

UNIVERSITE DE KISANGANI

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MOLECULAIRE

L'IMPORTANCE DES MOISSURES DANS LE
RAMOLLISSEMENT DES RACINES TUBEREUSES DE
MANIOC (Manihot esculenta CRANTZ) EN
"FERMENTATION SECHE"

Par

YANDJU DEMBO D'A LETSHU

DISSERTATION

Présentée en vue de l'obtention du Diplôme
d'Etudes Supérieures en Sciences

Option : BIOLOGIE

Orientation : BIOLOGIE CELLULAIRE

Directeur : MUNYANGANIZI BIKORO

Professeur Ordinaire

1989

S O M M A I R E

AVANT-PROPOS	
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : Considérations générales sur le manioc et ses transformations	3
1.1. Importance du manioc	4
1.2. La technologie du manioc	4
1.2.1. Produits de consommation immédiate	5
1.2.2. Produits se conservant plus ou moins longtemps ..	5
1.3. Toxicité du manioc et son impact chez les consommateurs	7
1.3.1. La présence des cyanures	7
1.3.2. La présence des mycotoxines dans le manioc fermenté	8
1.3.3. Les techniques de détoxification du manioc	9
1.3.3.1. Elimination de l'acide cyanhydrique	9
1.3.3.2. Les moyens de lutte contre la production des aflatoxines	9
CHAPITRE II : Matériel et méthodes	11
2.1. Matériel	11
2.1.1. Le manioc	11
2.1.2. Les moisissures	11
2.2. Méthodes	13
2.2.1. Traitement du manioc	13
2.2.2. Fermentation sèche du manioc	14
2.2.2.1. Fermentation du manioc désinfecté	14
2.2.2.2. Fermentation du manioc non désinfecté "Fermentation non dirigée"	14
2.2.2.3. Fermentation dirigée	14
2.2.3. Etude des caractéristiques organoleptiques du manioc fermenté	15
CHAPITRE III : Résultats	16
3.1. Détermination du rôle des microorganismes dans le ramollissement du manioc	16
3.2. Détermination des souches responsables du ramollissement	16

3.3. Détermination des souches responsables des caractéristiques organoleptiques du "fufu" de fermentation sèche	20
CHAPITRE IV : Discussion et conclusion	24
4.1. Détermination du rôle des microorganismes dans le ramollissement	24
4.2. Détermination des souches de moisissures responsables du ramollissement	24
4.3. Détermination des souches de moisissures responsables de l'odeur caractéristique du "fufu"	26
BIBLIOGRAPHIE	29

AVANT - PROPOS

Le manioc est une denrée alimentaire très consommée dans la zone intertropicale. Cette importance impose donc son amélioration tant dans les méthodes de sa production que dans sa technologie (sélection, prophylaxie, méthodes culturales, ...).

L'objet de notre travail est de contribuer à l'optimisation de sa production.

Nous tenons à remercier de tout coeur tout ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à sa réalisation. Nous pensons plus particulièrement au Professeur MUNYANGANIZI BIKORO, qui en a assuré patiemment la direction.

INTRODUCTION

Les racines tubéreuses de manioc épluchées, exposées dans le système de clayonnage à l'air libre et couvertes des feuilles de bananiers, sont envahies progressivement de diverses moisissures. La fermentation résultant de cette colonisation microbienne s'accompagne d'un ramollissement des tubercules de manioc tout aussi évolutif et peut aboutir à la désintégration totale de ceux-ci si le processus n'est pas arrêté à temps par séchage.

Les produits du manioc issus de cette fermentation ont des propriétés organoleptiques caractéristiques très appréciés par les consommateurs.

Ce type de fermentation sans eau est désigné sous l'appellation de "fermentation sèche" pour la différencier de la fermentation du manioc sous eau communément appelée "rouissage" et que le Professeur MUNYANGANIZI B. qualifie, dans ses publications sur la technologie du manioc, de "fermentation humide" (MUNYANGANIZI, 1984).

La présente étude consacrée à la détermination du rôle des moisissures qui colonisent les tubercules de manioc au cours de la fermentation, fait partie d'un projet de recherche doctorale destinée à examiner la nature des principaux groupes de microorganismes rencontrés sur le manioc de fermentation sèche, à en déterminer le rôle et les mécanismes d'action, ainsi qu'à indiquer leur impact sur la technologie de fermentation sèche du manioc en vue des améliorations éventuelles à y apporter.

Dans le cadre précis de cette dissertation pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures (D.E.S.), nous avons choisi de présenter les résultats de nos recherches sur l'aspect le plus remarquable du processus de fermentation sèche du manioc. Il s'agit du ramollissement des tubercules de manioc observable dès le 3^e jour de la fermentation. Ce ramollissement intervient au moment où les tubercules se couvrent de duvet de moisissures de diverses colorations.

Dans l'hypothèse que les transformations que subit le manioc en fermentation sèche résultent de l'activité microbienne et notamment de l'action des moisissures, nous procédons à l'identification des principaux groupes de bactéries, de levures et de moisissures. Les résultats de ces identifications feront partie de notre dissertation doctorale. Il en est de même de l'élimination de l'acide cyanhydrique du manioc et de la présence d'aflatoxines sur les produits du manioc de fermentation sèche.

Le présent travail portera donc uniquement sur la détermination du rôle des moisissures sur le ramollissement du manioc et leur contribution à la production de la saveur caractéristique des cossettes et de la farine de "fufu".

Pour y parvenir, nous avons soumis 82 souches de moisissures en culture pure au test de fermentation sèche. Parmi ces souches, 35 proviennent du manioc fermenté au Nord et Sud-Kivu. Elles ont été isolées et identifiées par nous même. Les souches de Kisangani isolées et identifiées par nous même ou par l'étudiant BAZOMBA (1988) sous notre direction dans le cadre de travail de fin d'études à la Faculté des Sciences de l'Université de Kisangani ont été également soumises, en culture pure, au test de fermentation sèche du manioc.

Ce travail se subdivise en quatre chapitres : le premier traite des généralités ; le second porte sur les matériel et méthodes utilisés ; le troisième expose les résultats ; le quatrième est réservé à l'interprétation des résultats et aux conclusions.

CHAPITRE I : CONSIDERATIONS GENERALES SUR LE MANIOC ET SES TRANSFORMATIONS.

Le manioc est originaire de l'Amérique Latine, d'où il fut introduit en Afrique par les navigateurs portugais vers l'an 1600. Il s'est répandu principalement dans l'Ouest et le Centre de l'Afrique (CERGHETTI, 1975 ; GRACE, 1978).

C'est une Euphorbiacée appartenant à l'espèce Manihot esculenta CRANTZ qui renferme plus de 300 variétés, une plante semi-arbuste pouvant atteindre 1 à 5 m de hauteur. Les dimensions et la forme des tubercules varient beaucoup selon la variété et les conditions tant édaphiques que culturales (MUCHNIK, 1984).

Une racine tubéreuse de manioc se compose de trois parties bien distinctes :

- l'écorce externe ou suber formé du sclérenchyme ou épiderme représente 0,5 à 2 % du poids total de la racine tubéreuse et se desquame plus ou moins selon les variétés.
- l'écorce interne appelée phelloderme comprend le parenchyme cortical et le phloème. Elle représente 8 à 15 % du poids total et se sépare aisément du cylindre cortical au niveau du cambium par arrachage. Il contient l'amidon mais en faible concentration.
- le cylindre central, composé essentiellement d'amidon et du xylème primaire, représente la quasi-totalité de la masse du tubercule, soit 75 à 88 % (LOKU, 1969 ; LANCASTER et Coll., 1982 ; SYLVESTRE et ARRADEAU, 1983).

Le manioc est composé d'Amidon (32 à 39 %), de protéides (0,7 à 1,9 %), de vitamine C (0,04 %), de lipides (0,1 %), de calcium (0,025 %) et de sels minéraux (1 %) (DE GROOTE, 1972 ; LANCASTER et Coll., 1982).

Les protéines du manioc sont assez riches du point de vue représentativité en acides aminés essentiels, notamment l'isoleucine, la leucine, la lysine, la phénylalanine, la tyrosine, la thréonine, la valine, l'arginine et l'histidine (LANCASTER et Coll., 1982 ; SYLVESTRE et ARRADEAU, 1983 ; KWATIA, 1986).

1.1. IMPORTANCE DU MANIOC.

Le manioc est d'une grande importance économique et un aliment de haute valeur énergétique (COCK, 1982). Les racines tubéreuses du manioc contribuent pour 15 % de calories nécessaires par personne et par jour en Amérique Latine (COURSEY, 1973 et HAYNES, 1973). Ces mêmes auteurs affirment que 80 % des 860 calories par jour et par individu dans les régions tropicales proviennent du manioc. Parmi les racines et tubercules cultivés en Afrique, le manioc est le plus répandu ; sa production s'étend sur 60 % des pays africains (LANCASTER et Coll., 1982 ; KAPUKU, 1983).

Au Zaïre, le manioc occupe la première place du point de vue production et commercialisation (NAKU, 1982). La majorité de la population zaïroise considère le manioc comme aliment de base pouvant couvrir les besoins énergétiques journaliers. D'après les statistiques de la F.A.O., le Zaïre a été le premier producteur africain de manioc avec 119.000 tonnes en 1979 et 141.000 tonnes en 1985 (LANCASTER et Coll., 1982 ; KAPUKU, 1983 ; F.A.O., 1985).

L'importance du manioc est due à sa grande productivité et à sa capacité d'adaptation à des conditions climatiques et des sols très variés (CERGHETTI, 1975 ; ABDOULAYE, 1977 ; KAPUKU, 1983). Cependant, il contient des hétérosides cyanogénétiques capables de libérer, par hydrolyse l'acide cyanhydrique et des thiocyanates, produits toxiques qui peuvent rendre la consommation du manioc dangereuse (EMMANUEL et coll., 1980 ; LANCASTER et coll., 1982 ; SACKE et COCKE, 1985).

1.2. LA TECHNOLOGIE DU MANIOC.

Le manioc est utilisé dans l'alimentation humaine et du bétail. Dans l'alimentation humaine, le manioc est transformé en différents mets spécifiques pour chaque région, constituant ainsi une technologie traditionnelle caractéristique.

Dans l'industrie, la production du glucose à partir de l'amidon du manioc prend de plus en plus de l'expansion. Les

recherches au laboratoire sur la production des protéines à partir du manioc en utilisant les moisissures du type Aspergillus et Rhizopus sont très prometteuses (KAPUKU, 1983).

Dans la boulangerie, la farine de manioc peut remplacer partiellement la farine de froment dans la fabrication de pain, biscuits et gâteaux et dans la confiserie (GRACE, 1978 ; KWATIA, 1986).

En ce qui concerne la technologie traditionnelle, les essais de mécanisation ont déjà été réalisés dans certains pays tels que le Nigeria et l'Indonésie, et en Amérique Latine. Cette technologie est basée essentiellement sur les méthodes de conservation et d'amélioration des propriétés organoleptiques des produits du manioc. On distingue, d'une part, les techniques de cuisson des produits de consommation immédiate et d'autre part, les techniques de transformation des produits de conservation.

1.2.1. Produits de consommation immédiate.

Les produits de consommation immédiate sont obtenus par cuisson simple à l'eau, à la vapeur et à la friture ou par grillage au four. Pour cette technique, le manioc doit être coupé en petites tranches de façon à favoriser l'hydrolyse enzymatique des glucosides cyanogénétiques et le rendre ainsi non toxique. Le chauffage doit être progressif afin d'éviter la rétention de l'acide cyanhydrique combiné (GRACE, 1978).

Dans certains pays tels que l'Indonésie et le Zaïre (Kasaï-Oriental et Kasaï-Occidental), les racines cuites subissent une fermentation de 24 à 72 heures avant d'être consommées.

1.2.2. Produits se conservant plus ou moins longtemps.

Beaucoup de produits préparés à partir du manioc peuvent être conservés pendant longtemps et constituer des réserves nutritives sûres. Nous pouvons citer :

- le "GLAPEK", en Indonésie et à Madagascar, est un produit de séchage de tranches de manioc. Le produit du broyage est sou-

- vent utilisé dans l'industrie textile et de fabrication d'alcool.
- la "FARINHA" en Amérique Latine, constitue l'aliment de base dans cette contrée. C'est une farine de manioc fermentée et séchée par chauffage dans une poêle (GRACE, 1978; MUCHNIK, 1984).
 - le "GARI" au Nigéria, est un produit de fermentation des racines tubéreuses du manioc rapées. Cette fermentation est l'oeuvre de deux microorganismes : Corynebactérium manihot et Gaettricum candida (GRACE, 1978, EJIOFOR et OKAFOR, 1980). Ce gari est consommé dans toute l'Afrique tropicale et les essais de mécanisation de la production sont en cours de réalisation en vue d'améliorer la qualité sanitaire de ce produit (addition de protéines, etc...).
 - La "CASSARIPO" ou "TUCUPAY", en Amérique Latine, est une sauce préparée à partir du jus de manioc (GRACE, 1978).
 - La "CHIKWANGUE" et le "FUFU", consommé dans un grand nombre de pays africains (Zaire, Angola, R.C.A., Congo, etc...), sont des produits de fermentation du manioc par rouissage (fermentation humide) et par "fermentation sèche" (MUNYANGANIZI, 1984).
 - Le "LOTOKO" est un alcool produit à partir de la farine de manioc saccharifiée par le malt de maïs (MUNYANGANIZI et NSIMBA, 1983).

Ces différents produits sont jusque là fabriqués sur base de la technologie traditionnelle. Toutefois, en ce qui concerne la fermentation humide ou rouissage, plusieurs travaux de mémoire ont déjà été réalisés à l'Institut Facultaire des Sciences Agronomiques de Yangambi, sous la direction du Professeur MUNYANGANIZI, afin de pouvoir déterminer les facteurs physico-chimiques qui influencent le ramollissement du manioc dans l'eau. Il s'agit des travaux de KABEMBA, 1977; BAZI, 1983; SAILE, 1985; KAYOMO, 1986; MUSATO, 1987; SAILE et coll., 1988). Tout récemment le Professeur MUNYANGANIZI a mis au point un procédé d'extraction de la farine humide de manioc roui (Brevet N°85/2884) susceptible d'être utilisé pour la fabrication spécifique des produits traditionnels du manioc ("Gari", "fufu", "chikwangue", amidon). Citons également les travaux expérimentaux

du Programme National Manioc (PRONAM), à MVUAZI (Zaïre), portant sur la sélection et l'amélioration des variétés de manioc des régions du Kasai-Oriental, Kasai-Occidental et du Bas-Zaïre pour déterminer celle qui donne un meilleur produit après rouissage dans les conditions naturelles.

Ces études portent sur la durée de fermentation, la couleur, l'odeur et la consistance du "fufu" ou de la "chikwangue" préparés traditionnellement en utilisant différentes variétés de manioc (PRONAM, 1984).

En ce qui concerne la "fermentation sèche", l'objet de cette étude, nous citerons les travaux de mémoires réalisés à la Faculté des Sciences de l'Université de Kisangani sous notre direction par SENG A (1987), BAZOMBA (1988) et MATONDO (1988) consacrés respectivement à :

- déterminer le rôle des moisissures dans la diminution du taux de cyanures et l'augmentation de celui des protéines.
- l'isolement et l'identification des moisissures de fermentation sèche dans la ville de Kisangani (quelques zones urbaines).
- l'étude de la production et la diffusion des aflatoxines dans le manioc en fermentation sèche.

1.3. TOXICITE DU MANIOC ET SON IMPACT CHEZ LES CONSOMMATEURS.

La littérature portant sur les questions de nutrition (DOKU, 1969 ; MONGI, 1979 ; THILLY, 1981) a relevé la toxicité pouvant résulter de la consommation fréquente du manioc. C'est ainsi que la présence de glucosides cyanogénétiques et les aflatoxines ont été mis en cause.

1.3.1. La présence des cyanures.

La toxicité du manioc est due à la présence dans toutes ses parties de deux glucosides cyanogénétiques : la linamarine et la lotaustraline qui libèrent par hydrolyse l'acide cyanhydrique (poison mortel) et les thiocyanates, goïtrogènes puissants (CONN, 1969 ; GRACE, 1978 ; OKE, 1978 ; PIDO et ADEYANJU, 1978 ; RUBY et coll., 1978).

Le taux des glucosides cyanogénétiques dans le manioc varie notablement avec les conditions de culture, du sol, d'humidité, de température et avec l'âge de la plante. C'est ainsi qu'on trouve des variétés amères, qui peuvent se révéler douces lorsque les conditions de culture changent et vice-versa. Le goût amer des racines du manioc serait lié à la teneur en acide cyanhydrique.

Les racines amères très toxiques peuvent contenir plus de 250 mg de HCN par kilogramme de matière fraîche (DOKU, 1969; DULON, 1971; GRACE, 1978).

DUMONT et coll., DELANGE et BOURDON (cités par THILLY et MATUNDU, 1988) ont démontré qu'outre la carence iodée, la consommation très fréquente du manioc non détoxifié et l'élévation du taux sérique de thiocyanate qui en résulte sont les facteurs des endémies goîtreuses et du crétinisme au Zaïre. L'utilisation prolongée, dans les régimes alimentaires, des produits du manioc mal préparés est la cause de nombreux cas de goître, de neuropathie atoxique tropicale, de crétinisme et de carence de soufre, aminoacides et vitamine B₁₂ chez les consommateurs (NARTEY, 1978).

1.3.2. La présence des mycotoxines dans le manioc fermenté.

Plusieurs auteurs (MOREAU, 1974; MONGI, 1979; COCK et WHEATLEY, 1982) ont attiré l'attention sur la production des mycotoxines dans les denrées alimentaires mal conservés; notamment dans le manioc. Dans leurs travaux, un accent particulier a été mis sur les aflatoxines produites par les Aspergillus. La présence des aflatoxines dans les denrées alimentaires de base comme le riz, le maïs, le manioc, l'arachide, ... vendues sur les marchés zaïrois a également été signalée (MABIALA, 1973; MASIMANGO et coll., 1977).

Notons également que les études taxonomiques effectuées sur les moisissures du manioc en fermentation sèche (MUNYANGANIZI et coll., 1988); BAZOMBA (1988) ont mis en évidence la présence permanente de moisissures présumées productrices des aflatoxines.

1.3.3. Les techniques de détoxification du manioc.

1.3.3.1. Elimination de l'acide cyanhydrique.

Il existe plusieurs procédés traditionnels de détoxification grâce auxquels les racines tubéreuses du manioc sont transformées en différents mets relativement sûrs.

Il s'agit de la détoxification par :

- hydrolyse : dans l'eau salée, lavage dans l'eau courante, macération (MUCHNIK, 1984) ;
- séchage au soleil (EMMANUEL et coll., 1980) ;
- extraction, pressage et égouttage (GRACE, 1978 ; MUCHNIK, 1984) ;
- cuisson à l'eau et grillage à l'huile (EMMANUEL et coll., 1980) ;
- fermentation humide et sèche (SAILEL et coll., 1988).

1.3.3.2. Les moyens de lutte contre la production des aflatoxines.

De nombreuses études ont été réalisées (DAVIS, et coll., 1966 ; SCHROEDER et HEIN, 1967 ; JOFFE et LISKER, 1969 ; MASIMANGO et coll., 1978) sur la recherche des moyens de lutte contre la production des aflatoxines dans les aliments.

Les moyens envisagés par ces études sont basés essentiellement sur les conditions de production des aflatoxines et l'inhibition de la croissance des moisissures dans les aliments.

Ces études sont, cependant, encore fragmentaires et leur application nécessite une méthodologie spéciale adaptée à chaque type de denrée alimentaire considérée.

Ces moyens de lutte sont les différentes techniques physiques, chimiques et microbiologiques suivantes :

- utilisation des agents antifongiques ;
- réduction du taux d'humidité relative par séchage jusqu'à un taux inférieur à 10 % ;

- inactivation des aflatoxines par les rayons lumineux ;
- aération et conservation des denrées alimentaires à une température inférieure à 25° C ;
- utilisation des microorganismes métabolisant les aflatoxines ;
- utilisation, pour les aliments liquides, des acides organiques empêchant la croissance des moisissures.

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.

2.1. MATERIEL.

Le matériel utilisé est constitué essentiellement des racines tubéreuses du manioc et des moisissures isolées au cours de la fermentation sèche.

2.1.1. Le manioc.

La variété utilisée est localement appelée "KELENGA" en dialecte LOKELE, elle est préférentiellement utilisée dans la fabrication du "fufu" et de la "chikwangue" à cause de ses qualités naturelles.

Les tubercules de manioc frais proviennent de deux champs situés dans la Zone de la MAKISO à Kisangani.

- le premier est situé au Plateau médical non loin des services de radiologie des Cliniques Universitaires de Kisangani (Zaire).
- le second, situé dans la Cité Kalindula (Sini-Sini), est non loin de la station T.S.F., derrière le verger de l'Etat (Kisangani/Zaire).

2.1.2. Les moisissures.

Les souches de moisissures étudiées dans ce travail sont isolées du manioc de fermentation sèche des Régions du Nord-Kivu et du Sud-Kivu, ainsi que de la Ville de Kisangani. La répartition des différentes souches par origine est reprise au tableau 1.

Sur 82 souches testées :

- 47 proviennent de la Ville de Kisangani. (26 souches ont été isolées et identifiées par nous-même et 21 par BAZOMBA (1988) sous notre direction.
- 28 proviennent du Nord-Kivu.
- 7 proviennent du Sud-Kivu.

Pour identifier les souches du Nord et du Sud-Kivu, nous avons utilisé les fiches descriptives de COUDERT (1955) et la clé de RAPER et FENNEL décrite par MOREAU (1974).

Tableau 1 : Différentes souches testées et leur origine.

ORIGINE DES SOUCHES			N° DES SOUCHES
Souches isolées et identifiées par nous même au labo de la Faculté des Sciences UNIKIS.			001/1/L, 002/1/L, 003/1/L, 005/1/L, 006/1/L, 007/1/L, 008/1/L, 009/1/L, 012/1/L, 013/2/L, 017/2/L, 019/2/L, 022/2/L, 029/2/L, 024/2/L, 031/3/L, 032/3/L, 033/3/L, 035/3/L, 036/3/L, 038/3/L, 040/3/L, 041/1/L, 042/1/L, 043/1/L, 045/1/L.
Souches isolées et identifiées par BAZOMBA à travers la Ville de Kisangani et au Labo de la Faculté des Sciences (1988).			B.6.11, B.5.6a, B.5.3, B.5.8, B.4.8, B.1.6, B.5.4, B.6.4, K.4, K.5, B2g B2h, B2d, 023/2/K, K19, Fs 25, Fs 26, B1.2, K12, K13, K15.
Région	Zone	Localité	Souches isolées du manioc fermenté de :
NOED - KIVU	LUBERO		053/1/But, 054/1/But, 055/1/But, 056/2/But, 057/2/But, 059/2/But, 078/9/But, 079/9/But, 080/9/But, 081/9/But, 082/9/But, 083/9/But.
		KAINA	052/1/But
	BENI	KIVIRA	062/3/But, 067/4/But, 069/4/But, 071/5/But, 072/5/But, 073/5/But, 074/5/But.
MABOYA		060/3/But, 061/3/But, 063/3/But, 064/3/But, 065/3/But, 075/6/But, 076/8/But, 077/8/But.	
SUD-KIVU	UVIRA	CENTRE URBAIN	046/1/UV, 047/1/UV, 048/1/UV, 047b/1/UV, 049/1/UV, 050/1/UV, 051/1/UV.

22. METHODES.

Les racines tubéreuses de manioc étaient récoltées tôt le matin soit par nous-mêmes, soit par les propriétaires des champs. Elles sont ensuite acheminées directement au laboratoire où elles subissent différents traitements. Après traitement elles sont chaquefois réparties en trois groupes :

- Un premier lot était désinfecté et incubé aseptiquement dans les conditions de fermentation sèche.
- Un deuxième lot, non désinfecté, était exposé huit heures à l'air libre avant l'incubation.
- Le troisième lot était désinfecté ensuite ensemencé d'une souche pure de moisissure, puis incubé aseptiquement dans les conditions de fermentation sèche.

Pour chaque souche le test de ramollissement a été répété quatre fois.

2.2.1. Traitement du manioc.

Les différents lots de manioc étaient traités suivant le schéma ci-après :

- épluchage : A l'aide d'un couteau de cuisine, l'écorce interne du manioc est soigneusement séparée du cylindre central, ce dernier est ensuite lavé dans l'eau courante.
- Découpage : Les carottes de manioc bien nettoyées sont coupées d'abord en rondelle, puis en deux tranches, afin d'obtenir chaquefois des morceaux de dimension identique (une longueur de 5 cm et un rayon d'environ 3 cm).
- Désinfection : Les tranches de manioc lavées à l'eau de robinet sont ensuite désinfectées à l'aide d'un tampon d'ouate imbibé d'une solution de AgNO_3 à 3 %. Elles sont ensuite nettoyées dans une solution de NaCl à 5 % puis finalement rincées à l'eau stérile plusieurs fois (STANIER, 1977).

2.2.2. Fermentation sèche du manioc.

2.2.2.1. Fermentation du manioc désinfecté.

Le manioc désinfecté est ensuite recouverte des feuilles de bananier désinfectées par immersion dans l'alcool éthylique 75 % pendant 5 à 10 minutes (STANIER). L'incubation est faite selon la méthode de fermentation sèche pendant 7 jours.

2.2.2.2. Fermentation du manioc non désinfecté : "Fermentation non dirigée".

Les tranches de manioc épluchées et nettoyées étaient exposées au soleil pendant 7 à 8 heures, ensuite emballées dans les feuilles de bananier et couverts d'un sac offrant les conditions d'humidité nécessaire à la croissance des microorganismes.

L'exposition au soleil joue un double rôle qui est celui d'inoculation ou contamination par les moisissures de l'air et celui d'égouttage du manioc frais. L'incubation est faite pendant 3 à 5 jours. Elle est arrêtée après ramollissement complet (lorsque le manioc s'écrase facilement entre les doigts).

2.2.2.3. Fermentation dirigée.

a) Préparation de l'inoculum.

Les spores de moisissures en culture pure sont suspendues dans 2 ml d'eau physiologique tiède ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) pendant 2 heures avant d'être transférées successivement dans 10 ml de bouillon de sabouraud glucosé à 4 % et sur gélose de sabouraud glucosé à 2 % (MERCK, 1973). L'incubation est faite à la température ambiante (environ 28° C) pendant 24 heures. Ces cultures constituent la préculture qui seraensemencés ultérieurement sur le manioc désinfecté.

b) Ensemencement et incubation.

L'ensemencement se fait soit par aspersion des spores de moisissures provenant de la culture en gélose, soit par

frottement de la culture en bouillon à l'aide d'un écouvillon stérile.

Le manioc ainsi contaminé est ensuite recouvert de feuilles de bananier désinfectées par immersion dans l'alcool éthylique 75 % pendant 5 à 10 minutes.

L'incubation est faite selon la méthode de fermentation sèche (voir 2.2.2.2.).

L'évolution de la fermentation est contrôlée tous les jours en exerçant une petite pression avec les doigts sur les maniocs sans les découvrir pendant toute la durée de fermentation.

La fermentation est arrêtée lorsque le manioc s'écrase facilement entre les doigts. La durée et le degré de ramollissement ainsi que les caractéristiques organoleptiques du manioc fermenté sont chaquefois notés.

2.2.3. Etude des caractéristiques organoleptiques du manioc fermenté.

Les tubercules de manioc fermenté ont une odeur caractéristique et une couleur qui varient selon la prédominance des moisissures qui s'y sont développées pendant la fermentation.

Pendant le test de ramollissement, nous avons tenu à noter l'odeur et la couleur développées par chaque souche au cours de la fermentation.

L'odeur a été chaquefois comparée à celle du "fufu" traditionnel. Elle est dite agréable quand elle correspond à l'odeur du "fufu" et désagréable quand elle est noséabonde ou non caractéristique de la fermentation traditionnelle.

La couleur du manioc est observée et notée.

CHAPITRE III : RESULTATS.

3.1. Détermination du rôle des microorganismes dans le ramollissement du manioc.

Les tubercules de manioc désinfectés et incubés dans les conditions aseptiques n'ont manifesté aucun signe de remollissement après 7 jours de fermentation.

L'échantillon incubé dans les conditions naturelles de fermentation sèche a ramolli à partir du 2^{ème} jour et était couvert de diverses moisissures. Ce ramollissement débute à la surface puis avance progressivement vers l'intérieur du manioc. Si la fermentation n'est pas interrompue, on observe à partir du 5^{ème} jour l'apparition des fibres cellulosiques, ce qui traduit l'excès de fermentation par le détachement de la pulpe.

3.2. Détermination des souches responsables du ramollissement.

Parmi les microorganismes présents dans le manioc fermenté, les moisissures sont plus remarquables et très abondantes.

Les résultats des tests de ramollissement du manioc par différentes souches de moisissures figurent au tableau 2.

82 souches de moisissures isolées à partir des maniocs fermentés ont été soumises au test de ramollissement :

- 56 souches, soit 68,29 %, ont ramolli le manioc en fermentation sèche.
- 7 souches, soit 8,53 %, ont provoqué la pourriture.
- 19 souches, soit 23,17 %, se sont révélées apparemment indifférentes.

Les différentes espèces qui se sont avérées ramollissantes ont ramolli le manioc indépendamment de leur origine. Les principales souches ramollissantes appartiennent aux espèces suivantes :

Aspergillus niger, A. sparsus, A. flavus LINK, A. fumigatus,
A. flavipes, A. amstelodami, A. terreus, Mucor mucedo et
Rhizopus nigricans.

La durée de ramollissement est variable suivant l'espèce concernée.

Tableau 2 : Test de remollissement du manioc par différentes souches de moisissures.

ESPECE	SOUCHES	RAMOLLISSEMENT				
		24h	48h	72h	96h	120h
Aspergillus niger	001/1/L	-	+	++	+++	
	009/1/L	-	+	+	+++	
	078/9/But	-	+	+	+++	
	071/5/But	-	+	++	+++	
	B6.11	-	+	++	+++	
	074/5/But	-	+	++	+++	
A. flavus LINK	005/1/L	-	-	+	++	+++
	B.5.3.	-	±	++	+++	
	055/1/But	-	+	+	+++	
	B.5.6a	-	-	+	+++	
A. flavus orysae	079/9/But	-	-	-	-	
A. sparsus	063/3/But	-	+	++	++	+++
	024/2/L	-	+	+	+++	
	003/1/L	-	+	++	+++	
	B.4.8.	-	+	++	+++	
	B.1.6.	-	+	++	+++	
	B.5.4.	-	+	++	+++	
A. terreus	031/3/L	-	±	+	+++	
	032/3/L	-	-	+	+++	

Tableau 2 (suite)

ESPECES	SOUCHES	RAMOLLISSEMENT				
		24h	48 h	72 h	96h	120h
<i>A. flavipes</i>	052/1/But	-	±	+	++	+++
	060/3/But	-	+	+	++	+++
	061/3/But	-	+	++	+++	
	062/3/But	-	+	++	+++	
	075/6/But	-	+	++	++	+++
	076/8/But	-	+	++	++	+++
	078/9/But	-	+	++	++	+++
	080/9/But	-	-	+	++	+++
	081/9/But	-	±	+	++	+++
	083/9/But	-	-	+	++	+++
<i>A. fumigatus</i>	036/3/L	-	-	+	++	+++
	064/3/But	-	+	++	+++	
	B.6.4.	-	+	++	+++	
	K.4.	-	+	++	+++	
	K.5.	-	+	++	+++	
<i>A. ochraceus</i>	049/1/UV	-	-	-	-	-
	050/1/UV	-	-	-	-	-
	051/1/UV	-	-	-	-	-
	B2g	-	-	-	-	-
	053/1/But	-	-	-	-	-
<i>A. niduleus</i>	033/3/L	-	-	-	-	-
	054/1/But	-	-	-	-	-
	B2h	-	-	-	-	-
<i>A. wentii</i>	043/1/L	-	-	-	-	-
	045/1/L	-	-	-	-	-
<i>A. arnatus</i>	057/2/But	-	-	-	-	-
	059/2/But	-	-	-	-	-
	067/4/But	-	-	-	-	-
	073/5/But	-	-	-	-	-
	B2.d.	-	-	-	-	-
<i>A. amstelodami</i>	046/1/UV	-	+	++	+++	
	047/1/UV	±	+	++	+++	
	048/1/UV	-	+	++	+++	

3.3. Détermination des souches responsables des caractéristiques organoleptiques du "fufu" de fermentation sèche.

Les cossettes de manioc issues de la fermentation sèche sont généralement tachées de plages noires, vertes, orange, rouges, blanches... La coloration noire est généralement dominante.

L'odeur de ces cossettes est caractéristique et semble constante dans tous les maniocs fermentés.

La fermentation du manioc par les souches de moisissures en culture pure a permis d'identifier les souches responsables de l'odeur de manioc fermenté et de déterminer la couleur qu'elles développent pendant la fermentation. Les résultats de cet essai figurent au tableau 3.

Les souches d'Aspergillus niger développent la couleur noire, tandis que celles de Mucor mucedo et Rhizopus nigricans confèrent respectivement une couleur blanche et une couleur blanche tachetée de noire.

Toutes les souches ramollissantes produisent l'odeur caractéristique du manioc fermenté mais on note une production plus forte chez A. niger.

Tableau 3 : Caractéristiques organoleptiques des maniocs fermentés par différentes souches.

DIFFERENTES SOUCHES TESTEES		CARACTERISTIQUES ORGANOLEPTIQUES	
N° des souches	Nom de l'espèce	Odeur	Couleur
074/5/But; 001/1/L 009/1/L ;B6.11.; 078/9/But; 071/5/But.	A. niger	Agréable et caractéristique du "fufu" traditionnel. Odeur très forte.	Noir à la surface

Tableau 3 (suite)

DIFFERENTES SOUCHES TESTEES		CARACTERISTIQUES ORGANOLEPTIQUES	
N° des souches	Nom de l'espèce	Odeur	Couleur
055/1/But, 005/1/L, B5.6a	A. flavus LINK	agréable et caractéristique du "fufu".	Vert - jaune
079/9/But.	A. flavus oryzae	Non caractéristique	Blanc-verdâtre
063/3/But, 024/2/L, 003/1/L, B.4.8 B.1.6., B.5.4.	A. sparsus	agréable et caractéristique du "fufu".	Brun, tend vers le noir
080/9/But, 081/9/But, 083/9/But, 052/1/But, 062/3/But, 060/3/But, 061/3/But, 075/6/But, 076/8/But, 077/8/But.	A. flavipes	Très agréable, caractéristique du "fufu"	Blanc - jaunâtre.
036/3/L, B.6.4 K.4, K.5, 064/3/But.	A. fumigatus	agréable, caractéristique du "fufu"	Bleuâtre
031/3/L, 032/3/L.	A. terreus	agréable, caractéristique du "fufu"	Brun
049/1/UV, 050/1/UV, 051/1/UV, B2g, 053/1/But	A. ochraceus	Non caractéristique (désagréable).	Jaune

DIFFERENTES SOUCHES TESTEES		CARACTERISTIQUES ORGANOLEPTIQUES	
N° des souches	Nom de l'espèce	Odeur	Couleur
054/1/But, B2h, 033/3/L.	<i>A. nidulens</i>	Non caractéristique (désagréable)	Brun
057/2/But, 059/2/But, 067/4/But, 073/5/But, B2.d.	<i>A. ornatus</i>	Non caractéristique	Vert-jaune
046/1/UV, 047/1/UV, 048/1/UV.	<i>A. amstelodami</i>	Agréable, caractéristique du "fufu"	Vert pâle tendant vers le blanc
043/1/L, 045/1/L.	<i>A. wentii</i>	Non caractéristique	Chocolat tacheté de jaune
002/1/L, 029/2/L, B5.8.	<i>A. glaucus chevalieri</i>	Non caractéristique	Bleu marron
006/1/L, 035/3/L, K19, Fs25, Fs26, B1.a, 056/2/But, 082/9/But, 069/4/But 072/5/But.	<i>Mucor mucedo</i>	Agréable et caractéristique du "fufu" traditionnel.	Blanc
013/2/L, 017/2/L, 019/2/L, 038/3/L, 040/3/L, K12, K13, K15, 047b/1/UV	<i>Rhizopus nigricans</i>	Agréable et caractéristique du "fufu"	Blanc légèrement tacheté de noir

DIFFERENTES SOUCHES TESTEES		CARACTERISTIQUES	ORGANOLEPTIQUES
N° des souches	Nom de l'espèce	Odeur	Couleur
008/1/L, 022/2/L	Monilia krusei	Désagréable	Orange
012/1/L, 023/2/K.	Penicillium urticae	Nauséabonde (désagréable)	Orange puis brun noir.
007/1/L, 041/1/L.	Fusarium ponceti	Non déterminé (non- caractéristique).	Brun

CHAPITRE IV : DISCUSSION ET CONCLUSION.

4.1. Détermination du rôle des microorganismes dans le ramollissement du manioc.

Dans la technologie traditionnelle, les paysans utilisent les déchets obtenus du grattage du manioc de fermentation précédente pour des raisons inexplicables. Dans notre étude, nous avons exposé le manioc à l'air libre, le soumettant ainsi au contact des spores microbiennes en suspension dans l'air.

Après incubation dans les conditions d'humidité et de température suffisantes au développement des différents microorganismes, nous avons observé à partir du 2ème jour de fermentation spontanée que les tubercules devenaient progressivement moux. Les maniocs désinfectés ne contenant pas des microorganismes ne fermentent pas et par conséquent ne ramollissent pas. En outre, certaines souches en culture pure ont provoqué le ramollissement du manioc à des vitesses variables selon les espèces.

Ces observations démontrent que le ramollissement du manioc en fermentation sèche est l'oeuvre des microorganismes. Les déchets de grattage du manioc de fermentation précédente, contenant visiblement différents mycéliums des moisissures, joueraient le rôle de ferment dans la technologie traditionnelle.

4.2. Détermination des souches de moisissures responsables du ramollissement.

L'abondance et la diversité des moisissures observées à la surface des tubercules de manioc en fermentation sèche montrent que les moisissures joueraient un rôle important dans son ramollissement.

Les résultats de fermentation utilisant les souches pures (tableau 2) ont montré que la majorité (68,29 %) ramollissent le manioc, 8,53 % provoquent simplement la pourriture et 23,17 % y sont apparemment indifférentes.

Nous avons remarqué également que les espèces ramollissantes sont les mêmes dans les différentes localités. En effet, les déchets de grattage utilisés dans la technologie traditionnelle contiennent des mycéliums de moisissures qui, de par leur métabolisme, seraient sélectivement adaptées à la fermentation du manioc. Ce qui explique la constance remarquable de la qualité des moisissures ramollissantes, du goût et de l'odeur caractéristique des produits du manioc fermenté.

Signalons également que l'espèce Aspergillus flavipes apparemment absente dans les échantillons de Kisangani avait déjà été trouvée à MANGOBO (KISANGANI) par BAZOMBA (1988).

La durée de ramollissement varie d'une espèce à l'autre, mais elle est généralement de 3 à 5 jours. Nous avons constaté que le ramollissement par l'espèce Mucor mucedo est déjà observable après 24 heures de fermentation. Après 72 heures les tubercules sont complètement moux.

Avec les espèces Rhizopus nigricans, Aspergillus flavus LINK, A. niger, A. amstelodami, A. fumigatus, A. flavipes, A. terreus et A. sparsus, le ramollissement commence après 48 heures. Après 92 heures, les tubercules ont complètement ramolli.

Les souches des genres Fusarium, Penicillium et Monilia ne ramollissent pas le manioc mais entraînent sa pourriture.

Les espèces A. nidulens, A. ochraceus, A. wentii, A. ornatus, et A. gl.chevalieri ne provoquent ni ramollissement ni pourriture.

Ces différentes constatations démontrent le rôle spécifique des différentes moisissures présentes sur le manioc en fermentation sèche.

Du point de vue technologique, la sélection des meilleures souches de moisissures, tant du point de vue de la

vitesse de fermentation que du point de vue propriétés organoleptiques, permettrait d'améliorer la production de la farine de "fufu" par la fermentation sèche.

Cette sélection est d'autant plus justifiée que parmi les moisissures qui ramollissent le manioc en fermentation sèche, certaines sont susceptibles de produire des aflatoxines. C'est le cas de : A. flavus LINK, A. fumigatus et A. niger.

4.3. Détermination des souches de moisissures responsables de l'odeur caractéristique du "fufu".

La farine de "fufu" obtenue par fermentation sèche présente certaines propriétés organoleptiques particulières, dont l'odeur et le goût. L'utilisation des souches pures de moisissures a permis de déterminer celles qui sont responsables de la saveur caractéristique du "fufu" traditionnel.

Les résultats du tableau 3 montrent que toutes les souches ramollissantes produisent l'odeur caractéristique du "fufu" traditionnel. Les genres Fusarium, Penicilium et Monilia responsables de la pourriture développent des odeurs désagréables. La couleur observée à la surface du manioc ramolli est généralement celle de la moisissure qui le fermente et qui y fructifie. L'intrusion et le développement du mycélium à l'intérieur des tubercules donnent lieu à des colorations variables selon les espèces. Mais, en général, la coloration de l'intérieur est blanche si la fermentation est arrêtée à temps par un séchage correct.

Etant donné que les différentes souches ramollissantes produisent la même saveur caractéristique du "fufu" traditionnel, nous pensons que ces moisissures seraient dotées d'une même enzyme responsable du ramollissement du manioc.

Une étude biochimique et physiologique du ramollissement permettrait la mise en évidence des substrats concernés et des enzymes impliquées dans les réactions de ces derniers.

L'ensemble des observations relevées au cours de cette étude sur le rôle des microorganismes et notamment des moisissures sur le ramollissement du manioc permettent de dégager les conclusions suivantes :

- Les racines tubéreuses de manioc soumises à la fermentation sèche ramollissent sous l'action des microorganismes. Il a été démontré en effet que le manioc garde toute sa fermeté et n'accuse aucun signe de fermentation dans les conditions aseptiques.
- Les moisissures observées à la surface des cossettes de manioc fermenté jouent un rôle très important dans la fermentation.
Nous avons démontré, en effet, que 68,29 % des moisissures isolées des cossettes de manioc de fermentation sèche provoquent, en culture pure, leur ramollissement et confèrent l'odeur caractéristique des produits de manioc fermenté.
- Toutes les moisissures ramollissantes ne fermentent pas avec une égale rapidité. Certaines provoquent un ramollissement déjà observable après 24 heures, tandis que chez d'autres il faut au moins 48 heures.
- L'espèce Mucor mucedo ramollit plus rapidement que les autres.
- Les souches des genres Fusarium, Penicilium et Monilia provoquent la pourriture.
- Les espèces A. nidulens, A. ochraceus, A. wentii, A. arnatus et A. gl. chevalieri ne semblent jouer aucun rôle dans la fermentation du manioc.
- La couleur de la farine de "fufu" provient des moisissures qui participent à la fermentation. Ainsi une fermentation arrêtée à temps par séchage n'accuse qu'une coloration superficielle.

En tenant compte, d'une part, de l'uniformité du pouvoir ramollissant des différentes espèces quelque soit leur provenance géographique et, d'autre part, de l'homogénéité de l'odeur caractéristique des maniocs fermentés, nous estimons que la sélection des souches de moisissures et leur emploi lorsque

tous les paramètres des conditions de fermentation sèche auront été déterminés permettront la conception d'un procédé rationnel et industriel de traitement du manioc en fermentation sèche.

BIBLIOGRAPHIE

- ABDOULAYE, S., 1977 - L'Agriculture en Côte d'Ivoire, 1ère éd., Presses Universitaires de France, Paris, p.367.
- BAZI, A., 1983 - Contribution à l'étude du rouissage du manioc (Manihot esculenta CRANTZ), Mémoire inédit, I.F.A./Yangambi, Zaïre, p.44.
- BAZOMBA, N., 1988 - Contribution à l'inventaire des moisissures présentes sur le manioc de fermentation sèche dans la Sous-Région Urbaine de Kisangani (Haut-Zaïre), Mémoire de Licence inédit, Université de Kisangani, Faculté des Sciences, p.17.
- CERGHELLI, R., 1975 - Cultures Tropicales, I. Plantes vivrières, Masson et Cie., Paris.
- COCK, J.H., 1982 - Cassava : A basic energetic source in the tropics. American Association for the Advancement of Science. 218, (4574), p.755.
- COCK, J.H. and WHEATLEY, G., 1982 - Aflatoxins in cassava is it a real problem ? GIAT'S Cassava Program. 5 (2), ISSN 120-1824.
- CONN, E.E., 1969 - Cyanogenic glycosides : their occurrence, biosynthesis and function. In : Nestel B. and Macintyre, eds, Chronic Cassava Toxicity. CRDI, OTTAWA, pp.55-63.
- COURSEY, D.G., 1973 - Cassava as food : toxicity and technology, pp.27-36. In : B. Nestel and R. Macintyre, eds. Chronic Cassava Toxicity. Proc. Interdisciplinary workshop. London. IDRC 010e Ottawa.
- DAVIS, N.D., DIENER, U.L. and ELDRIGE, D.W., 1966 - Production of aflatoxins B1 and G1 by Aspergillus flavus in a semi synthetic medium. Appl. Microbiol., 14,(3) 378-380.

- DE GROOTE, 1972 - Table de composition alimentaire pour la République Démocratique du Congo. Imprimerie Concordia. Kinshasa.
- DOKU, E.V., 1969 - Cassava in GHANA. Universities Press, Accra, p.57.
- DULONG, R., 1971 - Le manioc à Madagascar, Agronomie tropicale, Marabout, Paris.
- EJIOFOR, M.A.N. et OKAFOR, M., 1980 - Comparaison de la pulpe de manioc comprimée et non comprimée pour la préparation du GARI. In : Plantes-Racines Tropicales. Stratégies de Recherches pour les années 1980. Société Internationale pour les plantes-racines tropicales. CRDI, OTTAWA (Canada), pp.163-166.
- EMMANUEL, M., MADIAGWU, . et ADEREMI, F.A., 1980 - Evaporation de l'acide cyanhydrique et de ses dérivés pendant la séchage du manioc au soleil. In : Plantes-racines tropicales. Stratégies de Recherche pour les années 1980. Société Internationale pour les plantes-racines tropicales. CRDI, OTTAWA (Canada), pp.159-162.
- F.A.O., 1985 - Réunion d'étude sur les obstacles à la production et commercialisation du manioc.
- GRACE, ., 1978 - Traitement du manioc. F.A.O., Rome.
- HAYNES, P.H., 1973 - Root crop production and use in Fiji Techn. Pap. N° 174 : 44 - 50. S. Pacific Commiss. Noumea, New Caledonia.
- JOFFE, A. and LISKER, N., 1969 - Effects of light, temperature and pH values on aflatoxin production in vitro. Appl. Microbiol. 18 (3), pp.517-518.

- KABEMBA, M., 1977 - La technologie traditionnelle du manioc. Influence du rouissage sur la valeur nutritionnelle de "LOFONGO". Mémoire inédit. I.F.A./Yangambi, Zaïre.
- KAPUKU, B.T., 1983 - La chance du manioc. Carnet du chercheur Zaïrois, N°3, pp.3-13.
- KAYOMO, B., 1986 - Contribution à l'étude du rouissage du manioc. Mémoire inédit, Institut Facultaire Agronomique de Yangambi, Zaïre, p.22.
- KWATIA, J.T., 1986 - Rural cassava processing and utilization centers. Report on the existing cassava storage and processing technologies in Southern Nigeria with a view of making recommendations. UNICEF, IITA, 77 p.
- LANCASTER, P.A., INGRAM, J.S., LIM, M.Y.; COURSEY, B.G., 1982 - Traditional cassava based foods. Survey of processing techniques. Economic Botany (New-York); 36 (1), pp.12-45.
- MABIALA, N.K., 1973 - Recherche des aflatoxines dans les produits alimentaires de base (Manioc, riz) en vente sur le marché kinois. Mémoire inédit. Faculté des Sciences Agronomiques, Kinshasa, p.58.
- MASIMANGO, N., RAMAUT, J.L. et REMACLE, J., 1977 - Production de l'aflatoxine B₁ in vitro en fonction des diverses conditions de culture. Annales de la nutrition et de l'alimentation, Université de Liège, Vol.3, pp.583-630.
- MASIMANGO, N., RAMAUT, J.L., REMACLE, J., 1978 - Aflatoxines et champignons toxigènes dans les denrées alimentaires zaïroises. Revue des fermentations et des industries alimentaires. Bruxelles, T.32 (N°6).

- MATONDO, K., 1988 - Détection des aflatoxines produites par quelques souches d'Aspergillus lors du ramollissement du manioc en fermentation sèche. Mémoire inédit, Faculté des Sciences de l'Université de Kisangani, p.21.
- MERCK, E., 1973 - Manuel de microbiologie, Milieux nutritifs secs, DARMSTADT (Allemagne), 445 p.
- MONGI, J., 1979 - Les moisissures et leurs toxines. La Recherche 102. Juillet-Août, Paris, pp.732-742.
- MOREAU, Cl., 1974 - Moisissures toxiques dans l'alimentation, 2e éd. Masson et Cie., Paris, p.322.
- MUCHNIK, J., 1984 - Les transformations du manioc, Technologies autochtones, Masson et Cie., Paris.
- MUNYANGANIZI, B. et NSIMBA, N., 1983 - La technologie et l'importance de LOTOKO à YANGAMBI, Ann. de l'I.F.A., Vol.N°6-1-2, pp.55-56.
- MUNYANGANIZI, B., 1984 - Les technologies traditionnelles et modernes de transformation du manioc. Analyse et proposition d'innovation, I.F.A./-Yangambi, 58 p.
- MUNYANGANIZI, B., YANDJU, D.L., SAILE, I., SENGA, K., 1988 - Rôle des moisissures dans la fermentation sèche du manioc, Annales de l'Institut Facultaire Agronomique de Yangambi (Zaïre), N°9.
- MUSATO, M.I., 1987 - Contribution à l'identification des moisissures responsables du rouissage du manioc. Mémoire inédit, I.F.A./Yangambi, Zaïre, p.29.
- NAKU, MB., 1982 - Commercialisation, transformation et prix des tubercules et plantatins en Afrique tropicale humide, ESCTMTP/A8514.
- NARTEY, F., 1978 - Manihot esculenta (Cassava) cyanogenics, ultra structure and seed germination. Copenhagen, Danmark, Munks-Groa, 262 p.

- OKE, O.L., 1978 - Problems in the use of cassava as animal feed. *Sci. Tech. Bot.*, 3(4), 345-380.
- PIDO, P.P. et ADEYANJU, S.A., 1978 - The feeding value of fermented cassava peel in broiler diet. *Nutr. Rep. Int.* 18(1), pp.79-86.
- PRONAM (Programme National Manioc) 1984 - Sélection et amélioration. Rapport annuel. Département de l'Agriculture et du Développement Rural. République du Zaïre, pp.1-31.
- RUBY, T.F., ADEGBOLA, A.A. et OKE, O.L., 1978 - Rôle de l'huile de palme dans les aliments à base de manioc. In : *Plantes-racines tropicales, stratégies de recherche pour les années 1980*, Société Internationale pour les Plantes-racines tropicales. CRDI, OTTAWA, Canada.
- SACKE, ., COCK, J.H., 1985 - Cassava : new potential for a neglected crop. Westview Press, Colorado Boulder, p.191.
- SAILE, I., 1985 - Le dosage de l'acide cyanhydrique au cours de la transformation du manioc en farine et en Gari. Mémoire inédit, I.F.A./Yangambi, Zaïre.
- SAILE, I., MUNYANGANIZI, B., BAZI, A. et YANDJU, D.D.L., 1988 "Evolution de la concentration en acide cyanhydrique dans les tubercules de manioc au cours du rouissage". *Ann. de l'Institut Facultaire des Sciences Agronomiques*, IX(1), 9-18.
- SCHROEDERH, W. and HEIN, H.Jr., 1967 - Aflatoxins : production of toxins in vitro in relation to temperature. *Appl. Microbiol.* 15(2), pp.441-445.

SENGA, K., 1987 - Contribution à la détermination des moisissures responsables du ramollissement du manioc en fermentation sèche. Mémoire inédit, Faculté des Sciences, UNIKIS, Zaïre.

STANIER, R.S., 1977 - Microbiologie générale. Masson, Paris.

SYLVESTRE, ., et ARRADEAU, ., 1983 - Le manioc. Technologie agricole et production tropicale. Maisonneuve, Paris.

THILLY, C.H., 1981 - Goître et crétinisme endémique. Rôle étiologique de la consommation de manioc et stratégie d'éradication. Bulletin et mémoire de l'Académie Royale de Médecine en Belgique. 136(7), pp.389-412.

THILLY, C.H. et MATUNDU, NZ., 1988 - Le goître endémique : Centre Scientifique et Médical de l'Université Libre de Bruxelles pour ses activités coopératives. Actes du cinquantenaire du C.E.M.U.B.A.C. pp.320-326.

* COUDER, T.J., 1955.- Guide pratique de mycologie médicale, Masson et Cie., Paris, pp.5-256.

