-chimie et de production d'énergie (carburant Diesel). L'huile raffinée est un autre produit de même usage culinaire que celle directement transformée sauf que le traitement conduit à certaines modifications organoleptique et biochimique. Les margarines qui sont fabriquées à partir des matières grasses du lait de vache trouvent aussi leur place dans l'emploi des graisses végétales hydrogénées. L'hydrogénation partielle d'une huile consiste donc à réduire le nombre de doubles et triples liaisons des acides gras insaturés ce qui augmente sa proportion en acide gras saturés (Jacquemard, 2012). Avec l'évolution accentuée de la technologie des moteurs diesels, il n'est plus possible d'utiliser de l'huile brute de palme comme carburant. À partir de l'huile de palme, il est possible de produire, après un processus de transestérification, les esters de méthyle (biodiesel) ou, après une réaction catalytique, des produits du type essence, kérosène, gazole, etc. (Jacquemard, 2012). Dans la cosmétique, cette matière grasse est additionnée aux autres produits pour la fabrication du savon et pommade.

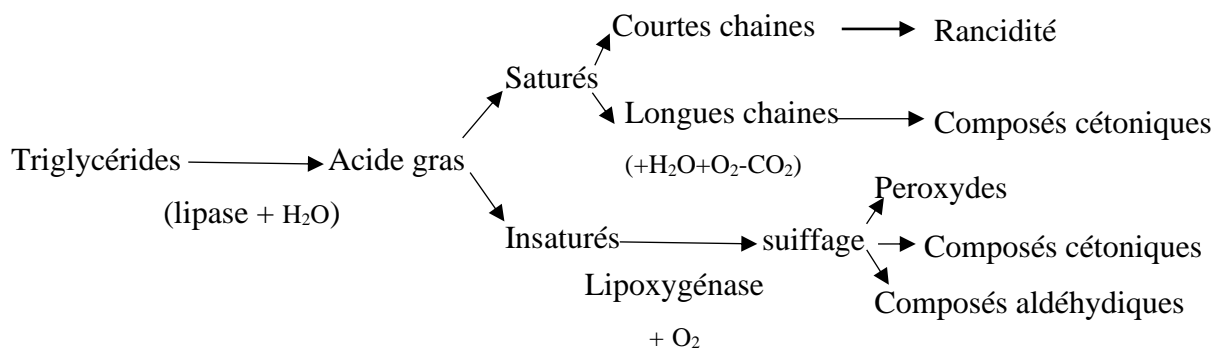
1.7.4. Au niveau économique

L'huile rouge est depuis longtemps un des produits faisant partie du rang des denrées alimentaires exportées sur le marché mondial comme le cacao, la noix de cajou l'hévéa. En Côte d'Ivoire, l'huile de palme a une importance capitale du point de vue économique comme au Ghana, au Libéria et en Sierra Leone, où l'huile constitue une source majeure de revenus et

d'échanges commerciaux dans les districts frontaliers (Ofosu *et al*, 2013). Elle est de plus en plus importée dans toutes les régions du monde. L'Europe est ainsi devenue le troisième importateur mondial derrière la Chine et l'Inde (Rivall, 2020)

1.8. Altération fongique de l'huile de palme

Les huiles d'origine végétale, malgré leur nature anhydre, peuvent aussi être altérées par les micro-organismes (Alifax, 1975) selon la réaction :



1.8.1. Levures

Les levures sont des microorganismes eucaryotes, non photosynthétique chimio-hétérotrophes. Ce sont des champignons immobiles, à thalle unicellulaire (Hencké, 2000). Leur morphologie (sphérique, ovoïde, globuleuse, cylindrique, ellipsoïde, allongée, apiculée, ogivale, triangulaire ou en forme de bouteille) est d'une grande importance taxonomique (Labbani, 2015). Leur présence dans des produits alimentaires dépend des facteurs du milieu. La plupart des souches ne peuvent se développer à des activités de l'eau inférieures à 0,90, mais certaines tolèrent des pressions osmotiques plus élevées correspondant à une activité de l'eau de l'ordre de 0,65, mais avec un métabolisme lent (Rezki-Bekki, 2014). Dans les produits oléagineux, les levures sont capables d'accumuler plus de 20% de lipides dans leur biomasse sèche (Triantaphyllidou *et al.*, 2015). Les plus connues à l'heure actuelle sont principalement réparties dans les genres basidiomycètes *Cryptococcus*, *Rhodospodidium*, *Rhodotorula*, et *Trichosporon* et dans les ascomycètes *Yarrowia* et *Lipomyces* (Ageitos *et al.*, 2011). Parmi ce grand nombre, moins de 30 espèces sont connues pour leur caractère oléagineux (Remram, 2016).

1.8.2. Moisissures

Le terme « moisissure » désigne tous les champignons microscopiques filamenteux présents dans l'environnement tant à l'extérieur qu'à l'intérieur (Basset & Caroline, 2011),

saprophytes dépourvus de pigments assimilateurs. Ils sont incapables d'utiliser le gaz carbonique de l'air, et sont dépendantes de sources organiques (Boudra, 2009). Les aliments sont généralement des milieux très favorables à leur développement à cause des sources directement utilisables. La plupart des moisissures trouvent leur croissance à la température située entre 25 et 35°C. La contamination fongique d'un substrat ou d'un aliment provoque des modifications physiques (aspect, goût, odeur) et des modifications chimiques (modification des qualités nutritives). Ils se reproduisent par voie sexuée et/ou asexuée (production de spores). Dans la nature, les moisissures se trouvent principalement sur les végétaux riches en sources directement utilisables. Par ailleurs, une large variété de moisissure vit dans le sol, ou associée aux plantes (Chapeland-Leclerc *et al.*, 2005). Certaines espèces de moisissure synthétisent des mycotoxines (aflatoxine, lactones, certains stéroïdes), potentiellement pathogènes pour l'homme. Dans l'huile tout comme les autres aliments, les moisissures trouvent des conditions de croissances à cause de la présence d'eaux et d'autres facteurs qui contribue à leur évolution.

DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET
METHODES

2. MATERIEL

2.1. Matériel d'étude

Le matériel utilisé pour la réalisation de ce travail est l'huile brute de palme (figure 9) issue des huileries artisanales et des marchés locaux de la ville de Daloa.



Figure 8: photographie d'huile brute de palme artisanale

2.2. Matériel technique

Le matériel utilisé dans cette étude est composé, en plus des instruments classiques de laboratoire de microbiologie-biochimie, de divers matériels dont la balance analytique de marque OHASUS de précision 0,01 qui a permis d'effectuer pour les différentes pesées ; le bain-marie utilisé pour le chauffage et la dissolution des milieux de culture ; l'autoclave (LDZX-40B) et l'étuve ayant servi respectivement à la stérilisation et à l'incubation les différentes boîtes de Pétri en culture ; le pH-mètre HANNA HI 8014 à servir à déterminer le pH de l'huile.

La gélose Sabouraud au chloramphénicol a été utilisée pour l'isolement et la purification des champignons. L'addition de chloramphénicol au milieu Sabouraud a permis d'inhiber la croissance des bactéries Gram positif et Gram négatif. Le milieu d'enrichissement d'Eau Peptonée Tamponnée (EPT) a été utilisé pour la réalisation des différentes suspensions mères et décimales.

3. METHODES

3.1. Présentation de la zone d'étude.

L'étude a été réalisée à Daloa, ville située à 6°53 latitude Nord et 6°27 de longitude Ouest. Il y règne un climat très humide et quatre saisons. Une grande saison des pluies qui commence d'Avril jusqu'à mi-Juillet, une petite saison sèche de mi-Juillet au mois de Septembre, une petite saison des pluies du mois de Septembre à Novembre et une grande saison sèche du mois de Décembre jusqu'au mois de Mars. Cette région a une superficie de 15 200 km² pour une population estimée à 1.430.960 habitants (Anonyme, 2014).

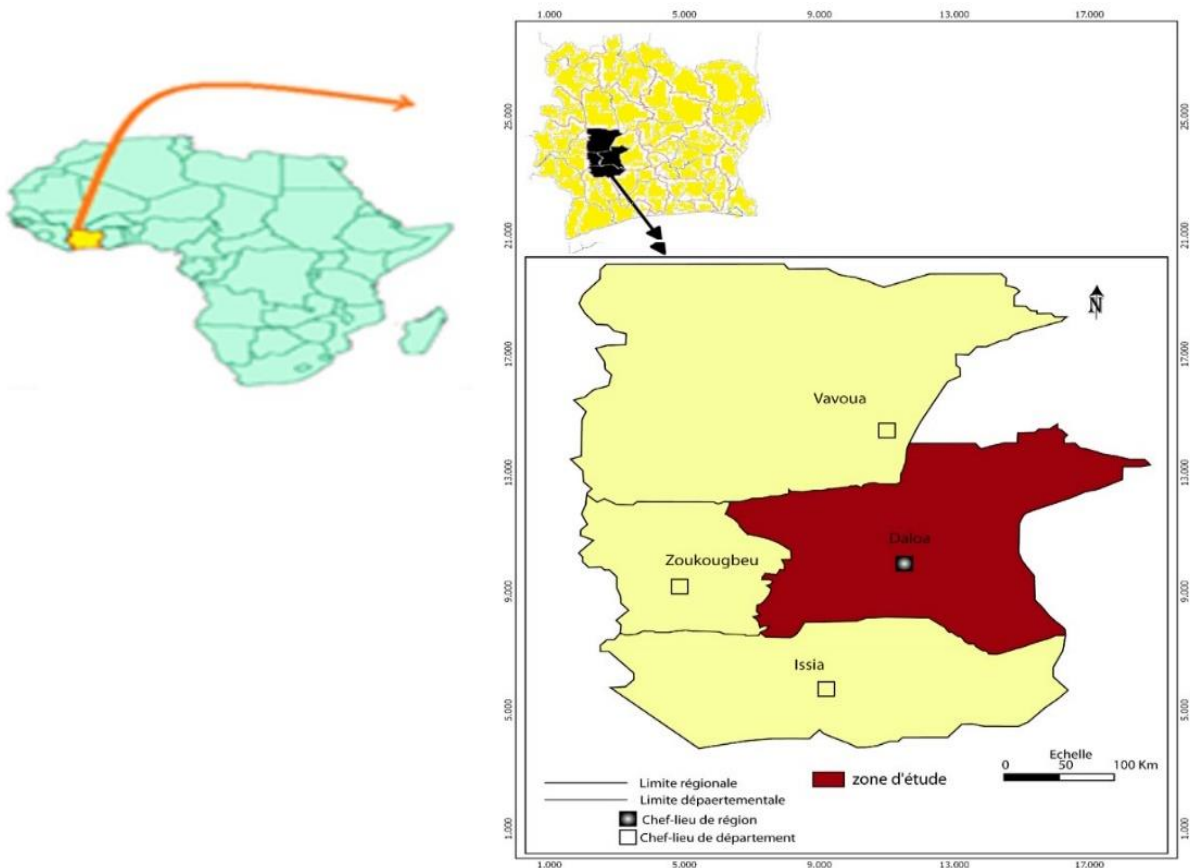


Figure 9: Situation géographique de la zone d'étude

3.2. Echantillonnage

L'échantillonnage a été effectué en Avril 2022 sur six (06) sites différents du département de Daloa. Il s'agit de trois (03) sites de production que sont les villages de Zakoua, Gbétitapea, et Gboguédia et 3 sites de vente à savoir, le marché d'Orly, le grand marché et le marché de Lobia. Sur chaque site, trois échantillons élémentaires d'huile brute de palme de 0,5 L ont été prélevés dans des flacons stériles chez différents producteurs ou commerçants. Les

échantillons élémentaires ont été ensuite mélangés et homogénéisés pour obtenir un échantillon unique de 1,5 L par site. Ainsi, un total de six (6) échantillons ont été prélevés pour l'ensemble de l'étude.

3.3. Analyse microbiologique

3.3.1. Préparation des milieux Sabouraud au chloramphénicol et EPT

Les milieux de culture Sabouraud au chloramphénicol (SC) et l'Eau Peptonée Tamponnée (EPT), utilisés dans le cadre de cette étude, ont été préparés selon les prescriptions du fabricant. Ainsi pour la gélose SC, une quantité de 65 g de produit déshydraté a été dissoute dans 1 L d'eau distillée dans une bouteille Schoft, tandis que dans une autre bouteille Schoft pour l'EPT, 15 g ont été dissouts dans 1 L d'eau distillée. Les deux mélanges ont été chauffés au bain-marie jusqu'à dissolution complète puis portés à l'autoclave à 121°C pendant 15 min pour stérilisation.

3.3.2. Réalisation de la suspension mère et des dilutions décimales

Selon la norme AFNOR (2017), 10 mL d'huile de palme rouge ont été prélevés dans des conditions aseptiques et ajoutés dans 90 mL d'EPT stérile. L'ensemble a été homogénéisé pendant 2 min. Le mélange obtenu constitue la suspension mère. La même action a été répétée pour les autres échantillons.

3.3.3. Réalisation des dilutions décimales

Les dilutions décimales ont été préparées en prélevant une quantité de 1 mL de la suspension mère (SM) ajoutée dans 9 ml d'EPT stérile pour constituer la première dilution 10^{-1} . De la même façon, 1 ml de la dilution 10^{-1} a été prélevé et ajouté dans 9 mL d'EPT stérile pour constituer la deuxième dilution 10^{-2} . Le même processus est répété jusqu'à la dilution souhaitée (10^{-3}).

3.3.4. Isolement des champignons

L'isolement des levures et moisissures dans les échantillons d'huile brute de palme, a été réalisé sur le milieu Sabouraud au Chloramphénicol via la technique d'ensemencement en profondeur. Une quantité de 1 mL de chaque dilution (10^{-1} et 10^{-2}) est prélevée puis déposée dans une boîte de Pétri autour de la flamme du bec Bensen (conditions aseptiques). Environ 20 mL de la gelose, préalablement préparé et maintenu en surfusion à 45 à 50 °C, y ont été ajoutés. L'ensemble est homogénéisé en agitant doucement la boîte de Pétri. La boîte de Pétri a été alors laissée reposer autour de la flamme jusqu'à solidification du milieu. L'incubation à l'étuve a eu lieu à 30 °C pendant 72 heures à 7 jours. Deux essais ont été réalisés par dilution.



Figure 10: Boîtes de Pétri avec des colonies morphologiquement différentes

3.3.5. Dénombrement des charges fongiques

Cette manipulation a consisté à compter les colonies visibles sur la gélose Sabouraud au chloramphénicol. Le calcul du nombre moyen de champignons en UFC/mL est donnée par la norme ISO 7218 (2007) selon la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C_i}{(N_1 + 0,1N_2)d.V}$$

N : nombre de colonies en UFC / mL ;

$\sum C_i$: somme des colonies caractéristiques comptées sur toutes les boîtes retenues de la même dilution ;

N_1 : nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

N_2 : nombre de boîtes retenues à la seconde dilution ;

d : taux de dilution correspondant à la première dilution;

V : volume de l'inoculum prélevé.

Selon la norme NF.V.08.059 (2002), la charge des levures ou moisissures recommandée est indiquée dans le tableau II :

Tableau II: charge des champignons recommandée dans l'huile brute de palme

Microorganismes	Charge	Référence
Levures ou moisissures	< 2.10 ² UFC/g	NF.V.08.059 (2002).

3.3.6. Purification.

Après isolement, les colonies morphologiquement différentes observées sur les boîtes de Pétri ont été prélevées et cultivées individuellement sur le milieu Sabouraud au Chloramphénicol. Les boîtes ont été incubées dans les mêmes conditions qu'à l'isolement (30°C pendant 72 h à 7 jours) (Verscheure *et al.*, 2002).

3.3.7. Identification des champignons

Les colonies purifiées ont par la suite été identifiées sur la base de leurs caractères macroscopiques (forme, relief et couleur des colonies, caractéristiques de la surface, pigmentation, délai de culture, ...) et microscopiques (cloisonnement des hyphes, présence de chlamydospores, forme et taille des conidies, phialides...) (Verscheure *et al.*, 2002).

3.4. Analyse des paramètres physico-chimiques de l'huile

3.4.1. Détermination du pH de l'huile brute de palme

Le pH de l'huile de palme détermine la qualité et la stabilité de cette importante denrée alimentaire. Il permet d'avoir directement une idée sur les germes pouvant contaminés un produit alimentaire. A l'aide d'un pH-mètre, trois essais ont été effectués par échantillon en introduisant l'électrode du pH mètre dans 10 ml d'huile. La valeur de pH affichée est lue et notée. Le pH de l'échantillon a été obtenu en effectuant la moyenne des trois valeurs affichées pour chaque échantillon.

3.4.2. Détermination du taux d'humidité de l'huile brute de palme

L'humidité de l'huile se définit comme étant la quantité d'eau résiduelle retrouvée dans l'huile après évaporation à l'étuve à 103 °C. Sa détermination (taux d'humidité) s'est faite *via* la méthode thermogravimétrique qui a consisté en une différence de pesée d'un échantillon avant et après passage à l'étuve. Ainsi, un récipient en porcelaine de masse à vide (m_0) contenant 10 ml d'huile de palme est pesé (m_1) puis introduit à l'étuve (103 °C) pendant 1 h. Ce récipient est ensuite sorti, refroidi au dessiccateur et il est pesé (m_2). Après il y a un deuxième passage du récipient dans l'étuve à 103 °C pendant 30 minutes et dans les mêmes conditions que précédemment. La nouvelle pesée (m_3) est obtenue. Si $m_2 = m_3$ alors $m_2 =$ constante est considéré comme le poids final de l'huile séchée. Trois essais ont été réalisés et répétés jusqu'à ce que la masse demeure constante. La formule de calcul est la suivante (ISO 665, 2020)

$$TH = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

Avec :

TH : taux d'humidité en pourcentage ;

m_0 est la masse en grammes du récipient ;

m_1 est la masse en grammes du récipient et de la prise d'essai avant séchage;

m_2 est la masse en grammes du récipient et de la prise d'essai après séchage.

3.4.3. Détermination de l'Indice d'acide (Ia) ou Acide Gras Libre (AGL).

Le degré d'acidification de l'huile est souvent employé par plusieurs termes : indice d'acide, acidité, teneur en AGL, etc. Il est déterminé par la méthode volumétrique qui consiste à mesurer l'acidité titrable avec une solution d'hydroxyde de potassium (KOH 0,1 N) alcoolisé en présence d'un indicateur de fin de réaction (phénolphtaléine). La méthode utilisée est celle décrite par Kouamé *et al.* (2015). Cet indice d'acidité ou AGL représente le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour neutraliser les AGL présents dans 1 g de corps gras ; il s'exprime en mg de KOH.g⁻¹. De ce fait, 1 g a été pesé dans un Erlenmeyer de 250 mL auquel 25 mL de chloroforme ont été ajoutés et le tout laissé au repos jusqu'à la dispersion de la matière grasse. Ensuite, 25 mL d'éthanol à 95 % et 8 gouttes de phénolphtaléine (1 %) ont été additionnés respectivement. Le tout a été dosé avec l'hydroxyde de potassium alcoolisé en agitant jusqu'au virage de la solution. Le pourcentage d'indice d'acidité est calculé de la façon suivante (NF EN ISO : 660, 2020)

$$Ia = \frac{V \times 56,1 \times N}{m} \text{ (mg de KOH par g d'huile)}$$

$$\% \text{ AGL} = 0,5 \times Ia$$

Avec

% AGL= pourcentage d'acide gras libre ;

Ia= indice d'acide ;

V = Volume de KOH versé dans l'échantillon (en ml) ;

N = Normalité de la soude,

56,1 : masse molaire du KOH

m = masse de l'échantillon (g).

3.5. Analyse des données

Les données collectées lors de l'évaluation de la diversité fongique et de l'analyse des paramètres physico-chimiques des échantillons d'huile de palme rouge ont été saisies à l'aide du tableur Excel 2013 et soumises à une analyse de variance (ANOVA) par le logiciel Statistica version 7.1 (Statsoft Inc, Tulsa-USA Headquarters). Le logiciel Statistica 7.1 a servi également à la classification hiérarchique des données et d'un ACP entre les différentes données.

TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION

4.RESULTATS

4.1. Teneurs des paramètres physico-chimiques en rapport avec l'activité microbiologique dans l'huile brute de palme

L'analyse physico-chimique réalisée à partir des échantillons d'huile brute de palme prélevés sur les sites de production (Zakoua, Gbetitapea et Gboguedia) et les sites de vente (marché d'Orly, marché de Lobia, grand marché) a permis d'évaluer le pH, l'humidité, la teneur d'acides gras libres (AGL) ou l'indice d'acidité de ces huiles. Ces paramètres ont varié d'un échantillon à un autre selon les différents sites de production ou de ventes (Tableau III ; Figure 11). Cependant selon la classification du dendrogramme, les échantillons du marché d'Orly sont encore plus différents des cinq autres échantillons plus proches entre eux.

Les valeurs moyennes des pH ont été comprises entre 2,95 et 3,4 montrant que les huiles sont toutes acides. Ces huiles peuvent être classées en deux catégories à savoir les huiles avec une acidité très forte qui concernent l'échantillon du marché d'Orly et les huiles à forte acidité correspondant aux cinq autres échantillons.

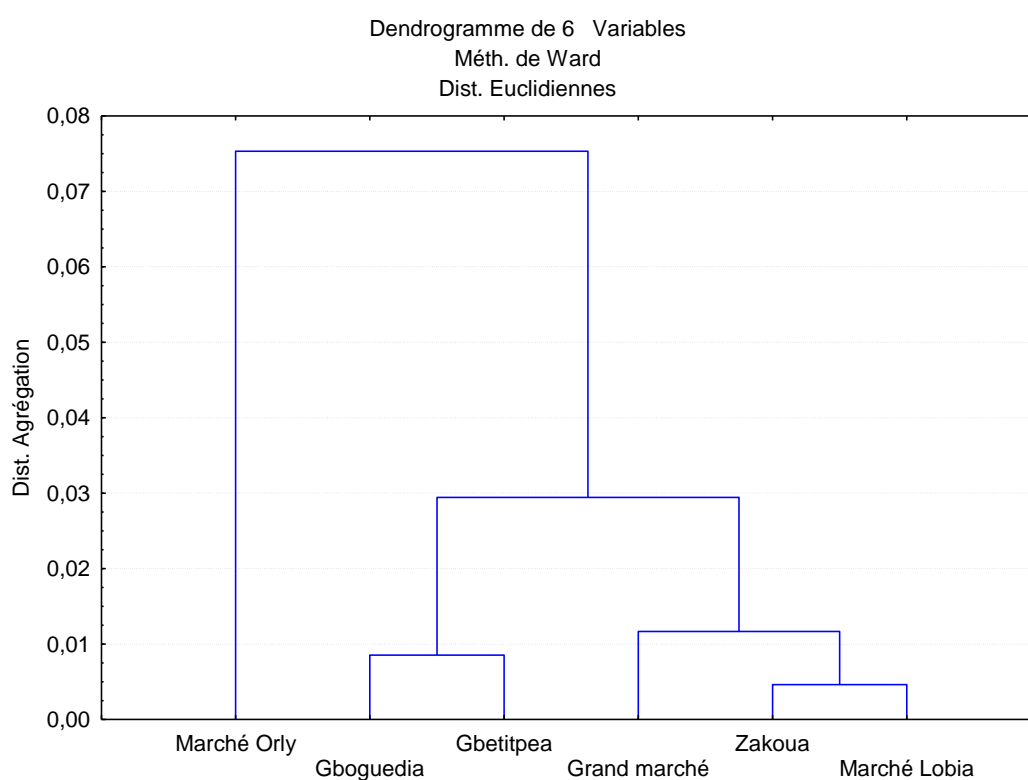
Les teneurs en humidité des huiles analysées ont été toutes supérieures à 0,1 % et ont varié de 0,56 à 0,97 % en moyenne. Les huiles en provenance du marché d'Orly ont présenté les teneurs d'humidité les plus faibles (0,56 %) tandis celles du Grand marché avaient les teneurs les plus élevées (0,97 %).

En ce qui concerne la teneur en AGL et l'indice d'acidité, les huiles du marché d'Orly ont enregistré la plus forte teneur moyenne d'AGL (25,62 %) et l'indices moyen élevé (51,24) contrairement à l'échantillon d'huile du Grand Marché qui a une teneur en AGL (15,52 %) et d'indices d'acidité plus faibles (31,04). Les teneurs moyennes en AGL des échantillons du site de Gboguedia et du site de Gbetitapea ont été respectivement de 19,07 % et 19,37 %. Ces valeurs n'ont présenté aucune différence significative entre-elles au seuil de 5 % au test LSD de Fischer. De même leurs indices d'acidité moyens compris entre 38,14 et 38,71 n'ont présenté aucune différence significative. Les teneurs moyennes en AGL des échantillons du Marché Lobia, du site de Zakoua ont été respectivement de 17,09 % et 16,27 %. Ces valeurs n'ont présenté aucune différence significative entre-elles au seuil de 5 % au test LSD de Fischer. De même leurs indices d'acidité moyens compris entre 34,18 et 32,54 n'ont présenté aucune différence significative.

Tableau III: Teneur des paramètres physico-chimiques des huiles de palme

Sites	Paramètres			
	pH	% Humidité	% AGL	Ia
Sites de vente				
<i>Marché Lobia</i>	3,4 ± 0,09 ^a	0,71 ± 0,19 ^{ab}	17,09 ± 0,03 ^c	34,18 ± 0,06 ^c
<i>Marché Orly</i>	2,95 ± 0,02 ^b	0,56 ± 0,08 ^b	25,62 ± 0,35 ^a	51,24 ± 0,7 ^a
<i>Grand marché</i>	3,29 ± 0,03 ^a	0,97 ± 0,23 ^a	15,52 ± 0,13 ^d	31,04 ± 0,26 ^d
Sites de production				
<i>Zakoua</i>	3,16 ± 0,14 ^{ab}	0,69 ± 0,09 ^{ab}	16,27 ± 0,23 ^{cd}	32,54 ± 0,46 ^{cd}
<i>Gbetitpea</i>	3,38 ± 0,02 ^a	0,59 ± 0,16 ^{ab}	19,35 ± 0,8 ^b	38,71 ± 1,65 ^b
<i>Gboguedia</i>	3,29 ± 0,13 ^a	0,75 ± 0,13 ^{ab}	19,07 ± 0,37 ^b	38,14 ± 0,8 ^b

Les valeurs portant les mêmes lettres (a, b, c, ab, cd) sur la même colonne sont statistiquement identiques au seuil de 5 % ; AGL : acide gras libre ; Ia : indice d'acide

**Figure 11:** Rapprochement des sites en fonction des paramètres physico-chimiques

4.2. Niveaux de contamination des huiles brutes de palme par les champignons

Le degré de contamination fongique des différents échantillons d'huile est présenté par la Figure 12. Les charges de champignons (levures et moisissures) des huiles analysées ont été supérieures à 100 UFC/mL pour quatre sites (Gboguedia, Zakoua, marché d'Orly et Grand marché) et inférieures à 100 UFC/mL pour deux sites (Lobia et Gbetitapea). La charge moyenne la plus élevée (324,66 UFC/mL) a été obtenue avec les échantillons provenant de Gboguedia, suivies des charges fongiques de Zakoua (223,33 UFC/mL) et du marché d'Orly (213,33 UFC/mL). Les charges de champignons les plus faibles ont été obtenues avec les échantillons du Grand marché (113,33 UFC/mL), du marché de Lobia (65 UFC/mL) et du site de production de Gbetitapea (56,66 UFC/mL)

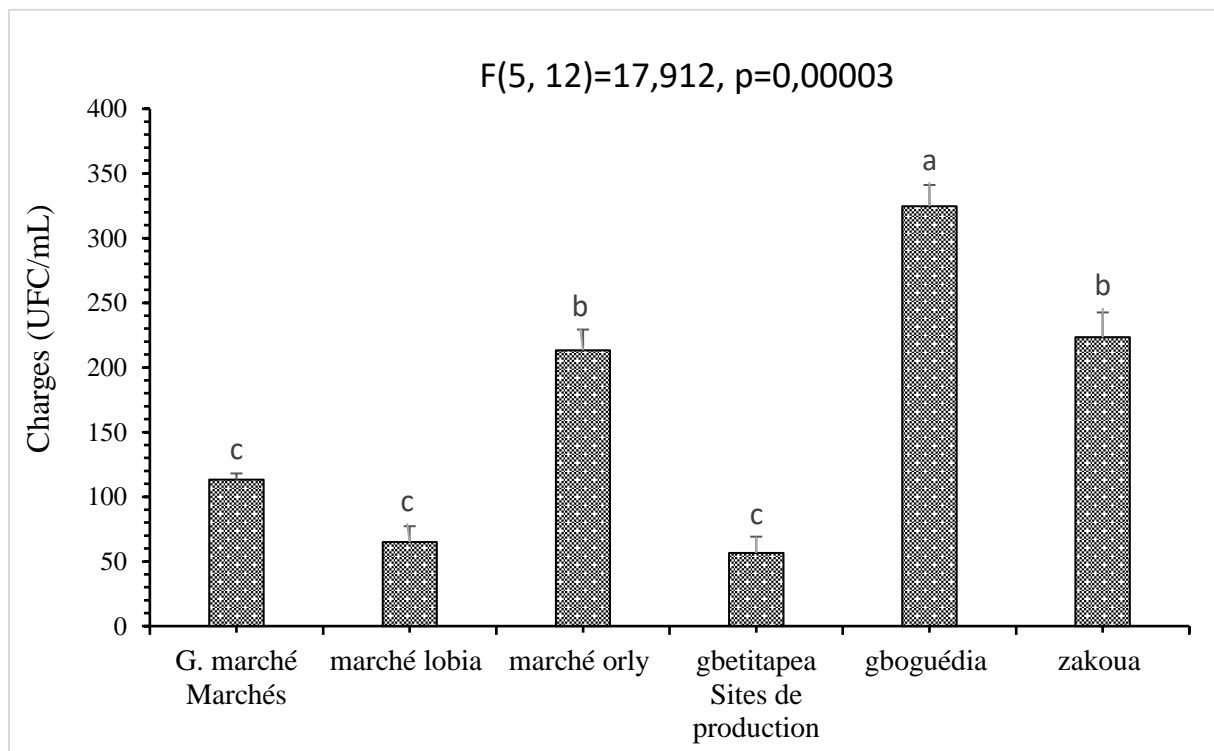


Figure 12: Charges des champignons dans les huiles brutes de palme à Daloa

4.3. Diversité des champignons contaminant les huiles brutes de palme à Daloa




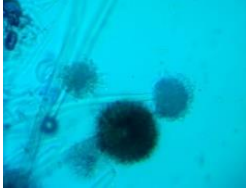




L'analyse microbiologique des échantillons d'huile de palme prélevés dans 6 localités de la ville de Daloa, a permis d'évaluer la mycoflore de ces huiles (Tableau IV). Les champignons isolés sur le milieu Sabouraud au chloramphénicol, appartiennent potentiellement à six (6) genres que sont *Penicillium*, *Aspergillus*, *Verticillium*, *Geotrichum*, *Mucor* et *Cladosporum*. Les tableaux IV et V indiquent respectivement les caractéristiques


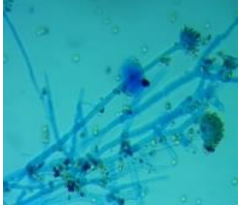



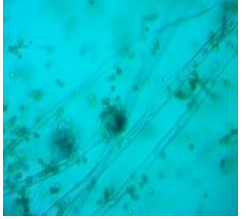




morphologiques des isolats fongiques et la richesse spécifique dans les différentes huiles analysées. Il a été observé 11 genres différents dans l'ensemble des échantillons parmi lesquels, quatre espèces du genre *Aspergillus* et deux espèces du genre *Penicillium*, deux espèces du genre *Mucor* et une espèce pour chacun des autres genres.

A l'exception du site de production de Gboguédia, où il a été noté une prédominance de la levure du genre *Geotrichum*, le genre *Aspergillus* est le champignon le plus répandu dans les cinq autres échantillons d'huile.

La classification ascendante hiérarchique des différents échantillons d'huile en fonction de la similarité en espèces fongiques est présentée à travers le dendrogramme ci-dessous (Figure 13). Il ressort que sur la base de leur richesse en champignons, les échantillons d'huile analysés peuvent être scindés en trois classes distinctes. La classe 1 regroupe les huiles de palme prélevées sur les sites Zakoua, Grand marché et Marché d'Orly. La classe 2 renferme les huiles de palme issues de Gboguedia et Gbetitapea. La classe 3 concerne l'huile en provenance du site Marché de Lobia.

Tableau IV: Descriptions macroscopique et microscopique des champignons

Morphotypes et Genres	Description macroscopique et microscopique	Aspect macroscopique	Aspect microscopique
Morphotype A : <i>Penicillium</i> 1	<p>Macro : colonie circulaire duveteuse, glabre (lisse), plane avec des stries radiales de couleur grise opaque.</p> <p>Micro : hyphes cloisonnés, conidiophore ramifié.</p>		
Morphotype B : <i>Aspergillus</i> 1	<p>Macro : colonie à texture duveteuse, plane avec des stries, de couleur blanche, très envahissante.</p> <p>Micro : hyphe cloisonné, conidiophore hyalin, têtes aspergillaires bisériées radiées.</p>		
Morphotype C : <i>Verticillium</i>	<p>Macro : aspect duveteux, circulaire, plate avec de couleur jaune, ondulée, moins envahissante.</p> <p>Micro : conidiophore vide et ramifié, hyphes non cloisonnés avec conidies libres, petites spores et ovale.</p>		
Morphotype D : <i>Aspergillus</i> 2	<p>Macro : colonie d'aspect duveteux de teinte beige à brun cannelle, circulaire avec pli au centre, surélevée, moins-envahissante.</p> <p>Micro : conidiophore hyalin non cloisonné avec évasement progressif au sommet, tête aspergillaire bisériée, en colonne.</p>		

<p>Morphotype E : <i>Aspergillus 3</i></p>	<p>Macro : colonie laineuse à poudreuse de couleur blanche au centre et extrémité jaune, croissance rapide</p> <p>Micro : hyphe cloisonné, conidiophore hyalin et ramifié têtes aspergillaires bisériées radiées.</p>		
<p>Morphotype F : <i>Cladosporium</i></p>	<p>Macro : aspect laineux de couleur blanche, extensive.</p> <p>Micro : hyphes non cloisonnés, grosses spores et ovales, présence de stolon.</p>		
<p>Morphotype G : <i>Aspergillus 4</i></p>	<p>Macro : mycélium duveteux à couleur poudreuse, blanc au départ puis marron,</p> <p>Micro : hyphe cloisonné; conidiophore hyalin non cloisonné, présence de tête aspergillaire bisériée en colonne.</p>		
<p>Morphotyp H : <i>Mucor 1</i></p>	<p>Macro : colonie laineuse à croissance très rapide et extensive, de couleur gris-blanc puis brun</p> <p>Micro : hyphes non cloisonnés, transparent, hyalin, tête aspergillaire.</p>		
<p>Morphotype I : <i>Penicillium 2</i></p>	<p>Macro : mycélium d'aspect velouteux de couleur gris-marron, opaque colonie surélevée avec des stries.</p> <p>Micro : hyphes non cloisonnés, conidiophore mince et non transparent, ramifié à l'extrémité, petites spores et rondes.</p>		





<p>Morphotype J :</p> <p><i>Mucor 2</i></p>	<p>Macro : mycélium d'aspect velouteux de couleur beige, colonie surélevée, opaque.</p> <p>Micro : hyphes cloisonné, tête aspergillaire verte, conidies groupées, conidiophore transparent.</p>		
<p>Morphotype K:</p> <p><i>Geotrichum</i></p>	<p>Macro : mycélium lisse, blanche, plate et croissance rapide, bouclé, crémeuse.</p> <p>Micro : hyphes absents, spores mince et ovale, absence de stolon et rhizoïde.</p>		

Tableau V: Richesse spécifique des champignons dans des huiles

Morphotypes	Marché Orly	Grand marché	Marché Lobia	Zakoua	Gbetitapea	Gboguédia
<i>Penicillium</i> sp.1	+	-	-	-	-	+
<i>Aspergillus</i> sp. 1	-	-	+	-	+	-
<i>Verticillium</i> sp.	-	-	-	+	-	-
<i>Aspergillus</i> sp. 2	+	++	+	++	-	-
<i>Mucor</i> sp. 2	-	-	-	-	+	-
<i>Geotrichum</i> sp.	++	+	-	++	+	+++
<i>Aspergillus</i> sp.3	+	++	+	+	+	-
<i>Mucor</i> sp.1	+	-	-	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp. 2	++	+	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i> sp. 4	-	-	+	-	-	-
<i>Cladosporum</i> sp.	-	-	+	-	-	-
Richesse spécifique	6	4	5	4	4	2

- absence de champignon ; + présence de champignons

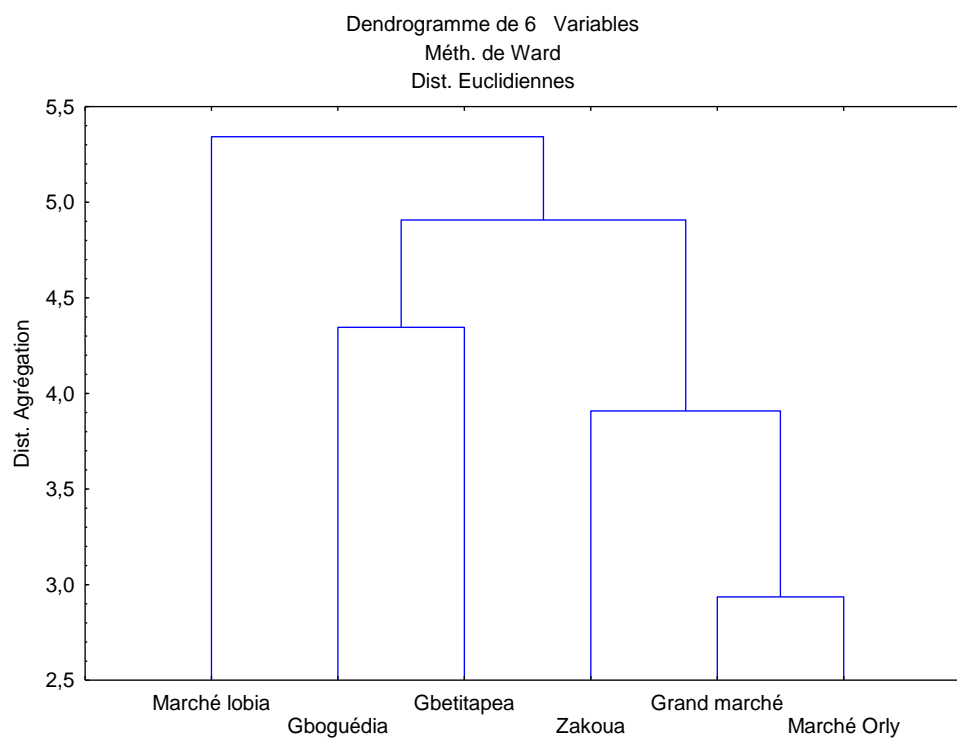


Figure 13: Rapprochement des sites en fonction de la richesse spécifique de champignon dans les huiles

4.4. Analyse des composantes principales (ACP)

Afin de comprendre l'impact de la contamination fongique sur la qualité physico-chimique de l'huile brute, un ACP a été réalisé. Les paramètres physico-chimiques et les charges de champignons des différents échantillons d'huiles collectés ont été projetés dans un même plan factoriel (1 X 2) (Figure 14). Toutes les variables sont bien représentées sur le cercle de corrélation. Ainsi sur l'axe 1 dont la contribution est de 81,24 %, les variables telles que la charge de champignons, le pourcentage d'acides gras libres et l'indice d'acidité ont des coordonnées négatives, tandis que les variables telles que le pH et taux d'humidité ont des coordonnées positives sur cet axe. Les fortes charges de champignon dans l'huile brute sont à l'origine de pourcentages d'acides gras libres, d'indices d'acidités élevés et des pH bas de l'huile mais aussi des faibles taux d'humidité.

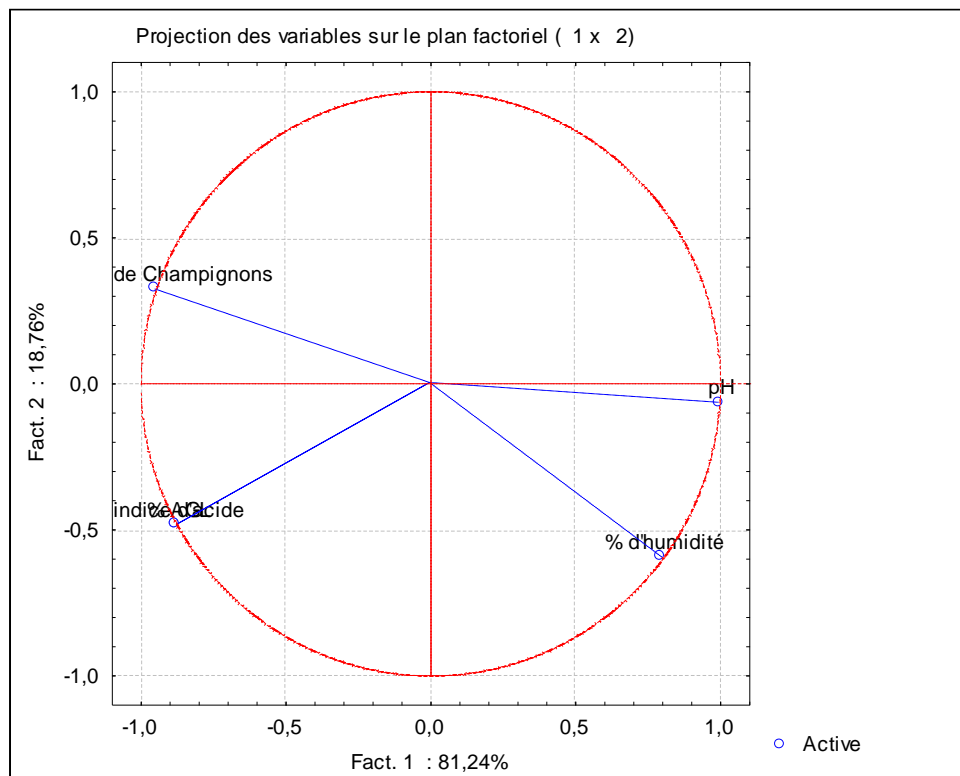


Figure 14: Cercle de corrélation (ACP)

5. DISCUSSION

Cette étude a été effectuée dans le but de vérifier la contamination des huiles brutes de palme artisanales produites et vendues à Daloa par les champignons inférieurs. Les travaux ont pu montrer que ces huiles sont toutes contaminées. Ces champignons trouvent dans cet environnement (huiles brutes de palme artisanale) des conditions favorables à leur développement. Du point de vue microbiologique, au regard de la richesse spécifique et l'abondance des champignons, les exigences normatives ne sont pas respectées et leur consommation peuvent concourir à des risques sanitaires pour le consommateur. En effet, l'activité métabolique des champignons pourrait engendrer la libération de métabolites secondaires responsables de la mauvaise qualité de l'huile (Alifax, 1975).

Les huiles prélevées sur les sites de production artisanale et sur les sites de ventes ont des teneurs en humidité 5 à 8 fois supérieures à la norme établie par le Codex Alimentarius (0,1 %). Ahouassou *et al.* (2018) ont rapporté que la teneur en humidité des huiles produites par les femmes au Bénin était 3 à 11 fois supérieure à la norme internationale et que ces huiles ne répondent pas à la qualité. De même au Nigeria la teneur en eau de l'huile brute de palme artisanale est de 0,53 % à 0,73 % (Onifade & Bolarinwa, 2016). Ces taux élevés d'humidité dans l'huile brute artisanale seraient liés à l'absence d'intégration d'opération de séchage, aux matériels utilisés, le temps et la température. Sur les sites de production, le matériel couramment utilisé pour la déshydratation est constitué de marmites faites en aluminium. Ces déshydrateurs utilisés dans les conditions de chauffage avec du feu de bois ne sont pas efficaces pour réduire au maximum possible la teneur en eau. En réalité, les productrices d'huile brute de palme artisanale ne trouvent pas importante la phase de clarification, mais la considère plutôt contraignante et consommatrice de bois (Ahouassou *et al.*, 2018). Pour réduire l'humidité et éliminer les microorganismes responsables de la dégradation de la qualité, l'huile doit être chauffée à 128°C (Onifade & Bolarinwa, 2016 ; Kuppitayanat *et al.*, 2014).

Ces taux élevés d'humidité favorisent une activité des microorganismes notamment celle des levures et moisissures. En effet, 10^2 à plus de 3.10^2 UFC/mL de champignons ont été dénombrés des huiles de palmes brutes artisanales produites et vendues à Daloa. Ces charges dépassent la norme (NF.V.08.059, 2002) en vigueur qui prévoit un maximum de 2.10^2 UFC/g levures et moisissures dans l'huile brute. Les champignons obtenus sont de divers genres et d'une répartition différente dans les huiles. Cinq genres de champignons filamenteux (*Aspergillus*, *Mucor*, *Verticillium*, *Cladosporium*, *Penicillium*) contre un seul genre de champignon levuriforme (*Geotrichum*) ont été isolés. A l'exception du site de production de

Gboguédia, où il a été noté une prédominance de la levure du genre *Geotrichum*. Le genre *Aspergillus* est le champignon le plus répandu dans les cinq autres sites. La richesse spécifique de champignon dans l'huile brute de palme témoigne d'un manque d'hygiène soit pendant l'entreposage de la matière première (graines et régimes), soit pendant le conditionnement, le stockage ou le transport de l'huile produite. Les moisissures (*Aspergillus Mucor*, *Cladosporium*, et *Penicillium*) isolées sont pour la plupart des productrices de mycotoxines très dangereuses pour la santé des consommateurs. Selon Moreau (1980), lorsque les moisissures sont cultivées sur des acides gras comme seule source de carbone en culture pure, elles produisent des méthylcétones qui affectent la qualité de l'huile. Parfois, ces microorganismes possèdent dans leur équipement enzymatique une lipoxygénase (enzyme) pour catalyser la fixation de l'oxygène de l'air sur les liaisons éthyléniques des acides gras insaturés (Alifax, 1975) ce qui contribue davantage à la dégradation de l'huile.

La présence massive des champignons dans l'huile brute de palme va contribuer à accentuer l'acidité de l'huile par la libération des acides gras libres par hydrolyse des fonctions ester des triglycérides (Alifax, 1975). En effet, les résultats obtenus donnent des pourcentages d'acides gras libres 3 à 5 fois supérieurs à la norme fixée à 5 %. Les pourcentages d'acides gras libres de cette étude sont supérieurs à ceux obtenus par Fournier *et al.* (2001) qui ont trouvé des valeurs de 5,3 à 8,3 % d'acides gras libres dans des huiles de palme naturel. Ce niveau d'acidification des huiles brutes de palme à Daloa serait la résultante de deux origines : les acides gras libres naturellement contenus dans l'huile et les acides gras libres liés au métabolisme des champignons retrouvés dans les huiles (Hubert *et al.*, 2018). Ces microorganismes commencent à attaquer les fruits matures de palmier à huile détachés ou blessés et causent une augmentation de la teneur en AGL par libération du métabolite (Hubert *et al.*, 2018). L'augmentation rapide de l'acidité est fonction du genre de champignon et de certains autres paramètres physiques qui y sont liés. C'est le cas de l'huile du marché d'Orly qui présente une acidité plus élevée que les autres huiles. Les acides gras libres sont naturellement présents dans la graine où ils participent aux réactions biochimiques de la lipo-synthèse. Ils proviennent également de réactions d'hydrolyse enzymatique qui se produisent dans les huiles brutes soit au cours de leur obtention, soit au cours de leur stockage. Cette fois-ci, une lipase endogène logée dans le mésocarpe du fruit provoque une dégradation rapide des triglycérides et libère des acides gras lors de l'abscission ou de la blessure du fruit mûr (Henderson & Osborne 1991 ; Ngando *et al.*, 2006). Les procédés artisanaux de transformation des régimes donnent une huile de moindre qualité, plus acide et plus oxydable comparés aux procédés industriels qui permettent

d'obtenir une huile avec moins d'AGL d'impuretés et de faible teneur en eau (Ngando *et al.* 2011).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La présente étude a permis de comprendre la détérioration de l'huile brute de palme artisanale par les levures et moisissures. L'analyse des paramètres physico-chimiques et l'isolement des champignons ont montrés une diversité de contamination fongique. On peut déduire que la répartition de la microflore fongique est directement liée à l'humidité, mais surtout à l'indice d'acide gras libre élevé. Selon les résultats des analyses obtenus par la méthode mycologiques, il semble que la méthode de dilution permet un isolement plus performant des moisissures d'un point de vue qualitatif et quantitatif où les genres les plus dominants sont : *Aspergillus*.

En perspective, il serait intéressant de :

- effectuer un contrôle de la qualité du processus de fabrication afin d'aider à limiter les dangers et les risques d'altération des huiles brutes de palme artisanales ;
- trouver des conditions adéquates de stockage afin de pouvoir ralentir ou freiner la croissance des microorganismes ;
- sensibiliser les productrices d'huile de palme artisanal sur la nécessité d'insister sur l'étape de clarification-séchage afin de diminuer au maximum l'activité de l'eau.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ageitos J. M., Vallejo J A., Veiga-Crespo P. & Villa T. G. (2011). Oily yeasts as oleaginous cell factories. *Applied microbiology and biotechnology*, 90 : 1219-1227
- Ahouassou R. H., Agbobatinkpo P. B., Sossou C.H. & Sanya E. A. (2018). Analyse des performances techniques des clarificateurs et déshydrateurs d'huile de palme au Benin. *Tropicultra*, 36 (4) : 773-785.
- Aké A. A., Monde A., Yapo A. P., Akpole K.J., Adeoti M., Bleyere N. M. & Camara-Cisse M. (2015). Étude des paramètres anthropométriques d'une population rurale consommatrice d'huile de palme en côte d'ivoire. *Cahier de Santé Publique*, 14 (2) : 140-149.
- Alapetite E. (2013). Etude de l'appareil reproducteur des palmiers (*Arecaceae*) : évolution du système sexuel et du nombre d'étamine. Thèse de doctorat, science du végétale, université (Paris, France), 290 p.
- Alifax. R. (1975) Activité lipolytique de quelques micro-organismes. II. - MOISSURES. Laboratoire de Recherches de l'I.N.R.A. paris (France), 50 p.
- Anonyme, (2014). Principaux résultats préliminaires Recensement Général de la Population et de l'Habitat (RGPH), 35 p. <http://www.rgph>, (dernière consultation mai, 2015)
- Basset T. & Caroline L. (2011). Les contaminants fongiques. *La lettre de l'ocim*, 138 : 48-54.
- Boudra H. (2009). Les mycotoxines dans les fourrages : un facteur limitant insidieusement la qualité des fourrages et les performances des ruminants, *fourrages*, 199 : 265-280.
- Chapeland-Leclerc F, Papon N., Noël T. & Villard J. (2005). Moisissures et risque alimentaire (mycotoxine). *Revue francophone des laboratoires*, 373 : 61-66.
- Codex Alimentarius, (2015). Norme pour les huiles végétales portant un nom spécifique. FAO/OMS, 14 p.
- De Berchoux C, Jacquemard J. C, Kovane M. B. & Lecoustre R. (1986). Croissance et développement du palmier à huile. Chapitre III. Morphologie de la croissance et du développement des différents organes du palmier à huile en plantation. Adzopé (Côte d'Ivoire) CIRAD-IRHO, 151 p.
- De Theux, (2004). Utilisation de l'huile de palme comme combustible dans les moteurs diesel Institut. Thèse de doctorat, Electromécanique, Haute Ecole LEONARD de VINCI (Belgique), 119 p.

- Dubos B., Xavier B. & Flori A. (2020). *Pioler la fertilisation du palmier a huile*. Edition Quæ (Versailles, France), 89 p.
- Durand-Gasselín, Tristan, Lisa B., Christian P., Hubert D. F., Frederic B., Philippe A., Benoit C., Claude L. & Bruno N. (2010). Sélection du palmier à huile pour une huile de palme durable et responsabilité sociale. *Agronomie-Environnement*, 17 (6) : 385-392.
- Edem D. (2002). Palm oil: biochemical, physiological, nutritional, hematological and toxicological aspect: a review. *Plants Foods Human Nutrition*, 57 : 319-341.
- Fournier S., Peter A., Jannot C., Okounlola-Biaou A. & Pédé E. (2001). La transformation artisanale de l'huile de palme au Bénin et au Nigeria, édition Cerna (Berlin, Allemagne) 134 p.
- Hencké S. (2000). Utilisation alimentaire des levures. Thèse doctorat, science pharmacie. Université Henri Poincaré (Nancy, France). 188 p.
- Henderson J. & Osborne D. (1991). Lipase activity in ripening and mature fruit of the oil palm : Stability in vivo and in vitro. *Phytochemistry*, 30 : 1073-1078.
- Hubert D., David C., Léifi N., Norbert B. & Corneille A. (2018). Enjeux et amélioration de la réduction de l'acidité dans les fruits mûrs du palmier à huile, *Elaeis guineensis* Jacq. (Synthèse bibliographique). *Biotechnology. Agronomy and Society and Environnemental*, 22 (1) :54-66.
- ISO 665, (2020). Graines oléagineuses - Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles. 3^{ième} Edition, 5 p. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/caf9695f-bca8-4bb8-afee-ba613cdbf714/iso-665-2-2->
- Jacquemard & Baudouin, (1987). Contributon à l'étude de croissance du palmier à huile. *Oléagineux*, 42 (10) : 343-351.
- Jacquemard J. C. (2012). Le palmier à huile. Éditions Quæ, CTA, agriculture tropicale en poche (Gembloux, Belgique), 10 : 275 p.
- Karleskind A. (1992). Manuel des corps gras. Edition Technique et Documentation, volume 2, Paris (France), 1500 p.
- Komba M. C. P., (2019). Dégradation du couvert forestier lié a la culture du palmier a hile par télédétection en milieu tropical humide : application au bassin du Congo. Thèse, sciences

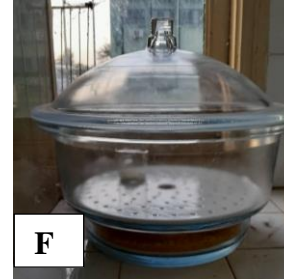
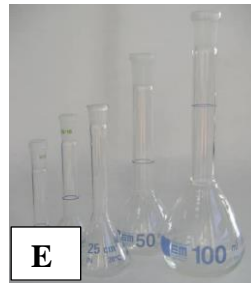
- et technologies en télédétection et géomatique appliqué aux thématique environnementales, Université d'Aix-Marseille (France), 361 p.
- Konan J. K., Sékou D., Beranger, Armand G., & Eugène K. K. (2018). Prospection et caractérisation physico-chimique de quelques spécimens traditionnels de palmier à huile de Man, ouest de la Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 38 (3) : 6283-6291.
- Kouamé K. J. J., (2017). Étude de la valorisation énergétique des déchets d'une huilerie de palme : cas de l'usine de Gaoussoukro en côte d'ivoire. Mémoire, ingénierie de l'eau et assainissement, 2IE (Burkina Fasso), 47 p
- Kouamé N'dri M. T., Soro K., Mangara A., Diarrassouba N., Koulibaly A. V. & Boraud N'takpé K M. (2015). Étude physico-chimique de sept (7) plantes spontanées alimentaires du centre-ouest de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 90: 8450–8463.
- Kuppitayanat N., Hosap P., & Chinnawong N. (2014). The effect of heating on vitamine E decomposition in edible palm oil. *Intional Journal of Environmental and Rural Development.*, 5 (2):121-125.
- Labani F. Z. K. (2015). Activité Killer chez des levures isolées des sols du Nord-Est Algérien : purification, caractérisation et effet sur les souches de levures indésirable. Thèse de doctorat en sciences. Université des Frères Mentouri Constantine (Algérie), 123 p.
- Lecerf J. M. (2013). L'huile de palme : aspects nutritionnels et métaboliques. Rôle sur le risque cardiovasculaire. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 20 (3) : 147-159.
- Libert J. (2011). Vulgarisation des équipements adaptés et motorisés pour huilerie et savonnerie artisanale, édition Codeart (Lomé, Togo)26 p.
- Maxime C. (2020). La filière palmier à huile en côte d'ivoire : un condensé des enjeux du développement durable, *note farm*, Côte d'Ivoire, 23 p.
- Mensah G. A. (1999). Le palmier à huile, un arbre à buts multiples et une Source de technologies traditionnelles variées. *Bulletin de la Recherche Agronomique*, 24 : 1-9.
- Mondé A. A., Michel F., Carbonneau M. A., Tiahou G, Vernet M. H., Eymard D. S., Badiou S., Adon B., Konan E., Sess D. & Cristol J. P. (2009). Comparative study of fatty acid composition, vitamin E and carotenoid contents of palm oils from four varieties of oil palm from Côte d'Ivoire. *Society of Chemical Industry*, 89 : 2535-2540.

- Moreau C. (1980). Le penicillium requeforti, morphologie, physiologie, interet en industrie fromagère, mycotoxine. (Révision bibliographique). Le lait, *Mémoires Originaux*, 60, Paris (France) : 254-271.
- Morin O. & Pages-Xatant. (2012). Huiles et corps gras végétaux : ressources fonctionnelles et intérêt nutritionnel. *Dossier Fonctionnalité des Huiles*, 19 (2) : 63-75.
- AFNOR, (2017). Microbiologie des aliments Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique. NF EN ISO 6887-1. Paris, 20 p.
- AFNOR, (2007). Microbiologie des aliments -Exigences générales et recommandations. NF EN ISO 7218, Paris, 70 p.
- AFNOR, (2002). Microbiologie des aliments : dénombrement des levure et moisissures par comptage des colonies à 25°C. NF.V.08.059, Paris, 8 p.
- Ngando E. G. F., Arondel V., Dhoub R., Carrière F. & Zollo P. H. A., (2006). Assaying lipase activity from oil palm fruit (*Elaeis guineensis* Jacq.) mesocarp. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44 (10) : 611-617.
- Ngando E. G. F., Mpondo M. E. A., Dikotto E. E. L. & Paul K. (2011). Assessment of the quality of crude palm oil from smallholders in Cameroon. *Journal of Stored Products and Postharvest Research*, 2 (3) : 52-58.
- Ofosu B. K. & Sarpong D. (2013). Croissance de la filière de l'huile de palme au Ghana : implications pour les petits agriculteurs et viabilité à long terme *Reconstruire le Potentiel Alimentaire de l'Afrique de l'Ouest*, 375-387.
- O'Keefe S F. (2008). An Overview of Oils and Fats with a Special Emphasis on Olive Oil. the Cambridge World History of Food, Cambridge University Press, Angleterre (royaume-uni): 375-388.
- Onifade D. A. & Bolarinwa O. O. (2016). Microbiological and physiochemical analyse of palm oil sold in Ibadan, Nigeria. *Science and Engineering Perspectives*, 1 : 33-41.
- OPEC, (2013). World Oil Outlook, Vienna, James Griffin, Alvino-Mario Fantini, Keith Aylward-Marchant, 17, 323 p
- Osim E. E., Owu D. O. & Eta K. M., (1996). Arterial pressure and lipid profile in rats following chronic ingestion of palm oil diets. *African Journal of Medical Sciences*, 25 : 335-340.

- Rakotomalala M. (2008). Contribution à l'étude de valorisation de noyau de palme ; valorisation des amandes palmistes et utilisation des coques comme matériaux de construction. Mémoire, Chimie Appliquée à l'Industrie et à l'Environnement, Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo (Madagascar), 99 p.
- Remram Z. (2016). Isolement et caractérisation des levures oléagineuses, à partir de différents sols en Algérie. Mémoire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine (Algérie), 77 p.
- Rezki-Bekki M. M. (2014). Production de métabolites par les levures : caractérisation et identification des arômes et des alcools. Thèse, département de science de la nature et de la vie en biotechnologie, Université d'Oran (Algérie), 158 p.
- Ribier D., André R., Olivier L., Yvonnick H., Victoire P. & Véronique S. (1995). La transformation artisanale des plantes à huile. Editions GRET, La Fayette Paris (France), 75 (1), 11 p.
- Rival A. (2020). Huile de palme - Défis renouvelés de la durabilité. *Procédés chimie - bio - agro / Agroalimentaire*, 75 :1-17.
- Sambanthamurthi R., Sundram K., Tan Y. (2000). Chemistry and biochemistry of palm 230 oil. *National center for Biotechnology Information*, 39 (6) : 507-5018.
- Shimizu H. & Desrochers P. (2012). L'huile de palme : avantages sanitaires, environnementaux et économiques. Note économique de l'IEM, Canada, 4 p.
- Siew W. L. (2011). Palm Oil, Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses. Blackwell publishing, Franck D. Guntone, 337 p.
- Sundram K, Sambanthamurthi R, Tan Y. A. (2003). Palm fruit chemistry and nutrition. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition.*, 12 (3) : 355-362.
- Triantaphyllidou, I. E., Arous, F., Mechichi, T., Azabou, S., Nasri, M. & Aggelis, G. (2015). Lipid accumulation in the new oleaginous yeast *Debaryomyces et chellsii* correlates with ascosporeogenesis. *Biomass and Bioenergy*, 80 : 307-315.
- Verscheure M., Lognay G. & Marlier M. (2002). Revue bibliographique : les méthodes chimiques d'identification et de classification des champignons. *Biotechnology. Agronomy and Society and Environmental*, 6 (3) : 131-142.

ANNEXES

Annexes 1: Matériel technique de laboratoire



A : Bain Marie

B : Autoclave

C : Etuve

D : Balance

E : Erlenmeyer

J : Pipettes

G : Tasses

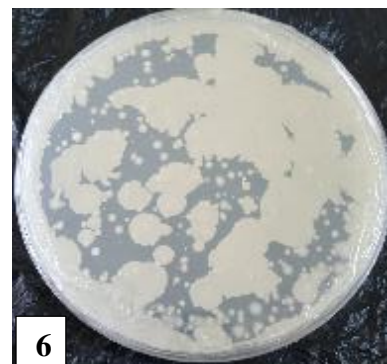
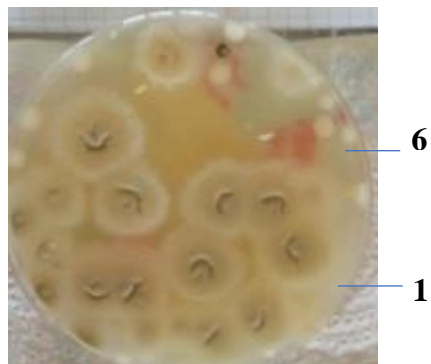
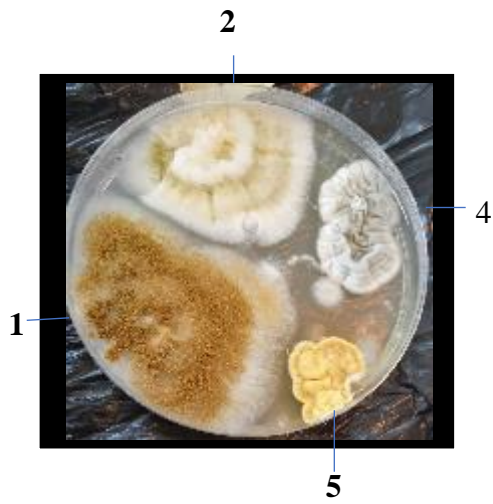
F : Dessiccateur

H : Potence

I : Milieux de culture

K : Micropipette

Annexe 2: Différents genres de contaminants fongiques



1 : *Aspergillus* sp

3 : *Cladosporium* sp.

5 : *Verticillium* sp.

2 : *Mucor* sp.

4 : *Penicillium* sp.

6 : *Geotrichum* sp.

Résumé

Le contrôle des paramètres physico-chimiques et microbiologiques sont des études très importantes qui permettent de garantir et d'assurer l'acceptabilité et la sécurité d'une denrée alimentaire. Une technologie offrant un produit ne respectant pas la norme est de mauvaises qualités et ces produits peuvent entraîner des pertes importantes et la détérioration des qualités organoleptiques ainsi que nutritives. Cette étude vise à évaluer les facteurs de risque de détérioration de la qualité sanitaire et organoleptique, liés à la présence des levures et moisissure dans l'huile brute de palme artisanale produite et vendue à Daloa. Le travail a constitué une collection de six (06) échantillons au total dont trois (03) en provenance des sites de production et trois (03) autres échantillons des sites de vente en raison de un (01) échantillon par site. Les résultats des analyses montrent que dans les huiles, les proportions des paramètres physico-chimiques mesurés tels que le pH, le pourcentage d'humidité, l'Indice d'acide ou Acide Gras Libre et la charge des champignons ne respectent pas les normes internationales. Avec ces données largement supérieur, les huiles sont toutes contaminées et n'offrent pas une bonne qualité. Pour remédier à cela, il faut un contrôle massif dans toute la technologie de fabrication.

Mots clés : *Elaeis guineensis* Jacq., huile brute de palme, champignons, écologie.

Summary

The control of physico-chemical and microbiological parameters are very important studies which make it possible to guarantee and ensure the acceptability and safety of a foodstuff. A technology offering a product that does not meet the standard is of poor quality and these products can lead to significant losses and the deterioration of organoleptic and nutritional qualities. This study aims to assess the risk factors for deterioration of the sanitary and organoleptic quality, linked to the presence of yeasts and molds in the artisanal crude palm oil produced and sold in Daloa. The work constituted a collection of six (06) samples in total including three (03) from production sites and three (03) other samples from sales sites due to one (01) sample per site. The results of the analyzes show that in the oils, the proportions of the physico-chemical parameters measured such as the pH, the percentage of humidity, the Acid Index or Free Fatty Acid and the load of the fungi do not respect the international standards. With this much higher data, the oils are all contaminated and do not offer good quality. To remedy this requires massive control throughout the manufacturing technology.

Keywords: *Elaeis guineensis* Jacq., crude palm oil, fungi, ecology.