



Composition en mycobiota et mycotoxines de type aflatoxines et ochratoxine A de quelques épices dans la région centrale du Maroc. Mycobiota composition and mycotoxins aflatoxin and ochratoxin A type of some spices in the central region of Morocco.

H. Houmairi*, M. Hicham

Univ.Hassan Premier, Laboratoire d'AgroAlimentaire et Santé. Faculté des Sciences et Techniques, Département de Biologie Appliquée, Km 3, Route de Casa, BP : 577, Settat 26000, Maroc.

Received 16 February 2014; Revised 15 January 2015; Accepted 20 January 2015.

*Corresponding Author. E-mail: hafsahoumairi@gmail.com; Tel: (+212 06 70 38 88 57)

Abstract

A total of 20 samples of spices were examined for their contamination with molds and mycotoxins, particularly aflatoxins (AFT) and Ochratoxin A (OTA). Using standard mycologic method we obtained an average population number of $4,9.10^4$ CFU.g⁻¹. Eleven fungal genera were detected, mostly represented by *Aspergillus* (35%), *Rhizopus* sp (31%), *Penicillium* (9%), *Eurotium* (8%) and *Fusarium* (6%). The dominant species of *Aspergillus* were *A. flavus* (35,6%), *A. ochraceus* (32,8%) and *A. niger* (20%), while the genus *Penicillium* was represented mostly by *P. citreonigrum* (54%). The presence of aflatoxins and ochratoxin A was determined by HPLC with fluorescence detector after immunoaffinity column clean-up. They were detected in eight samples (80% of incidence) at an average range from 0.12 to 10.37 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$. The higher level of contamination was found in paprika. The OTA values ranged between 0.46 and 147.33 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$, respectively in cumin and black pepper. In the present we reported for the first time the natural co-occurrence of AFT and OTA in spices in Morocco.

Key words: molds, mycotoxins, spices, occurrence, Morocco.

Résumé

Un total de 20 échantillons d'épices ont été examinés pour la contamination en mycobiota et en mycotoxines de type aflatoxines (AFT) et ochratoxine A (OTA). Les résultats de l'analyse ont montré un nombre moyen de moisissures de $4,9.10^4$ UFC.g⁻¹. Onze genres fongiques de différents groupes taxonomiques ont été détectés. Les genres qui ont été les plus représentés sont *Aspergillus* (35%), *Rhizopus* (31%), *Penicillium* (9%), *Eurotium* (8%) et *Fusarium* (6%). Les espèces dominantes dans le genre *Aspergillus* sont *A.flavus* (35,6 %), *A.ochraceus* (32,8 %) et *A. niger* (20 %), tandis que dans le genre *Penicillium* c'est *P.citreonigrum* qui était la plus fréquemment isolée (54 %). La présence d'AFT et d'OTA a été déterminée par HPLC associée à un détecteur à fluorescence après purification sur colonne d'immunoaffinité. L'incidence de contamination par l'AFT a été de 80% et varie de 0,12 à 10,37 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Le niveau de contamination le plus élevé a été trouvé sur le piment doux. Le taux de contamination par l'OTA a été de 0,46 et 147,33 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, respectivement pour le cumin et le poivre noir. Le présent travail signal pour la première fois la présence simultanée d'AFT et d'OTA sur les épices au Maroc.

Mots clés : moisissures, mycotoxines, épices, co-occurrence, Maroc.

Introduction

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires des moisissures qui sont produites dans des conditions suboptimales de leur développement. Ces molécules sont parmi les contaminants naturels qui ont suscitées un grand intérêt scientifique du fait de leur présence dans tous les aliments et de leurs effets néfastes aussi bien sur le plan sanitaire et nutritionnel que sur les échanges commerciaux à travers le monde. Pour cela, elles posent un vrai problème de sécurité sanitaire des aliments au niveau mondial [1]. La contamination par les mycotoxines affecte aussi bien des produits naturels que transformés tels que les céréales, les oléagineuses, les fruits secs, les produits d'origine animale, le café, les plantes médicinales, aromatiques ou les épices [2-9, 11]. En dépit de la faible teneur en eau des épices, elles constituent une cible non négligeable pour les moisissures de type xérophiles de la famille des Moniliacées. Plusieurs espèces du genre *Aspergillus* et *Penicillium* peuvent

être toxigènes, contribuant ainsi à la contamination des épices par des mycotoxines dont les plus fréquemment recherchées sont les Aflatoxines (AFT) et l'Ochratoxine A (OTA) [1, 12-18]. Leurs effets carcinogènes, mutagènes, tératogènes et immunosuppresseurs ont été confirmés par plusieurs auteurs [19, 20]. Il est bien établi que Les AFT (B1, B2, G1 et G2) sont hépatocarcinogènes groupe I [19-22], produites principalement par *A.flavus*, *A.parasiticus*, *P.chrysogenum* et *A.nomius* sur divers substrats et dans différentes régions du monde [23]. Par contre, l'OTA est produite principalement par des espèces du genre *Aspergillus* dans les régions chaudes essentiellement par *A.ochraceus* mais aussi par *A.niger* et *A.carbonarius* alors que dans les régions froides ce sont des espèces du genre *Penicillium* comme *P.viridicatum* ou *P. verrucosum* qui produisent cette mycotoxine [23, 24]. L'OTA est classée carcinogène groupe II [21, 22]. Elle est surtout étudiée pour ses effets néphrotoxiques et carcinogènes et est souvent détectée dans les fluides biologiques à travers le monde [19, 25-33].

Au Maroc, une probable exposition de la population à l'OTA a déjà été reportée [34]. L'incidence et le taux de contamination des épices par l'AFT, ont varié de 57 à 100% et de 0,05 à 5,23 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$, respectivement [3, 10]. Pour l'OTA, il n'existe pas de données bibliographiques quant à sa prévalence sur les épices au Maroc.

Les limites tolérables d'AFT dans les épices sont fixées par la Commission Européenne à 5 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ pour l'AFTB1 et à 10 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ pour les aflatoxines totales (AFTB1, AFTB2, AFTG1 et AFTG2) alors que pour l'Ochratoxine A, cette limite est fixée à 15 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ depuis le 1 juillet 2012 [35].

L'objectif de ce travail est d'étudier la composition en mycobiotas et en mycotoxines de type AFT et OTA, d'une vingtaine d'échantillons d'épices, parmi les plus utilisés en cuisine Marocaine.

2. Materials and methods

2.1. Echantillonnage :

Vingt échantillons de dix épices différentes en poudre, non emballées, vendues au détail, ont été achetées au marché local de la ville de Settat, ville de la région centrale du Maroc, à deux points de vente différents à raison de 100 g par échantillon. Les épices choisies pour cette étude sont parmi les plus utilisées en cuisine Marocaine, il s'agit de l'Anis vert (*Pimpinella anisum*), la Cannelle (*Cassia senna*), la Coriandre (*Coriandrum sativum*), le cumin (*Cuminum cyminum*), le curcuma (*Curcuma longa*), le gingembre (*Zingiber officinalis*), le laurier noble (*Laurus nobilis*), le piment doux (*Capsicum annum*), le piment fort (*Capsicum frutescens*) et du poivre noir (*Piper nigrum*). Ces épices sont commercialisées en vrac sans aucune spécification quand à l'origine de leur production.

2.2. Détermination du taux d'humidité (TH):

A partir de chaque échantillon un sous échantillon de dix grammes est pesé constituant le poids frais (PF) puis mis à l'étuve à 50°C pendant trente six heures puis pesé de nouveau après refroidissement dans un dessiccateur constituant ainsi le poids sec (PS). Le taux d'humidité (H) de chaque échantillon est défini par la formule : $H\% = 100 \times (PF - PS) / PS$.

2.3. Isolement et identification des mycobiotas:

Les dilutions 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3} ont été préparées par addition de 10g d'échantillon à 90 ml d'une solution d'eau peptonnée stérile à 0,1%. Ensuite, 0,1ml de chaque dilution ont étéensemencés sur un milieu de culture DG18 (Dichloran Chloramphénicol Agar) à raison de deux boîtes de Pétri par dilution puis incubées à 25°C. Le dénombrement a été réalisé à partir du troisième jour d'incubation en évaluant le nombre d'unité formant colonie par gramme d'épice (UFC.g⁻¹) pendant une semaine. Le repiquage des souches a été fait sur milieu PDA au Chloramphénicol pendant 7 jours à 25°C. L'identification macroscopique et microscopique comme les spores et les structures reproductrices ont été réalisés en se basant sur une clé d'identification des moisissures [36].

2.4. Analyse en mycotoxines : Aflatoxines et Ochratoxine A

L'appareil utilisé est de type COBRA-CELL, équipé par un injecteur automatique d'échantillon, une pompe HPLC capable de maintenir un flux déterminé de la phase mobile, un détecteur UV, un détecteur fluorimétrique, une colonne Sphérisorbe ODS2 et un intégrateur où les chromatogrammes sont récupérés. Avec un système de dérivation à base de brome qui se fait au niveau d'une cellule qui s'excite au passage d'un courant électrique de 100 μA .

Pour les AFT, l'extraction est faite à partir de 25g d'échantillon additionné de 5g de chlorure de sodium : NaCl dans 125ml d'un mélange méthanol:eau (70:30 v/v). Après broyage (à l'ultrathurax pendant 1mn), décantation pendant 3mn et filtration à travers un papier filtre Wathman n°4), 10ml du filtrat sont ajoutés à 40ml de tampon phosphate salin. La purification est réalisée sur colonne d'immunoaffinité. L'éluion des Aflatoxines est faite en passant 1ml d'acide acétique à 2% dans le méthanol et 1ml d'acide acétique à 2%. Un volume de 2ml de cette solution est récupéré dans un Vial en vue de l'analyse par HPLC sur colonne C-18 (25cm de longueur et 4mm de diamètre total et 5 μm de diamètre interne). La phase mobile est un mélange eau/méthanol/acétonitrile (3/1/1 : v/v/v), le débit est de 0,75ml/mn, le volume d'injection de 10 μl , la détection est faite à $\lambda = 360\text{nm}$ d'excitation et $\lambda = 440\text{nm}$ émission.

Pour l'OTA, 20g d'échantillon d'épice est broyé dans 100 ml de méthanol bicarbonaté à 70% broyé à l'ultrathurax. Le volume de purification est de 5ml complété à 50ml par le tampon PBS. L'éluion est faite par 2ml d'acide acétique à 2% dans le méthanol et 1ml d'eau. L'analyse est effectuée sur un volume de 2ml récupéré dans un Vial pour HPLC. La colonne est de type C-18 (25cm de long et 4mm de diamètre total et 5µm de diamètre interne). L'éluion est faite par un mélange (acétonitrile / eau / acide acétique) (49,5/49,5/1), le débit est de 0,75 ml/mn, le volume d'injection de 100µl. La détection à $\lambda = 333$ nm d'excitation et $\lambda = 443$ nm d'émission.

Les solutions standards pour l'AFB1, B2, G1 et G2 ainsi que l'OTA ont été préparées au préalable et leurs caractéristiques sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Caractéristiques des solutions standards d'Aflatoxines et Ochratoxine A

Standard		Concentration en µg.L	Temps de rétention en mn.
Aflatoxines	B1	4	20,73
	B2	1	17,08
	G1	4	14,61
	G2	1	12,22
Ochratoxine A		19,7	11,54

3. Résultats et discussion:

3.1. Le taux d'humidité :

Le taux d'humidité des différentes épices a varié de 2,6 à 11,7 % (Tableau 2). Le taux le plus élevé a été observé au niveau du poivre noir, piment fort, curcuma, gingembre et cumin. Le taux moyen calculé pour toutes ces épices a été de 7,5 %. Il faut aussi noter que ces épices ont été achetées sans aucun emballage préalable, au mois de Mai, saison ensoleillée généralement et où l'humidité de l'air était assez faible dans la région centrale du Maroc. Le taux d'humidité calculé pour les épices étudiées est relativement très bas et se situe dans l'intervalle acceptable par certains organismes comme l'ESA (Association Européennes des Epices). Ceci laisse supposer que la contamination des épices, par les moisissures et les mycotoxines, a lieu lors des étapes qui précèdent leur commercialisation surtout pour les épices qui sont produites sous climat tropicale. Il faut aussi noter que ces épices ont été achetées sans aucun emballage préalable, au mois de Mai, saison ensoleillée, généralement, où l'humidité de l'air est assez faible dans la région centrale du Maroc. En effet, l'humidité et la température sont des facteurs déterminants pour la prolifération des moisissures avec une éventuelle production des mycotoxines comme l'AFT ou l'OTA [11, 15, 16, 37, 39].

Tableau 2 : Tableau récapitulatif des valeurs moyennes du taux d'humidité et du nombre d'UFC.g⁻¹ d'épice.

	Taux d'humidité moyen (H%)	1000 UFC.g ⁻¹ d'épice
<i>Anis vert</i>	4,35	8
<i>Cannelle</i>	5,41	3,91
<i>Coriandre</i>	2,59	0,51
<i>Cumin</i>	8,77	19,5
<i>Curcuma</i>	11,73	108
<i>Gingembre</i>	10,53	51,25
<i>Laurier noble</i>	4,21	6
<i>Piment doux</i>	4,21	11
<i>Piment fort</i>	11,73	272,5
<i>Poivre noir</i>	11,73	10
<i>Moyenne</i>	7,53	49,06

3.2. Analyse en mycobiota :

L'incidence de contamination fongique des épices a été de 100%. Le nombre moyen de propogule a varié de 5.10² UFC.g⁻¹ à 273.10³ UFC.g⁻¹ (Tableau 2). Le piment fort, le curcuma, le gingembre, le cumin, le piment doux et le poivre noir étaient les plus contaminés avec des valeurs respectives de 273 ; 108 ; 51 ; 19 ; 11 et 10 x10³ UFC.g⁻¹. L'identification des espèces fongiques a permis d'isoler un nombre moyen de 1539 isolats représentant 31 espèces différentes (Tableau 3).

Tableau 3 : Fréquence relatives des souches de mycobiota isolées et identifiées sur les différentes épices.

	Anis Vert N=2	Cannelle N=2	Cumin N=2	Coriandre N=2	Curcuma N=2	Gingembre N=2	Laurier N=2	Piment doux N=2	Piment Fort N=2	Poivre Noir N=2	Nombre de présence	Fréquence (%)
<i>A.flavipes</i>			4								4	0,3
<i>A.flavus</i>			16		55			5	64	52	192	12,5
<i>A.fumigatus</i>			8					15			23	1,5
<i>A.nidulans</i>								5			5	0,3
<i>A.niger</i>					6		8		92	2	108	7,0
<i>A.ochraceus</i>			49	5	14				26	83	177	11,5
<i>A.oryzae</i>	6		9		1						16	1,0
<i>A.parasiticus</i>					1			10	1		12	0,8
<i>A.penicilliodes</i>					1			1			2	0,1
<i>A.terreus</i>					1						1	0,1
<i>Beauvaria alba</i>		6									6	0,4
<i>Chrysosporium</i>								10			10	0,7
<i>Cladosporium</i>					2	7		5		5	19	1,2
<i>Epicoccum</i>						5					5	0,3
<i>Eurotium herbariorum</i>			40		39						79	7,7
<i>Fusarium demecellular</i>								15			15	0,9
<i>F.moniliforme</i>	18					21			3	15	57	3,7
<i>F.oxysporum</i>			6	1					2		9	0,6
<i>F.solani</i>									8		8	0,5
Levures NI	24	5	1				76	20	4		130	11,8
<i>Monascus acetoabutans</i>		2	23								25	1,6
<i>Monascus ruber</i>				27							27	1,8
<i>Penicillium chrysogenum</i>									1		1	0,1
<i>P.citreonigrum</i>	38						35				73	4,7
<i>P.cyclopium</i>								5			5	0,3
<i>P.expansum</i>							19	10			29	1,9
<i>P.fellellatum</i>						7				10	17	1,1
<i>P.brevicompactum</i>							8				8	0,5
<i>P.simplissimum</i>					2						2	0,1
<i>Rhizopus sp</i>	15	250	7		4	133		15	50		474	30,8
Nombre total	101	263	163	33	126	173	146	116	251	167	1539	100

NI : non identifiés.

Les genres qui ont été les plus représentés sont *Aspergillus* (35 %), *Rhizopus sp* (31%), *Penicillium* (9%), *Eurotium* (8%) et le genre *Fusarium* (6%). Les espèces dominantes dans le genre *Aspergillus* étaient *A.flavus* (35,6%), *A.ochraceus* (32,8%) et *A.niger* (20%), alors que dans le genre *Penicillium* c'était l'espèce *P.citreonigrum* qui était la plus fréquemment isolée (54%). Il faut aussi noter que c'est dans le genre *Aspergillus* que la diversité spécifique était la plus élevée (dix espèces différentes) suivi par le genre *Penicillium* (sept espèces) et par le genre *Fusarium* (quatre espèces). D'autres genres ont été moins représentés comme le genre *Monascus*, *Beauvaria*, *Chladosporium*, *Chrysosporium* ou *Epicoccum*. D'autre part, les isolats de levures n'ont pas été identifiés.

Les épices étudiées ont montré une charge moyenne assez importante en moisissures ($4,9.10^4$ UFC.g⁻¹) qui s'approche des valeurs reportées par d'autres auteurs pour les épices [1]. La prédominance des genres

telluriques comme *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, ou *Rhizopus* avec d'autres genres moins fréquents telles que *Cladosporium* ou *Epicoccum* dans les échantillons d'épices, comme la coriandre, le cumin, le curcuma, le poivre noir, la cannelle ou le piment a été reportée par plusieurs auteurs [1, 16, 40, 41]. Plusieurs travaux ont souligné que les espèces qui affectent les épices sont des xérophiles de stockage comme *Aspergillus sp* et *Penicillium sp* ou des contaminants de pré récolte comme *Fusarium* [23, 42]. Ils constituent un groupe de moisissures confinées normalement au sol mais qui se retrouvent sur les épices dans des conditions hygiéniques précaires en relation avec les procédures de récolte, séchage, stockage et de transport des épices selon qu'elles aient subies ou non des traitements préventifs [43, 44].

Les échantillons d'épices les plus contaminés à savoir le poivre noir, le piment fort, le curcuma, le gingembre et le cumin sont aussi ceux qui ont présenté le taux d'humidité le plus élevés (11,7 %) et sont aussi ceux qui ont montré une contamination en mycotoxines. Mais cette relation n'est pas toujours évidente puisqu'il existe des facteurs intrinsèques (constituants de chaque espèce de plante) et d'autres extrinsèques (conditions environnementales et géographiques) qui conditionnent la production de mycotoxines [8, 40].

3.3. Analyse en mycotoxines :

Les analyses en AF et OTA récupérées sous forme de chromatogrammes ont permis de calculer la concentration de ces mycotoxines dans les échantillons positifs d'épices en $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Les figures 1, 2, 3 et 4 représentent les chromatogrammes des solutions standards et ceux d'une épice comme le piment doux ou le piment fort. L'ensemble des résultats de cette analyse ont été résumés dans le tableau 4.

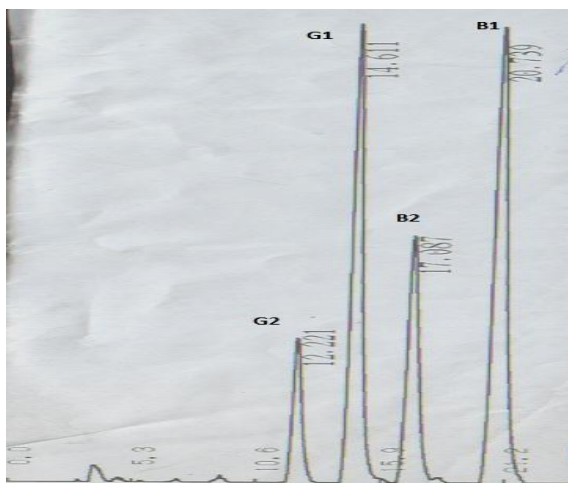


Figure 1 : Chromatogramme des solutions standards d'AFT, les pics respectifs sont, de gauche à droite, ceux des aflatoxines : G2, G1, B2 et B1.

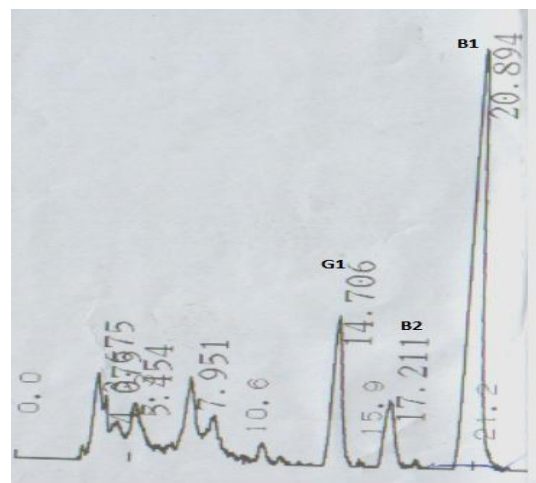


Figure 2 : Chromatogramme de l'analyse en AFT d'un échantillon de piment doux montrant trois pics, de gauche à droite, correspondant aux aflatoxines G1, B2 et B1.

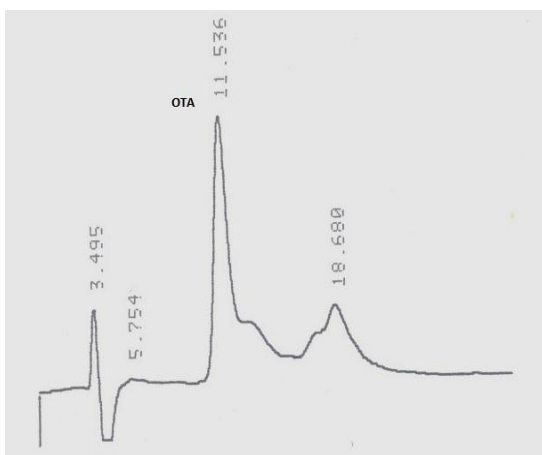


Figure 3 : Chromatogramme de la solution standard de l'ochratoxine A.

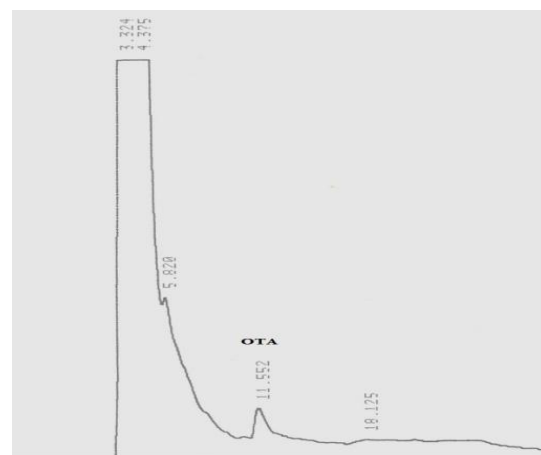


Figure 4 : Chromatogramme d'analyse d'ochratoxine A dans un échantillon de piment fort.

Tableau 4 : Concentration en Aflatoxines AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, AFT et en OTA exprimée en $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ au niveau des différentes épices analysées.

	AFB1 (N=2)	AFB2 (N=2)	AFG1 (N=2)	AFG2 (N=2)	AFT (N=2)	OTA (N=1)
<i>Anis vert</i>	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	-
<i>Cannelle</i>	<LD	<LD	<LD	0,12	0,12	-
<i>Coriandre</i>	0,26	<LD	<LD	<LD	0,26	-
<i>Cumin</i>	0,67	0,02	0,39	>LD	1,08	0,46
<i>Curcuma</i>	0,92	0,09	<LD	<LD	1,01	25,95
<i>Gingembre</i>	0,45	<LD	<LD	<LD	0,45	-
<i>Laurier noble</i>	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	-
<i>Piment doux</i>	10,03	0,06	0,28	<LD	10,37	-
<i>Piment fort</i>	<LD	0,7	1,04	<LD	1,74	4,37
<i>Poivre noir</i>	0,14	<LD	LD	0,38	0,52	147,33

<LD : inférieur à la limite de détection, N : nombre d'échantillons analysés.

L'incidence de la contamination en Aflatoxines totales est de 80% et la concentration maximale moyenne a été observée sur le piment doux ($10,37 \mu\text{g.Kg}^{-1}$) suivie du piment fort ($1,74 \mu\text{g.Kg}^{-1}$), le cumin ($1,08 \mu\text{g.Kg}^{-1}$), le curcuma ($1,01 \mu\text{g.Kg}^{-1}$), le gingembre ($0,45 \mu\text{g.Kg}^{-1}$), la coriandre ($0,26 \mu\text{g.Kg}^{-1}$) et la cannelle ($0,12 \mu\text{g.Kg}^{-1}$). Le piment doux a présenté une concentration maximale en AFT ($10,37 \mu\text{g.Kg}^{-1}$) due essentiellement à l'AFTB1 ($10,03 \mu\text{g.Kg}^{-1}$) alors qu'au niveau du piment fort cette concentration était de $1,74 \mu\text{g.Kg}^{-1}$. Ces constatations sont en concordance avec les résultats obtenus par d'autres auteurs qui ont travaillé sur des échantillons plus nombreux de piment doux ou fort (chilli, paprika) dans plusieurs régions du monde et qui ont constaté une contamination importante en Aflatoxines, essentiellement l'FTB1 [6, 8, 10, 45-48]. Au Maroc, la contamination des épices par des isolats toxigènes d'*A. flavus*, sur le curcuma et le poivre noir a déjà été reportée [49]. Le piment doux a montré une contamination plus importante que le piment fort, ce résultat est expliqué par la présence de capsaïcine au niveau du piment fort et qui serait à l'origine d'une diminution de la production d'AFT par rapport au piment doux [44].

Les autres épices ont présenté un niveau de contamination bien en dessous des limites tolérables adoptées par l'Union Européenne, à titre d'exemple, et qui est de $10 \mu\text{g/kg}$. Il faut aussi noter qu'il n'y a pas eu de détection d'AFT au niveau de l'anis vert ou du laurier noble. Ce résultat pourrait être lié à certaines propriétés (antibactériennes et antifongiques) de ces plantes. En effet, les plantes aromatiques ou médicinales seraient inhibitrices ou du moins diminueraient la formation des mycotoxines de type AFT en dépit d'une importante contamination par des moisissures comme *A. flavus* [41] (Abou-Arab et al., 1999). Ceci est probablement dû aux propriétés de leurs huiles essentielles et ou à des facteurs intrinsèques propres à l'espèce [8, 40].

Pour l'ochratoxine A, l'incidence de contamination a été de 100 % pour les quatre épices analysées, à savoir le poivre noir, le piment fort, le curcuma, et le cumin. La concentration respectueuse en OTA au niveau de ces épices a été de 147,33; 25,95; 4,37 et $0,46 \mu\text{g.Kg}^{-1}$. Ces mêmes épices ont montré une contamination naturelle simultanée en AFT et en OTA (tableau 3).

La concentration moyenne de ces quatre épices en OTA est de $44,53 \mu\text{g.Kg}^{-1}$. Cette valeur est au delà des concentrations trouvées par [14]. Elle dépasse aussi la limite tolérable fixée par l'UE, à titre d'exemple, et qui est de $15 \mu\text{g/kg}^{-1}$ [35]. En général, il a été reporté que les épices à forte contamination en mycotoxines sont souvent produites sous climat tropical comme le poivre noir ou qui subissent certaines conditions qui augmentent la probabilité de leur contamination par des moisissures et ou par des mycotoxines [43].

Trois épices dont le curcuma, le piment fort et le poivre noir ont montré une contamination à la fois en AFT et en OTA. La présence concomitante de plus d'une mycotoxine sur le même substrat a été souvent mise en évidence [5, 10, 15, 44, 49]. En effet, les espèces du genre *Aspergillus* sont susceptibles de produire une multitude de mycotoxines dont les AFT et l'OTA sur les épices en général et particulièrement sur paprika ou chilli [1, 12, 24, 45, 47].

Conclusion

Cette étude a porté sur vingt échantillons d'épices parmi les plus utilisées au Maroc. Les résultats de l'analyse en mycobiota ont montré une charge moyenne de $4,9.10^4 \text{UFC.g}^{-1}$ dominée essentiellement par plusieurs espèces du genre *Aspergillus* dont les plus fréquemment isolées étaient *A. flavus* (35,6%), *A. ochraceus* (32,8%) et *A. niger* (20%).

A part l'anis vert et le laurier noble, toutes les épices étaient contaminées au moins par des traces d'AFT. Le piment doux a montré une contamination moyenne de $10,37 \mu\text{g.Kg}^{-1}$, concentration qui dépasse légèrement la limite fixée par la norme européenne ($10 \mu\text{g.Kg}^{-1}$). Le poivre noir et le curcuma ont présenté des concentrations maximales respectives de $147,33 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ et $25,95 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ en OTA. Ces valeurs sont bien au dessus des limites tolérables pour les épices ($15 \mu\text{g.Kg}^{-1}$) [35]. Pour le reste des épices la concentration en AFT a varié de $0,12 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ à $1,74 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ et celle de l'OTA a varié de $0,46 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ à $4,37 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ et toutes ces valeurs sont en dessous des normes précitées.

Il est certain que les épices puissent contribuer directement, avec d'autres aliments, à la contamination journalière du consommateur par plus d'une mycotoxine entre autres les AFT et l'OTA même à l'état de traces. Les effets cytotoxiques et génotoxiques seuls ou combinés de ces molécules ont été démontrés par plusieurs études [50]. Ces dernières sont omniprésentes au moins à deux repas par jour, à des doses relativement élevées pour plusieurs plats traditionnels ou modernes et au niveau d'aliments industrialisés. En tenant compte des effets de cumule et de synergie de ces molécules dans l'organisme, il est essentiel que des moyens préventifs tels que le choix d'épices de bonne qualité à l'achat et leur bonne conservation dans des conditions de température et d'humidité convenables fassent l'objet d'une stratégie générale pour la protection du consommateur. Dans les analyses de contrôle des épices c'est l'AFT qui est recherchée systématiquement mais il faut aussi chercher l'OTA dont les résultats de recherche ont montré qu'elle peut être plus importante en incidence et en concentration.

Remerciements-Nous remercions le personnel de la section agricole, service mycotoxines, du Laboratoire d'Analyse et de Recherches chimiques de Casablanca pour avoir réalisé l'analyse en mycotoxines des échantillons d'épices. Nous remercions aussi les étudiantes stagiaires qui ont participé à cette opération : Ilham Fejoui et Houda Talbi.

Références

1. Kumar V., Basu M.S., Rajendran T.P., *Crop Protection*, 27 (2008) 891-950.
2. Iacumin L., Chiesa L., Boscolo D., Manzano M., Cantoni C., Orlic S., Comi G., *Food Microbiology* 26 (2009) 65-70.
3. Zinedine A, Mañes J., *Food Control* 20 (2009) 334-344.
4. Cho S.H., Hee Lee C., Jang M.R., Wook Son Y., Lee S.M., Choi I.S., Kim S.H., Kim D.B., *Food chemistry*, 107 (2008) 1283-1288.
5. Gonçalves E., Juliana H.C.Nogueira, Fonseca H., Felicio J.D., Pino F.A., Corrêa B., *International journal of Food Microbiology*, 123 (2008) 184-190.
6. Musaijer O., AL-Jedah J.H., D'souza R., *Food Control*, 19 (2008) 854-861.
7. Aydin A., Erkan M., Baskaya R., & Ciftcioglu G., *Food control*, 18 (2007) 1015-1019.
8. Romagnoli B., Menna V., Gruppioni N., Bergamini C., *Food Control*, 18 (2007) 697-701.
9. Colak H., Bingol E.B., Hampikyan H., Nazli B., *Journal of Food and Drug Analysis*, 14, 3 (2006) 292-296.
10. Zinedine A., Brera, C., Elakhdari S., Catano C., Debegnach F., Angelini S., De Santis B., Faid M., Benlemlih M., Minardi V., Miraglia M., *Food Control*, 17 (2006) 868-874.
11. Pardo E., Marin S., Ramos A.J., Sanchis V., *Journal of food protection*, 68 (2005) 133-138.
12. Jalili M., Jinap S., *Food Control*, 24 (2012) 160-164.
13. Chung S.W.C., Kwong K.P., Tang A.S.P., Samuel T.K.Y., *Journal of Food Composition and Analysis*, 22 (2009) 756-761.
14. Ghali R. K., Hmaissia-khlifa H., Ghorbel K., Maaroufi A., Hedili A., *Food Control*, 20 (2009) 716-720.
15. Hernandez J.M., Garcia R.J., Rodriguez P., Toruño I.V., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (2008) 751-756.
16. Almela L., Virginia R., Sánchez B., Torrella F., Perez J.P.L., Gabaldon J.A., Guardiola L., *Food Microbiology*, 24 (2007) 319-327.
17. Elshafie A.E., Al-Rashdi T.A., Al-Bahry S.N., Bakheit C.S., *Mycopathologia*, 155 (3) (2002) 155-160
18. Martins M.L., Martins H.M., & Bernardo F., *Food Additives and contaminants*, 18(4) (2001) 315-319.
19. Pfohl-Leskowicz A., Manderville R.A., *Molecular Nutrition & Food Research*, 51 (2007) 61-99.
20. Creppy E.E., *Toxicol. Lett.* 127 (2002) 19-28.
21. *International Agency for Research on Cancer (IARC)*, Ochratoxin A. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans 56 (1993) 489-521.
22. *International Agency for Research on Cancer-IARC*, IARC monographs, 1-73 (1999) 1-36.
23. Pfohl-Leskowicz A., 1999. Les mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque. *Edition Tec & Doc*.
24. Pardo E., Sanchis V., Ramos A.J., Marin S., *Food Microbiology*, 23 (2006) 351-358.
25. Khlifa H., Ghali R., Mazigh C., Aouni Z., Machgoul S., Hedili A., *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64 (2012) 509-512.
26. Coronel M.B., Marin S., Tarragó M., Cano-Sancho G., Ramos A.J., Sanchis V., *Food and Chemical Toxicology*, 49 (2011) 1436-1442.

27. Zaied C., Bouaziz C., Azizi I., *Experimental and toxicologic pathology*, 63 (2011) 613–618.
28. Tigori B.S., Moukha S., Kouadio J.H., Dano D., Betbeder A.M., Achour A., Creppy E., *Toxicon*, 47 (2006) 894–900.
29. Hassen W., Abid S., Achour A., Creppy E., Bacha H., *Toxicology*, 199 (2004) 185–193.
30. Grosso F., Saïd S., Mabrouk I., Fremy J.M., Castegnaro, Jemmali M., Dragacci S., *Food and Chemical Toxicology*, 41 (2003) 1133–1140.
31. Pfohl-Leszkowicz A., Petkova-Bocharova T., Chernosemsky I. N., & Castegnaro, M., *Food additives and contaminants*, 19 (3) (2002) 282-302.
32. Wafa E.W., Yahya R.S., Sobh M.A., Eraky I., Elbaz M., El-Gayar H.A.M., et al., *Human and experimental toxicology*, 17 (1998) ,124-129.
33. Maaroufi K., Achour A., Betbeder A.M., Hammami M., Ellouz F., Creppy E. E., et al., *Archives of Toxicology*, 69 (1995) 552-558.
34. Filali A., Betbeder A.-M., Beaudrimont I., Benayada A., Soulaïmani R. & Creppy E.E., *Human and Experimental Toxicology*, 21 (2002) 241-235.
35. Règlement Union Européenne, 2010. *Journal officiel* n° L035, 0007- 0008.
36. Pitt J. I., Hocking A. D. Fungi and food spoilage third edition (2009), *Springer* ISBN 978-0-387-92206-5.
37. Marin S., Colom C., Sanchis V., Ramos A.J., *International journal of Food Microbiology*, 128 (2009), 491-496.
38. Esteban A., Abarca M.L., Bragulat M.R., Cabañes F.J., *International Journal of Food Microbiology*, 108 (2006) 188–195.
39. Cabrera H.P., Marta H., Taniwaki H., Menezes C., Iamanak B.T., *Food Control* 15 (2004) 531–535.
40. Erdogan A., *Chemosphere*, 56 (2004) 321-325.
41. Abou-Arab A.A.K. , Soliman A.K., EL Tantawy M.E., Ismail B.R., Khayria N., *Food Chemistry*, 67 (1999) 357-363.
42. Sweeney M.J. et Dobson A.D.W., *International Journal of Food Microbiology*, 43 (1998) 141-158.
43. Abou Donia M.A., *Global veterinaria*, 2 (4) (2008), 175-181.
44. Schweiggert R. C. and Schieber A., *Trends in Food & Technology*, 18 (2007) 260-268.
45. Santos L., Marín S., Sanchis V., Ramos A.J., *Food Chemistry*, 122 (2010) 826–830.
46. Shundo L., de Almeida A.P., Alaburda J., Lamardo L.C.A., Navas , S.A., Ruvieri V., Sabino M., *Food Control*, 20 (2009) 1099–1102.
47. Abdulkadar A.H.W., Al-Ali A.A., Al-Kildi A.M., Al-Jedah J.H., *Food Control* 15 (2004) 543–548.
48. Bartine, H., & Tantaoui-Elaraki, A.J., *Environnemental Pathology, Toxicology and Oncology*, 16 (1997) 61-65.
49. Ghali R., Hmaïssia-khlifa K., Ghorbel H., Maaroufi K., Hedili A., *Food Control*, 19 (2008) 921–924.
50. Golli-Bennour E., Kouidhi B., Bouslimi A., Abid-Essefi S., Hassen W., Bacha H., *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 24 (2010) 42–50.

(2015) ; <http://www.jmaterenvirosnci.com/>