

Evaluation De L'utilisation Des Huiles Essentielles De Six Plantes Aromatiques Collectées Au Benin Dans La Lutte Alternative Contre Les Aflatoxins

Yann Christie Sissinto Adjovi,

Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire
Ecole des Sciences et Techniques de Conservation et de Transformation des
Produits Agricoles / Université Nationale d'Agriculture

Prince Joli Fossou,

Akimath Tahirou,

Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire

Hilarion Ulrich Ahehehinnou,

Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire

[Doi:10.19044/esj.2022.v18n11p207](https://doi.org/10.19044/esj.2022.v18n11p207)

Submitted: 06 October 2021

Accepted: 16 February 2022

Published: 31 March 2022

Copyright 2022 Author(s)

Under Creative Commons BY-NC-ND

4.0 OPEN ACCESS

Cite As:

Sissinto Adjovi.Y.C., Joli Fossou P., Tahirou A., & Ulrich Ahehehinnou H., (2022). *Evaluation De L'utilisation Des Huiles Essentielles De Six Plantes Aromatiques Collectées Au Benin Dans La Lutte Alternative Contre Les Aflatoxins* European Scientific Journal, ESJ, 18 (11), 207.

<https://doi.org/10.19044/esj.2022.v18n11p207>

Resume

Dans la lutte contre les aflatoxines, le recours aux méthodes alternatives est de plus en plus préféré. Cette étude a consisté à évaluer l'efficacité des huiles essentielles de six plantes aromatiques (*Mentha spicata*, *Mentha piperita*, *Cymbopogon citratus*, *Illicium verum*, *Cinnamomum verum*, *Myristica fragrans*) extraites sur le développement des moisissures d'une part et sur leurs capacités anti-aflatoxinogènes d'autre part. Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation. L'activité antifongique de ces dernières ont été évaluées in vitro par les tests de diffusion directe, de micro-atmosphère et de test en puits. L'huile essentielle de *C. verum* a présenté la meilleure activité antifongique par inhibition totale à des concentrations de 0,01mg/μl sur *A. novoparasiticus* (AF32) et de 0,1 mg/μl sur *A. flavus* (AFc5) et *A. novoparasiticus* (NCPT280). Les huiles essentielles d'*I. verum* et de *C. citratus* ont eu une importante activité antifongique par les méthodes de

diffusion directe et de puits respectivement à 0,5 mg/µl. L'huile essentielle de *M. spicata* a également présenté une bonne activité antifongique sur la souche AFc5 par inhibition totale de celle-ci par la méthode de diffusion directe à 0,5 mg/µl. De faible activité ont été obtenue avec les huiles essentielles de *M. piperita* et de *M. fragrans*. Les résultats de cette étude montrent la possibilité d'utilisation des huiles essentielles de *C. verum*, de *I. verum* et de *C. citratus* comme moyen de lutte alternative contre les moisissures au cours du stockage de matière première.

Mots Cles : Aflatoxines, Lutte alternative, Moisissures, Huile essentielle

Essential Oils In The Alternative Fight Against Aflatoxins

Yann Christie Sissinto Adjovi,

Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire
Ecole des Sciences et Techniques de Conservation et de Transformation des
Produits Agricoles / Université Nationale d'Agriculture

Prince Joli Fossou,

Akimath Tahirou,

Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire

Hilarion Ulrich Ahehinnou,

Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire

Abstract

In the fight against aflatoxins, the use of alternative methods is increasingly preferred. This study consisted in evaluating the effectiveness of essential oils of six aromatic plants (*Mentha spicata*, *Mentha piperita*, *Cymbopogon citratus*, *Illicium verum*, *Cinnamomum verum*, *Myristica fragrans*) extracted on the development of molds on the one hand and on their antiaflatoxinogenic capacities on the other hand. The essential oils were extracted by hydrodistillation. The antifungal activity of these oils was evaluated in vitro by direct diffusion, micro-atmosphere and well tests. The essential oil of *C. verum* showed the best antifungal activity by total inhibition at concentrations of 0.01mg/µl on *A. novoparasiticus* (AF32) and 0.1 mg/µl on *A. flavus* (AFc5) and *A. novoparasiticus* (NCPT280). Essential oils of *I. verum* and *C. citratus* had significant antifungal activity by direct diffusion and sink methods respectively at 0.5 mg/µl. The essential oil of *M. spicata* also showed good antifungal activity on the AFc5 strain by total inhibition of it by direct diffusion method at 0.5 mg/µl. Weak activity was obtained with the essential oils of *M. piperita* and *M. fragrans*. The results of this study show the possibility of using essential oils of *C. verum*, *I. verum* and *C. citratus* as an alternative means of control of molds during the storage of raw material.

Keywords: Aflatoxins, Alternative control, Molds, Essential oils.

Introduction

Les plantes aromatiques sont un ensemble de plantes odorantes susceptibles d'être utilisées dans les domaines pharmaceutiques, alimentaires, cosmétiques. Des études préliminaires ont montré l'utilisation des plantes aromatiques dans la conservation des produits alimentaires contre les mycotoxines (Prakash *et al.*, 2015; Dwivedy *et al.*, 2016), métabolites secondaires toxiques, produit par plusieurs espèces de champignons filamenteux, surtout ceux appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* et *Claviceps* (Marin *et al.*, 2013). Parmi ces mycotoxines, les aflatoxines sont les toxines qui suscitent un grand intérêt dans la recherche car elles posent un réel problème aussi bien aux producteurs de matières premières agricoles qu'à la santé humaine. Plusieurs travaux ont montré la présence de ces mycotoxines et des moisissures responsables de leur production dans des produits agricoles comme des céréales (maïs, riz, ...), des oléagineux (arachides), des épices séchées (piment, ail, poivre, gingembre, ...), les cossettes de manioc et d'ignames, les poissons fumés et fermentés (Gnonlonfin *et al.*, 2010 ; 2012 ; 2013 ; Adjovi *et al.*, 2019 ; Adjovi *et al.*, 2020). Gnonlonfin *et al.* (2013) ont montré l'impact majeur de la présence de ces toxines sur les pays en développement et spécifiquement sub-sahariens. En tenant compte de l'importance sanitaire et économique de la contamination des produits agricoles et alimentaires, par les aflatoxines, plusieurs études ont porté sur la mise au point de moyens de lutte alternatives (Kedia *et al.*, 2015; Miri *et al.*, 2019). Certaines études ont également montré l'utilisation des huiles essentielles tels que *Thymus vulgaris*, *Allium sativum*, *Cymbopogon citratus*, *Citrus aurantifolia*, *Mentha longifolia*, *Laurus nobilis* dans la conservation des produits alimentaires et leurs propriétés microbiennes (Hyldgaard *et al.*, 2012), (Degnon *et al.*, 2016), (Adjovi *et al.*, 2019). Jantan *et al.* (2008), Huang *et al.* (2010), Bassolé *et al.* (2011), Soni *et al.* (2016), Bayan, (2018) Kot *et al.*, (2018) ont montré les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles de *Mentha spicata*, de *Mentha piperita*, de *Myristica fragrans*, de *Cymbopogon citratus*, de *Cinnamomum verum* et de *Illicium verum*. Certaines études ont montré l'activité antifongique de ces espèces végétales contre *Aternaria alternata*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium tricinctum*, *Candida albicans* (Boukhatem *et al.*, 2014; Das *et al.*, 2018). Cette étude vise à montrer l'activité antifongique et anti-aflatoxine des huiles essentielles de six espèces végétales, contre le développement de *Aspergillus flavus* (AFc5) et de *Aspergillus novoparasiticus* (AF32 et NCPT280). L'issue de cette étude permettrait de connaître les différentes méthodes possibles d'utilisation de ces huiles essentielles dans la conservation de matière première.

Materiel Et Methodes

Materiel

Matières Végétales

Les feuilles de *Mentha spicata*, *Mentha piperita* et *Cymbopogon citratus* provenant respectivement des jardins de Togbin et Abomey-Calavi ont été utilisées. Elles ont été cultivées sans composé chimique. Par ailleurs, les graines de *Illicium verum*, de *Myristica fragrans* et l'écorce de *Cinnamomum verum* issus du Marché Dantokpa ont également été utilisés. L'échantillonnage a été faite en novembre 2020.

Souches fongiques

Les souches fongiques utilisées pour les différents tests ont été les souches de référence de *Aspergillus flavus* (AFc5), de *Aspergillus novoparasiticus* (AF32) et de *Aspergillus novoparasiticus* (NCPT 280) isolé et séquencée par Adjovi *et al.* (2013). Une culture fraîche sur gélose Potato Dextrose agar a été réalisée à cet effet.

Methodes

Extraction D'huile Essentielle

Les feuilles sèche (500 g) ont été soigneusement lavées avec de l'eau distillée, puis broyées dans un mélangeur Waring (elta Carl-Zeiss-Strasse 8) et soumises à une hydrodistillation de type Clevenger pendant 3 heures selon la procédure décrite dans la Pharmacopée européenne (Conseil de l'Europe, 1997). La fraction volatile (OE) a été séparée et stockée dans un pilulier en verre teinté propre (Samia, 2015).

Test d'activité antifongique

L'activité antifongique des huiles essentielles des plantes a été déterminée à l'aide de trois tests différents. Pour tous les tests, les suspensions microbiennes ont été ajustées à 10^7 cfu/ml et étaler dans la gélose de pomme de terre.

Le contrôle négatif a été préparé en utilisant uniquement la solution de diméthylsulfoxyde (DMSO) utilisée pour diluer l'huile essentielle. L'activité antifongique a été évaluée en mesurant le diamètre d'inhibition des zones au centimètre près. Toutes les expériences ont été répétées trois fois. Les moisissures sous-cultivées ont été incubées à $30 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. La croissance mycélienne a été appréciée chaque jour en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu de l'huile essentielle point de dépôt, du premier jour au cinquième (5 jours minimum). L'activité antifongique a été évaluée par la formule suivante :

$$\text{Activité antifongique (AA)} = \frac{(D_c - D_t)}{D_c} \times 100$$

Dc :Diamètre de croissance dans la plaque témoin (témoin) (boîte de Pétri sans huile essentielle) Dt : Diamètre de croissance dans la plaque contenant l'agent antifongique testé (Imène, 2011)

Méthode de diffusion sur disque

Le test est la méthode de diffusion sur disque (NCCLS, 2002) de Boutabia et al (2016). L'inoculum a été étalé à la surface d'une gélose Potatoes Dextrose Agar (PDA) coulée en boîte de Pétri. Des disques de papier absorbant ont été placés à la surface des géloses en boîtes de Pétriensemencées. Ces disques sont ensuite imprégnés de 50µl de solution d'huile essentielle de différentes concentrations. Les huiles essentielles sont diluées dans une solution aqueuse contenant 0,1% de DMSO.

Méthode de diffusion en puits

Selon la procédure utilisée dans la méthode de diffusion sur disque, la surface de la plaque d'agar a été inoculée en étalant l'inoculum fongique sur l'ensemble surface d'agar. Ensuite, un trou d'un diamètre de 6 mm est réalisé au centre et 50 µl de solution préparée à différentes concentrations chaque huile essentielle sont introduites dans le puits. Ensuite, des plaques d'agar sont incubées (Asma,2013).

Micro-atmosphère

Selon Hmiri *et al.* (2013), le test de micro-zone est une technique similaire aux aromagrammes. La méthode a consisté à placer le disque imprégné d'huile essentielle au centre du couvercle de la boîte de Pétri. Cela signifie que ce dernier n'a plus été en contact avec la gélose moyenne. Un disque de papier Whatman (1,2 cm diamètre) a été imprégné de 50 µl de solution à différentes concentrations d'huiles essentielles a été placé dans le centre du couvercle d'une boîte de Pétri contenant le PDAensemencé. La boîte de Pétri a été incubée pendant 5 jours à 30°C.

Resultats

Extraction D'huiles Essentielles

Les rendements d'extractions des huiles essentielles de *Mentha spicata*, *Mentha piperita*, *Cymbopogon citratus*, *Illicium verum*, *Cinnamomum verum* et *Myristica fragrans* sont faibles. Le plus élevé est celui de *Illicium verum* avec 2,21% et le plus faible l'extrait de *Cymbopogon citratus* avec 0,10%. Le tableau 1 suivant présente les rendements d'extraction par hydrodistillation.

Tableau 1 : Rendement d'extraction

Matières végétales	Rendement
<i>Mentha spicata</i>	0.41%
<i>Mentha piperita</i>	0.40%
<i>Cymbopogon citratus</i>	0.10%
<i>Illicium verum</i>	2.12%
<i>Cinnamomum verum</i>	0.84%

<i>Myristica fragrans</i>	3.6%
---------------------------	------

Activité antifongique sur les espèces d'*Aspergillus*

Toutes les huiles essentielles n'ont pas montré d'activité antifongique contre les souches mais des modifications au niveau de la pigmentation et de la morphologie des champignons ont été observées. Les figures 1, 2 et 3 montrent les tests réalisés sur les souches fongiques évaluées. L'analyse des résultats des différents tests effectués, indique que sur les six essences étudiées, quatre ont présenté des propriétés antifongiques sur Afc5 (figure 1).

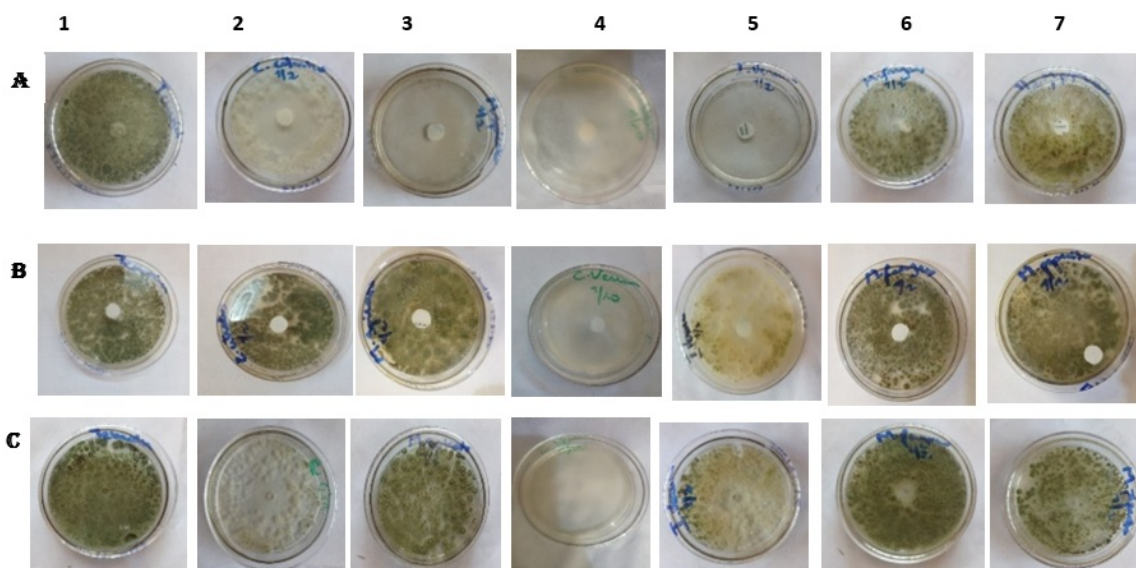


Figure 1 : Effets antifongiques des huiles essentielles sur *Aspergillus flavus* Afc5 évalués pendant 5 jours

A. Méthode de diffusion directe sur gélose **B.** Méthode de Micro atmosphère **C.** Méthode en puits

1. Témoin ; 2. *C. citratus* ; 3. *M. spicata* ; 4. *C. verum* ; 5. *I. verum* ; 6. *M. fragrans* ; 7. *M. piperita*

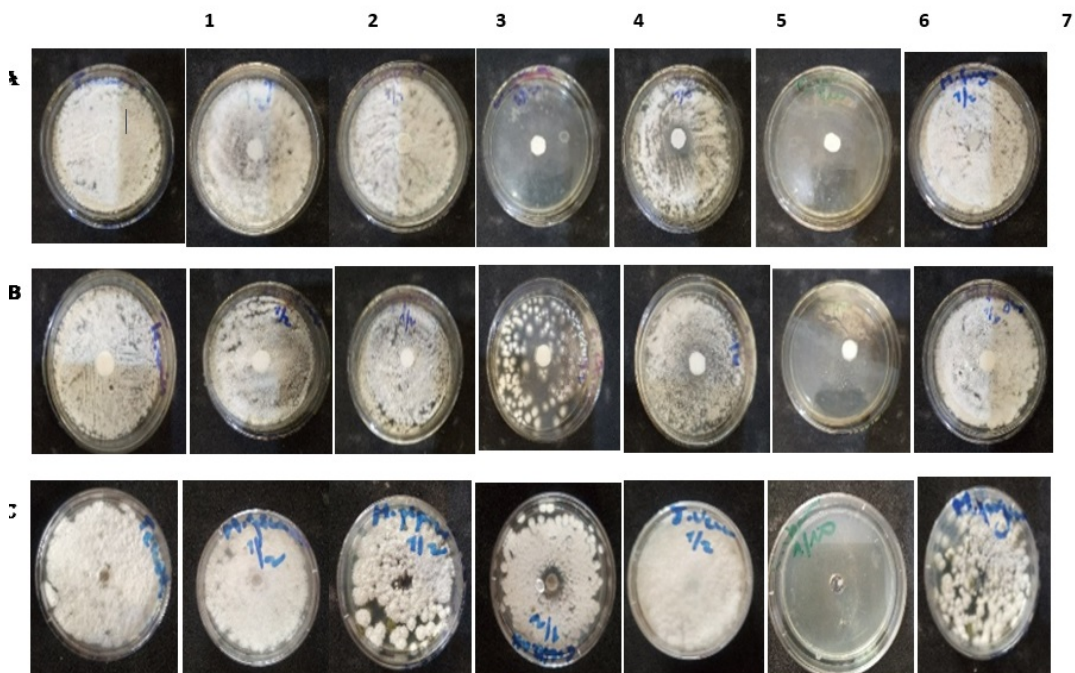


Figure 2: Effets antifongiques des huiles essentielles sur *Aspergillus novoparasiticus* NCPT280 évalués pendant 5 jours

A. Méthode de diffusion directe sur gélose B. Méthode de Micro atmosphère C. Méthode en puits

1. Témoin ; 2. *M. piperita*; 3. *M. spicata* ; 4. *C. citratus* ; 5. *I. verum* ; 6. *C. verum* ; 7. *M. fragrans*.

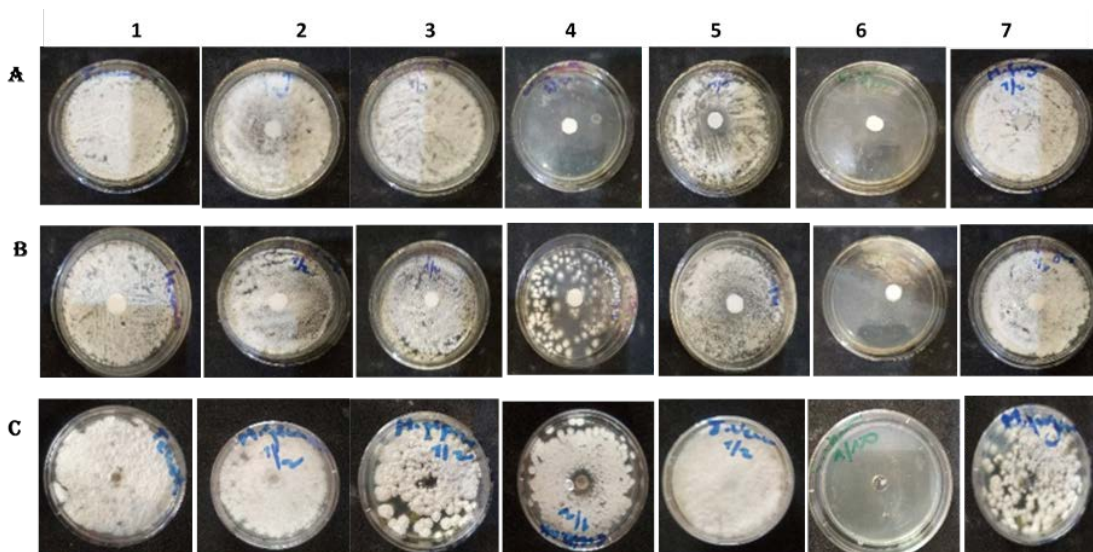


Figure 3: Effets antifongiques des huiles essentielles sur *Aspergillus novoparasiticus* AF32 évalués pendant 5 jours

A. Méthode de diffusion directe sur gélose B. Méthode de Micro-atmosphère C. Méthode en puits

1. Témoin ; 2. *M. piperita*; 3. *M. spicata* ; 4. *C. citratus* ; 5. *I. verum* ; 6. *C. verum* ; 7. *M. fragrans*

Les essais d'activité antifongiques des huiles essentielles, effectués sur *Aspergillus novoparasiticus* NCPT280 ont montré que, seuls les extraits de *C.*

verum, de *C. citratus* et de *I. verum* ont un effet sur la souche. L'huile essentielle de *C. verum* a inhibé totalement la croissance de *A. novoparasiticus* à une concentration de 0,1µl/µl pour les trois méthodes. Des changements ont été également observés macroscopiquement avec l'apparition d'un mycélium aérien blanchâtre. Les caractères microscopiques ont aussi été modifiés notamment au niveau de la vésicule globulaire à structure unisériée, couvert au ¼ ; des hyphes courtes, moins développés et des conidies petites. Le tableau 2 suivant présente la capacité d'inhibition de la croissance fongique à différentes concentrations des six huiles essentielles testées. Ces résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition.

Tableau 2 : Taux d'inhibition de la croissance fongique à différentes concentrations des six huiles essentielles suivant trois méthodes d'évaluation

Concentration (mg/µl)		Diffusion directe				Micro-atmosphère			Puits				
		0,5	0,2	0,1	0,01	0,5	0,2	0,1	0,01	0,5	0,2	0,1	0,01
Taux d'inhibition de la croissance fongique (%)													
<i>M. spicata</i>	AFc5	100	0	0	0	66,66	0	0	0	12,03	0	0	0
	AF32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	NCPT2 80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>M. piperita</i>	AFc5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AF32	0	0	0	0	0	0	0	0	7,77	0	0	0
	NCPT2 80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. citratus</i>	AFc5	28,14	0	0	0	0	0	0	0	55,18	20,55	0	0
	AF32	42,22	0	0	0	5,55	0	0	0	23,33	0	0	0
	NCPT2 80	18	0	0	0	0	0	0	0	15,74	11,11	0	0
<i>I. verum</i>	AFc5	90	0	0	0	72,22	0	0	0	26,29	10,59	0	0
	AF32	37,77	0	0	0	18,88	0	0	0	22,22	16,66	0	0
	NCPT2 80	27,88	0	0	0	65,55	0	0	0	8,51	7,77	0	0
<i>C. verum</i>	AFc5	100	100	100	0	100	100	100	0	100	100	100	11,11
	AF32	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	NCPT2 80	100	100	100	0	100	100	100	0	100	100	100	15,11
<i>M. fragrans</i>	AFc5	0	0	0	0	0	0	0	0	11,85	0	0	0
	AF32	0	0	0	0	0	0	0	0	66,66	0	0	0
	NCPT2 80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Témoin	AFc5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AF32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

	NCPT2 80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
--	-------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Les huiles essentielles d'*I. verum* et de *C. citratus* ont inhibé le développement et la pigmentation d'*A. flavus* et d'*A. novoparasiticus* pour les trois méthodes. Une légère inhibition de la pigmentation est également observée avec les huiles de *M. spicata*, de *C. verum*, de *M. fragrans* et de *M. piperita*. Les six huiles essentielles ont modifié la morphologie des conidiophores et des conidies ainsi que les têtes aspergillaires qui se sont désorganisées.

Activité anti-aflatoxines

L'évaluation de la production d'aflatoxines a été testée sur la souche *AFc5* de l'espèce *Aspergillus flavus* qui est productrice d'aflatoxines B1 et B2 et sur la souche *AF32* de l'espèce *Aspergillus novoparasiticus* productrice des aflatoxines B1, B2, G1 et G2. Les tests effectués sur les trois huiles essentielles ayant la plus faible activité antifongique montrent que malgré le développement mycélien qu'elles inhibent la production d'aflatoxines.

Le tableau 3 suivant présente les résultats des analyses.

Tableau 3 : Test de production d'aflatoxine

Méthodes Huiles essentielles	Diffusion directe		Micro-atmosphère		Puits	
	AFc5	AF32	AFc5	AF32	AFc5	AF32
Témoin (DMSO 0,1%)	+	+	+	+	+	+
<i>C. verum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>I. verum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>C. citratus</i>	-	-	-	-	-	-

AFc5 : *A. flavus* ; AF32 : *A. novoparasiticus*;

+: production d'aflatoxine, - : inhibition de la production d'aflatoxine

3. Discussion

Dans le cadre de la lutte contre les mycotoxines, spécialement les aflatoxines, l'utilisation de moyens alternatifs naturels a été proposée. Ainsi plusieurs travaux de recherche ont porté sur les propriétés antifongiques des huiles essentielles. Dans notre étude six huiles essentielles extraites de plantes aromatiques ont été testées sur trois souches d'*Aspergillus productrices d'aflatoxines*. Les rendements des extractions réalisées sont en général faibles. Le tableau 1 présente ces rendements. Pour les extraits de menthe (*M. spicata* et *M. piperita*) les rendements obtenus sont inférieurs à ceux de (Adjou, 2013) qui ont respectivement 0,96% et 1,17% ; il en est de même pour *Illicium verum* (6% (Mostaganem et al., 2018)), *Cymbopogon citratus* 0,61 % (Kobenan et al., 2021 et *Cinnamum verum* 1,8% (Rahimifard et Shoeibi, 2008). Les différences de rendement observées par rapport à d'autres auteurs pourraient être liées à l'état du matériel, la zone de récolte, le temps de

collecte, la nature du sol, le climat et la procédure d'extraction (Chahboun *et al.*, 2015). Néanmoins, le meilleur rendement (3,6%) est obtenu avec les graines de *M. fragrans*. Ce pourcentage est supérieur à celui de (Lee *et al.*, 2007) ayant obtenu 2,9%. Cette Huile Essentielle, montre une inhibition de 11,85% de la croissance de *Aspergillus flavus* AFc5 par la méthode en puits avec 0,5µl. Cette activité confirme les travaux de (Atta-Ur-Rahman *et al.*, 2000) qui ont relevé une faible activité antifongique de cette HE sur *Aspergillus flavus*. Les graines de *Illicium verum* ont également donné un bon rendement de 2,12% ; mais une différence significative du rendement est observée, comparé à celui de (Mostaganem *et al.*, 2018) qui était de 6%. L'activité antifongique de l'HE de *I. verum* contre *A. flavus* et *A. novoparasiticus* a été montrée dans cette étude. L'aromatogramme réalisé avec *I. verum* a donné la meilleure activité avec 90% d'inhibition de *A. flavus* ; par le test de micro-atmosphère la plus forte activité inhibitrice de croissance a été observée sur *A. novoparasiticus* soit 65,55% avec 0,5µl d'HE. Ces résultats sont similaires à ceux de (Aly *et al.*, 2016) qui ont testé cette HE sur *A. flavus*. L'HE de l'anis étoilé possède une forte activité antimicrobienne (90%) contre *Botrytis cinerea*, *colletotrichum gloeosporioides* (Lee *et al.*, 2007). Des changements similaires dans la morphologie des hyphes et des conidiophores après exposition à l'HE de *I. verum* ont été également observés par d'autres auteurs (Freire *et al.*, 2011; Yanjun Li *et al.*, 2020). Les pourcentages observés supposent que l'activité de l'HE de *I. verum* est due aux composés volatiles comme la trans-anéthol connue pour ces propriétés antimicrobiennes (Y. Huang *et al.*, 2010). L'activité antifongique de l'Huile essentielle d'anis étoilé peut être attribuée principalement à sa composition en trans anéthole et limonène (Freire *et al.*, 2011)(Mugnaini *et al.*, 2012).

Pour *Cinnamomum verum*, un rendement de 0,84% a été obtenu avec l'écorce ce qui est inférieur à celui obtenu par (Rahimifard N, Shoeibi SH, 2008) (1,8%). Le test d'activité antifongique de cette huile essentielle a montré une inhibition de la croissance de *A. flavus* et *A. novoparasiticus* pour les trois méthodes effectuées. La concentration minimale inhibitrice (CMI) des deux souches est de 0,1ppmv. Des résultats similaires, d'inhibition totale, sont obtenus par (Císarová *et al.*, 2016) qui ont testé l'HE de *C. verum* sur *A. parasiticus* et *A. flavus* par la méthode de micro-atmosphère. D'un autre côté (Manso *et al.*, 2013) ont mis en évidence le ralentissement de la croissance fongique sur *A. flavus* par la méthode macrodilution en contact directe, avec une désorganisation de la tête aspergillaire et un rétrécissement des hyphes. Cette activité antifongique pourrait être due à la présence de plusieurs molécules bioactives telles que l'eugénol et le cinnamaldéhyde contenues dans l'huile essentielle de *C. verum* (Marchese *et al.*, 2017; Mateen *et al.*, 2019; Wei, 2019).

Quant aux feuilles de *M. spicata* les résultats des tests antifongiques ont révélé une inhibition totale de la croissance de *Aspergillus flavus* par aromatoigramme avec 0,5µl mais n'a pas agi sur la croissance de *Aspergillus novoparasiticus*.

L'activité antifongique de la menthe verte a été prouvée par d'autres auteurs comme (Filho, 2021) qui a évalué l'action des huiles essentielles de *Mentha piperita*, *Cymbopogon martinii*, *Cinnamomum camphora*, *Mentha spicata* contre *Botrytis cinerea* par différentes méthodes *in vitro*. D'après ses résultats l'HE de *M. spicata* et de *C. martinii* ont présenté l'activité la plus élevée par les méthodes de contact direct, de contact avec la vapeur, de germination des spores et de dilution par micro-puits. Cette activité antifongique pourrait s'expliquer par la présence de carvone et de limonène dans l'huile essentielle de *M. spicata*, rapportée par plusieurs auteurs (Bayan, 2018; A Piras et al., 2016). Parallèlement, l'huile essentielle des feuilles de *M. piperita* n'a montré aucune inhibition de la croissance des souches de *Aspergillus flavus* et *Aspergillus novoparasiticus* par les trois méthodes d'évaluation. Mais contrairement à nos résultats, plusieurs études antérieures ont montré l'activité antimicrobienne de *M. piperita* (Mimica-Dukic et al., 2003; Neeraj et al., 2008; Singh et al., 2015) et son activité antifongique bien que faible, sur *Aspergillus flavus* (Moghaddam et al., 2013; Saharkhiz et al., 2012; Desam et al., 2019; Plavsic et al., 2017).

En ce qui concerne les feuilles de *Cymbopogon citratus*, 20µl/µl de l'huile essentielle extraite a inhibé 20,55% de *A. flavus* à et 11,11% de *A. novoparasitus* par la méthode en puits. (Martinazzo et al., 2019) dans leur étude ont constaté que l'huile essentielle de *C. citratus* agit sur la croissance de *Aspergillus flavus* à partir 0,6 µl/ml mais provoque une inhibition totale à partir de 1µl/ml. Mais les deux autres tests ont été moins efficace surtout le test de micro-atmosphère qui n'a montré aucune activité antifongique des molécules volatiles et le test de diffusion qui n'a montré une activité antifongique qu'à partir de 0,5µl/µl.

Conclusion

Les résultats de ces travaux ont révélé que les huiles essentielles issues des graines, des écorces et des feuilles de *I. verum*, de *C. verum* et de *C. citratus* respectivement collectée au Sud du Bénin ont une activité antifongique et peuvent être utilisées pour bloquer le développement d'*Aspergillus flavus* et d'*Aspergillus novoparasiticus* et la production d'aflatoxine pendant l'entreposage des denrées alimentaires. Les huiles essentielles de *I. verum*, de *C. verum* et de *C. citratus* possédant un potentiel antifongique assez élevé peuvent être utilisées comme moyen de lutte alternatif naturel dans la protection des aliments contre les mycotoxines, spécialement les aflatoxines. L'emploi des huiles essentielles des plantes aromatiques usuelles vient donc en réponse aux problèmes d'amélioration de la sécurité sanitaire des aliments.

References:

1. Adjou, E. S. (2013). Efficacité des extraits de plantes dans la lutte contre les moisissures toxigènes isolées de l'arachide en post-récolte

- au Bénin. *Applied Biosciences*, 70(October 2013), 5555–5566.
2. Adjovi, C.Y. S., Koulony, R., Atindehou, MA M., Ahehehinnou, U A. H., Dadavodou, J., & Sanni, A. (2019). *Laurus Nobilis L.* a Natural Alternative Against *Aspergillus flavus* and Aflatoxins. *International Journal of Developpement Research*, 09(05), 27692–27697.
 3. Gnonlonfin, G.J.B., Hell, K., Adjovi, Y., Fandohan, P., Koudande, D.O., Mensanh, G.A., Sanni, A., Brimer, L. 2013. A review on Aflatoxin contamination and its implication in the developping word: A sub-saharan African perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, 349–365.
 4. Gnonlonfin, GJB, Adjovi, YC, Tokpo, AF, Agbekponou, ED, Ameyapoh, Y, de Souza, C, Brimer, L, Sanni, A. (2013) Mycobiota and aflatoxin genes cluster in marketed spices in West Africa. *Journal of food control*, 34, 115-120.
 5. Adjovi, YCS, Gnonlonfin, BJG., Bailly, S, Bailly, J-D, Tadrist, S, Puel, O, Oswald, POI, Sanni, A. (2015). Occurrence of mycotoxins in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and its products. *International Journal of Food Safety, Nutrition and Public Health*, 5 (3/4), 217-246.
 6. Adjovi, YCS, Hodeve, GT, Gnonlonfin, BJG, Sanni, A. 2019. Morphologic and Molecular Characterization of *Aspergillus flavus* Isolated from Smoked, Fermented and Dried Fishes Sold in Main Markets of Cotonou (Benin). *Journal of Food & Industrial Microbiology*, 5 (01), 1-6.
 7. Adjovi, YCS, Koulony, R, Atindehou, M, Ahehehinnou, HU, Dadavodou, J. (2020). Evaluation of the contamination of maize marketed in Benin by aflatoxins and alternative control. *Global Advanced Research Journal of Microbiology*, 9 (01), 05-12.
 8. Adjovi, YCS, Agnandji, P, Ayi-Fanou, L, Sanni, A (2019). Isolation of *Aspergillus* section Flavi and determination of aflatoxins in Bambara groundnut sold in Cotonou main markets (Benin). *Journal of Bioscience and Applied Research*, 5 (04), 486 -494.
 9. Adjovi, YCS, Ahehehinnou, HU, Dadavodou, J, Koulony, R, Sanni, A. (2019). Evaluation de la contamination du riz commercialisé au Bénin par les aflatoxines. *International Journal of Bioscience*, 15 (06), 210-217.
 10. Aly, SE, Sabry, BA, Shaheen, MS, Hathout, AS. (2016). Assessment of antimycotoxigenic and antioxidant activity of star anise (*Illicium verum*) *in vitro*. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 15(1), 20–27.
 11. Asma, K. (2013). Contribution à l'étude de certaines huiles essentielles de Lamiaceae, Myrtaceae, Gramineae, et Rutaceae du Mali, 1–32.
 12. Sidibe, L. (1997). Contribution a l'étude de certaines huiles essentielles de lamiacees, myrtacees, graminees et rutacees du Mali. Thèse de doctorat, Clermont Ferrand 2

13. Atta-UrR., Choudhary, M. I., Farooq, A., Ahmed, A., Iqbal, M. Z., Demirci, B., Demirci, F., Hüsnü Can Baser, K. (2000). Antifungal Activities and Essential Oil Constituents of Some Spices from Pakistan. *Journal of Chemical Society of Pakistan*, 22(1), 60–65.
14. Bassolé, I. H. N., Lamien-meda, B., Obame, L. C., Iboudo, A. J., Franz, C., Novak, J., Nebié, R. C., & Dicko, M. H. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedicine*, 18(2011), 1070-1074.
15. Bayan, Y. (2018). Chemical composition and antifungal and antibacterial activity of *Mentha spicata* L. volatile oil. *Phytochemistry*, 45(1), 64-69.
16. Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., Saidi, F., & Kebir, H. T. (2014). Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. *Libyan Journal of Medicine*, 9 (September 2014), 1–11.
17. Boutabia, L., Telailia, S., Bouguetof, I., Guenadil, F., & Chefrou, A. (2016). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. De la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin de La Societe Royale Des Sciences de Liege*, 85(November), 174–189.
18. Buru, S. A. (2017). *Cinnamomum* genus : a review on its biological activities. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9 (February), 1–12.
19. Chahboun, N., Esmail, A., Abed, H., Barrahi, M., Amiyare, R., & Berrabeh, M. H. (2015). Evaluation de l'activité bactériostatique d'huile essentielle de la *Lavandula Officinalis* vis-à- vis des souches d'origine clinique résistantes aux antibiotiques (Evaluation of the bacteriostatic activity of the essential oil of *Lavandula Officinal*. *Journal Mater. Environ. Sci.* 6 (4), 1186–1191.
20. Císarová, M., Tančinová, D., Medo, J., & Kačániová, M. (2016). The *in vitro* effect of selected essential oils on the growth and mycotoxin production of *Aspergillus* species. *Journal of Environmental Science and Health*, 51(10), 668–674.
21. Das, S., Singh, V. K., Dwivedy, A. K., Kumar, A., Upadhyay, N., Singh, A., Saha, A. K., Ray, S., Prakash, B., & Dubey, N. K. (2018). Assessment of chemically characterised *Myristica fragrans* essential oil against fungi contaminating stored scented rice and its mode of action as novel aflatoxin inhibitor. *Natural Product Research*, 0 (November 2018), 1–5.
22. Degnon, G. R., Adjou, E. S., Metome, G., & Dahouenon-ahoussi, E. (2016). Efficacy of essential oils of *Cymbopogon citratus* and *Mentha piperita* in stabilizing of the fresh cow' s milk in southern Benin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*,

- 10(August), 1894–1902.
23. Desam, N. R., Al-Rajab, A. J., Sharma, M., Mylabathula, M. M., Gowkanapalli, R. R., & Albratty, M. (2019). Chemical constituents, *in vitro* antibacterial and antifungal activity of *Mentha × Piperita L.* (peppermint) essential oils. *Journal of King Saud University - Science*, 31(4), 528–533.
 24. Freire, J. M., Cardoso, M. G., Batista, L. R., & Andrade, M. A. (2011). Essential oil of *Origanum majorana L.*, *Illicium verum Hook. f.* and *Cinnamomum zeylanicum Blume*: chemical and antimicrobial characterization. *Revista Brasileira de Plantas Medicinaiis*, 13(September 2010), 209–214.
 25. Hmiri, S., Amrani, N., & Rahouti, M. (2011). Détermination in vitro de l'activité antifongique des vapeurs d'eugénol et d'huiles essentielles de *Mentha pulegium L.* et de *Tanacetum annuum L.* vis-à-vis de trois champignons responsables de la pourriture des pommes en post-récolte. *Acta Botanica Gallica*, 158(April 2013), 609–616.
 26. Huang, Y., Zhao, J., Zhou, L., Wang, J., Gong, Y., Chen, X., Guo, Z., Wang, Q., & Jiang, W. (2010). Antifungal Activity of the Essential Oil of *Illicium verum* Fruit and Its Main Component trans-Anethole. *Molecules*, 15(October 2010), 7558–7569. <https://doi.org/10.3390/molecules15117558>
 27. Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, R. L., & Debabov, D. (2012). Essential oils in food preservation : mode of action , synergies , and interactions with food matrix components. *Review Article*, 3(January), 1–24.
 28. IARC. (1993). Evaluation of carcinogenic risks to humas. *international agency for research on cancer*, 56(June 1992), 2–609.
 29. Kedia, A., Dwivedy, A. K., & Jha, D. K. (2015). Efficacy of *Mentha spicata* essential oil in suppression of *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in chickpea with particular emphasis to mode of antifungal action. *Cell Biology in Agricultural and Food Science*, September 2015, 1-9. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0871-9>
 30. Kpadonou, D., Allanto, F., Kpadonou-Kpoviessi, B., Agbani, P., Gbaguidi, F., Baba-Moussa, L., Gbenou, J., Moudachirou, M., & Kpoviessi, S. (2019). Relations entre composition chimique, activité antioxydante et toxicité des huiles essentielles de deux espèces de *Cymbopogon* acclimatées au Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(2), 1201.
 31. Kot, B., Wierzchowska, K., Piechota, M., Czerniewicz, P., & Chrzanowski G. (2018). Antimicrobial activity of five essential oils from lamiaceae against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *Natural Produc Research*, 6419, 1-5.
 32. Lalami, A. E. O., Moukhafi, K., Bouslamti, R., & Lairini, S. (2019). *Evaluation of antibacterial and antioxidant effects of cinnamon and*

- clove essential oils from Madagascar. ScienceDirect, 13(2019), 762–770.*
33. Lee, S. O., Park, I. K., Choi, G. J., Lim, H. K., Jang, K. S., Cho, K. Y., Shin, S. C., & Kim, J. C. (2007). Fumigant activity of essential oils and components of *Illicium verum* and *Schizonepeta tenuifolia* against *Botrytis cinerea* and *Colletotrichum gloeosporioides*. In *Journal of Microbiology and Biotechnology, 17(9)*, 1568–1572.
 34. Li, Yanjun, Wang, Y., Kong, W., Yang, S., Luo, J., & Yang, M. (2020). *Illicium verum* essential oil, a potential natural fumigant in preservation of lotus seeds from fungal contamination. *Food and Chemical Toxicology, 141*(February), 111-347.
 35. Manso, S., Cacho-nerin, F., Becerril, R., & Nerín, C. (2013). Combined analytical and microbiological tools to study the effect on *Aspergillus flavus* of cinnamon essential oil contained in food packaging. *Food Control, 30(2)*, 370–378.
 36. Martinazzo, A. P., Eduardo, C., & Teodoro, D. S. (2019). Antifungal activity of *Cymbopogon citratus* essential oil against *Aspergillus flavus*. *Ciência e Natura, 41*(July 2019), 1–8.
 37. Minor, A. (2018). Antioxidant, Antifungal, Antibiofilm, and Cytotoxic Activities of *Mentha spp.* Essential Oils. *Medicines, 5*(112), 1–15.
 38. Piras, A., Porcedda, S., Falconieri, D., Maxia, A., Gonçalves, M., & Cavaleiro, C. (2019). Antifungal activity of essential oil from *Mentha spicata L.* and *Mentha pulegium L.* growing wild in Sardinia island (Italy). *Natural Product Research, 0*(July 2019), 1–7. .
 39. Rahimifard N, Shoeibi SH, P. S. (2008). canelle, 1–2.
 40. Rao, P. V., & Gan, S. H. (2014). Cinnamon : A Multifaceted Medicinal Plant. *Hindawi Publishing Corporation, 2014*, 1–13.
 41. Saharkhiz, M. J., Motamedi, M., Zomorodian, K., Pakshir, K., Miri, R., & Hemyari, K. (2012). Chemical Composition, Antifungal and Antibiofilm Activities of the Essential Oil of *Mentha piperita L.* . *ISRN Pharmaceutics, 2012*, 1–6.
 42. Samia, T. (2015). Étude comparative entre l'activité insecticide des huiles essentielles extraites à partir de deux espèces de la famille des Astéracées récoltées dans la région de Makouda et l'activité insecticide d'un pesticide organique de synthèse sur le ravageur second, Département des sciences agronomiques, Algérie, 78p.
 43. Sheikh-Ali, S. I., Ahmad, A., Mohd-Setapar, S. H., Zakaria, Z. A., Abdul-Talib, N., Khamis, A. K., & Hoque, M. E. (2014). The potential hazards of *Aspergillus spp.* in foods and feeds, and the role of biological treatment. *Journal of Microbiology, 52*(10), 807–818.
 44. Soni, R., Sharma, G., & Jasuja, N. D. (2016). Essential oil yield pattern and antibacterial and insecticidal activities of *Trachyspermum ammi* and *Myristica fragrans*. *Research, 2016*, 1-7.