

Contrôle de la qualité microbiologique et physico-chimique de la boisson artisanale Londo à base de *Mondia whitei* ((Hook. f.) Skeels) (*Apocynaceae*).

Mbadu Z.^{1*}, Ntumba M.¹, Sumba F.¹, Benandwenga M.¹, Ekalakala T.²

Abstract

Received:
October 11, 2015

Revised:
February 26, 2015

Published online:
March 26, 2015

Keywords:

artisanal beverage,
Mondia whitei,
microbiological quality

Control of the microbiological and physico-chemical quality of Londo, a *Mondia whitei* (Hook. f.) skeels) (*Apocynaceae*) based beverage

Artisanal beverage based on *Mondia whitei* sold in Kinshasa and its surroundings is presented under several brands names: Londocass, Londokaps, Londowuss, and Londosas.

Analysis of microbiological parameters of these beverages showed microbial contamination in Londokaps and Londosas. The beverage conditioned in plastic bottles was found more exposed to contamination by *Escherichia coli* (31.25 %) than that in glass bottles (18.75 %).

The alcohol level indicated on the bottle labels (15%) differs from that actually measured (12 to 19%). Methanol was detected in some samples of Londokaps and Londosas. Terpenoids not identified in the roots of *Mondia whitei* and mango leaves were present in Londokaps and Londowuss.

This implies lack of compliance to norms during manufacturing and storage processes of these drinks, therefore hygienic measures and regular monitoring need to be taken in order to detect sources of contamination and protect consumers.

¹Institut Supérieur des Techniques Médicales, Kinshasa, B.P. 774 KINSHASA XI

²Centre de Recherche Nucléaire de Kinshasa, B.P. 869, KINSHASA XI

* To whom correspondence should be addressed: zebembadu@gmail.com; mbaduzebe@yahoo.fr.

INTRODUCTION

Diverses boissons à base des racines de *Mondia whitei* (Hook. f.) Skeels ont envahi les villes et localités de la province du Kongo Central ainsi que les marchés de Kinshasa.

A l'origine, un prêtre catholique de la mission Tumba dans le Kongo Central, François Ndjimbi, a mis au point une boisson appelée "Londocass" fabriquée à l'aide des plantes locales utilisées en phytothérapie dont les feuilles de manguier (*Mangifera indica*) et les racines de Londo (*Mondia whitei*) [MC CARTAN et CROUCH, 1998]. Cette boisson consommée après le repas pendant une dizaine de jours soulagerait, selon la population, de nombreuses personnes souffrant de l'hémorroïde.

La vente de cette boisson aux vertus médicamenteuses est devenue une véritable source de revenus. Ainsi, on retrouve sur le marché beaucoup de variétés des boissons à base de Londo (Londocass, Londokaps, Londowuss, Londosas), affichant toutes, les mêmes informations (appétissant, fortifiant, traite les hémorroïdes) sur l'étiquette.

Conditionnées à la fois dans des flacons en plastique et en verre, ces boissons sont vendues dans les boutiques de produits alimentaires, aux coins d'avenues, exposées au soleil par les vendeurs ignorants, peut être, l'influence des intempéries sur la qualité des produits.

Actuellement, il existe peu d'informations sur la qualité microbiologique, physicochimique de ces boissons artisanales à base de *Mondia whitei*. Quelquefois, des variations de goût et de saveur ont été

signalées par les consommateurs, mais ces paramètres n'ont pas fait l'objet d'étude. Or la présence des germes dans un aliment détériore sa qualité [NOUT *et al*, 2003].

Eu égard à la prolifération des marques et aux conditions dans lesquelles ces boissons sont retrouvées sur le marché, la question qui mérite d'être posée est celle de savoir : « quelle serait la qualité de différentes boissons à base de *Mondia whitei*? ».

Ainsi, un contrôle microbiologique et phytochimique a été effectué sur les échantillons de Londocass, Londokaps, Londowuss et Londosas.

MATERIEL ET METHODES

Matériel d'étude

Le travail s'est déroulé du 01 novembre 2010 au 15 mai 2011. Les échantillons de Londocass, Londokaps, Londowuss et Londosas conditionnés en verre ou en plastique ont été récoltés au marché Central de Kinshasa. Les racines de *Mondia whitei* et les feuilles de *Mangifera indica L.* ont été cueillies dans la cité de Kimpese (Province du Kongo Central) pour les analyses phytochimiques.

Les analyses microbiologique, physicochimique et phytochimique ont été réalisées au *Centre Régional d'Etudes Nucléaire de Kinshasa* (CRENK).

Un bac isotherme a été utilisé pour la conservation des échantillons des boissons.

Les différents réactifs utilisés pour identifier les groupes chimiques dans les racines de *Mondia whitei* et feuilles de *Mangifera indica* sont présentés dans le *Tableau I*.

Taille et choix de l'échantillon

L'échantillon de cette étude récolté aléatoirement au marché Central de Kinshasa est constitué de 64 bouteilles (32 bouteilles en plastique et 32 bouteilles en verre) de boisson artisanale Londo à base *Mondia whitei* préparée par quatre maisons différentes.

Méthodes

Analyse microbiologique

Elle est basée sur la détermination de la charge microbienne, l'identification des germes pathogènes ainsi que des coliformes indicateurs de la pollution fécale.

Tableau I : Les réactifs utilisés dans la détermination des groupes chimiques

N°	Groupes chimiques	Réactifs
1	Alcaloïdes	Réactifs de Dragendoff (nitrate de bismuth, iodure de potassium, acide acétique et l'eau)
2	Tanins	Solution de FeCl ₃ à 2% et l'eau
3	Composés aminés autres que les alcaloïdes	Solution de ninhydrine, solution de pyrimidine
4	Sucres réducteurs	Réactif de Fehling dont la solution A est constituée de CuSO ₄ + NaOH + H ₂ O et la solution B constituée de tartrate sodicopotassique ou AgNO ₃ et NaOH dans l'eau
5	Quinones	Réactif de Bornträger : NaOH ou KOH à 10%
6	Flavonoïdes	Ethanol 96%, acide chlorhydrique 2N et l'eau
7	Stéroïdes et Terpenoïdes	Réactif de Liebermann : anhydride acétique et acide sulfurique concentré

Dénombrement des germes

Le dénombrement des germes a été réalisé selon la méthode classique de dilution de l'échantillon à analyser au 1/10^{ième} (méthode de dilution décimale). Les échantillons ont été regroupés en pool selon les fabricants. Ensuite, 1ml de l'échantillon de boisson a été prélevé avec une pipette graduée stérile

préalablement flambée. Il a été mélangé avec 9 ml de la solution physiologique stérile pour dilution. A partir de cette solution, plusieurs dilutions ont été réalisées de manière à obtenir, en définitive, quatre séries de dilution : 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴. Un inoculum de 1ml de chaque dilution a ensuite été prélevé et ensemencé dans la boîte de pétri contenant environ 15 ml de milieu de

culture (gélose nutritive) et incubé à 37° C pendant 24 heures.

Identification des bactéries

L'inoculum prélevé des colonies obtenues précédemment lors du dénombrement a été ensemencé dans les milieux spécifiques: la galerie de Leminor (Kligler, citrate de Simmons, urée et eau peptonée), le Mac conkey et le milieu de Sabouraud.

Ensuite, on a laissé incuber selon les normes de température (37° C) et pendant 24 heures.

Lecture et expression des résultats

Cette activité a consisté à observer le développement des germes dans les différents milieux de culture inoculés, la forme des colonies et les différentes réactions biochimiques en présence.

Analyse physicochimique de la boisson

Mesure de pH

Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre de marque Carlowitz et Co, Hamburg, Germany pHmeter 523

Détermination du degré alcoolique

La détermination du degré alcoolique a été réalisée par distillation de la boisson alcoolisée selon la méthode de Fouassain et Noiralise [1988]. La densité hydroalcoolique a été comparée à celle de la table de l'AOAC n°43022. Les résultats obtenus ont été comparés à un témoin constitué de l'éthanol absolu à 99% dilué à 15° selon la dilution de Gay Lussac.

Détection du méthanol

La détection du méthanol a été faite selon la méthode à la fuschine, la coloration violette indique la présence du méthanol (users.skynet.be/hofinger/labovin/help/methanol.html).

Analyse phytochimique

Les analyses phytochimiques ont consisté en une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation des groupes chimiques dissous dans l'eau et dans les solvants organiques selon la méthodologie décrite par Békro et al. [2007].

Les groupes ciblés au départ de cette étude (*Tableau I*) sont les tanins, les saponines, les alcaloïdes, les composés aminés autres que les alcaloïdes, les sucres réducteurs, les quinones liés, les anthocyanes, les quinones libres, les stéroïdes, les terpénoïdes, les coumarines, les flavonoïdes.

Mais seuls les groupes chimiques identifiés dans les extraits des plantes ont été recherchés dans les échantillons de boissons alcoolisées étudiées.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de notre étude sont en rapport avec l'évaluation de la qualité (microbiologique, physico-chimique) de la boisson à base de *Mondia whitei* « Londo » vendue au marché Central de Kinshasa. Les résultats sont présentés dans les tableaux *II* à *VII*.

Tableau II. Résultats moyens du dénombrement des germes dans les échantillons de boisson à base de *Mondia whitei* « Londo » (n=8 pour chaque boisson)

Boisson	Germes totaux (bactéries) (x 103)		Germes totaux (fongiques) (x 102)		Coliformes totaux (x 102)		Coliformes fécaux (x 101)	
	Verre	plastique	Verre	plastique	Verre	plastique	Verre	plastique
Londocass	0	0	0	0	0	0	0	0
Londokaps	6.75	16.12	3.75	21.87	9.87	16.87	9.75	16.75
Londowuss	0	0	0	0	0	0	0	0
Londosas	0	7.75	0	15.62	0	14.50	0	8.50

Au regard du *Tableau II*, on constate que les boissons Londokaps et Londosas ont été contaminées tandis que dans Londocass et Londowuss, les germes ne se sont pas développés. Il s'en dégage que les germes sont beaucoup plus abondants dans la boisson conditionnée en plastique que dans celle conditionnée en verre pour Londokaps et Londosas. Les germes totaux

(bactéries et champignons), les coliformes totaux et fécaux sont mis en évidence dans les flacons en verre et en plastique. Leur présence et leur abondance varient selon la maison de fabrication.

Il ressort du *Tableau III* que la boisson à base de *Mondia whitei* de la marque Londokaps et Londosas présente une contamination par les germes tant

bactériens que fongiques. Le taux de contamination est de nouveau plus élevé dans les boissons conditionnées en plastique que dans celles conditionnées en verre.

Le **Tableau IV** montre la présence de deux germes pathogènes : *Escherichia coli* (flacon en verre et

plastique) et *Candida albicans* (flacon en plastique). Le taux de contamination est élevé pour le conditionnement en plastique avec *Escherichia coli* (31.25%) et *Candida albicans* (25%).

Tableau III. Taux de contamination des échantillons de boisson à base de *Mondia whitei* « Londokaps et Londosas » par les germes bactériens et fongiques

Germes	Boisson conditionnée en verre	Boisson conditionnée en plastique
Germes totaux (fongiques)	3 (9.38%)	6 (18.75%)
Germes totaux (bactéries)	2 (6.25%)	7 (21.88%)
Coliformes totaux	3 (9.38%)	6 (18.75%)
Coliformes fécaux	3 (9.38%)	5 (15.63%)

Tableau IV. Germes pathogènes identifiés dans les échantillons de boisson à base de *Mondia whitei* « Londokaps et Londosas »

Germes identifiés	Boisson conditionnée en verre	Boisson conditionnée en plastique
<i>Escherichia coli</i>	3 (18.75%)	5 (31.25%)
<i>Candida albicans</i>	0 (0%)	4 (25%)

Tableau V. Résultat de l'analyse phytochimique des racines de *Mondia whitei* et des feuilles de *Mangifera indica*.

Extrait	Métabolites	<i>Mondia whitei</i>	<i>Mangifera indica</i>
Aqueux	Alcaloïdes	-	-
	Saponines	+	-
	Tanins	-	+
	Quinones liés	-	-
	Composés aminés	-	-
	Sucres réducteurs	+	+
	Anthocyanes	-	-
Ethanolique	Flavonoïdes	+	-
Chloroforme	Quinones libres	-	-
	Stéroïdes	-	-
	Terpenoïdes	-	-
	Coumarines	-	-

Il ressort du **Tableau V** que dans les racines de *Mondia whitei*, il y a la présence de saponines, de

flavonoïdes et de sucres réducteurs tandis que dans les feuilles de *Mangifera indica*, il y a la présence de tanins, et des sucres réducteurs.

Tableau VI. Mise en évidence des métabolites secondaires dans les échantillons des boissons à base de *Mondia whitei* (Londo) selon les marques.

Boisson et emballage	Emballage	Londocass	Londokaps	Londowuss	Londosas
Tanins	Verre	+	+	-	+
	Plastique	+	+	-	+
Saponines	Verre	+	+	+	+
	Plastique	+	-	+	+
Flavonoïdes	Verre	+	+	-	+
	Plastique	+	-	-	+
Terpenoïdes	Verre	-	-	-	-
	Plastique	-	+	+	-
Sucres réducteurs	Verre	+	+	+	+
	Plastique	+	+	+	+
N+ (%)		8 (80)	7 (70)	5 (50)	8 (80)

Légende : N+ c'est le nombre d'échantillons positif par boisson et par emballage dont la présence de métabolites secondaires est signalée.

Tableau VII. Mesure du pH, du degré alcoolique de la boisson et la détection du méthanol dans les échantillons de boissons à base de *Mondia whitei* « Londo ».

Boisson et emballage	pH		Degré alcoolique (°)		Détection méthanol (n(%))	
	Verre	plastique	Verre	plastique	Verre	Plastique
Témoin (alcool 15°)	4.09		14.75		-	
Londocass	3.49	3.94	19.78	14.02	-	-
Londokaps	3.62	4.20	12.86	18.93	+	+
Londowuss	3.16	4.04	15.63	15.72	-	-
Londosas	3.52	4.19	15.97	15.23	+	+

Légende : - absence de méthanol dans tous les échantillons ; + présence de méthanol dans les échantillons

Il s'avère que la présence de ces métabolites secondaires varie avec les marques et le type d'emballage.

Le pH de tous les échantillons de boisson à base de *Mondia whitei* (Londo) examinés est acide. Les taux du degré alcoolique varient selon la maison de préparation et le type de conditionnement. Par rapport à la mention sur l'étiquetage 15° du degré alcoolique, certains échantillons des maisons de préparations ont présenté des valeurs supérieures (Londocass 19,78° et Londokaps 18,93°). L'analyse de la variance au seuil de 5% a permis de constater une différence significative entre le degré d'alcool mesuré dans ces échantillons et les indications sur les types d'emballages. L'analyse de

certains échantillons de Londokaps a révélé une concentration faible de 12,86° d'alcool par rapport à la mention indiquée sur les emballages.

Le méthanol a été détecté pour certains échantillons de Londokaps et de Londosas tant pour la boisson conditionnée en verre que pour celle conditionnée en plastique.

L'analyse de nos résultats est focalisée sur le contrôle de qualité tant microbiologique que physicochimique de quatre marques de boissons artisanales à base de *Mondia whitei* « Londo » consommées par la population de Kinshasa et de ses environs.

Il s'avère que la contamination est effective pour les boissons de marque Londokaps et Londosas, alors que aucune contamination n'a été constatée dans les boissons de marque Londocass et Londowuss. Les germes totaux, les coliformes totaux et les coliformes fécaux ont été dénombrés dans Londokaps et Londosas conditionnées dans les flacons en verre et en plastique. Le taux de contamination est plus élevé dans la boisson conservée dans les flacons en plastique (de 15,63% à 21,88%) que dans celle qui a été conservée dans les flacons en verre (6,25% à 9,38%).

Ces résultats pourraient se justifier par le fait que le plastique neuf ou recyclé utilisé comme emballage est, selon Santé Canada [2011], plus difficile à nettoyer que le verre. Il est donc plus facilement exposé à la contamination microbienne. En plus, son intégrité structurale peut facilement être affectée. La contamination microbienne des boissons artisanales a souvent été notées, elle est généralement due au non respect de l'asepsie depuis la cueillette de différentes parties végétatives des plantes utilisées pour la préparation de la boisson jusqu'à la mise en bouteille et par les conditions de préparations.

La détermination de la charge bactérienne, par le truchement des germes totaux donne une indication de l'état de fraîcheur ou de décomposition des produits alimentaires. Il peut aussi, dans le cas de cette boisson artisanale, constituer un indicateur de sa mauvaise qualité sanitaire et permet de relever des indices de falsification et de piratage du produit.

La présence des coliformes totaux, considérés depuis longtemps comme de bons indicateurs de contamination microbienne, dans certains échantillons, confirme donc l'état de pollution de ces boissons.

L'identification des coliformes fécaux dont *Escherichia coli* est aussi une confirmation que certains échantillons de la boisson à base de *Mondia whitei* (Londo) ont été pollués par les matières organiques et ont subi une contamination fécale récente. En effet, *Escherichia coli* est un indicateur utile pour estimer la pollution fécale [MADIGAN et MARTINKO, 2007].

Les boissons artisanales présentent quelque fois un autre problème de contamination par les moisissures et les levures, tel est le cas de *Candida albicans* identifié dans quelques échantillons de Londokaps et de Londosas. Ce constat est similaire à celui fait par Ndiaye et al. [2015] sur la boisson artisanale « Bissap » préparée à base de *Hibiscus sabdariffa L.* et qui soulignent, par ailleurs, que les levures sont capables de se développer dans une boisson en cours de stockage.

La détermination du degré alcoolique a permis de constater que le degré alcoolique varie selon la marque et il est différent de 15° mentionné sur les emballages par les fabricants. Ceci constitue un indice de non

maitrise de contrôle de qualité du produit et même de falsification.

Le pH de ces boissons est acide. Cette acidité peut s'expliquer par les différents métabolites secondaires tels que les substances polyphénoliques et les acides divers issus de la fermentation qui sont présents dans la boisson. Le pH acide joue un rôle d'inhibition des germes non acidophiles et contribuerait donc à l'amélioration de la qualité de la boisson [NDIAYE et al., 2015].

Le méthanol est recherché lors de la fabrication des boissons alcoolisées. La détection du méthanol est un indice de contamination par des germes en l'occurrence ceux du genre *Acetobacter* qui sont capables de transformer l'éthanol en méthanol. Le méthanol peut être obtenu au cours de la préparation des boissons artisanales à partir des pectines et de la cellulose des membranes des cellules végétales et il constitue un indicateur de la mauvaise qualité d'une boisson. Le méthanol est toxique pour la santé [DIBOH et al., 2013].

Outre la présence de différents métabolites secondaires présents dans les organes végétatifs des plantes utilisées pour la fabrication de cette boisson artisanale, les terpénoïdes ont été identifiés dans certaines d'entr'elles (Londokaps et Londowus) qui sont mises sur le marché. Cela peut être justifié par la contamination de la boisson par des plantes autres que *Mondia whitei* et *Mangifera indica* car ce groupe chimique n'a été détecté ni dans les feuilles de *Mangifera indica* ni dans les racines de *Mondia whitei* utilisées pour la préparation de la boisson à base de Londo. Ceci peut, une fois de plus, être considéré comme un indice de piratage et de falsification de la boisson mise en vente sous ce label de « Londo ». En effet, la nature des métabolites secondaires des parties de la plante utilisées pour la préparation de la boisson alcoolisée devrait influencer celle des substances trouvées dans la boisson alcoolisée.

CONCLUSION

Cette étude avait pour objectif de contrôler la qualité microbiologique, phytochimique et physicochimique des boissons à base de *Mondia whitei* (londo) vendues sur les marchés de Kinshasa.

Au regard des résultats obtenus, il semble bien évident que la prolifération des maisons de fabrication de la boisson à base de Londo suscite des problèmes qui peuvent entacher la qualité de la boisson à base de *Mondia whitei*. Le manque de collaboration entre elles pour la mise au point définitive d'un protocole fiable peut être à la base de la production des boissons non conformes.

Un effort doit donc être fourni sur l'application des mesures d'hygiène au cours de la fabrication afin de fournir à la population une boisson saine. Un service de contrôle des produits alimentaires devra être mis en

place pour lutter contre le piratage de la boisson artisanale originale « le Londocass ».

RESUME

La boisson artisanale à base de Londo (*Mondia whitei*) vendue à Kinshasa et ses environs, se présente sur le marché sous plusieurs marques Londocass, Londokaps, Londowuss et Londosas. Ces boissons ont été soumises à une analyse microbiologique et physicochimique en vue d'en déterminer la qualité. L'analyse des paramètres microbiologiques de ces boissons artisanales a permis de constater une contamination microbienne de Londokaps, Londosas. La boisson conditionnée dans les flacons en plastique est plus exposée à la contamination par *Escherichia coli* (31,25%) que celle conditionnée dans des bouteilles en verre (18,75%). Le taux d'alcool (15%) indiqué sur les étiquettes des bouteilles contenant cette boisson est différente de celui qui a été réellement dosé (12 à 19%). Le méthanol a été détecté dans quelques échantillons de Londokaps, Londosas. Les terpenoïdes, non identifiés dans les racines de Londo (*Mondia whitei*) et dans les feuilles de manguié ont par contre été identifiés dans Londokaps, Londowuss. Il est probable qu'il y a absence de respect des normes au cours de la fabrication et de la conservation de ces boissons. Ainsi, des mesures d'hygiène et un contrôle régulier de cette boisson méritent d'être appliqués pour détecter les sources de contamination et protéger les consommateurs.

Mots clés : boisson artisanale, *Mondia whitei*, qualité microbiologique, qualité physicochimique

REFERENCES ET NOTES

BEKRO Y-A, JANAT A., BEKRO M, BOUA B. B. FEZAN H. TRA B.I. et EHOUAN E. E. [2007]. Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae), Sciences & Nature Vol. 4 N°2 : 217 – 225.

DIBOH E., YAO K. M., TAKO N. A., BAKOU N.F. et ASSI B. [2013]. Alcoolisation chez les jeunes élèves en Côte d'Ivoire : Préférence et Consommation effective. European Scientific Journal October 2013 edition vol.9, No.30 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431.

FOUASSIN A. & NOIRFALISE A. [1998]. Méthode d'analyse des substances alimentaires, Presses universitaires de Liège, 4^e édition.

MCCARTAN S.A. & CROUCH N.R. [1998]. In vitro culture of *Mondia whitei* (Periplocaceae), a threatened Zululand medicinal plant. South African Journal of Botany 64:313 – 314.

MADIGAN M. et MARTINKO, J. [2007]. Brock Biologie des micro-organismes. 11^e édition, nouveaux horizons, Pearson Éducation.

NDIAYE N. A., DIENG M., KANE A., CISSE M, MONTET D. et TOURE N. C. [2015]. Diagnostic et caractérisation microbiologique des procédés artisanaux de fabrication de boissons et de concentrés d'*Hibiscus sabdariffa* L au Sénégal. Afrique SCIENCE 11(3) (2015) 197 - 210 197 ISSN 1813-548X, <http://www.afriquescience.info>.

NOUT R, HOUNHOUGAN J D et VAN BOEKEL T. [2003]. Les aliments, transformation, conservation et qualité. Backhuys publishers, ICTA, 268p.

SANTE CANADA, [2011]. Lignes directrices pour déterminer l'acceptabilité et l'utilisation des plastiques recyclés pour l'emballage des aliments. Bureau de l'innocuité des produits chimiques. Direction des aliments. Direction générale de la protection de la santé. Santé Canada. Le 20 septembre 2011.

users.skynet.be/hofinger/labovin/help/methanol.html, consulté le 15/11/2015.



This work is in open access, licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in the credit line; if the material is not included under the Creative Commons license, users will need to obtain permission from the license holder to reproduce the material. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>