



THÈSE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat 3^{ème} cycle LMD

Filière : Sciences alimentaires

Spécialité : Management des risques alimentaires

Thème

Niveaux des mycotoxines dans les aliments traditionnels en Algérie, évaluation des apports alimentaires et développement d'un emballage actif antifongique pour application

Présentée par

M. BELASLI Azem

Devant le jury composé de :

Mme MEGUENNI Nassima	MCA	U. Tizi Ouzou	Présidente
M. DJENANE Djamel	Pr.	U. Tizi Ouzou	Directeur
M. ARIÑO Agustín	Pr.	U. Saragosse, Espagne	Co-directeur
M. BOUACEM Khelifa	MCA	U. Tizi Ouzou	Examineur
Mme BENAHMED-DJILALI Adiba	Pr.	U. Tizi Ouzou	Examinatrice
Mme OUDIR Malha	MCA	E.S.S.A.I.A, Alger	Examinatrice

Année universitaire (2024-2025)

Reconnaissance et remerciements

Toute la louange est à Dieu Qui, grâce à Ses bienfaits, toutes les difficultés sont dissipées et toutes les facilités sont réunies pour accomplir ce travail.

« Ne remercie pas Dieu celui qui ne remercie pas les gens ». Tout d'abord, je souhaite remercier mes parents et mes frères et sœurs, auxquels ma profonde gratitude et ma reconnaissance restent largement insuffisantes pour témoigner de leurs sacrifices et de leur soutien inconditionnel et indéfectible.

Je remercie également M. DJENANE Djamel, mon directeur de thèse, de m'avoir orienté vers cette thématique, et je tiens à lui exprimer ma sincère reconnaissance pour sa confiance et sa patience.

Je tiens à remercier mon codirecteur M. ARIÑO Agustín de m'avoir accueilli dans son laboratoire et avoir supervisé la première partie de ce travail, je lui suis très reconnaissant pour sa bienveillance et sa contribution considérable à la finalisation de cette partie.

De même, je tiens à remercier Mme HERRERA Marta pour sa disponibilité et son aide précieuse pour l'accomplissement de la première partie.

Je souhaite aussi exprimer ma sincère gratitude à Mme NERÍN Cristina pour sa bienveillance et son accompagnement durant mon stage au sein de son laboratoire pour la réalisation de la partie sur l'emballage actif.

Mes vifs remerciements s'adressent également à Mme SILVA Filomena pour m'avoir accueillie dans son équipe et je lui suis très reconnaissante pour ses conseils et sa contribution considérable à la réussite de mon travail dans son laboratoire.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude à Mme BECERRIL Raquel pour son attention, sa serviabilité et ses précieux conseils.

Je souhaite remercier chaleureusement Mme AGUERRI Laura pour sa bienveillance, sa disponibilité et son aide précieuse.

Mes sincères remerciements vont également à Mme AIT OUHIOUNE Lidia pour ses conseils et son soutien précieux.

J'adresse mes remerciements aux membres du jury :

Mme MEGUENNI Nassima pour avoir accepté de présider le jury

M. BOUACEM Khelifa, Mme BENAHMED-DJILALI Adiba et Mme OUDIR Malha qui m'ont fait l'honneur d'accepter d'examiner cette thèse

En fin, je tiens à exprimer mes remerciements et ma gratitude à toutes les personnes qui ont investi leur temps, leurs efforts ou leurs ressources pour réaliser ce travail et développer mes connaissances. Et je prie Dieu de les préserver de tout mal et de leur apporter facilité devant toute difficulté.

Résumé

Les micromycètes filamenteux et leurs mycotoxines constituent une préoccupation majeure pour la sécurité des aliments, car ils peuvent causer de graves problèmes de santé pour les consommateurs et entraîner des pertes économiques considérables. Dans la première partie de ce travail, les niveaux de contamination par les mycotoxines dans certains aliments commercialisés en Algérie ont été évalués, avant de procéder à l'estimation de l'exposition des consommateurs et à l'évaluation du risque pour leur santé. Dans la deuxième partie, les propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle (HE) de *Thymus numidicus* et de ses principaux composés ont été étudiées, puis un agent actif naturel a été sélectionné et incorporé dans un film multicouche pour évaluer sa capacité antifongique et antibactérienne en vue de son utilisation dans un emballage actif pour le conditionnement des aliments susceptibles à la contamination par les micromycètes et leurs mycotoxines. En outre, un test de migration chimique a été effectué pour vérifier la sécurité des aliments en contact avec l'emballage actif.

Les résultats de l'analyse des mycotoxines ont révélé la présence des aflatoxines (AFs) dans 26,2% des échantillons de fruits à coque (arachides, amandes et noix), 38,7% des échantillons de fruits secs (figues sèches et dattes) et 47,9% des produits céréaliers (*Couscous*, *Rechta* et *Metlou*), avec des moyennes allant de 0,03 à 0,49 µg/kg. L'ochratoxine A (OTA) était présente dans 16,9% des échantillons de produits à base de céréales, avec des teneurs moyennes de 0,15 µg/kg, mais l'OTA n'a pas été détectée dans les fruits à coque et les fruits secs. L'incidence du déoxynivalénol (DON) dans les produits à base de céréales était de 85,9%, avec des teneurs moyennes allant de 90 à 123 µg/kg. La mycotoxine zéaralénone (ZEA) n'a été détectée dans aucun échantillon. Quatre échantillons d'arachides ont dépassé la teneur maximale de l'UE (EC n°1881/2006) pour l'aflatoxine B1 (AFB1), fixée à 2 µg/kg, tandis que trois échantillons ont dépassé la teneur maximale pour la somme des AFs (B1, B2, G1, G2) (4 µg/kg). L'évaluation du risque a montré que les arachides et les aliments traditionnels *Bradj*, *Rechta* et *Metlou* constituaient une source majeure des AFs, avec des valeurs de marge d'exposition (MOE, en anglais margin of exposure) allant de 648 à 9 333, ce qui indique un risque potentiel pour la santé. Dans la deuxième partie, le profil volatil de l'HE de *T. numidicus* a permis de détecter cinquante et un (51) composés, dont le linalol (30,252 ± 0,336%), l'α-terpinéol (25,167 ± 0,168%) et le géraniol (9,440 ± 0,176%) étaient les plus abondants. L'activité antimicrobienne en phase vapeur a montré la capacité antifongique de l'HE de *T. numidicus*, de l'α-terpinéol, du géraniol et de la combinaison de

l' α -terpinéol/géraniol (α -Ter/Ger : 2,5/1) contre *Penicillium roqueforti* CECT 2905, *Aspergillus flavus* CECT 2687, *Aspergillus niger* CECT 2088, *Saccharomyces cerevisiae* CECT 1172, avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) allant de 263 à 526 μ L/L. Cependant, aucun effet antibactérien n'a été observé contre *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, à l'exception de l' α -terpinéol et l' α -Ter/Ger : 2,5/1 qui ont été actifs contre *E. coli* ATCC 25922 avec des CMI de 263 et 526 μ L/L, respectivement. L'HE avait une faible activité antioxydante (IC_{50} 12,13 \pm 0,24 mg/mL). En outre, l' α -Ter/Ger : 2,5/1 a été sélectionné pour préparer les films actifs. Les films préparés avec les adhésifs contenant 6% et 8% de l'agent actif ont montré des propriétés antifongiques et antibactériennes contre les microorganismes susmentionnés, leurs propriétés étant proportionnelles à la concentration de l'agent actif. Enfin, le test de migration a révélé l'absence de tout migrant volatil ou non volatil intolérable en vertu du règlement (UE) EC n° 10/2011.

Ce travail fournit de nouvelles données sur la présence des mycotoxines dans des denrées alimentaires de base en Algérie et donne une estimation de l'exposition et du risque encourue par la population. Il fournit également des données sur l'utilisation d'agents actifs naturels pour la préparation d'emballages actifs destinés à prévenir la contamination des denrées alimentaires par les micromycètes et leurs mycotoxines.

Mots clés : Aliments traditionnels, Occurrence des mycotoxines, Evaluation du risque sanitaire, *Thymus numidicus*, Huile essentielle, Activité biologique, Emballage actif et Migration

Abstract

Filamentous fungi and their mycotoxins are a major concern for food safety, as they can cause serious health problems for consumers and result in considerable economic losses. In the first part of this work, the levels of mycotoxin contamination in certain foods marketed in Algeria were assessed, before proceeding to estimate consumer exposure and evaluate the health risk. In the second part, the antimicrobial properties of the essential oil (EO) of *Thymus numidicus* and its main compounds were studied, and then a natural volatile active agent was selected and incorporated into a multilayer film to assess its antifungal and antibacterial capacity with a view to its use in active packaging. In addition, the migration of chemical compounds was assessed to verify the safety of food in contact with the active packaging.

The results of the mycotoxin analysis revealed the presence of aflatoxins (AFs) in 26.2% of the nut samples (groundnuts, almonds and walnuts), 38.7% of the dried fruit samples (dried figs and dates) and 47.9% of the cereal products (*Couscous*, *Rechta* and *Metlou*), with average levels ranging from 0.03 to 0.49 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Ochratoxin A (OTA) was present in 16.9% of cereal product samples, with mean levels of 0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$, but OTA was not detected in nuts and dried fruit. The incidence of deoxynivalenol (DON) in cereal products was 85.9%, with mean levels ranging from 90 to 123 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The mycotoxin zearalenone (ZEA) was not detected in any samples. Four peanut samples exceeded the EU maximum level for aflatoxin B₁, set at 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, while three exceeded the maximum level for the sum of the AFs (4 $\mu\text{g}/\text{kg}$). The risk assessment showed that the groundnuts and the traditional foods *Bradj*, *Rechta* and *Metlou* were a major source of AFs, with margin of exposure (MOE) values ranging from 648 to 9,333, indicating a potential health risk. The volatile profile of *T. numidicus* EO detected fifty-one (51) compounds, of which linalool ($30.252 \pm 0.336\%$), α -terpineol ($25.167 \pm 0.168\%$) and geraniol ($9.440 \pm 0.176\%$) were the most abundant. Vapour-phase antimicrobial activity showed the antifungal capacity of *T. numidicus* EO, α -terpineol, geraniol and the combination α -terpineol/geraniol (α -Ter/Ger : 2,5/1) against *Penicillium roqueforti* CECT 2905, *Aspergillus flavus* CECT 2687, *Aspergillus niger* CECT 2088, *Saccharomyces cerevisiae* CECT 1172, with minimum inhibitory concentrations (MIC) ranging from 263 to 526 $\mu\text{L}/\text{L}$. However, no antibacterial effect was observed against *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, with the exception of α -terpineol and mix α -Ter/Ger : 2,5/1 which were active against *E. coli* at 263 and 526 $\mu\text{L}/\text{L}$, respectively. EO had low antioxidant activity (IC_{50} 12.13 ± 0.24 mg/mL). In addition, a combination of α -terpineol and geraniol α -Ter/Ger : 2.5/1 was selected to prepare the active films. The films with adhesives

containing 6% and 8% active agent showed antifungal and antibacterial properties against the above-mentioned microorganisms, their properties being proportional to the concentration of active agent. Finally, the migration test revealed the absence of any volatile or non-volatile migrant intolerable under Regulation (EU) EC n° 10/2011.

This work provides new data on the presence of mycotoxins in basic foodstuffs in Algeria and gives an estimate of the exposure and risk incurred by the population. It also provides data on the use of natural active agents for the preparation of active packaging designed to prevent the contamination of foodstuffs by fungi and their mycotoxins.

Key words: Traditional food, Occurrence of mycotoxins, Health risk assessment, *Thymus numidicus*, Essential oil, Biological activity, Active packaging and Migration

الملخص

تعد الفطريات الخيطية وسمومها الفطرية مصدر تهديد كبير لسلامة الأغذية، حيث يمكن أن تسبب مشاكل صحية خطيرة للمستهلكين وتؤدي إلى خسائر اقتصادية كبيرة. في الجزء الأول من هذا العمل، تم تقييم مستويات التلوث بالسموم الفطرية في بعض الأطعمة المسوقة في الجزائر، ثم تم تقدير تعرض المستهلكين وتقييم المخاطر الصحية. في الجزء الثاني، تمت دراسة الخصائص المضادة للميكروبات للزيت الأساسي (EO) للزعر النوميدي *Thymus numidicus* ومركباته الرئيسية، ثم تم اختبار عنصر فعال طبيعي متطاير وإدماجه في فيلم متعدد الطبقات لتقييم قدرته المضادة للفطريات والبكتيريا بهدف استخدامه في صناعة التغليف النشط بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم هجرة المركبات الكيميائية للتحقق من سلامة الأغذية الملامسة للتغليف النشط.

كشفت نتائج تحليل السموم الفطرية عن وجود الأفلاتوكسينات الفطرية (AFs) في 26,2% من عينات المكسرات، و38,7% من عينات الفواكه المجففة، و47,9% من منتجات الحبوب، بمتوسط مستويات تتراوح بين 0,03 و0,49 ميكروغرام/كغ. وكان أوكراتوكسين أ (OTA) موجوداً في 16,9% من عينات منتجات الحبوب، بمتوسط مستويات 0,15 ميكروغرام/كغ، ولكن لم يتم اكتشاف أوكراتوكسين أ في المكسرات والفواكه المجففة. وب نسبة وجود الديوكسينيفالينول (DON) في منتجات الحبوب 85,9%، مع مستويات متوسطة تتراوح بين 90 و123 ميكروغرام/كغ. لم يكتشف السم الفطري الزيرالينون (ZEA) في أي عينة. وتجاوزت أربع عينات من الفول السوداني الحد الأقصى لمستوى الأفلاتوكسين ب1 في الاتحاد الأوروبي، المحدد ب 2 ميكروغرام/كغ، بينما تجاوزت ثلاث عينات الحد الأقصى لمجموع السموم الفطرية (4 ميكروغرام/كغ). وأظهر تقييم المخاطر أن الفول السوداني والأغذية التقليدية مثل البراج والرشته والمطلوع كانت مصدراً رئيسياً لمركبات الأفلاتوكسين، حيث تراوحت قيم هامش التعرض بين 648 و9333 مما يشير إلى وجود مخاطر محتملة على الصحة. كشف تحليل الزيت الأساسي للزعر *T. numidicus* عن واحد وخمسين (51) مركباً، منها اللينالول (Linalool) (30,252 ± 0,336%) و الألفا- ترينينول α -terpineol (25,167 ± 0,168%) والجيرانول (Geraniol) (9,440 ± 0,176%). وأظهر النشاط المضاد للميكروبات في شكل بخار قدرة مضادات الفطريات للزيت الأساسي للزعر *T. numidicus*، و الألفا- ترينينول α -terpineol، والجيرانول (Geraniol) والمزيج الألفا- ترينينول والجيرانول : α -Ter/Ger 2,5/1 ضد البنيسيليوم روكفورت (Penicillium roqueforti CECT 2905) والأسرجيلوس فلافوس (*Aspergillus flavus* CECT 2687) والأسرجيلوس نيجر (*Aspergillus niger* CECT 2088) والسكرومييسيس سيرفيسياي (*Saccharomyces cerevisiae* CECT 1172) بتركيزات مثبطة دنيا (MIC) [263 إلى 526 ميكرو لتر/لتر]. ومع ذلك، لم يلاحظ أي تأثير مضاد للجراثيم ضد الإشريكية القولونية (*Escherichia coli* ATCC 25922) والمكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213)، باستثناء الألفا- ترينينول والمزيج الألفا- ترينينول والجيرانول الذين كانا نشيطين ضد الإشريكية القولونية. كان للزيت الأساسي للزعر *T. numidicus* نشاط مضاد للأكسدة منخفض ($IC_{50} = 12,13 \pm 0,24$ مغ/مل). وبالإضافة إلى ذلك، تم اختبار مزيج من الألفا- ترينينول وجيرانول : α -Ter/Ger 2,5/1 لتحضير الأفلام النشطة. أظهرت الأفلام الفعالة 6% و 8% خصائص مضادة للفطريات ومضادة للبكتيريا ضد الكائنات الدقيقة المذكورة أعلاه، حيث تتناسب خصائصها مع تركيز المادة الفعالة. وأخيراً، كشف اختبار الهجرة عن عدم وجود أي مهاجر متطاير أو غير متطاير غير مسموح به بموجب قرار الاتحاد الأوروبي رقم 2011/10.

يقدم هذا العمل بيانات جديدة عن وجود السموم الفطرية في المواد الغذائية الأساسية في الجزائر ويعطي تقديراً للتعرض والمخاطر التي يواجهها السكان. كما يقدم بيانات عن استخدام العوامل النشطة الطبيعية لإعداد التغليف النشط المصمم لمنع تلوث المواد الغذائية بالفطريات وسمومها الفطرية.

الكلمات الرئيسية: الأغذية التقليدية، انتشار السموم الفطرية، تقييم المخاطر الصحية، الزعر النوميدي *Thymus numidicus*، زيت أساسي، النشاط البيولوجي،

التغليف النشط والانتقال

Table des matières

Introduction générale	1
Partie théorique.....	4
1 Micromycètes filamenteux et mycotoxines	4
2 Mycotoxines majeures : types, origine et toxicité.....	4
2.1 Aflatoxines	5
2.2 Ochratoxin A.....	6
2.3 Fumonisines	7
2.4 Déoxynivalénol.....	8
2.5 Zéaralénone.....	9
2.6 Patuline.....	10
3 Occurrence des mycotoxines dans le monde.....	10
4 Méthodes d'analyse des mycotoxines	13
5 L'analyse du risque mycotoxique.....	14
6 Réglementation des mycotoxines	15
7 Activité antimicrobienne et antifongique des huiles essentielles	20
8 Emballage alimentaire actif : application contre les micromycètes filamenteux et leurs mycotoxines	21
Partie expérimentale.....	23
Chapitre I : Evaluation des niveaux des mycotoxines dans les aliments échantillonnés en Algérie et estimation de l'exposition de la population	23
1 Introduction.....	23
2 Matériel et méthodes	24
2.1 Zone d'étude et collecte des échantillons	24

2.2	Conditions expérimentales	26
2.3	Dépistage préliminaire du DON et de la ZEA.....	27
2.4	Produits chimiques et réactifs pour l'analyse chromatographique.....	28
2.5	Équipement HPLC et conditions chromatographiques	29
2.6	Analyse des mycotoxines par HPLC	29
2.7	Évaluation de l'exposition et caractérisation du risque.....	31
2.8	Analyse des données	32
3	Résultats et discussion.....	33
3.1	Données sur l'occurrence des mycotoxines.....	33
3.1.1	Occurrence des AFs et de l'OTA dans les fruits à coque.....	34
3.1.2	Occurrence des AFs et de l'OTA dans les fruits secs.....	36
3.1.3	Occurrence des principales mycotoxines dans les produits à base de céréales.....	39
3.2	Niveaux d'exposition et risque pour le consommateur	43
4	Conclusion.....	45
Chapitre II : Développement d'un film antifongique pour emballage alimentaire.		46
1	Introduction.....	46
2	Matériel et méthodes	47
2.1	Produits chimiques et réactifs	47
2.2	Souches microbiennes et conditions de croissance.....	47
2.3	Extraction et caractérisation de l'HE de <i>T. numidicus</i>	48
2.3.1	Échantillons.....	48
2.3.2	Extraction de l'HE	48

2.3.3	Identification des composés volatils	48
2.3.4	Activité antimicrobienne de HE et de ses composés	49
2.3.5	Activité antioxydante de l'HE	50
2.4	Emballage actif.....	51
2.4.1	Préparation du film multicouche actif.....	51
2.4.2	Activité antimicrobienne des films multicouches actifs.....	52
2.4.3	Essais de migration	52
2.4.4	Couleur des films	54
2.5	Analyse statistique	54
3	Résultats et discussion.....	55
3.1	Identification des composés volatils	55
3.2	Activité antioxydante	60
3.3	Étude de l'activité antimicrobienne <i>in vitro</i>	61
3.4	Capacité antimicrobienne des films actifs multicouches	64
3.5	Essais de migration et évaluation de la sécurité	65
3.6	Mesure de la couleur	66
4	Conclusion.....	68
	Conclusion générale et perspectives	69

Table des illustrations

Figures

Figure 1 : Structures chimiques des AFB1, AFB2, AFM1, AFG1 et AFG2	6
Figure 2 : Structure chimique de l'OTA.....	7
Figure 3 : Structures chimiques des fumonisines (FB1, FB2)	8
Figure 4 : Structure chimique du DON.....	9
Figure 5 : Structure chimique de la ZEA	9
Figure 6 : Structure chimique de la PAT.....	10
Figure 7 : Prévalence des mycotoxines dans différentes régions du monde entre (2008/2017) (Gruber-Dorninger et al. 2019)	12
Figure 8 : Mycotoxines présentes dans l'alimentation humaine, réglementées en Afrique (FAO 2003)	17
Figure 9 : Mycotoxines présentes dans l'alimentation humaine, réglementées en Europe (FAO 2003).....	17
Figure 10 : Représentation schématique du film multicouche actif (a) et du film composite actif (b) (Wang et al. 2022).	22
Figure 11 : Distribution géographique des échantillons	25
Figure 12 : Résumé des méthodes d'analyses effectuées	26
Figure 13 : Incidence (%) et niveaux de contamination ($\mu\text{g}/\text{kg}$) des mycotoxines dans les échantillons analysés	34
Figure 14 : Chromatogramme HS-SPME-GCMS obtenu à partir de l'analyse de l'HE de <i>T. numidicus</i>	56
Figure 15 : Photo des films actifs préparés	64

Tableaux

Tableau 1 : Limites maximales fixées par les États-Unis, l'Union européenne et l'Algérie pour les mycotoxines majeures dans l'alimentation humaine et animale (FAO 2004; European Commission 2006a, 2024b; Alshannaq et Yu 2017)	19
Tableau 2 : Description des échantillons analysés	25
Tableau 3 : Présence et niveaux des AFs (B1, B2, G1, G2 et AFTs) et de l'OTA dans les fruits à coque. Résultats exprimés en µg/kg (ppb)	35
Tableau 4 : Présence et niveaux des AFs (B1, B2, G1, G2 et AFTs) et d'OTA dans les fruits secs. Résultats exprimés en µg/kg (ppb)	38
Tableau 5 : Occurrence et niveaux des AFs (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 et AFTs), de l'OTA et du DON dans les produits à base de céréales. Résultats exprimés en µg/kg	40
Tableau 6 : Apports journaliers estimés (EDI en ng/kg pc/jour) et marges d'exposition (MOE) des AFs et de l'OTA provenant des aliments analysés	43
Tableau 7 : Liste des composés volatiles identifiés dans l'HE de <i>T. numidicus</i> par HS-SPME-GC-MS.....	57
Tableau 8 : Résultats de l'activité antimicrobienne en phase vapeur des souches testées.....	62
Tableau 9 : Résultats de la capacité antimicrobienne en phase vapeur des films actifs	65
Tableau 10 : Propriétés colorimétriques et changement de couleur total (ΔE) des films multicouches préparés	67

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique

AFB1 : aflatoxine B1

AFB2 : aflatoxine B2

AFG1 : aflatoxine G1

AFG1 : aflatoxine G1

AFM1 : aflatoxine M1

AFTs : aflatoxines totales (B1, B2, G1, G2)

ATCC : American Type of Culture Collection (en)

CECT : Colección Española de Cultivos Tipo

DJA : dose journalière acceptable

DJT : dose journalière tolérable

DON : déoxynivalenol

EC: European Commission (en), Commission européenne (fr)

EFSA : European Food Safety Authority (en) ; Autorité européenne de sécurité des aliments (fr)

en : english

EN : European norms (en), normes européennes (fr)

UE : Union européenne

FAO : Food and Agriculture Organization (en) ; Organisation pour l'Alimentation et l'Agriculture (fr)

FB1 : fumonisine B1

FDA : Food and Drug Administration (en) ; Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (fr)

HACCP : Hazard Analysis Critical Control Points (en) ; Analyse des risques et points critiques pour leur maîtrise

HE(s): huile(s) essentielle(s)

HPLC : High pressure liquid chromatography (en) ; chromatographie liquide haute performance (fr)

IARC : International Agency for Research on Cancer (en) ; Centre international de recherche sur le cancer

ISO : International Organization for Standardization (en), Organisation internationale de normalization (fr)

JECFA : Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (en) ; Comité d'experts FAO/OMS sur les additifs alimentaires (fr)

LD : limite de détection

LQ : limite de quantification

MOE : Margin of exposure (marge d'exposition)

NOAEL : No Observed Adverse Effect Level (en); Dose sans effet toxique observable (fr)

p : Probabilité critique

PCR : polymerase chain reaction (en) ; Réaction de polymérisation en chaîne (fr)

ppb : Partie par milliard

WHO : World Health Organization (en) ; Organisation Mondiale de la Santé (fr)

OTA : ochratoxine A

UFC : Unité Formant Colonie

ZEA : zéaralénone

Communications scientifiques

Article

Belasli, A.; Herrera, M.; Ariño, A.; Djenane, D. Occurrence and Exposure Assessment of Major Mycotoxins in Foodstuffs from Algeria. *Toxins* (Basel). 2023, 15, 1–16, doi:10.3390/toxins15070449.

Communication orale

Occurrence of aflatoxins in nuts and dried fruits from Algeria, V^{ème} Workshop MICOFOOD, 10-11 décembre 2020, célébré virtuellement, Espagne. <https://doi.org/10.3390/toxins13010056>. Authors: Belasli, A.; Herrera, M.; Ariño, A.; Djenane, D.

Poster

Occurrence Of Major Mycotoxins And Their Dietary Exposure From Nuts, Dried Fruits And Traditional Foods From Algeria, VII^{ème} Workshop MICOFOOD, 29-30 septembre 2022, Granada, Espagne. Authors: Belasli, A.; Herrera, M.; Ariño, A.; Djenane, D.

Introduction générale

Introduction générale

La contamination des aliments par les micromycètes et leurs toxines n'est pas récente ; elle remonte à l'époque où l'Homme a découvert l'agriculture et a commencé à conserver ses récoltes pour les périodes de disette et de famine. Ces pratiques ont favorisé le développement de niches propices pour la prolifération des micromycètes, tant au champ sur les cultures que pendant le stockage des récoltes (Pitt et Miller, 2017). Les premières épidémies d'intoxication liées aux micromycètes remontent à 1630, lorsque plusieurs milliers de personnes, en Europe de l'Ouest, ont perdu leurs vies suite à l'ingestion de farine de seigle contaminée par des alcaloïdes toxiques produits par le micromycète *Claviceps purpurea* (Pitt et Miller, 2017). Toutefois ce n'est qu'à partir de 1960, que les mycotoxines ont commencé à susciter de vives inquiétudes, lorsque, en Angleterre, une centaine de milliers de dindes sont mortes après avoir consommé un aliment à base de tourteaux d'arachides contaminés par des aflatoxines, produites par des micromycètes du genre *Aspergillus* (Edite Bezerra da Rocha et al., 2014; Iqbal et al., 2013).

Aujourd'hui, la contamination fongique et mycotoxique est devenue une préoccupation sanitaire majeure. Avec l'intensification des activités agricoles et d'élevage, ainsi que le réchauffement climatique, la propagation des micromycètes toxigènes dans la nature a exponentiellement augmentée (Oliva et al., 2022). De plus, avec la mondialisation et l'augmentation des échanges transfrontaliers le risque d'intoxication à grande échelle par les mycotoxines est devenu plus probable et menaçant (Moretti et al., 2017).

Selon les estimations, 25% de la production alimentaire mondiale est perdue chaque année, en raison de la contamination par des micromycètes filamenteux et leurs mycotoxines, les cultures céréalières étant les plus touchées (Eskola et al., 2020). Les denrées alimentaires d'origine animale peuvent aussi contenir des traces de mycotoxines ou de leurs dérivés, suite à l'ingestion par les animaux d'élevage de fourrage et d'aliments contaminés par les mycotoxines (Farah Nadira et al., 2016). Outre les mycotoxines, les micromycètes produisent de nombreuses enzymes telles que des lipases, des protéases et des carbohydrases, ainsi que des substances volatiles telles que le diméthylsulfure, la géosmine et le 2-méthylisobornéol, qui sont responsables de la détérioration des propriétés sensorielles des denrées alimentaires et de la perte de leurs qualités (Prakash et al., 2015).

La contamination des denrées alimentaires par les mycotoxines est un problème ardu ; elles peuvent persister même en l'absence des micromycètes producteurs et ne peuvent être ni détectées par les méthodes de contrôle usuelles, ni éliminées par des traitements technologiques courants tels que la chaleur (Adeyeye, 2016).

Les risques liés aux mycotoxines sont bien avérés. Lorsqu'elles sont ingérées à fortes doses, elles provoquent des intoxications aiguës qui, dans certains cas, peuvent entraîner la mort, tandis qu'en cas d'exposition prolongée à de faibles doses, elles peuvent provoquer des maladies chroniques (Alshannaq et Yu, 2017). Les principaux désordres associés aux mycotoxines sont l'immunosuppression, l'hépatotoxicité, néphrotoxicité, cancérogénicité, génotoxicité, neurotoxicité (Edite Bezerra da Rocha *et al.*, 2014). En outre, plusieurs recherches ont démontré, la bioaccumulation des mycotoxines dans l'organisme et leurs effets synergétiques et additifs avec d'autres mycotoxines ou d'autres contaminants (métaux lourds, additifs alimentaires...) (Alassane-Kpembi, 2013; Luo *et al.*, 2019). Ces constats ont poussé les experts et les scientifiques à appeler pour reconsidérer le risque mycotoxique et réévaluer l'exposition du consommateur tout en tenant compte de l'ensemble des contaminants pouvant être présents dans les aliments (Alassane-Kpembi *et al.*, 2017).

Sur le plan économique, les mycotoxines affectent les rendements, entraînent des pertes de production considérables et entravent les échanges commerciaux. La détection des mycotoxines est souvent la première cause de rejet aux frontières de l'UE (Cunha *et al.*, 2018; Kabak, 2016). La contamination par les mycotoxines serait à l'origine de pertes économiques de plusieurs dizaines de milliards de dollars pour l'agriculture et l'industrie à travers le monde (Zhang *et al.*, 2024). Ces pertes seraient probablement plus importantes dans les pays à revenu faible et moyen (Luo *et al.*, 2018).

En Algérie, la sensibilisation au problème des mycotoxines est insuffisante et la réglementation n'est pas assez stricte. Les données recueillies sur l'occurrence des mycotoxines, l'exposition de la population à ces contaminants et l'évaluation des risques sont très rares. Quelques études se sont intéressées à l'occurrence des aflatoxines et ont fourni des données sur les pistaches, les amandes, les arachides, les noix et les figues sèches (Ait Mimoune *et al.*, 2018; Riba *et al.*, 2013), et un seul rapport sur la co-occurrence des mycotoxines dans les produits céréaliers et sur l'approche de l'évaluation de l'exposition (Mahdjoubi *et al.*, 2020) a été réalisé jusqu'à présent.

Un autre problème sanitaire lié à l'altération alimentaire par les micromycètes réside dans l'utilisation de conservateurs et d'antifongiques chimiques synthétiques. Ces composés sont de plus en plus rejetés par le consommateur en raison de leurs effets indésirables sur la santé (Pisoschi *et al.*, 2018) et l'environnement (Lempart-Rapacewicz *et al.*, 2023). Ces dernières décennies, certaines huiles essentielles (HEs) se sont révélées efficaces en tant qu'antimicrobiens et conservateurs alimentaires, offrant ainsi une alternative naturelle plus sûre et écologique (Debonne *et al.*, 2018; Reyes-Jurado *et al.*, 2020). L'introduction des HEs dans les systèmes d'emballages actifs a suscité aussi un grand intérêt et a fait l'objet de nombreuses études à travers le monde, mais cette stratégie est encore peu explorée en Algérie, où les recherches sur le sujet restent limitées (Varghese *et al.*, 2020). Quelques études se sont intéressées au développement de films actifs antioxydants (Ait Ouahioune *et al.*, 2022a; Djebari *et al.*, 2021; Kaanin-Boudraa *et al.*, 2021), et une seule étude a été consacrée à l'effet antimicrobien d'un enrobage actif (actif coating) à base des HEs (Belili *et al.*, 2024). La présente étude fournit de nouvelles données sur l'occurrence, l'évaluation de l'exposition et le développement d'un film actif antifongique pour emballage alimentaire. Elle comporte une partie théorique qui donne un aperçu général sur les mycotoxines, leurs effets sur la santé, les méthodes générales de leur détection, leur réglementation et l'emballage actif. Elle est suivie d'une partie expérimentale composée de deux chapitres, dont le premier examine les niveaux de contamination par les mycotoxines majeures de divers aliments commercialisés en Algérie, puis estimer l'exposition des consommateurs et évaluer le risque pour leur santé. Le deuxième chapitre est consacré à l'étude des propriétés antimicrobiennes de l'HE de *Thymus numidicus* et de ses principaux composés, en vue de développer un emballage actif incorporant des agents naturels aux propriétés antifongiques comme moyen de prévention plus sûr. Et enfin, une conclusion générale avec les principaux résultats et quelques perspectives.

Partie théorique

1 Micromycètes filamenteux et mycotoxines

Les micromycètes filamenteux sont apparentés au règne des *Fungi*, ils sont des eucaryotes multicellulaires hétérotrophes, caractérisés par des structures filamenteuses appelées hyphes (Bhat *et al.*, 2010). Ils ont un fort potentiel de dissémination, ils se reproduisent de façon sexuée ou asexuée, sporulée ou asporulée (Dijksterhuis, 2019). En outre, ils sont caractérisés par un potentiel enzymatique exceptionnel et peuvent vivre dans divers environnements aquatiques et terrestres (Dijksterhuis, 2019).

Le terme « mycotoxine » provient des mots « myco » qui signifie « mycètes » et « toxine » qui signifie « poison » (El-Sayeda *et al.*, 2022). Les mycotoxines sont des molécules chimiques non protéiques de faible poids moléculaire (< 1000 Daltons), issues du métabolisme secondaire des micromycètes filamenteux, et possédant des propriétés toxicologiques potentiellement dangereuses pour l'Homme et l'animal à des doses parfois extrêmement faibles (Smith, 2017).

2 Mycotoxines majeures : types, origine et toxicité

Bien que plus de 300 mycotoxines aient été découvertes, seules six d'entre elles (aflatoxines, trichothécènes, zéaralénone, fumonisines, ochratoxines et patuline) sont systématiquement détectées dans les aliments et posent des problèmes de sécurité sanitaire à travers le monde (El-Sayeda *et al.*, 2022). Ces mycotoxines sont principalement produites par des micromycètes filamenteux des genres : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium* et *Claviceps* (Marin *et al.*, 2013). La biosynthèse des mycotoxines n'est pas régulière, elle est influencée par des facteurs biotiques et abiotiques (Keller, 2019; Moretti *et al.*, 2017).

L'exposition humaine aux mycotoxines peut se faire par inhalation, par voie cutanée et par voie orale, mais cette dernière, par ingestion d'aliments contaminés, est la plus importante (Boonen *et al.*, 2012). L'ingestion de produits contaminés par des mycotoxines est responsable d'un certain nombre de maladies aiguës et chroniques chez l'Homme et l'animal (Adeyeye, 2016). Les symptômes généraux de la mycotoxicose chez l'Homme comprennent des vomissements, des diarrhées et d'autres problèmes gastro-intestinaux (Bhat *et al.*, 2010). L'exposition à long terme à de faibles doses peut provoquer des effets hépatotoxiques, génotoxiques, immunosuppresseurs, œstrogéniques, néphrotoxiques, tératogènes et/ou cancérogènes (Ferrão *et al.*, 2017).

2.1 Aflatoxines

Les aflatoxines (AFs) sont des dérivés de la difuranocoumarine avec un groupe bifuran et un anneau pentanone ou lactone pour les aflatoxines B (AFB) ou un anneau lactone pour les aflatoxines G (AFG) lié au noyau coumarinique. Parmi les 20 découvertes, AFB1, AFB2, AFG1 et AFG2 (Figure 1) sont les quatre AFs les plus importantes. Trois espèces d'*Aspergillus* sont connues pour leur capacité à synthétiser des AFs : *A. flavus* produit principalement l'AFB1 et l'AFB2, *A. parasiticus*, produit les quatre AFs (B1 ; B2, G1, G2) et *A. nomius*, une souche rare, proche de *A. flavus*, est capable de produire des AFs (Iqbal *et al.*, 2013).

Les AFs sont des composés hautement toxiques, mutagènes, tératogènes et cancérigènes (Bhat *et al.*, 2010). Parmi les AFs, l'AFB1 est la plus fréquente et la plus toxique. Elle est reconnue comme étant l'un des plus puissants cancérigènes d'origine naturelle (IARC, 2021). Selon IARC, l'AFB1 est classée dans le groupe 1 (agent cancérigène), l'AFM1 dans le groupe 2B (agent peut-être cancérigène) et l'AFG1 dans le groupe 3 (agent inclassable quant à sa cancérigénicité). Des lésions hépatiques sont observées lors de l'administration de AFB1 à divers animaux (Iqbal *et al.*, 2013). L'exposition chronique provoque le cancer, la suppression immunologique et d'autres maladies pathologiques (Iqbal *et al.*, 2013).

Les conditions les plus propices à la production des AFs sont une activité de l'eau (a_w) relativement faible (0,84 - 0,86) et une température élevée, comprise entre 25 et 40 °C. Les AFs peuvent donc contaminer une grande variété de substrats alimentaires en provenance des régions chaudes et humides (Riba *et al.*, 2013). Elles sont souvent détectées dans les céréales (maïs, blé, orge, avoine, seigle, riz) et les produits à base de céréales, des oléagineux (soja), des noix et leurs dérivés (arachides, beurre d'arachide, pistache), des légumes (pommes de terre, lentilles, piments) et fruits secs (figues) (Bhardwaj *et al.*, 2023). Les AFs peuvent également se trouver dans les produits laitiers sous une forme modifiée. Lorsque les vaches mangent des aliments contaminés par les AFs, par exemples, l'AFB1 est biotransformée en une forme hydroxylée, AFM1 (Figure 1) (Flores-Flores *et al.*, 2015).

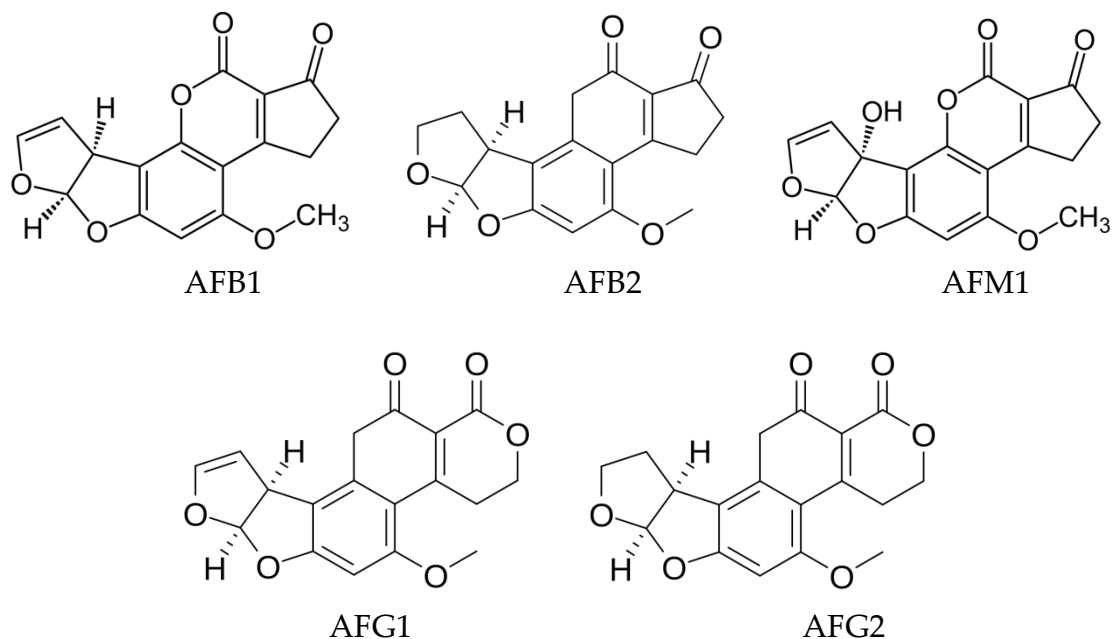


Figure 1 : Structures chimiques des AFB1, AFB2, AFM1, AFG1 et AFG2

2.2 Ochratoxin A

L'ochratoxine A (OTA) est la plus importante ochratoxine en raison de sa prévalence dans les aliments et de sa toxicité. L'OTA (Figure 2) est un dérivé de phénylalaninyl.

L'OTA est potentiellement néphrotoxique chez plusieurs espèces animales. Elle a été associée à l'étiologie de plusieurs maladies rénales, notamment la néphropathie endémique des Balkans (BEN), les tumeurs rénales dans certaines régions endémiques de la péninsule balkanique et la néphrite interstitielle chronique (CIN) en Tunisie et dans d'autres pays d'Afrique du Nord (El-Sayeda *et al.*, 2022; Karbancioğlu-Güler et Heperkan, 2008).

L'OTA est produite par des espèces du genre *Penicillium* et *Aspergillus*, principalement *P. verrucosum*, *A. ochraceus*, *A. melleus* et *A. petrakii* (El-Sayeda *et al.*, 2022). Les conditions de croissance de *P. viridicatum* et sa capacité à produire de l'OTA se situent entre 4 et 30 °C. En région froide, l'OTA est produite par *Penicillium*, alors qu'en région chaude, elle est plutôt synthétisée par *Aspergillus* (Tabuc, 2007).

La présence d'OTA a été rapportée dans les céréales et les produits à base de céréales, les légumineuses, le cacao, le café, le jus de raisin, les fruits secs (Karbancioğlu-Güler et Heperkan, 2008).

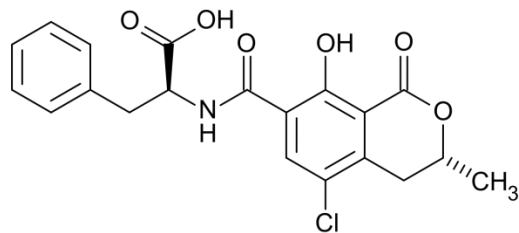


Figure 2 : Structure chimique de l'OTA

2.3 Fumonisines

Les fumonisines (FUMs) regroupent un nombre de mycotoxines, principalement représentées par les fumonisines B1, B2 et B3 sont les plus répandues : la FB1 (Figure 3) est la plus abondante et représente environ 70 à 80% de la teneur totale en fumonisines des aliments naturellement contaminés, la fumonisine B2 (Figure 3) représente 15 à 25% des fumonisines, tandis que la fumonisine B3 en représente 3 à 8% (Karbancioglu-Güler et Heperkan, 2009).

La FB1 est un diester composé de l'acide propane-1,2,3-tricarboxylique (TCA) et du 2-amino-12,16-diméthyl-3,5,10,14,15-pentahydroxyléicosane, les groupes hydroxyles (OH) en C14 et C15 formant un ester avec les groupes carboxyles (COOH) du TCA. Les FB2 et FB3 sont les équivalents déshydroxylés en C5 et C10 du FB1, respectivement (El-Sayed *et al.*, 2022).

Les fumonisines possèdent des propriétés cancérigènes élevées (Bhat *et al.*, 2010). Chez les chevaux, la fumonisine est responsable d'une maladie connue sous le nom de : Equine LeukoEncephaloMalacia (ELEM), qui se traduit par une liquéfaction de la substance blanche cérébrale (Zinedine et Mañes, 2009). Outre les lésions cérébrales, des propriétés néphrotoxiques, hépatocarcinogènes et immunosuppressives chez l'animal sont rapportées par les mêmes auteurs. Certaines études ont montré qu'il pourrait y avoir une corrélation positive entre les taux de cancer de l'œsophage chez l'Homme et la présence de *F. verticilloides* et de fumonisine dans l'alimentation (Wu *et al.*, 2014). Selon l'IARC, Les fumonisines sont des cancérogènes probables et elles sont classées parmi le groupe 2B (I. A. for R. on C. W. H. O. IARC, 1993).

Les FUMs sont principalement produites par le genre *Fusarium*, en particulier *Fusarium verticilloides* et *Fusarium proliferatum* (Marin *et al.*, 2013). Les *Fusarium* sont

plutôt rencontrés dans les régions chaudes et sèches et les fumonisines peuvent contaminer une large variété de céréales et de produits céréaliers, mais elles sont le plus souvent présentes dans le maïs et les produits à base de maïs (riz, blé, orge, maïs, seigle, avoine et millet) (Karbancioglu-Güler et Heperkan, 2009).

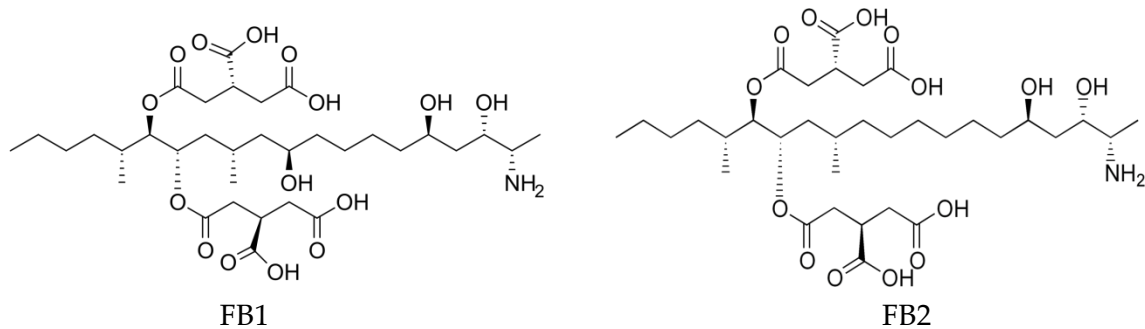


Figure 3 : Structures chimiques des fumonisines (FB1, FB2)

2.4 Déoxynivalénol

Le déoxynivalénol (DON) (Figure 4), également connu sous le nom de vomitoxine, est une mycotoxine très répandue. Il s'agit d'un époxy-sesquiterpénoïde avec une fonction cétone en C8, appartenant au groupe B des trichothécènes (Narváez *et al.*, 2022).

Le IARC a placé le DON dans le groupe 3 de cancérogénèse (Alshannaq et Yu, 2017). Après une exposition à une dose aiguë élevée, le DON peut provoquer des symptômes gastro-intestinaux tels que des vomissements chez l'Homme et l'animal (Bhat *et al.*, 2010). Une fois ingéré, le DON est rapidement absorbé et atteint l'intestin, sa cible principale, développant des lésions intestinales, altérant la prolifération et la différenciation cellulaires et interférant avec la fonction de la barrière épithéliale (Narváez *et al.*, 2022; Saint-Cyr, 2013).

Le DON est produit par des espèces endophytes du genre *Fusarium*, principalement par *Fusarium graminearum*, *F. nivale*, *F. crookwellense* et *F. culmorum* qui se développent dans les régions tempérés et humides (Narváez *et al.*, 2022).

Le DON est la mycotoxine la plus répandue dans les céréales telles que le blé, l'orge et le maïs, et moins souvent dans l'avoine, le riz, le seigle et le sorgho. Il est aussi souvent retrouvé dans les farines, les pâtes et les céréales pour le petit déjeuner (Golge et Kabak, 2020; González-Osnaya *et al.*, 2011).

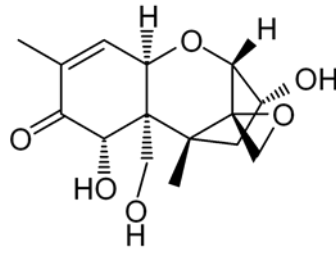


Figure 4 : Structure chimique du DON

2.5 Zéaralénone

La zéaralénoe (ZEA) (Figure 5) est une mycotoxine œstrogène qui apparaît souvent en même temps que le DON. Elle se présente comme une molécule de lactone d'acide résorcylique (Golge et Kabak, 2020).

La ZEA est un perturbateur endocrinien qui se lie aux récepteurs d'œstrogènes, ce qui peut entraîner des effets œstrogéniques, affectant la fertilité, l'équilibre hormonal, et la réduction des taux de grossesse (Tabuc, 2007). En outre, des études actuelles suggèrent que le ZEA est métabolisé dans le foie et que des études animales ont démontré ses effets hépatotoxiques, immunotoxiques, cancérigènes et néphrotoxiques (El-Sayeda *et al.*, 2022).

Elle est principalement synthétisée par *Fusarium graminearum* et *F. culmorum*, *F. cerealis*, *F. equiseti*, *F. semitectum* et *F. moniliforme*, qui prospèrent dans les climats chauds et tempérés (Zinedine et Mañes, 2009). La production de cette mycotoxine est favorisée lorsque les températures sont situées entre 10 et 15 °C (Tabuc, 2007).

Bien que le maïs et les produits à base de maïs soient considérés comme la principale source d'exposition à la ZEA, la toxine peut également être présente dans d'autres céréales telles que l'orge, le blé, l'avoine, le riz et le sorgho dans les climats chauds et tempérés (Golge et Kabak, 2020; Tolosa *et al.*, 2017).

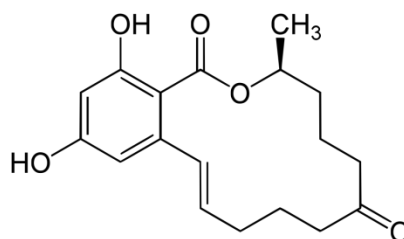


Figure 5 : Structure chimique de la ZEA

2.6 Patuline

La patuline (PAT) se présente sous forme d'une lactone hétérocyclique insaturée (Figure 6) et porte diverses appellations telles que clavacine, expansine, claviformine et clavatine. Elle a été isolée et utilisée comme antibiotique contre la brucellose bovine et les agents pathogènes du rhume et de la bronchite. Toutefois, en raison de sa toxicité pour l'Homme et les animaux, l'utilisation de la patuline en tant qu'antibiotique a été suspendue (Snini, 2014).

La PAT peut affecter les fonctions des tissus gastro-intestinaux, des reins, du foie et du système immunitaire, et aurait des effets néfastes sur la microflore du rumen, principalement en raison de son activité antimicrobienne (Bhat *et al.*, 2010).

Elle est principalement produite par *Penicillium expansum* et *Byssoschlamys nivea* qui sont responsables de grosses pertes économiques ; *Byssoschlamys nivea* est l'agent responsable de la production de PAT dans les ensilages de maïs alors que *Penicillium expansum* est le contaminant commun des Pomaceae (pommes et poires) et particulièrement de la pomme en causant la pourriture bleue (Snini, 2014).

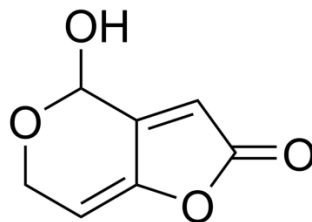


Figure 6 : Structure chimique de la PAT

3 Occurrence des mycotoxines dans le monde

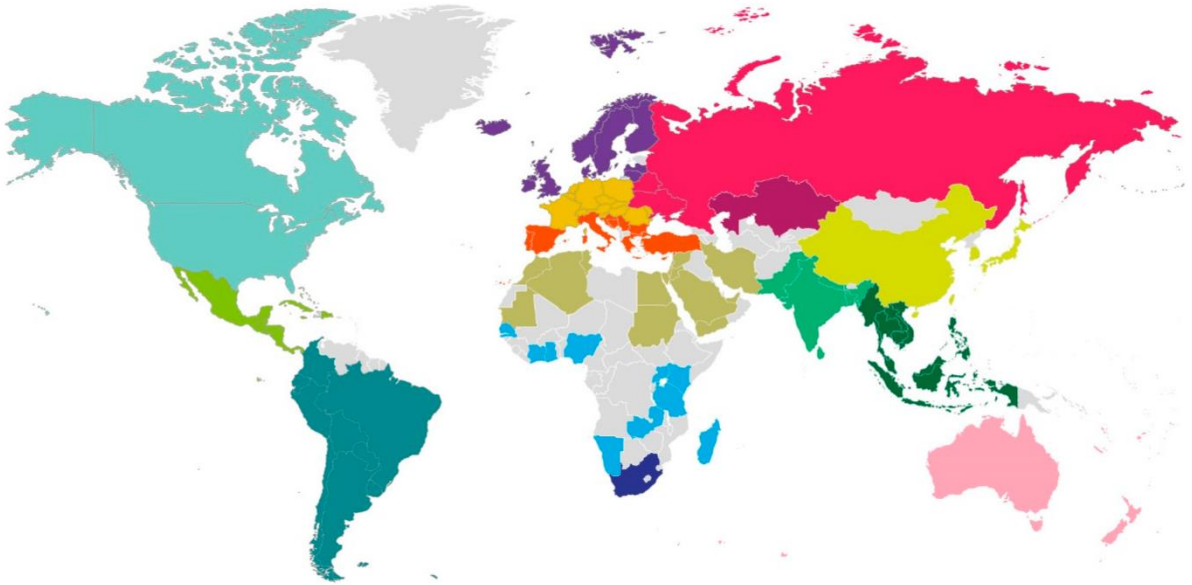
Les mycotoxines sont des contaminants naturels omniprésents qui peuvent être trouvés dans diverses cultures et denrées alimentaires; leur présence à de très faibles doses est presque inévitable. Toutefois, dans certaines conditions d'humidité et de température favorisant la prolifération de certaines micromycètes toxigènes, ces doses peuvent atteindre des niveaux critiques et constituer une menace pour la santé des consommateurs (Marin *et al.*, 2013).

Les céréales et leurs dérivés, les fruits secs, les fruits et les jus, le lait et ses dérivés constituent généralement les groupes d'aliments présentant un risque potentiel pour le consommateur, compte tenu de leur susceptibilité à la contamination, ainsi que de la quantité et de la fréquence de leur consommation

(Marin *et al.*, 2013). En outre, divers aliments traditionnels peuvent également être contaminés par des mycotoxines, comme le couscous (Zinedine *et al.*, 2017), la tortilla (préparation traditionnelle mexicaine à base de maïs) (Wall-Martínez *et al.*, 2019), viande séchée traditionnelle (Lešić *et al.*, 2025), fromage affiné traditionnel (Anelli *et al.*, 2019) et plantes médicinales traditionnelles (Han *et al.*, 2012)...etc.

La contamination simultanée par plusieurs mycotoxines est aussi souvent rapportée ce qui complique et accroît davantage le risque sur la santé en cas d'effets synergétiques et additifs (Assunção *et al.*, 2018; Bouafifssa *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018).

Dans une enquête menée par le centre de recherche d'une compagnie multinationale spécialisée dans l'alimentation des bétails (BIOMIN) sur dix ans (Figure 7), il a été montré que la prévalence des mycotoxines dans les aliments pour animaux varie d'une zone géographique à l'autre, par exemple, les AFs sont principalement retrouvées en Asie du Sud et du Sud-Est et en Afrique, le DON et la ZEA sont présents sur presque tous les continents (en Amérique du nord et du sud, en Europe, en Afrique et en Asie), l'OTA est généralement rapportée en Asie du Sud et en Europe de l'Est et de l'Ouest, les fumonisines dans l'Amérique du Sud, l'Europe du Sud, l'Afrique, l'Asie du Sud et l'Australie. Toutefois, ces profils de distribution ne sont pas constants et peuvent varier d'une année à une autre, notamment en fonction des conditions météorologiques. Des prédictions sur la redistribution des mycotoxines à la suite du changement climatique ont également été suggérées (Medina *et al.*, 2017).



	ABF1	FUM	ZEN	DON	OTA	T-2
Northern Europe (n = 1,958)	5.9% 3.1 µg/kg	22.4% 186 µg/kg	28.9% 35 µg/kg	74.2% 504 µg/kg	8.1% 1.9 µg/kg	30.3% 34 µg/kg
Central Europe (n = 21,036)	12.7% 1.6 µg/kg	43.2% 187 µg/kg	45% 40 µg/kg	69.8% 428 µg/kg	11.9% 2.8 µg/kg	30.7% 11 µg/kg
Southern Europe (n = 3,527)	28.9% 2.1 µg/kg	74.9% 607 µg/kg	36.3% 44 µg/kg	52.9% 324 µg/kg	21.2% 2.6 µg/kg	11.7% 25 µg/kg
Eastern Europe (n = 2,382)	17.0% 3.4 µg/kg	33.6% 87 µg/kg	42.5% 15 µg/kg	59.9% 153 µg/kg	36.4% 3.6 µg/kg	48.2% 21 µg/kg
North America (n = 5,471)	10.5% 8.7 µg/kg	47.7% 652 µg/kg	31.7% 102 µg/kg	64.1% 505 µg/kg	4.3% 2.4 µg/kg	3.9% 29 µg/kg
Central America (n = 367)	8.6% 3.9 µg/kg	81.8% 929 µg/kg	38.2% 60 µg/kg	70.0% 316 µg/kg	3.8% 2.5 µg/kg	4.1% 3.1 µg/kg
South America (n = 17,332)	23.5% 3.2 µg/kg	75.3% 1,390 µg/kg	46.9% 51 µg/kg	26.9% 344 µg/kg	4.9% 17 µg/kg	21.5% 31 µg/kg
Middle East/North Africa (n = 1,075)	22.2% 2.4 µg/kg	66.8% 347 µg/kg	44.8% 31 µg/kg	47.8% 236 µg/kg	20.3% 3.1 µg/kg	8.5% 14 µg/kg
Sub-Saharan Africa (n = 208)	76.0% 23 µg/kg	72.6% 789 µg/kg	52.2% 38 µg/kg	49.5% 352 µg/kg	31.9% 7.2 µg/kg	3.0% 3.0 µg/kg
South Africa (n = 1,077)	9.0% 2.2 µg/kg	62.6% 266 µg/kg	41.6% 30 µg/kg	63.2% 363 µg/kg	5.6% 2.2 µg/kg	1.2% 4.4 µg/kg
Oceania (n = 1,695)	11.3% 2.0 µg/kg	22.2% 106 µg/kg	21.5% 105 µg/kg	34.5% 158 µg/kg	7.5% 3.6 µg/kg	2.0% 16 µg/kg
South Asia (n = 1,136)	82.2% 20 µg/kg	69.0% 288 µg/kg	19.6% 37 µg/kg	23.1% 96 µg/kg	60.4% 4.6 µg/kg	0.9% 13 µg/kg
Southeast Asia (n = 4,310)	57.4% 10 µg/kg	69.6% 573 µg/kg	45.9% 43 µg/kg	42.5% 137 µg/kg	15.2% 3.0 µg/kg	2.7% 26 µg/kg
East Asia (n = 13,232)	17.1% 10 µg/kg	60.7% 810 µg/kg	58.2% 90 µg/kg	84.8% 418 µg/kg	14.1% 2.9 µg/kg	11.0% 16 µg/kg
Central Asia (n = 15)	7.7% 1.4 µg/kg	25.0% 13 µg/kg	23.1% 1.5 µg/kg	26.7% 28 µg/kg	13.3% 22 µg/kg	6.7% 25 µg/kg

Figure 7 : Prévalence des mycotoxines dans différentes régions du monde entre (2008/2017) (Gruber-Dorninger *et al.*, 2019)

4 Méthodes d'analyse des mycotoxines

Souvent le choix de la méthode d'analyse est déterminé par un certain nombre de facteurs, notamment la matrice, l'analyte cible, les ressources disponibles et les conditions de travail.

Au cours des dernières décennies, les techniques de détection et de quantification des mycotoxines ont connu des progrès remarquables. De nombreuses techniques rapides basées sur l'utilisation de l'imagerie et de la spectroscopie, telles que la spectroscopie proche infrarouge (NIRS), l'imagerie hyperspectrale (HSI), etc. ont prouvé leur efficacité. Ces techniques ne nécessitent pas de préparation préalable de l'échantillon et sont principalement utilisées pour le dépistage des AFs dans certains produits secs (Wu *et al.*, 2018).

Les autres techniques, plus ou moins chronophages, nécessitent une étape préalable d'extraction et/ou de purification. En effet, les mycotoxines étant peu solubles dans l'eau (à l'exception des fumonisines et de la patuline), l'extraction est souvent réalisée avec un mélange de solvants organiques comme l'acétonitrile, le méthanol, l'acétone...etc, avec un volume d'eau qui permet une meilleure pénétration des solvants dans la matrice (Alshannaq et Yu, 2017). Dans certains cas, l'ajout d'autres produits chimiques comme l'hexane, l'acide (formique ou acétique), les sels MgSO₄ et NaCl avec un tampon citrate, est nécessaire pour éliminer les graisses, rompre les liaisons avec les composants de la matrice et améliorer la récupération (Berthiller *et al.*, 2018).

Récemment, les techniques d'extraction utilisant des solvants supercritiques ou des solvants assistés par des micro-ondes ou des ultrasons gagnent en intérêt car elles permettent de réduire la quantité de solvants utilisée et ainsi minimiser leur l'impact résiduel négatif sur l'environnement (Pereira *et al.*, 2014).

L'étape de purification vise à éliminer les substances interférentes, et elle est souvent réalisée à l'aide de colonnes d'immunoaffinité (IAC), basées sur la réaction antigène-anticorps (Yang *et al.*, 2020). Ces dernières années, des expériences remplaçant les anticorps par de nouvelles molécules telles que les aptamères ou les polymères à empreintes moléculaires (MIP), pour des raisons de coût et d'environnement, ont été mises en œuvre avec succès (Turner *et al.*, 2015).

L'identification et la détection sont principalement réalisées par des méthodes chromatographiques (HPLC, LC, UHPLC, GC) couplées à différents types de

détecteurs (Ultraviolet (UV), Fluorescence (FLD), Spectrométrie de masse (MS)...) ou par des méthodes immunologiques (ELISA), qui sont basées sur des interactions compétitives entre les mycotoxines (agissant comme un antigène) et des anticorps assignés marqués avec une enzyme conjuguée (Alshannaq et Yu, 2017). Le remplacement des anticorps par des ligands synthétiques imitant la capacité de liaison des anticorps naturels et l'utilisation de sondes hautement luminescentes (points quantiques) pour améliorer le signal ont également été rapportés (Anfossi *et al.*, 2016).

Il est intéressant de noter que parmi toutes les méthodes existantes sur le marché, deux méthodes intéressent de plus en plus les scientifiques et les professionnels : la première est basée sur l'extraction QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe) suivie d'une LC-MS/MS, appréciée pour sa capacité à analyser simultanément un très grand nombre de mycotoxines avec une sensibilité et une sélectivité élevées, et la seconde est le dosage immunologique à flux latéral la (LFIA : Lateral Flow Immunoassay) couplée à un lecteur optique, appréciée pour sa rapidité et sa portabilité (Berthiller *et al.*, 2018; Lattanzio *et al.*, 2019).

5 L'analyse du risque mycotoxique

Le risque par rapport aux contaminants alimentaires comme les mycotoxines est déterminé suivant une démarche scientifique appelée analyse du risque qui a pour objectif de garantir la sécurité du consommateur en termes d'exposition quotidienne et tout au long de la vie. L'analyse du risque comporte trois étapes fondamentales : évaluation du risque, gestion du risque et communication sur le risque (Gorris et Yoe, 2014).

L'étape de l'évaluation du risque liés aux contaminant (mycotoxines) comporte quatre sous-étapes complémentaires : l'identification du danger, la caractérisation du danger, l'évaluation de l'exposition et la caractérisation du risque (Gorris et Yoe, 2014; Marin *et al.*, 2013).

Une fois le danger a été identifié sur la base d'études toxicologiques, il est caractérisé, ce qui implique l'établissement d'une valeur toxicologique ou d'une valeur d'orientation sanitaire pour le danger concerné. La caractérisation des risques est effectuée par le Comité mixte FAO/OMS d'experts sur les additifs alimentaires (JECFA) ou par des agences de sécurité sanitaire telles que l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et la Food and Drug Administration (FDA) des États-

Unis. Pour les mycotoxines, comme il n'y a pas de dose sans effet, la principale valeur d'orientation sanitaire établie est la dose journalière ou hebdomadaire tolérable (DJT ou DHT), qui estime la quantité d'une mycotoxine donnée qu'une personne peut ingérer quotidiennement ou hebdomadairement au cours de sa vie sans présenter de risque appréciable pour la santé. Toutefois, en l'absence de certaines données toxicologiques, d'autres paramètres tels que la marge d'exposition sont adoptés (MOE : margin of exposure (en)) (EFSA, 2020a). Ces étapes sont suivies de l'estimation de l'exposition par le biais des apports alimentaires et leur comparaison avec les seuils toxicologiques tolérables.

Sur la base des résultats scientifiques et d'autres critères socio-économiques, les autorités et les décideurs politiques fixent différentes limites maximales (LM) qui devraient être appliquées aux produits fabriqués et vendus sur leur marché (Anater *et al.*, 2016; Dellafiora et Dall'Asta, 2016).

En ce qui concerne la gestion des risques au niveau professionnel, des mesures basées sur les bonnes pratiques d'hygiène et de production, le plan HACCP et la traçabilité sont mises en œuvre toute au long de la chaîne alimentaire pour :

- Prévenir la contamination et le développement des micromycètes sur les cultures et les récoltes;
- Décontamination des denrées alimentaires et des aliments pour animaux contaminés ;
- La surveillance continue des mycotoxines dans les cultures, les aliments pour animaux et les denrées alimentaires et la sensibilisation du public (Tola et Kebede, 2016).

6 Réglementation des mycotoxines

Les réglementations relatives aux mycotoxines sont établies sur la base de la connaissance de la répartition des concentrations de mycotoxines dans les produits et de la disponibilité des données relatives à leur exposition et à leur toxicité (Chilaka *et al.*, 2022). Afin de protéger les consommateurs des effets nocifs des mycotoxines et de garantir un commerce loyal, des limites maximales de contamination sont fixées pour les différentes denrées alimentaires susceptibles d'être contaminées par des mycotoxines.

Depuis 1974, quelques années seulement après la découverte des AFs, les États-Unis et plusieurs autres pays d'Europe ont fixé des limites maximales pour les AFs ;

le nombre de pays disposant d'une réglementation spécifique sur les mycotoxines est passé de 33 en 1981 à 56 en 1987, 77 en 1995 et 100 en 2003. (van Egmond *et al.*, 2007).

En Afrique, bien que plusieurs pays sont gravement confrontés au problème des mycotoxines, seulement 15 pays, représentant environ 59% de la population du continent, ont adopté des réglementations spécifiques sur les mycotoxines (Zinedine et Mañes, 2009). Et souvent les limites et les normes réglementaires établies sont fortement dépendantes des autres régions (pays économiquement développés), malgré la grande disparité des habitudes culturelles, sociales et alimentaires qui existent entre les régions (Chilaka *et al.*, 2022).

En Algérie, malgré l'existence du risque aux autres mycotoxines, seules les AFs sont réglementées, les limites réglementaires établies pour l'AFB1 et les AFTs (somme de l'AFB1, de l'AFB2, de l'AFG1 et de l'AFG2) ont été fixées dans les arachides, les fruits à coque et les céréales à 10 et 20 µg/kg, respectivement (FAO, 2004).

Le dernier rapport de la FAO sur les réglementations relatives aux mycotoxines dans l'alimentation humaine et animale, publié en 2003, illustre les disparités entre les différents pays africains et européens (FAO, 2003) (Figures 8 et 9).

Depuis 2003 jusqu'à récemment la réglementation des mycotoxines en Afrique est presque toujours la même d'après la revue de la littérature, à l'exception de quelques pays comme le Maroc et l'Égypte qui ont introduits de nouvelles limites pour d'autres mycotoxines (Abdallah *et al.*, 2023; El Youssfi *et al.*, 2025).

Dans l'UE, les limites maximales recommandées pour les toxines T-2 et HT-2 deviennent réglementaires et sont rentrées en vigueur à partir du 31 juillet 2024 (E. European Commission, 2024).

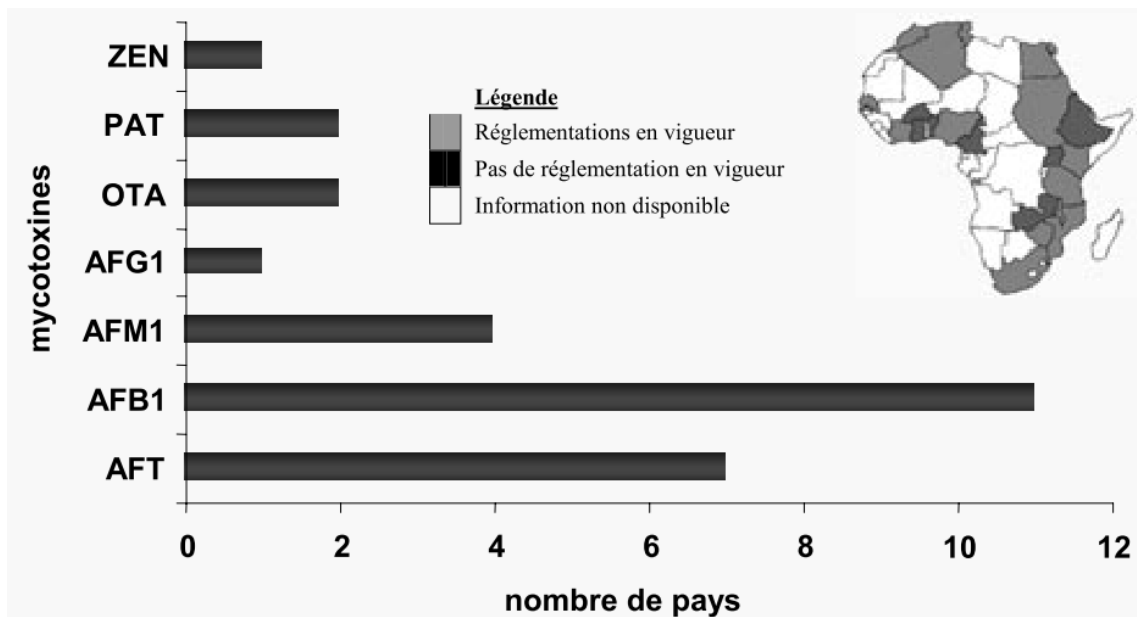


Figure 8 : Mycotoxines présentes dans l'alimentation humaine, réglementées en Afrique (FAO, 2003)

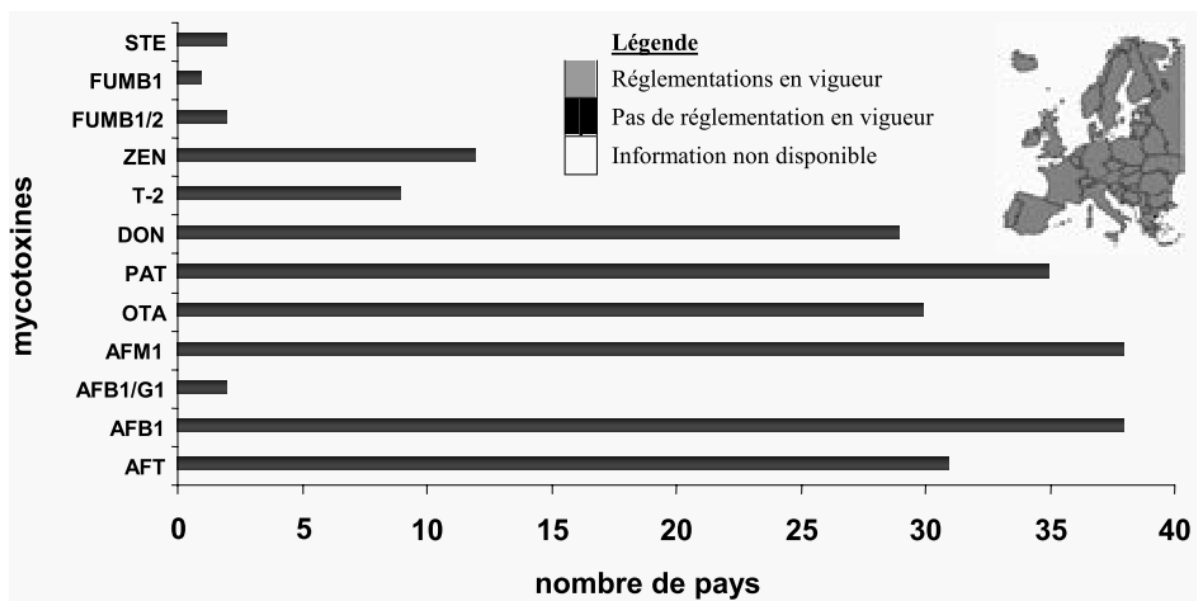


Figure 9 : Mycotoxines présentes dans l'alimentation humaine, réglementées en Europe (FAO, 2003)

La réglementation des mycotoxines était auparavant essentiellement une question nationale, mais aujourd'hui, plusieurs communautés économiques, par exemple l'UE, le MERCOSUR (Mercado Cómico del Sur), ainsi que l'Australie et la Nouvelle-Zélande ont harmonisé leurs réglementations sur les mycotoxines, qui prévalent sur les réglementations nationales (van Egmond *et al.*, 2007). De plus, pour

diminue le risque d'exposition des consommateurs plusieurs pays tendent à adopter des limites plus rigoureuses (Dellafiora et Dall'Asta, 2016). Le Tableau 1 résume les limites maximales établies par la Commission Européenne, l'Administration américaine des produits alimentaires et médicamenteux (US FDA) et l'Algérie pour les mycotoxines majeures dans différentes denrées alimentaires.

Le manque de rigueur dans la réglementation dans certains pays d'Afrique pourrait s'expliquer par leur situation socio-économique (insécurité alimentaire, pauvreté...etc.) accompagnée par l'insuffisance ou l'inexistence de fonds de recherche, d'équipements technologiques et analytiques et de main-d'œuvre qualifiée (Chilaka *et al.*, 2022).

Tableau 1 : Limites maximales fixées par les États-Unis, l'Union européenne et l'Algérie pour les mycotoxines majeures dans l'alimentation humaine et animale (Alshannaq et Yu, 2017; E. European Commission, 2024; European Commission, 2006a; FAO, 2004)

Mycotoxine	Denrée alimentaire	US FDA (µg/kg)	EU (µg/kg)	Algérie (µg/kg)
AFs: B1, B2, G1, G2	Maïs, blé, riz, cacahuètes, sorgho, pistaches, amandes, arachides, noix, figues, graines de coton, épices	20 (AFTs)	2–8 (B1) 4–15 (AFTs)	10 (B1) 20 (AFTs)
AFM1	Lait et produits laitiers	0,5	0,05 dans le lait 0,025 dans le lait et les préparations pour nourrissons	Non fixée
OTA	Céréales, raisins, café, cacao	Non fixée	2–10 0,5 alimentation pour nourrissons	Non fixée
FUMs (B1, B2, B3)	Maïs, produits à base de maïs, sorgho, asperges	2000–4000	200–2000	Non fixée
ZEA	Céréales, produits céréaliers, maïs, blé, orge	Non fixée	20–200	Non fixée
DON	Céréales, produits céréaliers	1000	200–1750	Non fixée
PAT	Pommes, jus et concentré de pommes	50	10–50	Non fixée
T-2 et HT-2 toxines	Céréales, produits céréaliers, maïs, blé, orge	Non fixée	20–1250 10 alimentation pour nourrissons	Non fixée

7 Activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HEs) sont des métabolites secondaires principalement présents dans des glandes uni- ou multicellulaires situées sur l'épiderme des feuilles et des fleurs ou dans des poils glandulaires spécialisés des plantes (Stefanaki et van Andel, 2021). Elles sont composées essentiellement des terpènes volatils, issus de la condensation d'unités isopréniques, et des dérivés aromatiques dérivés du phénylpropane (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

Outre leurs propriétés aromatiques, les HEs et leurs composés ont des propriétés biologiques intéressantes qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques et comme substituts aux additifs alimentaires d'origine synthétique (An *et al.*, 2019; Maurya *et al.*, 2021). En général, les composants principaux des HEs sont principalement responsables de leurs propriétés biologiques, mais il a été démontré que des composés mineurs peuvent également y contribuer et avoir une activité synergique (Ribeiro-Santos *et al.*, 2017).

L'activité antimicrobiennes des HEs et de leur composés est principalement due à leurs propriétés lipophiles qui leurs permettent d'interagir avec la membrane cellulaire du microbe, d'en modifier la perméabilité et la structure, et d'entraîner une fuite du contenu de la cellule (Alizadeh Behbahani *et al.*, 2019; Churklam *et al.*, 2020; Masyita *et al.*, 2022; Silva et Domingues, 2017). Bien que ce mécanisme d'action soit le plus fréquemment observé, d'autres mécanismes inhibant la réplication de l'ADN ou perturbant l'activité métabolique...etc. ont également été rapportés (Pateiro *et al.*, 2021; Prakash *et al.*, 2015). Le mécanisme d'action dépend de la concentration et du groupe fonctionnel du composé bioactif, ainsi que du type du microorganisme (Pateiro *et al.*, 2021; Silva et Domingues, 2017).

Les activités antifongiques des HEs sont proches de celles des mécanismes antimicrobiens précédemment décrits. Les HEs affectent les micromycètes en inhibant la sporulation ou en produisant des dommages cellulaires, entraînant une coagulation ou une dénaturation irréversible des composants cellulaires (Hou *et al.*, 2022; Prakash *et al.*, 2015). Les HEs sont capables de pénétrer et de perturber la paroi cellulaire fongique et les membranes cytoplasmiques par un processus de perméabilisation qui peut atteindre les membranes mitochondriales, provoquer des modifications de la fluidité de la membrane plasmique, entraîner une fuite d'électrolytes ou de contenu cellulaire, altérer le métabolisme des protéines et la concentration en ions calcium (Hou *et al.*, 2022; Maurya *et al.*, 2021).

8 Emballage alimentaire actif : application contre les micromycètes filamenteux et leurs mycotoxines

Dans les systèmes alimentaires mondialisés d'aujourd'hui, où l'espace et le temps entre la ferme et le consommateur sont de plus en plus longs, l'usage rationnel de emballage est devenu une nécessité pour faciliter la protection, le transport et le stockage des produits alimentaires et éviter la déplétion des ressources naturelles (Udomkun *et al.*, 2017; Wikström *et al.*, 2019).

L'emballage actif est un emballage dans lequel des constituants supplémentaires sont délibérément ajoutés ou enduits sur le matériau d'emballage ou l'espace de tête pour améliorer la préservation de la qualité des aliments emballés (Ribeiro-Santos *et al.*, 2017). L'emballage actif joue un rôle dynamique en interagissant avec l'aliment et son environnement pour retarder l'oxydation, contrôler le taux de respiration et limiter la croissance microbienne (Ribeiro-Santos *et al.*, 2017). Les constituants couramment ajoutés dans l'emballage actif sont les :

- a) Agents antimicrobiens (naturels ou synthétiques) : nisine, natamycine, HEs , acides organiques et leurs sels ...etc.
- b) Absorbants d'oxygène : poudre de fer (réaction chimique)
- c) Absorbants d'humidité : gel de silice (réaction physique)
- d) Émetteurs/absorbants de dioxyde : chaux sodée (réaction chimique)
- e) Absorbants d'odeurs : composés acides (réaction chimique)
- f) Absorbants d'éthylène : KMnO_4 (réaction chimique) (López-Rubio, 2011)

Lors de la conception d'un emballage actif les composés actifs sont soit incorporés directement dans le matériau d'emballage, soit dans des supports supplémentaires tels que des sachets ou des coussinets (López-Rubio, 2011).

Dans les films actifs on peut trouver essentiellement deux catégories : les films multicouches et les films composites (Figure 10):

1. Les films multicouches sont souvent constitués de trois couches distinctes, la couche barrière (en contact avec l'atmosphère externe), la couche active et la couche de contrôle (en contact avec l'aliment ou son atmosphère) ;
2. Le film composite est composé d'un mélange de molécules actives et de molécules matricielles liées entre elles par des liaisons covalentes ou non covalentes (Wang *et al.*, 2022).

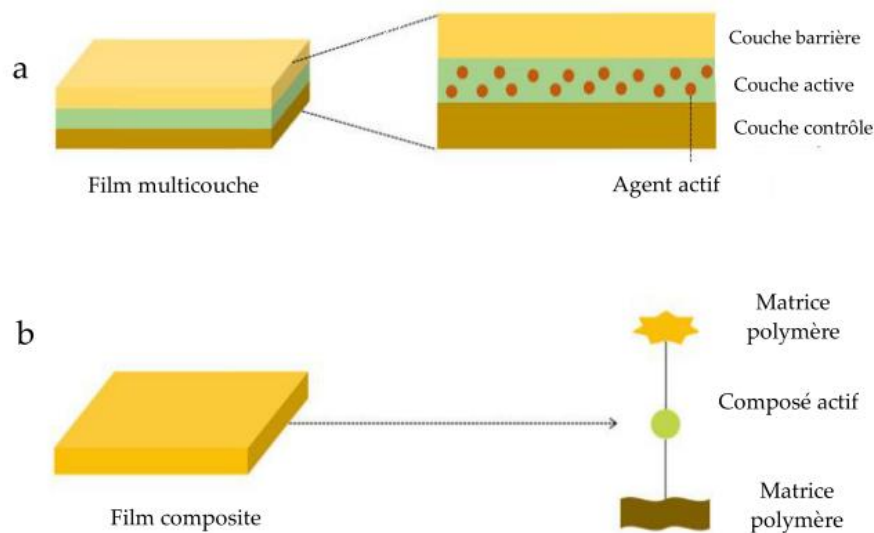


Figure 10 : Représentation schématique du film multicouche actif (a) et du film composite actif (b) (Wang et al. 2022).

Récemment, de nouvelles techniques basées sur l'encapsulation à l'aide de micro- et nanomatériaux ont été développées pour assurer une plus grande stabilité, un meilleur contrôle de la libération et une efficacité accrue des composés actifs (López-Rubio, 2011; Simionato *et al.*, 2019).

L'utilisation des emballages actifs pour lutter contre les micromycètes filamenteux et leurs mycotoxines repose sur le principe de l'incorporation d'un agent actif ou de l'utilisation de matériaux aux propriétés antimicrobiennes pour empêcher la croissance des micromycètes filamenteux mycotoxinogènes susceptibles de contaminer l'aliment emballé. L'avantage de cette technique réside dans la libération progressive de l'agent actif, ce qui permet de prolonger la durée de conservation de l'aliment et de minimiser l'exposition du consommateur aux conservateurs alimentaires (Jafarzadeh *et al.*, 2022).

L'incorporation directe des HEs dans des matrices alimentaires est souvent moins favorisée en raison du risque d'altération des propriétés organoleptiques des aliments et de la susceptibilité des composés actifs à être modifiés suite à leur interaction avec les constituants alimentaires tels que les graisses, les protéines et les amidons (Prakash *et al.*, 2015). Dans certains cas où les HEs ont des odeurs fortes, des stratégies de masquage impliquant l'ajout d'arômes pourraient constituer une solution intéressante (Wrona *et al.*, 2023).

Partie expérimentale

**Chapitre I : Evaluation des niveaux
des mycotoxines dans les aliments
échantillonnés en Algérie et
estimation de l'exposition de la
population**

1 Introduction

Les mycotoxines sont des contaminants alimentaires très préoccupants en raison de leurs effets négatifs sur la santé humaine et animale. Les aflatoxines (AFs), l'ochratoxine A (OTA), le déoxynivalénol (DON) et la zéaralénone (ZEA) sont parmi les mycotoxines les plus importantes quant tenu de leur fréquente occurrence dans différentes denrées alimentaires (Ünusan, 2019).

Au cours des dernières décennies, un certain nombre d'études ont signalé la présence de mycotoxines dans les produits alimentaires des pays d'Afrique du Nord, en particulier dans les produits céréaliers de base, les fruits à coque et les fruits secs (Tantaoui-Elaraki *et al.*, 2018).

L'Algérie est un pays de la zone subtropicale de l'Afrique du Nord (18°N, 38°N). Elle est caractérisée par un climat méditerranéen sur la frange nord (*Tell*), un climat semi-aride dans les régions intérieures (*Steppes*) et un climat aride dans les régions sahariennes méridionales (*Sahara*). Le risque de développement de micromycètes toxigènes et de production de leurs mycotoxines est surtout évident dans la zone septentrionale où l'humidité est relativement plus élevée.

Le régime alimentaire algérien est basé sur la consommation d'une grande proportion de céréales, qui représenteraient 70% de la consommation totale (Beladel *et al.*, 2013). En effet, la consommation de blé à elle seule a atteint environs 10 millions de tonnes en 2020 (FAO, 2022). Tandis que les autres produits susceptibles d'être contaminés par les mycotoxines, tels que les noix et les fruits secs, représentent une part relativement peu importante.

La production nationale de produits agricoles étant insuffisante, ainsi le recours à l'importation est souvent envisagé. Certains produits importés par voie maritime sont susceptibles d'être contaminés par des micromycètes toxigènes et leurs mycotoxines durant le transport, l'entreposage et le stockage.

L'objectif de la première partie de cette étude était d'étudier les teneurs en mycotoxines majeures dans les fruits à coque, les fruits secs et les aliments traditionnels les plus consommés en Algérie, de comparer leur conformité avec les teneurs maximales fixées par la réglementation européenne et d'estimer l'exposition de la population et le risque encouru.

2 Matériel et méthodes

2.1 Zone d'étude et collecte des échantillons

L'échantillonnage pour l'analyse des mycotoxines est souvent très compliqué en raison de l'hétérogénéité de la contamination et la possibilité de la présence des mycotoxines même en absence des micromycètes filamenteux mycotoxinogènes.

Dans cette étude, l'échantillonnage a été effectué en se référant aux recommandations réglementaires de la Commission Européenne n° 401/2006 (European Commission, 2006b). Ainsi, pour chaque échantillons 1 kg a été prélevé ensuite 200 g ont été prises après homogénéisation et broyage pour les analyses.









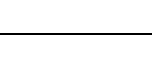
L'échantillonnage a été réalisé, en décembre 2019, dans onze (11) territoires administratifs (Constantine, Sétif, Béjaïa, Tizi Ouzou, Bouira, Boumerdes, Alger, Blida, Ain Defla, Chlef, Ouargla), les régions ont été choisies de l'est à l'ouest de l'Algérie, principalement au nord où la densité de la population est plus forte (Figure 11).

Au total, 198 échantillons (Tableau 2) ont été prélevés au hasard dans différents points de vente (marchés quotidiens, hypermarchés, épiceries, boulangeries, cafétérias...etc), en décembre 2019. Les échantillons d'aliments présentaient différents degrés de transformation et de traitement et étaient soit importés, soit produits localement. Les échantillons ont été transportés dans une glacière et conservés à -20 °C jusqu'à l'analyse et leur manipulation a été effectuée dans des conditions aseptiques.



Figure 11 : Distribution géographique des échantillons

Tableau 2 : Description des échantillons analysés

Type	Nombre	Description
Couscous 	27	Préparation traditionnelle à base de semoule, industriel ou roulé à la main, à base de blé, blé complet, mélange blé/orge, blé/caroube et blé/herbes aromatiques.
Rechta 	26	Nouilles traditionnelles à base de semoule et de farine. Fabrication artisanale.
Metlou 	18	Pain levé traditionnel à base de semoule et/ou de farine. Fabrication artisanale.
Bradj 	13	Préparation traditionnelle à base de semoule grosse et de pâtes de dattes. Fabrication artisanale
Dattes 	20	Fruits de dattes et pâte de dattes de différentes qualités (variétés inconnues).
Figues 	29	Fruits séchés de différentes qualités, locales et importées (variétés inconnues).
Amandes 	21	Amandes non décortiquées, décortiquées et pelées ; salées et non salées ; grillées et non grillées.
Arachides 	24	Cacahuètes non décortiquées, décortiquées et pelées ; salées et non salées ; grillées et non grillées.
Noix 	20	Noix non décortiquées, décortiquées ; salées et non salées ; grillées et non grillées.
Total	198	

2.2 Conditions expérimentales

Pour l'analyse des mycotoxines, des méthodes de dépistage immunologiques et des méthodes chromatographiques de très haute précision sont utilisées (Figure 12).

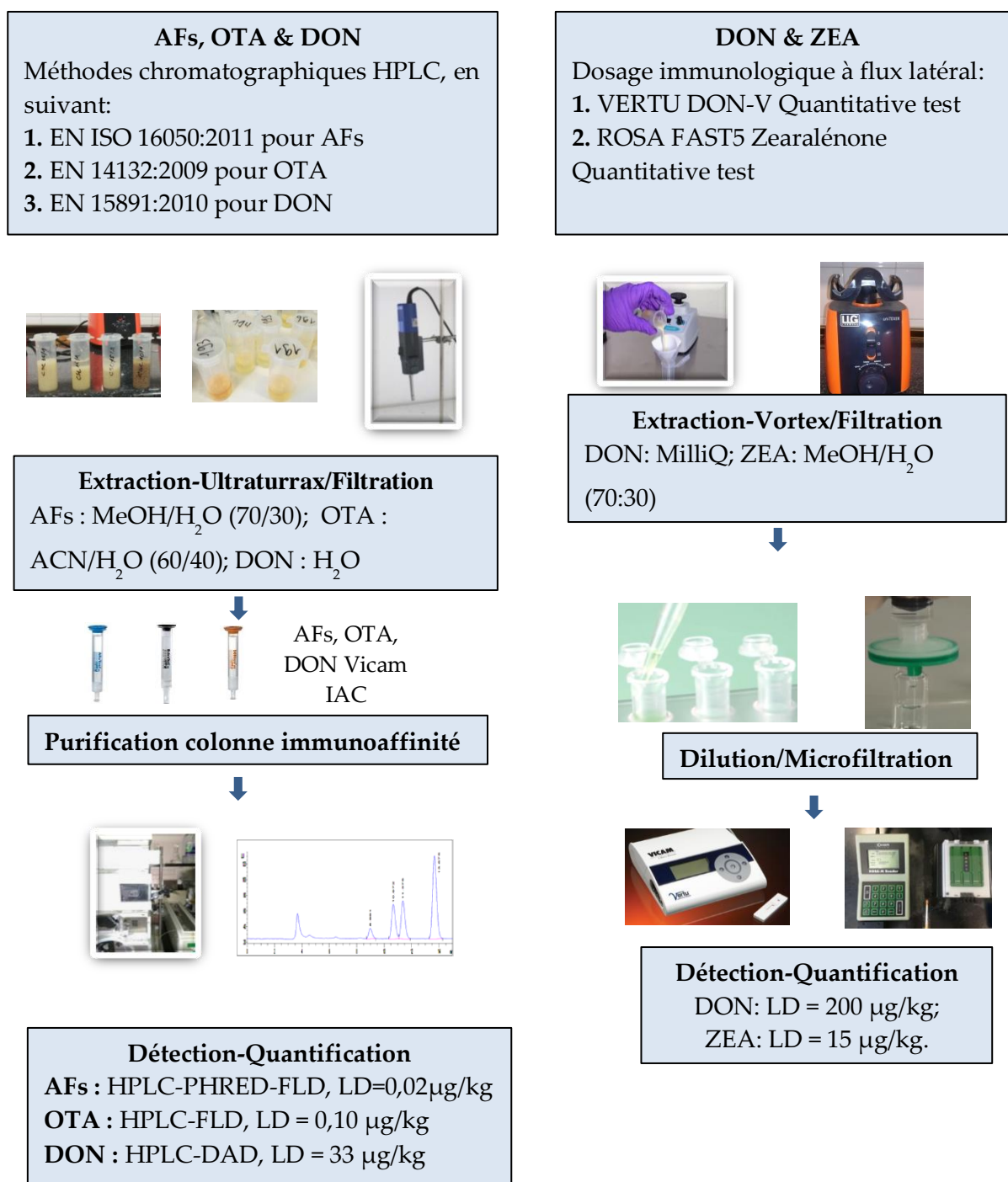


Figure 12 : Résumé des méthodes d'analyses effectuées

Pour évaluer la conformité par rapport aux limites maximales réglementaires (LMs), des tests de dépistage numériques peuvent être envisagés en premier lieu, puis complétés par des méthodes de confirmation pour les échantillons non conformes (European Commission, 2014; Lattanzio *et al.*, 2019). L'applicabilité des méthodes de dépistage pour étudier l'occurrence des mycotoxines a également été rapportée (De Nijs *et al.*, 2016).

Le type de mycotoxines recherchées dans les échantillons et les limites maximales prises en compte sont définies dans le règlement de la Commission Européenne n° 1881/2006 (European Commission, 2006a).

Dans les produits à base de céréales (*Couscous*, *Rechta* et *Metlou*), les fruits à coque (arachides, amandes et noix) et les fruits secs (figues, dattes, gâteau à base de dattes), nous avons recherché les quatre AFs (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2) et l'OTA. En revanche, le DON et la ZEA ont été étudiés uniquement dans les produits à base de céréales.

2.3 Dépistage préliminaire du DON et de la ZEA

L'analyse du DON et de la ZEA dans les produits céréaliers (*Couscous*, *Rechta* et *Metlou*) a été réalisée au préalable avec des tests immunologiques quantitatifs à flux latéral.

Pour le DON, les bandelettes à flux latéral DON-V, les consommables et le lecteur de bandelettes quantitatives Vertu ont été obtenus auprès de Vicam (Milford, MA, USA), les analyses ont été opérées en suivant les instructions du fournisseur (Annexe 1).

La ZEA a été déterminée à l'aide des kits de test quantitatif Rapid One Step Assay (ROSA) de Charm Sciences (Lawrence, MA, USA) en utilisant la bandelette ROSA FAST 5 lue dans le lecteur ROSA-M, suivant les instructions du fournisseur (Annexe 2).

Les deux procédures d'essai sont reconnues par la Federal Grain Inspection Service qui appartient à l'USDA (United States Department of Agriculture) (AMS-USDA, 2024).

Les méthodes d'immunodosage ont été validées en interne en ce qui concerne la récupération et la précision en utilisant du *Couscous* enrichi à 1 000 µg de DON/kg et 150 µg de ZEA/kg. Les taux de récupération pour le DON et le ZEA étaient

respectivement de 95% et 99%, avec une répétabilité (RSDr) inférieure à 20%. Afin de vérifier l'adéquation de ces tests, les échantillons positifs pour le DON ont également été analysés ultérieurement par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). La mycotoxine ZEA n'ayant été détectée dans aucun échantillon, elle n'a pas fait l'objet d'une analyse plus poussée par HPLC.

2.4 Produits chimiques et réactifs pour l'analyse chromatographique

Les réactifs, le chlorure de sodium (NaCl) et la solution tamponnée au phosphate (PBS : Phosphate Buffered Saline) ont été fournis par Panreac (Barcelone, Espagne) et Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA), respectivement. Les colonnes d'immunoaffinité (IAC) AflaTest WB SR[®], OchraTest WB[®] et DonTest[®] (VICAM, Watertown, MA, USA) ont été utilisées pour purifier les extraits. L'azote C55 pour l'évaporation des solvants a été acheté à Carbueros Metálicos (Barcelone, Espagne). L'acétonitrile, l'acétate d'éthyle et le méthanol de qualité HPLC ont été fournis par Scharlau (Scharlab, Barcelone, Espagne), tandis que l'eau ultrapure a été obtenue à partir d'un système de purification de l'eau Milli-Q (18,2 MU cm⁻¹, Millipore, Bedford, MA, États-Unis).

Les solutions de référence des AFs (B1, B2, G1 et G2), de l'OTA et du DON ont été fournies par Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). Les AFs consistaient en un mélange de 1 µg d'AFB1 et d'AFG1, et de 0,3 µg d'AFB2 et d'AFG2 dans du méthanol. Une solution intermédiaire pour les AFs a été préparée à partir du mélange original et des solutions étalons de travail ont été préparées à différentes concentrations entre 0,02 et 5 ng/mL pour l'AFB1, G1, B2 et G2 dans la phase mobile composée d'eau/acétonitrile/méthanol (50/10/40). Les solutions mères d'OTA et de DON étaient composées de 10 µg OTA/mL dans l'acétonitrile et de 200 µg DON/mL dans l'acétate d'éthyle/méthanol (95/5), respectivement. Les solutions intermédiaires d'OTA A et de DON ont été préparées en diluant la solution mère avec du méthanol, et les étalons de travail ont été préparés de 0,25 à 3 ng OTA/mL dans une solution composée d'eau/acétonitrile/acide acétique (51/48/1) tandis que les solutions d'étalonnage de travail de 30 à 500 ng DON/mL ont été composées d'eau/acétonitrile/méthanol (95/5/5). Les solutions de base et les solutions intermédiaires ont été conservées à -20 °C, tandis que les solutions d'étalonnage de travail ont été conservées à 4 °C et renouvelées chaque semaine.

Le laboratoire utilise régulièrement des matériaux de référence certifiés (CRM) et participe à des tests de performance. Avec chaque lot d'échantillons analytiques, des matériaux de référence certifiés achetés à Biopure (Romer Labs, Tulln, Autriche)

ont été analysés pour vérifier la précision et la récupération en cours. Ainsi, la farine de maïs contenant des AFs (AFB1 à $7,3 \pm 2,4$ $\mu\text{g}/\text{kg}$; AFB2, AFG1 et AFG2 à < 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ chacun), la farine de maïs contenant du DON à 821 ± 64 $\mu\text{g}/\text{kg}$ et du ZEA à 87 ± 7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ont été utilisées. Les valeurs de performance obtenues se situaient dans les marges acceptables définies dans le règlement (CE) n° 401/2006 de la Commission Européenne.

En ce qui concerne les consignes de sécurité, toute la verrerie et le matériel de laboratoire utilisés ont été traités avec une solution aqueuse d'hypochlorite de sodium (5%) avant d'être nettoyés ou jetés, afin de minimiser les risques sanitaires liés à la contamination par les mycotoxines (Imperato *et al.*, 2011).

2.5 Équipement HPLC et conditions chromatographiques

Le système HPLC consistait en une chromatographie liquide haute performance Agilent Technologies 1100 couplée à un détecteur à barrettes de diodes (DAD) et à un détecteur de fluorescence (FLD). La séparation a été effectuée sur une colonne chromatographie liquide en phase inverse, ACE 5 C18, $250 \times 4,6$ mm, $5 \mu\text{m}$ de granulométrie (Análisis Vínicos, Ciudad-Real, Espagne) à 50 °C pour les AFs et à 25 °C pour l'OTA et le DON. Un système injecteur manuel, équipé d'une boucle d'injection de $100 \mu\text{L}$, a été utilisé. Les phases mobiles isocratiques précédemment mentionnées ont été pompées à un débit de $0,7$ mL/min pour les AFs et de $1,0$ mL/min pour l'OTA et le DON.

Le détecteur FLD a été réglé à 365 nm (excitation) et 435 nm (émission) pour les AFs et à $333/460$ nm pour l'OTA, tandis que le détecteur à barrettes de diodes (DAD) pour le DON a été réglé à 220 nm. Le système HPLC a été connecté à un réacteur photochimique à détection améliorée (PHRED : photochemical reactor for enhanced detection) (LCTech UVE, Dorfen, Allemagne) pour la quantification des AFs par dérivation photochimique post-colonne. Le LCTech UVE était connecté entre la colonne et le détecteur de fluorescence et était réglé à 254 nm.

2.6 Analyse des mycotoxines par HPLC

Les méthodes analytiques ont été appliquées conformément aux normes CEN (Commission Européenne de Normalisation) et aux recommandations du fabricant, avec de légères modifications. Par conséquent, elles ont été optimisées et validées en interne conformément aux lignes directrices définies dans le règlement 401/2006 de la

Commission relatif aux méthodes d'échantillonnage et d'analyse pour le contrôle officiel des mycotoxines.

La procédure d'extraction, de purification et de détermination des AFs (AFB1, AFB2, AFG1 et AFG2) a été basée sur la méthode EN ISO 16050:2011 (ISO, 2011).

Un échantillon représentatif de 5 g a été extrait avec 1 g de chlorure de sodium et 25 mL de méthanol/eau (7/3, v/v) à l'aide d'un homogénéisateur ultraturrax (IKA Labortechnik M20, Staufen, Allemagne) pendant 2 minutes.

L'extrait a été filtré sur du papier Whatman n° 4, et un volume de 15 mL a été récupéré et dilué avec 30 mL d'eau distillée, et purifié une seconde fois à travers un filtre en fibre de verre Whatman (1,5 µm). 15 mL du filtrat final sont ensuite purifiés à travers une colonne d'immunoaffinité Aflatest (Vicam), en suivant les instructions du fabricant. Ensuite, l'éluant contenant les AFs a été évaporé à sec sous un courant d'azote à 50 °C dans un concentrateur d'échantillons (Stuart instruments, Cambridge, UK).

Le résidu séché a été reconstitué avec 1 mL de phase mobile et filtré à travers un filtre de 0,45 µm juste avant l'injection dans le système LC-PHRED-FLD avec des aliquotes de 100 µL. La limite de détection (LD) et de quantification (LQ) étaient de 0,02 µg/kg et 0,06 µg/kg, respectivement, pour chacune des AFB1, B2, G1 et G2.

L'analyse de l'OTA a été effectuée selon la méthode EN 14132:2009 (ISO, 2009). En résumé, 5 g d'échantillon sont vortexés avec 20 mL d'acétonitrile/eau (60/40, v/v) pendant 2 minutes puis filtrés sur du papier filtre Whatman n° 4. Le volume de 10 mL a été dilué avec 25 mL de PBS et filtré à travers un filtre en fibre de verre. Quatorze millilitres de l'extrait filtré dilué ont été entièrement passés à travers la colonne d'immunoaffinité OchraTest WB® en suivant les instructions du fournisseur. L'éluât recueilli a été évaporé à l'azote. Le résidu final a été reconstitué avec 1 mL de phase mobile et injecté dans le système LC-FLD avec des aliquotes de 100 µL. La limite de détection (LD) et de quantification (LQ) de l'OTA étaient de 0,10 µg/kg et 0,50 µg/kg, respectivement.

Le DON a été analysé selon la méthode EN 15891:2010 (ISO, 2010). Brièvement, 5 g d'échantillon ont été mélangées avec 20 mL d'eau distillée et vortexées pendant 2 minutes, puis filtrées sur du papier filtre Whatman n° 4. Quatre millilitres de l'extrait ont été dilués avec 16 mL de PBS et passés à travers les colonnes DonTest® IAC. La colonne IAC a ensuite été éluée avec 2 mL de méthanol et le

solvant a été évaporé jusqu'à siccité sous un léger courant d'azote à 50 °C. Enfin, l'éluât a été dissous dans 500 µL de mélange eau/acétonitrile/méthanol (90/5/5), filtré à travers un filtre de 0,45 µm et 100 µL ont été injectés dans le système LC-DAD. La limite de détection (LD) et de quantification du DON étaient de 33 µg/kg et 100 µg/kg, respectivement.

2.7 Évaluation de l'exposition et caractérisation du risque

Les apports journaliers estimés (EDI) ont été obtenus pour chaque mycotoxine analysée, comme indiqué dans la formule suivante :

$$\text{EDI} = (\text{K [g/jour]} \times \text{Cm} [\mu\text{g/kg}]) / \text{pc [kg]} \quad (1)$$

Où EDI est l'apport journalier estimé pour chaque mycotoxine ; K est l'apport alimentaire (g/jour) ; Cm est la concentration moyenne de chaque mycotoxine (µg/kg) ; pc est le poids corporel de l'adulte (70 kg). Les apports alimentaires ont été obtenus à partir des données (production, importation et exportation), de la base de donnée FAOSTAT : les arachides (4g/jour), les amandes (4g/jour), les figes sèches (10g/jour), les dattes (60g/jour), le *Bradj* (60g/jour), le *Couscous* (100g/jour), la *Rechta* (100g/jour) et le *Metlou* (100g/jour) (FAO, 2022). Les concentrations moyennes de mycotoxines ont été calculées en attribuant une valeur de LD/2 aux données censurées à gauche (LC) (Heshmati *et al.*, 2017; Meerpoel *et al.*, 2021).

La caractérisation des risques pour la santé a été réalisée selon deux approches :

1- Pour le DON, le IARC l'a classé dans le groupe 3, non classifiable quant à sa cancérogénicité pour l'Homme (I. A. for R. on C. IARC, 1993). Pour cette mycotoxine, une dose journalière tolérable (TDI) a été établie à 1 µg DON/kg pc/jour par l'EFSA (EFSA, 2017). Une fois l'apport journalier estimé (EDI) calculé pour le DON (µg DON/kg pc/jour), le risque a été estimé en tant que pourcentage de la dose journalière tolérable (% TDI), calculé en divisant l'apport journalier estimé (EDI) à la dose journalière tolérable (TDI) (µg/kg pc/jour) comme suit :

$$\% \text{TDI} = (\text{EDI} / \text{TDI}) \times 100 \quad (2)$$

2- Pour les AFs et l'OTA nous avons utilisé la marge d'exposition (MOE). L'AFB1 est à la fois génotoxique et cancérigène (EFSA, 2020a), tandis que le potentiel génotoxique de l'OTA n'est pas clair (EFSA, 2020b). Néanmoins, la marge d'exposition (MOE) a été appliquée pour caractériser le risque de cette mycotoxine

(OTA) dans la présente étude. Une valeur de MOE de 10 000 ou plus est considérée comme peu préoccupante du point de vue de la santé publique pour les substances génotoxiques et cancérigènes (EFSA, 2005).

Pour les AFs, les valeurs de MOE ont été calculées en divisant la dose de référence de niveau de confiance inférieur (BMDL₁₀) de 0,4 µg/kg pc/jour par les apports journaliers estimés (EDI) (EFSA, 2020a), comme suit:

$$MOE = \frac{BMDL_{10}}{EDI} \quad (3)$$

BMDL₁₀ (benchmark dose lower confidence limit 10%): the lowest dose which is 95% certain to cause no more than a 10% cancer incidence in rodents (la dose la plus faible dont il est certain à 95% qu'elle ne provoque pas plus de 10% d'incidence de cancer chez les rongeurs). Dans cette étude, la même valeur de BMDL a été utilisée pour les calculs de MOE de l'AFB₂, G1 et G2. Donc pour l'Homme une marge de sécurité additionnelle a été établie en supposant que l'apport journalier en AFs égale ou inférieur aux dix-millième du seuil critique établi chez les rongeurs (BMDL₁₀ = 0,4 µg/kg pc/jour) est accepté. En d'autres termes, seules les MOE supérieures ou égales à 10 000 sont acceptées.

Pour l'OTA, les valeurs de MOE ont été calculées en divisant la BMDL₁₀ de référence de 14,5 µg/kg pc/jour par les apports journaliers estimés (EDI) (EFSA, 2020b).

2.8 Analyse des données

Les résultats des analyses des mycotoxines ont été réalisés à l'aide du logiciel OpenLab CDS (Agilent). Un échantillon est considéré comme positif pour une mycotoxine testée lorsque la concentration est supérieure à la limite de détection (LD). Les échantillons dont la concentration est inférieure à la LD (non détectés ou données censurées à gauche) se sont vu attribuer une valeur égale à la moitié de la LD pour l'interprétation des résultats et l'évaluation de l'exposition (FAO/OMS, 2009). L'analyse descriptive de la moyenne, de l'écart-type (SD) et de l'écart-type relatif (RSD%) a été réalisée à l'aide du logiciel statistique SPSS v21 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

3 Résultats et discussion

3.1 Données sur l'occurrence des mycotoxines

Les méthodes d'analyse utilisées étaient performantes et adaptées en termes de récupération, de répétabilité et de reproductibilité, et se situaient dans la fourchette acceptable définie dans le règlement (CE) n° 401/2006 de la Commission. De même, les méthodes répondaient aux critères de performance définis dans d'autres documents d'orientation européens, puisque la répétabilité en termes de RSDr (%) était inférieure à 20% et que la récupération se situait dans une fourchette de 70 à 120% (European Commission, 2017).

Au total, 198 denrées alimentaires échantillonnées en Algérie, représentées par des fruits à coque (arachides, amandes et noix), des fruits secs (figes sèches, dattes et *Bradj*) et des produits à base de céréales (*Couscous*, *Rechta* et *Metlou*) ont été analysées et évaluées. La Figure 13 montre l'incidence (% positif), la concentration (moyenne \pm SD) et les valeurs maximales des mycotoxines AFs (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2), OTA et DON dans les différents échantillons.

Sur les 198 échantillons, 107 (54,0%) étaient contaminés par au moins une mycotoxine à des niveaux variables. Sur l'ensemble des échantillons, 75 (37,9%) étaient contaminés par des AFTs (somme des AFB1, B2, G1 et G2) à des niveaux allant de 0,21 à 6,21 $\mu\text{g}/\text{kg}$; l'AFB1 était présente dans 37 échantillons (18,7%) et l'AFG1 dans 64 (32,3%), tandis que les AFB2 et AFG2 étaient présentes dans 31 (15,7%) et 11 (5,6%) échantillons d'aliments, respectivement. Il a été constaté que l'AFB1 et l'AFB2 coexistaient dans 31 (15,7%) échantillons et que les AFB1, B2 et G1 étaient présents dans 24 échantillons (12,1%).

En ce qui concerne l'OTA, elle était présente dans 16,9% des échantillons à base de céréales (*Couscous*, *Rechta* et *Metlou*) avec une moyenne de 0,15 $\mu\text{g}/\text{kg}$, mais l'OTA n'a pas été détectée dans les noix et les fruits secs.

L'incidence du DON dans les produits à base de céréales variait de 77,8% dans le *Couscous*, 83,3% dans le *Metlou* et 96,2% dans la *Rechta*, avec des niveaux moyens de 90 à 123 $\mu\text{g}/\text{kg}$. La mycotoxine ZEA n'a été détectée dans aucun échantillon.

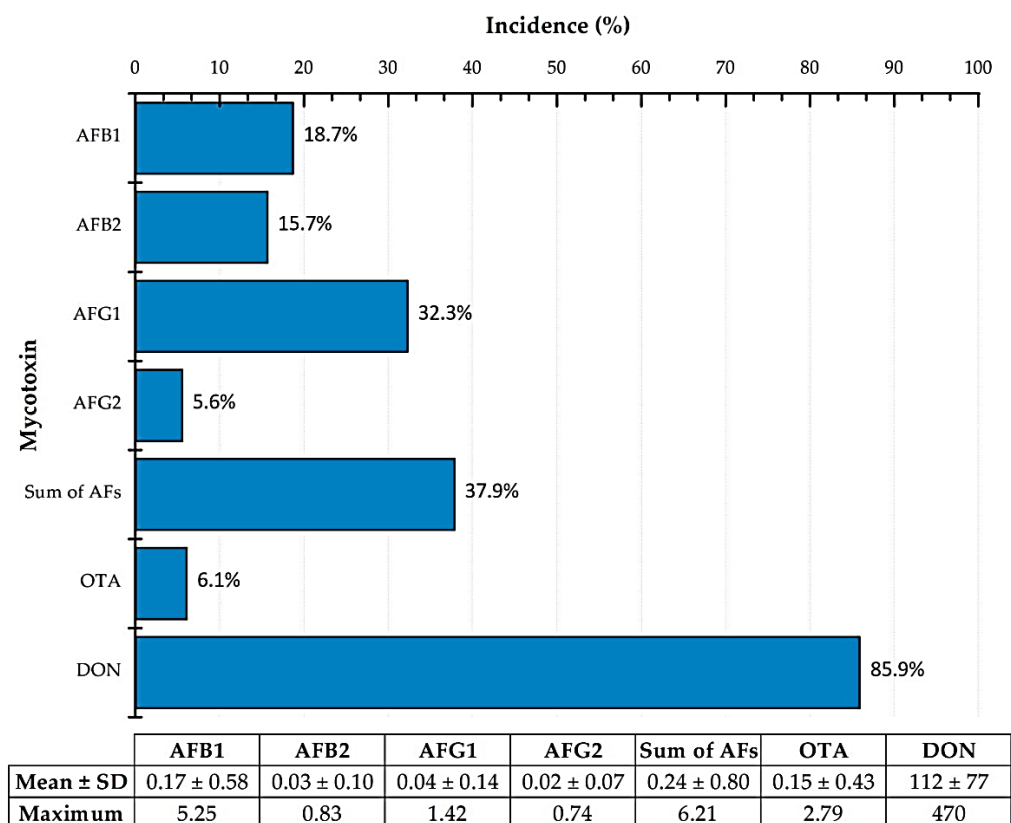


Figure 13 : Incidence (%) et niveaux de contamination ($\mu\text{g}/\text{kg}$) des mycotoxines dans les échantillons analysés

3.1.1 Occurrence des AFs et de l'OTA dans les fruits à coque

Dans le groupe des fruits à coque, les mycotoxines AFs ont été détectées dans plusieurs échantillons, mais aucun d'entre eux ne contenait d'OTA.

Les données relatives à la contamination par les AFs (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 et la somme des quatre AFTs) dans les 65 échantillons de fruits à coque sont résumées dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Présence et niveaux des AFs (B1, B2, G1, G2 et AFTs) et de l'OTA dans les fruits à coque. Résultats exprimés en µg/kg (ppb)

Aliments	Descriptif	AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	AFTs	OTA
Arachides (n=24)	% Positif	62,5%	62,5%	45,8%	29,2%	62,5%	0,0%
	M ± SD ¹	0,92 ± 1,34	0,16 ± 0,23	0,17 ± 0,37	0,08 ± 0,19	1,31 ± 1,89	< LD ²
	Maximum	5,25	0,83	1,42	0,74	6,21	--
Amandes (n=21)	% Positif	9,5%	9,5%	0,0%	0,0%	9,5%	0,0%
	M ± SD	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	< LD	< LD	0,02 ± 0,02	< LD
	Maximum	0,05	0,02	--	--	0,07	--
Noix (n=20)	% Positif	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
	M ± SD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
	Maximum	--	--	--	--	--	--
Total fruits à coque (n=65)	% Positif	26,2%	26,2%	16,9%	10,8%	26,2%	0,0%
	M ± SD	0,35 ± 0,92	0,06 ± 0,16	0,07 ± 0,24	0,04 ± 0,12	0,49 ± 1,30	< LD

¹M ± SD : Moyenne ± écart type ; ² LD: limite de détection de 0,02 µg/kg pour chacune des AFs et de 0,10 µg/kg pour l'OTA.

Dix-sept (17) échantillons sur 65 (26,2%), représentés par des arachides et des amandes, étaient contaminés par des AFs. Par contre, aucune aflatoxine n'a été détectée dans les noix. Tous les échantillons positifs de fruits à coque contenaient à la fois de l'AFB1 et de l'AFB2, tandis que la prévalence de l'AFG1 était de 16,9% et celle de l'AFG2 de 10,8%.

Dans le groupe des fruits à coque, l'incidence la plus élevée des AFs a été détectée dans les arachides, avec la présence de l'AFB1 et l'AFB2 dans 62,5% des échantillons, avec des niveaux moyens de 0,92 µg/kg et 0,16 µg/kg, respectivement. L'incidence de l'AFG1 était de 45,8% (moyenne de 0,17 µg/kg) et celle de l'AFG2 de 29,2% (moyenne de 0,08 µg/kg). L'AFB1 et l'AFB2 ont été détectées dans 9,52% des échantillons d'amandes à un niveau moyen de 0,01 µg/kg, tandis que l'AFG1 et l'AFG2 n'étaient pas présentes dans les amandes.

Quatre échantillons d'arachides ont dépassé la teneur maximale de l'UE pour l'AFB1 fixée à 2 µg/kg, tandis que trois d'entre eux ont dépassé la teneur maximale pour la AFTs (4 µg/kg) (European Commission, 2006a). En revanche, les AFs étaient

inférieures aux teneurs maximales fixées par la réglementation algérienne à 10 µg/kg pour l'AFB1 et 20 µg/kg pour les AFTs (FAO, 2004).

La prévalence de l'AFB1 et de l'AFB2 dans les fruits à coque est conforme à d'autres études dans lesquelles les deux AFs sont signalées comme étant les mycotoxines les plus courantes dans les arachides, par rapport à l'AFG1 et à l'AFG2, du fait de leur susceptibilité à la contamination par *A. flavus* (Wu *et al.*, 2016). Les aflatoxines G ont également été détectées moins fréquemment et déterminées à des niveaux plus faibles que l'AFB1 dans les échantillons de fruits à coque dans d'autres études (Bumbangi *et al.*, 2016; Huang *et al.*, 2010).

Il est bien connu que les arachides sont un produit très sensible à la contamination par les AFs. Les résultats actuels de l'incidence et de la concentration des AFs sont conformes à deux études antérieures réalisées en Algérie. Riba *et al.* (2013) ont rapporté une incidence des AFs dans les arachides de 100%. Ait Mimoune *et al.* (2018) ont détecté des AFs dans 57% des échantillons d'arachides avec 8% d'échantillons dépassant la limite algérienne pour l'AFB1 (10 µg/kg), tandis que dans les amandes, 56% des échantillons se sont révélés positifs pour les AFs. Une incidence remarquable des AFs dans les arachides a également été signalée dans d'autres parties du monde, 55% en Zambie (Bumbangi *et al.*, 2016), 53% au Ghana (Asare Bediako *et al.*, 2019), et 70% au Pakistan (Masood *et al.*, 2015).

Les solutions pratiques pour réduire les AFs dans les aliments comprennent des interventions de sensibilisation pour promouvoir les bonnes pratiques agricoles, l'utilisation de produits de haute qualité pour la transformation, l'application de techniques de tri et de méthodes de nettoyage, et l'optimisation des conditions de transformation et de stockage.

3.1.2 Occurrence des AFs et de l'OTA dans les fruits secs

L'Algérie est l'un des principaux producteurs de dattes et de figues, se classant au quatrième rang mondial (FAO, 2022). Dans le groupe des fruits secs, des AFs ont été détectées dans plusieurs échantillons, mais aucun d'entre eux ne contenait d'OTA. La contamination par les AFs des figues sèches, des préparations à base de dattes appelées *Bradj* est présentée dans le Tableau 4. Le *Bradj* traditionnel contenait des AFs dans 100% des échantillons, suivi par les figues sèches (34,5%) et les dattes (5%). Le schéma de contamination était un peu différent de celui trouvé dans les arachides, l'AFG1 étant la plus répandue (incidence de 32,6%), suivie de l'AFB1 (30,6%) et de l'AFB2 (22,6%).

Comme le montre le Tableau 4, les concentrations des AFs varient entre 0,03 µg/kg et 2,24 µg/kg, avec une valeur moyenne de 0,21 µg/kg. Les valeurs les plus élevées ont été rapportées dans les échantillons de *Bradj*, avec quatre échantillons se situant entre 1,02 et 2,24 µg/kg. L'UE a établi des teneurs maximales en AFB1 et en AFTs dans les produits présentant un risque élevé de contamination, tels que les figues sèches à 6 µg AFB1/kg et 10 µg/kg AFTs/kg, et les dattes à 2 µg AFB1/kg et 4 µg/kg AFTs/kg (European Commission, 2006a). Aucun des échantillons de *Bradj* analysés ne dépassait ces niveaux maximaux.

Le Tableau 4 montre que 10 des 29 (34,5%) échantillons de figues sèches étaient contaminés par au moins un type des AFs, mais l'AFB2 n'a été détectée dans aucun échantillon. Cependant, l'AFG1 était la mycotoxine la plus répandue (24,1%), suivie par l'AFB1 (17,2%) et l'AFG2 (10,3%), avec un intervalle de concentrations comprises entre 0,02 et 0,30 µg/kg. Les AFB1, G1 et G2 ont été retrouvées dans plusieurs échantillons de figues sèches, ce qui est en accord avec les résultats d'une étude sur les figues sèches en Tunisie (Azaiez *et al.*, 2015).

Tableau 4 : Présence et niveaux des AFs (B1, B2, G1, G2 et AFTs) et d'OTA dans les fruits secs. Résultats exprimés en µg/kg (ppb)

Aliment	Descriptif	AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	AFTs	OTA
Figues sèches (n=29)	% Positive	17,2%	0,0%	24,1%	10,3%	34,5%	0,0%
	M ± SD ¹	0,01 ± 0,01	< LD	0,03 ± 0,06	0,02 ± 0,03	0,04 ± 0,07	< LD ²
	Maximum	0,05	--	0,30	0,17	0,32	--
Dattes (n=20)	% Positive	5,0%	5,0%	0,0%	0,0%	5,0%	0,0%
	M ± SD	0,02 ± 0,05	0,01 ± 0,02	< LD	< LD	0,03 ± 0,07	< LD
	Maximum	0,23	0,10	--	--	0,33	--
<i>Bradj</i> (n=13)	% Positive	100,0%	100,0%	100,0%	0,0%	100,0%	0,0%
	M ± SD	0,72 ± 0,58	0,09 ± 0,06	0,06 ± 0,01	< LD	0,87 ± 0,64	< LD
	Maximum	1,97	0,20	0,07	--	2,24	--
Total fruits secs (n=62)	% Positive	30,6%	22,6%	32,3%	4,8%	38,7%	0,0%
	M ± SD	0,16 ± 0,39	0,03 ± 0,04	0,03 ± 0,04	0,01 ± 0,02	0,21 ± 0,45	< LD

¹ M ± SD : Moyenne ± écart type ; ² LD : limite de détection de 0,02 µg/kg pour chacune des AFs et de 0,10 µg/kg pour l'OTA.

Les résultats obtenus dans la présente étude concordent aussi avec d'autres études menées au Maroc (Juan *et al.*, 2008) et en Espagne (Cano-Sancho *et al.*, 2013) qui ont trouvé de faibles concentrations d'AFs (de 0,28 µg/kg et 0,62 µg/kg) dans les figues sèches. Cependant, dans une étude précédente réalisée en Algérie, la prévalence de l'AFB1 était de 75,7% et les niveaux de concentration variaient de 5,89 à 83,4 µg/kg (Ait Mimoune *et al.*, 2018).

Peu d'études sont disponibles sur la présence des AFs dans les dattes ou les produits contenant des dattes comme ingrédient, bien qu'il s'agisse d'un fruit sec très sensible à ces mycotoxines (Iqbal *et al.*, 2014). Dans la présente étude, l'incidence des AFs dans les fruits de dattes était faible (5% des échantillons), mais ces mycotoxines ont été détectées dans tous les échantillons analysés de *Bradj*, préparation traditionnelle fourrée avec des dattes hachées, avec des niveaux moyens de 0,87 µg/kg.

Remarquablement, ces résultats sont différents de ceux trouvés dans les échantillons de dattes, ce qui pourrait être dû à l'utilisation de pâtes de dattes

produites à partir de dattes de qualité inférieure ou à un défaut dans le processus de préparation et de conservation. En effet, dans le groupe d'échantillons de fruits de dattes, le seul échantillon de dattes contaminé par les AFs était une pâte de dattes, un produit commercialisé sous forme de brique, emballée dans un film plastique, connu dans le jargon culinaire algérien sous le nom de *El Gharess* (ou الغرس en arabe). Cela signifie peut-être que la qualité de la pâte de dattes utilisée dans la production de cette spécialité devrait faire l'objet d'un meilleur contrôle de la présence de mycotoxines. Un contrôle systématique et des programmes de sensibilisation, en particulier pour les producteurs et les consommateurs, pourraient donc constituer une approche pratique pour réduire le risque. En outre, il conviendrait d'établir des réglementations concernant la présence de mycotoxines dans les produits alimentaires traditionnels largement consommés par la population.

La faible incidence des AFs dans les dattes (5%) est conforme à d'autres études publiées en Égypte avec une incidence de 4% (Abdallah *et al.*, 2018) et au Pakistan avec une prévalence de 10% (Luttfullah et Hussain, 2011). Dans une étude réalisée en Espagne, les AFs n'ont pas été détectées dans les dattes (Azaiez *et al.*, 2015). En ce qui concerne les préparations traditionnelles contenant des dattes, des chercheurs au Pakistan ont rapporté une étude dans laquelle 31,6% des échantillons se sont révélés positifs aux AFs avec un niveau maximum de 16,70 µg/kg (Zafar *et al.*, 2014).

3.1.3 Occurrence des principales mycotoxines dans les produits à base de céréales

Les céréales et leurs produits dérivés sont largement consommés dans les pays d'Afrique du Nord. L'importance des céréales réside dans leur facilité de transformation en farine et en semoule, qui sont les principaux ingrédients des produits traditionnels tels que le *Couscous*, la *Rechta* et le *Metlou*. Dans cette optique, 71 produits céréaliers provenant des marchés algériens ont été analysés dans la présente étude et les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Occurrence et niveaux des AFs (AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 et AFTs), de l'OTA et du DON dans les produits à base de céréales. Résultats exprimés en µg/kg

Aliment	Descriptif	AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	AFTs	OTA	DON
<i>Couscous</i> (n=27)	% Positive	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	14,8%	77,8%
	M ± SD ¹	< LD ²	< LD	< LD	< LD	< LD	0,20 ± 0,56	117 ± 97
	Maximum	--	--	--	--	--	2,79	470
<i>Rechta</i> (n=26)	% Positive	3,8%	0,0%	57,7%	0,0%	61,5%	26,9%	96,2%
	M ± SD	0,01 ± 0,01	< LD	0,03 ± 0,03	< LD	0,03 ± 0,03	0,17 ± 0,44	123 ± 63
	Maximum	0,02	--	0,09	< LD	0,09	2,28	280
<i>Metlou</i> (n=18)	% Positive	0,0%	0,0%	100,0%	5,6%	100,0%	5,6%	83,3%
	M ± SD	< LD	< LD	0,07 ± 0,03	0,01 ± 0,01	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,02	90 ± 60
	Maximum	--	--	0,15	0,03	0,15	0,15	190
Total produits céréaliers (n=71)	% Positive	1,4%	0,0%	46,5%	1,4%	47,9%	16,9%	85,9%
	M ± SD	0,01 ± 0,01	< LD	0,03 ± 0,03	0,01 ± 0,002	0,03 ± 0,03	0,15 ± 0,43	112 ± 77

¹ M ± SD : Moyenne ± écart type ; ² LD : limite de détection de 0,02 µg/kg pour chacune des AFs, 0,10 µg/kg pour l'OTA et 33 µg/kg pour le DON.

Selon les résultats analytiques de ce groupe, des AFs ont été détectées dans 47,9% des échantillons, l'OTA dans 16,9% et le DON dans 85,9%, tandis que la ZEA n'a été détectée dans aucun échantillon.

Le profil de contamination par les AFs était très différent de celui observé dans les fruits à coque et les fruits secs, puisque l'aflatoxine prédominante dans les produits à base de céréales était l'AFG1 (46,5% des échantillons), suivie de loin par l'AFB1 (1,4% des échantillons). Les niveaux de contamination par les AFs étaient généralement faibles, entre 0,02 et 0,15 µg/kg.

L'OTA a été détectée dans les échantillons de *Couscous*, de *Rechta* et de *Metlou* avec une prévalence comprise entre 5,6 et 26,9% et des niveaux moyens compris entre 0,06 et 0,20 µg/kg.

Cependant, le DON était présent dans plus de 75% des échantillons de chaque type, avec des niveaux moyens allant de 90 à 123 µg/kg.

Le *Couscous* est un produit céréalier traditionnellement consommé dans les pays d'Afrique du Nord et les pays arabes (Tantaoui-Elaraki *et al.*, 2018). Bien que le

Couscous soit un produit préparé à partir de semoule de blé dur, il peut également être fabriqué à partir d'un mélange de blé dur et de blé tendre, d'orge ou de maïs. Ce produit peut être préparé traditionnellement à la maison ou fabriqué par l'industrie (Zinedine *et al.*, 2017). Pour cet aliment analysé, aucun des échantillons de *Couscous* n'était contaminé par des AFs, ce qui diffère d'une étude précédente dans le Maroc voisin (Zinedine *et al.*, 2017) dans laquelle un échantillon de *Couscous* à base de semoule de maïs contenait 31,1 µg AFB1/kg et 50,7 µg/kg d'AFTs. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que le maïs est plus susceptible à la contamination par les AFs.

L'AFG1 était l'aflatoxine la plus présente dans les échantillons de *Rechta* (57,7%) et de *Metlou* (100%), mais à de faibles concentrations comprises entre 0,02 et 0,15 µg/kg. Seuls deux des échantillons de *Metlou* et de *Rechta* présentaient une contamination par l'AFG2 (0,03 µg/kg) et l'AFB1 (0,02 µg/kg), respectivement. Il est à noter que le pain comme le *Metlou* et les pâtes comme la *Rechta* sont fabriqués à partir de semoule de blé et constituent l'aliment de base de la majorité de la population algérienne. Aucun des échantillons n'a dépassé les niveaux maximaux d'AFs établis par l'UE et la réglementation algérienne pour les céréales et les produits dérivés.

Par ailleurs, des résultats similaires à la présente étude ont été obtenus au Maroc par Bouafifssa *et al.* (2018), qui ont rapporté une incidence de 1,9% d'AFB1 dans des échantillons de pâtes avec une moyenne de 0,25 µg/kg, alors que l'AFB2, G1 et G2 n'ont pas été détectés. En revanche, Hathout *et al.* (2020) ont détecté à la fois l'AFG1 et l'AFG2 dans 100% des échantillons de grains de blé provenant d'Égypte. Bien qu'il n'existe pas de réglementation pour l'AFG1 et l'AFG2 seuls, l'augmentation de la concentration d'AFG1 dans le blé et les produits dérivés est considérée comme dangereuse pour la santé publique, car elle suit l'AFB1 en termes de toxicité (Hathout *et al.*, 2020).

La mycotoxine OTA a été détectée dans le *Couscous* (14,8% des échantillons), la *Rechta* (26,9%) et le *Metlou* (5,6%) à des niveaux allant de 0,10 à 2,79 µg/kg, comme le montre le Tableau 5. Par rapport à la législation européenne, aucun échantillon n'a dépassé les niveaux maximaux établis pour l'OTA dans les produits céréaliers (3 µg/kg). Jusqu'à présent, aucune réglementation sur les niveaux maximaux d'OTA dans les aliments n'est en vigueur en Algérie.

Au Maroc, Zinedine *et al.* (2017) n'ont pas détecté d'OTA dans une étude sur les produits à base de céréales, tandis que Tabarini *et al.* (2020) ont observé que 22% des échantillons de semoule et de pâtes étaient contaminés par l'OTA à des niveaux compris entre 0,1 et 6,8 µg/kg. D'autres études sur la semoule et les farines d'Algérie

(Zebiri *et al.*, 2018) et de Tunisie (Ghali *et al.*, 2008) ont signalé des niveaux élevés d'OTA compris entre 0,16 et 34,75 µg/kg et entre 0,7 et 24,3 µg/kg, respectivement.

Les céréales et les produits dérivés occupent la première place dans l'alimentation des Algériens. Cependant, en raison du risque de contamination par les mycotoxines, leur consommation est un sujet de préoccupation sanitaire. Très récemment, des chercheurs ont testé une procédure de détoxification de l'AFB1 et de l'OTA, les mycotoxines les plus répandues dans le blé et les produits dérivés en Algérie, à partir de souches de bactéries lactiques (LAB) isolées à partir d'aliments fermentés. Les souches LAB testées ont été capables de réduire les quantités d'AFB1 et d'OTA dans des conditions *in vitro*, ce qui suggère qu'elles pourraient être utilisées à l'échelle industrielle en tant que auxiliaires technologiques pour réduire les niveaux de mycotoxines dans certains aliments (Badji *et al.*, 2023).

Comme attendu, les produits céréaliers étaient contaminés par la mycotoxine DON. L'incidence totale dans le *Couscous*, la *Rechta* et le *Metlou* variait entre 77,8% et 96,2% et l'intervalle des moyennes était compris entre 33 µg/kg et 280 µg/kg. Par rapport à la législation européenne, aucun échantillon n'a dépassé les limites maximales fixées pour le DON dans les produits céréaliers tels que les pâtes (750 µg/kg) et le pain (500 µg/kg) (European Commission, 2006a).

Les concentrations de DON relevées dans cette étude sont proches de celles rapportées au Maroc par Zinedine *et al.* (2017), qui ont enregistré des valeurs allant de 20,6 à 106,6 µg/kg dans le *Couscous*, et en Italie par Tolosa *et al.* (2017) qui ont trouvé du DON dans des pâtes alimentaires entre 20,9 µg/kg et 247,3 µg/kg. Ces résultats sont également similaires à ceux des études menées par Mahdjoubi *et al.* (2020) en Algérie qui ont rapporté une teneur moyenne dans le blé de 223 µg DON/kg et González-Osnaya *et al.* (2011) en Espagne qui ont détecté du DON à 42,5 µg/kg dans le pain et 137,1 µg/kg dans les pâtes.

3.2 Niveaux d'exposition et risque pour le consommateur

Le risque d'exposition de la population adulte algérienne aux mycotoxines par la consommation de fruits à coque, de fruits secs et de produits à base de céréales a été déterminé. Le risque lié aux AFs et à l'OTA a été caractérisé par le calcul de la MOE, dont les résultats sont présentés dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Apports journaliers estimés (EDI en ng/kg pc/jour) et marges d'exposition (MOE) des AFs et de l'OTA provenant des aliments analysés

Aliment	Paramètre	AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	OTA
Arachides	EDI	0,052	0,010	0,010	0,004	LC ¹
	MOE	7 609 ²	43 750	41 177	87 500	-
Amandes	EDI	0,001	0,001	LC	LC	LC
	MOE	560 000	560 000	-	-	-
Noix	EDI	LC	LC	LC	LC	LC
	MOE	-	-	-	-	-
Figues sèches	EDI	0,001	LC	0,004	0,003	LC
	MOE	280 000	-	93 333	140 000	-
Dattes	EDI	0,017	0,009	LC	LC	LC
	MOE	23 333	46 667	-	-	-
<i>Bradj</i>	EDI	0,617	0,076	0,051	LC	LC
	MOE	648	5 185	7 778	-	-
<i>Couscous</i>	EDI	LC	LC	LC	LC	0,286
	MOE	-	-	-	-	50 750
<i>Rechta</i>	EDI	0,014	LC	0,043	LC	0,243
	MOE	28 000	-	9 333	-	59 706
<i>Metlou</i>	EDI	LC	LC	0,100	0,014	0,086
	MOE	-	-	4 000	28 000	169 167

¹ LC : données censurées à gauche ; ² Valeurs en gras avec MOE < 10 000 (indiquant un risque pour la santé)

L'EDI en AFs le plus élevé a été enregistré pour l'AFB1 par la consommation de *Bradj* (0,617 ng/kg pc/jour), donnant une valeur de MOE de 648. La consommation des arachides a aussi enregistré un EDI en AFB1 critique (0,052 ng/kg pc/jour), qui a permis de calculer une MOE inférieure à 10 000 (7 609). Ces valeurs soulèvent une préoccupation de santé publique pour les consommateurs algériens.

Les aliments traditionnels tels que le *Bradj*, la *Rechta* et le *Metlou* étaient également une source des AFB2 et AFG1 avec des valeurs de MOE allant de 4 000 à 9 333, ce qui indique un risque potentiel pour la population algérienne. Une MOE de

cette ampleur devrait conduire à la mise en œuvre de mesures de gestion des risques afin de réduire l'exposition humaine.

Toutefois, les valeurs de la MOE des AFs pour les amandes, les noix, les figues sèches, les dattes et le *Couscous* étaient toutes supérieures à 10 000. En général, une MOE de 10 000 ou plus est peu préoccupante du point de vue de la santé publique et peut être considérée comme peu prioritaire pour les actions de gestion des risques.

Le risque posé par l'exposition alimentaire aux AFs par la consommation de fruits à coque, de fruits secs et de produits céréaliers a été examiné dans le monde entier (Bhardwaj *et al.*, 2023). Les résultats obtenus dans cette étude sont similaires aux valeurs d'exposition à l'AFB1 rapportées dans plusieurs publications. Par exemple, les valeurs des EDI rapportées étaient 0,07 ng/kg pc/jour pour les arachides au Ghana (Kortei *et al.*, 2021), 0,02 ng/kg pc/jour pour les figues sèches en Turquie (Kabak, 2016), 0,04 ng/kg pc/jour pour les figues sèches en Iran (Heshmati *et al.*, 2017) et 0,08 ng/kg pc/jour pour les produits céréaliers en Turquie (Kabak, 2021).

En revanche, d'autres chercheurs ont trouvé des valeurs d'exposition à l'AFB1 plus élevées que celles trouvées dans le présent travail ; les apports journaliers estimés pour la consommation des arachides au Pakistan et des nouilles en Thaïlande étaient 0,60 ng/kg pc/jour (Kooprasertying *et al.*, 2016), et 0,59 ng/kg pc/jour (Alim *et al.*, 2018), respectivement.

Les valeurs de la MOE de l'OTA pour les fruits à coque, les fruits secs et les produits à base de céréales étaient supérieures à 10 000, ce qui indique une faible préoccupation du point de vue de la santé publique. Ainsi, l'exposition moyenne à l'OTA dans les produits à base de céréales a atteint des valeurs comprises entre 0,086 et 0,286 ng/kg pc/jour, ce qui correspond à des valeurs de MOE bien supérieures au seuil critique de 10 000.

Compte tenu de l'exposition moyenne, les valeurs estimées étaient inférieures aux EDI pour la consommation de produits céréaliers en France (0,28-1,91 ng/kg pc/jour) (Sirot *et al.*, 2013), en Irlande (0,47-3,11 ng/kg pc/jour) (FSAI, 2016) et au Maroc (4 ng/kg pc/jour) (Zinedine *et al.*, 2017).

Les apports journaliers estimés en DON par la consommation de produits à base de céréales dans la population algérienne étaient de 0,167, 0,176 et 0,127 µg DON/kg pc/jour pour le *Couscous*, les nouilles *Rechta* et le pain *Metlou*,

respectivement, et dont les apports représentaient 16,7, 17,6 et 12,7% de la dose journalière tolérable (TDI) établie par l'EFSA, respectivement.

De même, une étude réalisée en Italie concernant l'évaluation de l'exposition au DON, par la consommation de pâtes, a fait état d'un apport journalier estimé à environ 15% de la TDI (Brera *et al.*, 2013). Dans des études antérieures, les valeurs d'exposition alimentaire liées à la consommation de produits à base de blé ont été estimées à 0,85 et 0,79 µg de DON/kg pc/jour, respectivement pour la population algérienne (Mahdjoubi *et al.*, 2020) et brésilienne (Sifuentes Dos Santos *et al.*, 2013).

4 Conclusion

Ces résultats fournissent donc des informations supplémentaires sur la présence, l'exposition et les risques liés aux AFs, à l'OTA et au DON dans les denrées alimentaires de base en Algérie.

Des AFs ont été trouvées dans 37,9% des produits alimentaires analysés, et 2% de ces échantillons, exclusivement des arachides, dépassaient le niveau maximum légal dans l'Union européenne pour l'AFB1 (2 µg/kg). De même, tous les échantillons de *Bradj* et de *Metlou* étaient contaminés par des AFs, ce qui représente un risque potentiel pour la santé car ces produits traditionnels sont largement consommés par la population algérienne.

L'exposition aux AFs chez les consommateurs algériens moyens représente un problème de santé puisque les apports journaliers estimés à partir des arachides, du *Bradj*, de *Rechta* et du *Metlou* ont donné des marges d'exposition (MOE) en dessous du seuil critique (valeurs MOE inférieures à 10 000).

La mycotoxine OTA n'était présente que dans les produits à base de céréales (fréquence de 16,9%) et, sur la base des niveaux trouvés, les apports journaliers estimés ne représentent pas un problème de santé, étant donné qu'ils se situent tous au-dessus du seuil critique de la marge d'exposition (valeurs MOE supérieures à 10 000).

Enfin, l'évaluation de l'exposition alimentaire au DON due à la consommation d'aliments à base de céréales a abouti à des apports journaliers estimés allant de 12,7% à 17,6% des valeurs de la DJT. Donc, ces apports en DON ne constituent pas un risque pour la santé.

Chapitre II : Développement d'un film antifongique pour emballage alimentaire.

1 Introduction

Les micromycètes filamenteux et leurs mycotoxines sont parmi les contaminants les plus importants des denrées alimentaires. Ils peuvent contaminer un large éventail de produits, et constitue ainsi une menace pour la santé des consommateurs et une cause majeure des pertes de production (Ayelign et De Saeger, 2020; Santeramo, 2021).

Ces dernières années, l'utilisation des emballages actifs s'est avérée efficace dans l'industrie alimentaire pour protéger les aliments des différents contaminants, mais cette innovation a coïncidé avec de sévères critiques à l'égard des additifs chimiques synthétiques présentant des effets nocifs sur la santé, ce qui a incité la recherche à remplacer ces additifs par des composés actifs naturels plus sûrs (Ait Ouahioune *et al.*, 2022b).

L'utilisation des huiles essentielles et de leurs composés actifs majeurs en tant que conservateurs naturels et comme alternatifs aux synthétiques a déjà été testée sur diverses matrices alimentaires et a prouvé sa capacité à prolonger la durée de conservation (Hou *et al.*, 2022). Cependant, cette approche présente l'inconvénient d'altérer les propriétés organoleptiques de l'aliment et la susceptibilité des composants actifs d'être modifiés par leur interaction avec les constituants de l'aliment (Prakash *et al.*, 2015).

Pour limiter ces problèmes, l'incorporation des huiles essentielles et leurs composés actifs dans un système d'emballage permettant un relargage graduel et contrôlé sous forme de vapeur pourrait constituer une stratégie alternative meilleure (Simionato *et al.*, 2019).

Dans cette deuxième partie du travail, l'HE de *Thymus numidicus* collecté en Algérie a été analysée afin d'identifier son profil volatil et d'évaluer son activité antimicrobienne et celle de ses principaux composés, individuellement et en combinaison, dans la phase vapeur. Le composé ayant la meilleure activité antimicrobienne a été sélectionné et incorporé dans un matériau plastique multicouche. Les films actifs préparés ont été testés contre une variété de bactéries, de levures et de micromycètes filamenteux afin d'évaluer leur potentiel d'utilisation en tant que matériaux d'emballage antimicrobiens.

2 Matériel et méthodes

2.1 Produits chimiques et réactifs

Le géraniol (98%, CAS 106-24-1), le linalol (97%, CAS 78-70-6) et le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH, CAS 1898-66-4) ont été achetés à Sigma-Aldrich (Madrid, Espagne). L' α -terpinéol (97%, CAS 98-55-5) a été obtenu auprès de Thermo Fisher Scientific (Madrid, Espagne). Le méthanol ($\geq 99,9\%$, CAS 67-56-1) a été fourni par Honeywell (Madrid, Espagne). L'éthanol ($\geq 99,9\%$, CAS 64-17-5) a été fourni par Panreac (Barcelone, Espagne). La fibre de microextraction en phase solide et le Tenax[®] TA 80/100, ont été obtenues auprès de Supelco (Bellefonte, PA, USA). Les adhésifs à base d'eau destinés au contact alimentaire ont été fournis par Samtack (Barcelone, Espagne). Les films plastiques PET 12 μm et LDPE 35 μm (PET : Polytéraphthalate d'éthylène, LDPE : Polyéthylène basse densité) ont été fournis par Envaflex (Zaragoza, Espagne). L'eau ultrapure a été produite par un système Milli-Q Ultramatic Wasserlab GR (Barbatayn, Espagne).

2.2 Souches microbiennes et conditions de croissance

Les tests de l'activité antimicrobienne ont été effectués contre la bactérie Gram-positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213), la bactérie Gram-négative (*Escherichia coli* ATCC 25922), la levure (*Saccharomyces cerevisiae* CECT 1172) et les micromycètes filamenteux (*Penicillium roqueforti* CECT 2905), (*Aspergillus flavus* CECT 2687) et (*Aspergillus niger* CECT 2088). Les bactéries ont été fournies par l'American Type of Culture Collection (ATCC) et les micromycètes par la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT). Toutes les souches microbiennes ont été conservées dans les milieux de culture appropriés complétés par 30% (v/v) de glycérol, à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'à leur utilisation. Avant les essais antimicrobiens, chaque souche cryoconservée a été mise en culture dans des conditions adéquates pour garantir sa pureté et une croissance optimale : bactéries sur Mueller-Hinton Agar (MHA, Schalau, Espagne) à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 24 heures, levures sur Sabouraud Dextrose Agar (SDA, Scharlau, Espagne) à $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 48 heures et micromycètes filamenteux sur SDA à $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 7 jours. Tous les microorganismes ont été incubés dans des conditions aérobiques.

2.3 Extraction et caractérisation de l'HE de *T. numidicus*

2.3.1 Échantillons

Thymus numidicus, également appelé thym de Numidie, est une espèce de thym de la famille des Lamiacées qui pousse naturellement à l'état sauvage en Afrique du Nord, de la Kabylie (Algérie) à la Kroumiria (Tunisie) (El Mokni *et al.*, 2023; Hazzit *et al.*, 2006). Comme toutes les autres espèces de thym, cette plante est très prisée par les populations locales pour ses usages ornementaux, culinaires et médicaux (Elaissi *et al.*, 2020; Kaki *et al.*, 2021).

Les parties aériennes de *T. numidicus* ont été collectées au cours du mois de mai 2023 (début de floraison) dans l'après-midi dans un maquis situé dans la région de Tizi Ouzou [Algérie ; latitude 36°48'(N), longitude 3°98'(E), altitude 960 m]. La plante a été identifiée botaniquement (Annexe 5). Les échantillons ont été lavés à l'eau du robinet, séchés à l'ombre pendant une semaine, puis broyés et conservés dans des sacs hermétiques jusqu'à leur utilisation.

2.3.2 Extraction de l'HE

L'HE de *T. numidicus* a été extraite par hydrodistillation, à l'aide d'un appareil Clevenger (ALMO, Espagne), en faisant bouillir le matériel végétal (50 g) avec de l'eau (500 mL) pendant une heure et demie. L'HE obtenue a été déshydratée à l'aide de sulfate de magnésium, filtrée et stockée dans des bouteilles en verre foncé à 4 °C jusqu'à son utilisation.

2.3.3 Identification des composés volatils

L'analyse a été réalisée conformément à des études antérieures portant sur des composés chimiques similaires (Ait Ouahioune *et al.*, 2022a; Asensio *et al.*, 2022).

Les composés volatils de l'HE de *T. numidicus* ont été analysés par micro-extraction en phase solide dans l'espace de tête (HS-SPME) couplée à la chromatographie en phase gazeuse avec spectrométrie de masse (GC-MS). Un volume de 10 µL d'HE de *T. numidicus* a été déposé au fond d'un flacon en verre hermétiquement fermé. Le flacon a ensuite été soumis à un chauffage et à une agitation pendant la procédure d'extraction (SPME). Les composés volatils adsorbés sur la fibre ont ensuite été analysés par GC-MS.

L'équipement comprenait un échantillonneur automatique CTC Analytics CombiPal interfacé avec un instrument GC-MS comprenant un chromatographe en

phase gazeuse Agilent 6890N couplé à un détecteur de spectromètre de masse MS 5975B. Tous les instruments proviennent d'Agilent Technologies (Palo Alto, CA, USA). La SPME a été réalisée à l'aide d'une fibre de Divinylbenzène/Carboxène/Polydiméthylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) avec une épaisseur de film de 50/30 μm . La fibre a été préalablement conditionnée avant la première extraction selon les spécifications du fabricant. La SPME a été réalisée à 50 °C pendant 15 minutes, suivie d'une désorption pendant 2 minutes dans l'orifice d'entrée. Les échantillons ont été injectés dans une colonne capillaire HP-5 MS (30 m \times 0,25 μm \times 250 μm) de Supelco (Bellefonte, PA, USA), en mode splitless avec un débit d'hélium de 1 mL/min. Le programme du four était le suivant : maintenu à 50 °C pendant 5 minutes, suivi d'une augmentation à une vitesse de 10 °C/min jusqu'à 300 °C, et enfin maintenu à 300 °C pendant 2 minutes. Le détecteur de masse a été réglé en mode balayage dans une plage de rapport masse/charge de 45 à 400 m/z. Les constituants des HEs ont été attribués en comparant les indices de rétention (IR) d'une série homologue de n-alcane C9-C29, déterminés dans les mêmes conditions chromatographiques que les échantillons, avec les IR des spectres correspondants dans la base de données de la bibliothèque (dans le software ChemistryWebBook, NIST). Les principaux composés ont été confirmés par des standards correspondants, analysés dans les mêmes conditions chromatographiques que les échantillons. La teneur en constituants de l'HE a été estimée en calculant le pourcentage de chaque composant à partir de la surface des pics.

2.3.4 Activité antimicrobienne de HE et de ses composés

Les activités antibactériennes et antifongiques de l'HE de *T. numidicus* et de ses principaux composés, pris individuellement ou en combinaison, ont été réalisées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) en phase vapeur. Les tests ont été effectués à l'aide d'une plaque de Petri inversée (essai de diffusion en phase vapeur) (Simionato *et al.*, 2019). Tout d'abord, pour chaque souche bactérienne, des plaques contenant du (MHA) ont été inoculées en déposant au centre de la gélose 20 μL de la suspension bactérienne ($1-2 \times 10^8$ UFC/mL). Les suspensions des inocula bactériens ont été préparées à partir de colonies issues des cultures d'une nuit sur des plaques MHA incubées à 37 °C. Dans le cas des levures et des micromycètes filamenteux, la même procédure d'inoculation en boîte de Petri a été suivie, avec un volume d'inocula de 10 μL de 1×10^6 UFC/mL sur le milieu de culture SDA. Les inocula de levures et de micromycètes filamenteux ont été préparés à partir de cultures de 48 heures et de 7 jours, incubées à 30 °C et 25 °C, respectivement. Les suspensions de bactéries et de levures ont été préparées dans une solution de NaCl à

0,9% (m/v) et celles des micromycètes filamenteux dans de l'eau contenant 0,1% du Tween 20. Les concentrations ont été estimées en mesurant la densité optique (DO) à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis Beckman Coulter DU730 (TÜV Rheinland North America). Pour les bactéries, une DO de 0,1 à 600 nm correspond à 1 à 2 × 10⁸ UFC/mL, tandis que pour les levures et les micromycètes, une DO de 0,1 obtenue à 625 nm correspond à 1×10⁶ UFC/mL. Ensuite, au centre du couvercle intérieur de chaque plaque, un disque de papier a été placé au-dessus d'une lamelle et chargé avec 0 (contrôle négatif), 1,25, 2,5, 5 et 10 µL des différents composés testés. Les plaques ont ensuite été scellées avec du Parafilm® et incubées à 37 °C/24 h (pour les bactéries), à 30 °C/48 h (pour les levures) et à 25 °C/7 jours (pour les micromycètes filamenteux). La CMI dans la phase vapeur a été définie comme le rapport du volume en µL de l'agent volatil actif ajouté sur le disque de papier placé à l'intérieur de la boîte de Pétri au volume en mL de l'espace de tête de la boîte de Pétri. Il a été supposé que tout le volume de l'agent actif a été volatilisé dans l'espace de tête de la boîte de Pétri. L'espace de tête a été estimé à 19 cm³. Au moins trois répétitions indépendantes ont été effectuées. Les essais ont été réalisés dans des conditions d'asepsie dans une enceinte de sécurité biologique de niveau II (Thermo Scientific MSC-Advantage, Allemagne).

2.3.5 Activité antioxydante de l'HE

Le pouvoir antioxydant de l'HE de *T. numidicus* a été évalué à l'aide d'un test de piégeage du radical DPPH (Scherer et Godoy, 2009). Tout d'abord, une solution de DPPH (0,1242 mM) a été préparée en dissolvant 24,5 mg de poudre de DPPH dans 500 mL d'eau. Des dilutions de l'HE de *T. numidicus* dans du méthanol ont été préparées dans un intervalle de 50-150 mg/mL. Le test a ensuite été effectué en mélangeant des aliquotes de 0,1 mL de chaque dilution d'HE avec 3,9 mL d'une solution méthanolique de DPPH. L'échantillon témoin était constitué de 0,1 mL de méthanol pur ajouté à 3,9 mL de DPPH. Les mélanges ont été laissés dans l'obscurité à température ambiante pendant 90 minutes, puis l'absorbance à 517 nm a été lue à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis Beckman Coulter DU730. Les expériences ont été réalisées en trois fois et le pourcentage d'inhibition a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$I\% = \frac{(Abs_0 - Abs_1)}{Abs_0} \times 100 \quad (3)$$

où Abs_0 est l'absorbance du blanc et Abs_1 est l'absorbance en présence de l'HE à différentes concentrations. La concentration assurant une inhibition de 50% (IC₅₀) a été calculée graphiquement à l'aide d'une courbe d'étalonnage dans la gamme

linéaire en traçant la concentration de l'HE en fonction de l'effet de piégeage correspondant. L'activité antioxydante a été exprimée par l'indice d'activité antioxydante (IAA), calculé comme suit :

$$IAA = \frac{\text{final concentration of DPPH } (\mu\text{g.mL}^{-1})}{IC_{50} (\mu\text{g.mL}^{-1})} \quad (4)$$

Ainsi, IAA a été calculé en tenant compte de la masse de DPPH et de la masse de l'HE testée dans la réaction, ce qui a donné une constante pour chaque composé, indépendante de la concentration de DPPH et de l'échantillon utilisé. Dans ce travail, l'HE de *T. numidicus* a été considérée comme ayant une faible activité antioxydante lorsque l'IAA < 0,5, une activité antioxydante modérée lorsque l'IAA se situe entre 0,5 et 1,0, une forte activité antioxydante lorsque l'IAA se situe entre 1,0 et 2,0, et une très forte activité antioxydante lorsque l'IAA > 2,0 (Scherer et Godoy, 2009).

2.4 Emballage actif

2.4.1 Préparation du film multicouche actif

Le film multicouche actif a été préparé au niveau du laboratoire. Il a été constitué de deux feuilles de film plastique de différents polymères superposées à l'aide d'un adhésif contenant l'agent actif. L'adhésif choisi était à base d'eau et convenait au contact alimentaire. Les films plastiques ont été choisis pour leur sécurité au contact des aliments, leur perméabilité/imperméabilité aux vapeurs organiques et leurs caractéristiques techniques et économiques (faible coût et thermoscellabilité) : *a*) le polyéthylène téréphtalate (PET 12 μm) comme couche extérieure, avec de bonnes propriétés de barrière pour empêcher la perte de l'agent actif dans l'atmosphère extérieure de l'emballage ; *b*) le polyéthylène basse densité (LDPE 20 μm), comme couche intérieure, car il a une perméabilité élevée aux vapeurs organiques et permet la libération et la migration de l'agent actif dans l'atmosphère du produit alimentaire et de l'emballage. Les films multicouches ont été obtenus en étalant uniformément l'adhésif actif sur des feuilles LDPE de 20 \times 30 cm à l'aide d'une barre d'enduction numéro 9 (code couleur : tan ; diamètre du fil : 1,5 mm ; dépôt de film humide : 120 μm), puis laisser pour sécher. Ensuite, la feuille de PET de 20 \times 30 cm a été collée sur le film LDPE-adhésif. Enfin, le film bicouche préparé a été pressé à 40 °C et à la vitesse 4 à l'aide d'un laminateur BiO 330 A3 Heavy Duty (Corée du Sud). Un blanc a été préparé dans des conditions identiques mais sans l'agent actif.

2.4.2 Activité antimicrobienne des films multicouches actifs

Après des essais *in vitro*, le composant actif présentant la meilleure activité antimicrobienne a été sélectionné pour préparer l'emballage actif. Trois films multicouches avec différentes concentrations de l'agent actif dans l'adhésif ont été testés : 0, 6 et 8% (m/m). Le film multicouche avec 0% a été pris comme blanc (film de contrôle). L'activité antimicrobienne des films multicouches actifs a également été réalisée en phase vapeur (Wrona *et al.*, 2023). En bref, les plaques MHA et SDA ont été inoculées par striage d'un coton-tige préalablement imbibé avec un inoculum bactérien de 1×10^6 UFC/mL ou un inoculum de levure/micromycètes filamenteux de 1×10^5 UFC/mL. Les suspensions microbiennes ont été préparées comme décrit à la section 2.3.4 (chapitre II), avec un facteur de dilution de 1:100 pour les bactéries et de 1:10 pour les levures et les micromycètes filamenteux. Ensuite, les plaques inoculées ont été recouvertes d'un carré de 12×12 cm des films préparés. Les films ont été maintenus fermement en place à l'aide d'un collier de serrage en nylon autour du bord extérieur de la plaque. Les plaques ont été inspectées visuellement pour vérifier la croissance après incubation à 37 °C/24 h (bactéries), 30 °C/48 h (levures) et 25 °C/5 jours (micromycètes filamenteux) en conditions aérobies. Au moins trois répétitions indépendantes ont été effectuées pour ces essais.

2.4.3 Essais de migration

Les essais de migration ont été réalisés conformément au règlement (UE) n° 10/2011 (Commission Regulation 2011), pour vérifier toute libération de composés indésirables (migration négative) de l'emballage actif vers l'aliment. L'emballage actif étant destiné à être utilisé pour les fruits secs, le Tenax® a été le simulant alimentaire utilisé pour les tests de migration. Le Tenax® est composé de petits granulés de poly(2,6-diphényl-p-phénylène oxyde), qui est un polymère poreux avec un fort potentiel d'adsorption (surface spécifique de 35 m²/g). Les conditions expérimentales pour le test de migration ont été préalablement optimisées par Canellas *et al.* (2015). En bref, des découpes de 5×5 cm de chaque film multicouche préparé ont été placées dans des boîtes de Pétri, avec la face interne tournée vers le haut. Un gramme de Tenax® a été réparti uniformément sur chaque morceau de film afin de maintenir un rapport de 4 grammes de Tenax®/dm² de film, conformément à la norme UNE-EN 14338 (AENOR, 2004). L'ensemble du système a ensuite été placé dans une étuve à 40 °C pendant 10 jours. Puis, le simulant Tenax® de chaque échantillon a été extrait avec 3 mL d'éthanol pendant une heure dans un bain à ultrasons. Chaque échantillon a été extrait trois fois de suite et les trois extraits obtenus ont été combinés et concentrés à 0,5 mL sous un flux constant d'azote (Vera *et al.*, 2024). Trois répétitions

ont été effectuées pour chaque film multicouche. Les migrants volatils et non volatils présents dans l'extrait d'éthanol ont été analysés à l'aide des méthodes chromatographiques décrites ci-dessous :

2.4.3.1 Composés volatils

Les migrants volatils ont été identifiés par chromatographie en phase gazeuse à injection directe couplée à la spectroscopie de masse (DI-GC-MS). 1 μL de l'extrait éthanolique récupéré du simulant alimentaire a été injecté en mode splitless. Les conditions chromatographiques étaient les mêmes que celles rapportées précédemment dans la section 2.3.3 (chapitre II).

2.4.3.2 Composés non-volatils

L'analyse des composés non volatils a été réalisée par chromatographie liquide à ultra-haute performance couplée à la technologie quadruple temps de vol avec MSE (UPLC-ESI-Q-TOF-MSE). La chromatographie a été réalisée avec un système ACQUITY UPLC® I-Class comprenant une colonne UPLC BEH C18 (particules de 1,7 μm , 2,1 mm \times 100 mm), tous deux de Waters (Milford, MA, USA). Le débit et la température de la colonne étaient respectivement de 0,3 mL/min et de 35 °C. La phase mobile était composée d'eau avec 0,1% d'acide formique (phase A) et de méthanol avec 0,1% d'acide formique (phase B). Le gradient était 95% A/5% B (temps initial), 5% A/95% B (6 min), 5% A/95% B (10 min), 95% A/5% B (13 min), 95% A/5% B (15 min). Le volume d'injection était de 10 μL . Le détecteur était constitué d'une interface d'ionisation par électrospray (ESI) couplée à un spectromètre de masse composé d'un hexapôle, d'un quadripôle, d'une cellule de collision et d'un analyseur de temps de vol (Xevo G2) de Waters (Milford, MA, USA). La sonde d'électrospray était réglée en mode positif (ESI+). Le mode sensibilité a été utilisé pour faire fonctionner le spectromètre de masse avec une tension capillaire de 2,6 kV et une tension du cône d'échantillonnage de 40 V. L'azote a été utilisé comme gaz de désolvatation : le débit était de 600 L/h à 450 °C. Le débit de gaz du cône était de 50 L/h. La température de la source a été fixée à 130 °C. Le mode MSE a été sélectionné pour l'acquisition et une rampe d'énergie de collision de 15 à 30 eV a été utilisée. La gamme de masse considérée était de 50 à 1200 Da. Le mode Centroid a été utilisé pour la collecte des données. La précision et la reproductibilité de toutes les analyses ont été garanties par l'utilisation d'un LockSpray™. Pour vérifier le décalage du temps de rétention, la précision de la masse et la référence de reproductibilité, un standard à une concentration de 2 ng/mL dans de l'eau-acétonitrile avec 0,1% d'acide

formique a été utilisé. Le logiciel Masslynx (version 4.1, Waters) a été utilisé pour l'acquisition et le traitement des données.

2.4.4 Couleur des films

La couleur des multicouches préparés a été mesurée selon le système de coordonnées CIE L^* a^* b^* (Commission internationale de l'éclairage) à l'aide d'un colorimètre Chroma Meter CR-400 de Konica Minolta (Tokyo, Japon) équipé d'une source lumineuse D65. Avant la mesure, l'équipement a été calibré avec une plaque étalon chromamétrique blanche ($Y = 93,7$; $x = 0,3130$; $y = 0,3191$). Les coordonnées des couleurs : L^* (clarté), a^* (rougeur ou verdure) et b^* (bleu ou jaune) ont été mesurées en huit points différents pour chaque échantillon. En outre, le changement de couleur (ΔE) du film actif par rapport au blanc a été déterminé selon l'équation (5) :

$$\Delta E = \sqrt{[L_o^* - L^*]^2 + [a_o^* - a^*]^2 + [b_o^* - b^*]^2} \quad (5)$$

Où L_o^* , a_o^* , b_o^* sont les valeurs de couleur du multicouche sans l'agent actif (contrôle) et L^* , a^* , b^* sont les valeurs de couleur du multicouche avec l'agent actif.

Pour chaque échantillon, trois répétitions ont été enregistrées et la valeur moyenne a été calculée.

2.5 Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés sous forme de valeurs moyennes et d'écart types (SD). Les différences entre les traitements ont été analysées à l'aide d'un test statistique ANOVA à un facteur, en considérant $p < 0,05$.

3 Résultats et discussion

3.1 Identification des composés volatils

Le rendement en HE de *T. numidicus* était de 0,9% (v/m), son profil volatile a été caractérisé par HS-SPME-GC-MS. Les chromatogrammes (Figure 14) ont été analysés sur la base de l'indice de rétention et des spectres de masse. L'abondance de chaque composé a été estimée de manière semi-quantitative en calculant le pourcentage de la surface de chaque pic par rapport à la surface totale. Les résultats ont révélé la présence de cinquante et un (51) composés volatils, énumérés par ordre d'élution dans le Tableau (7).

Les monoterpènes oxygénés sont les constituants dominants (70%), dont trois appartenant au groupe des alcools monoterpéniques représentent environ 65%, le linalol ($30,252 \pm 0,336\%$), l' α -terpinéol ($25,167 \pm 0,168\%$) et le géraniol ($9,440 \pm 0,176\%$). Le groupe des monoterpènes hydrocarbonés arrive en deuxième position avec une proportion d'environ 17%. Fait remarquable, le thymol n'a pas été détecté dans les échantillons. La composition chimique de la présente étude diffère de celle des autres origines d'Afrique du Nord, où le monoterpène phénolique, le thymol, prédomine dans *T. numidicus* (Benayache *et al.*, 2014; Ghorab *et al.*, 2014; Giordani *et al.*, 2008; Hadeif *et al.*, 2007; Kabouche *et al.*, 2005; Laouer *et al.*, 2009; Messara *et al.*, 2018; Mina *et al.*, 2014; Saidj *et al.*, 2008; Zeghib *et al.*, 2013). Toutefois, l' α -terpinéol a été également rapporté comme composé principal (34,4%), suivi du thymol (15,00%) (Hazzit *et al.*, 2006). En général, l'absence de thymol dans le thym est très rare et n'a été observée que dans quelques études sur certaines espèces telles que *Thymus algeriensis* (Souiy *et al.*, 2023), *Thymus webbianus* (Asensio-Casas *et al.*, 2022) et *Thymus citriodorus* (Villanueva Bermejo *et al.*, 2015). Il a également été noté que le linalol apparaissait souvent dans *T. numidicus* et était considéré comme un composé caractéristique de cette espèce (El Mokni *et al.*, 2023). La différence de composition chimique peut être attribuée à un certain nombre de facteurs, tels que l'origine, le stade de croissance, les conditions environnementales et le matériel génétique. Ces facteurs peuvent affecter la voie du métabolisme secondaire de la plante et entraîner des changements qualitatifs et quantitatifs dans le profil phytochimique, ce qui se traduit par l'existence de différents chémotypes qui distinguent les HEs de différentes origines (Kigathi *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2023). D'après la littérature, les espèces végétales riches en linalol (Mączka *et al.*, 2022; Pereira *et al.*, 2018), en α -terpinéol (Sales *et al.*, 2020) ou en géraniol (Chen et Viljoen, 2010; Maczka *et al.*, 2020) présentent des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes importantes. De plus, ces composés sont connus pour être sûrs et moins corrosifs et irritants que

leurs homologues contenant une fonction phénolique, tels que le thymol ou le carvacrol (Pinto *et al.*, 2014). Par conséquent, ces propriétés bénéfiques font de ces composés des candidats appropriés pour être utilisés en tant que conservateurs alimentaires naturels.

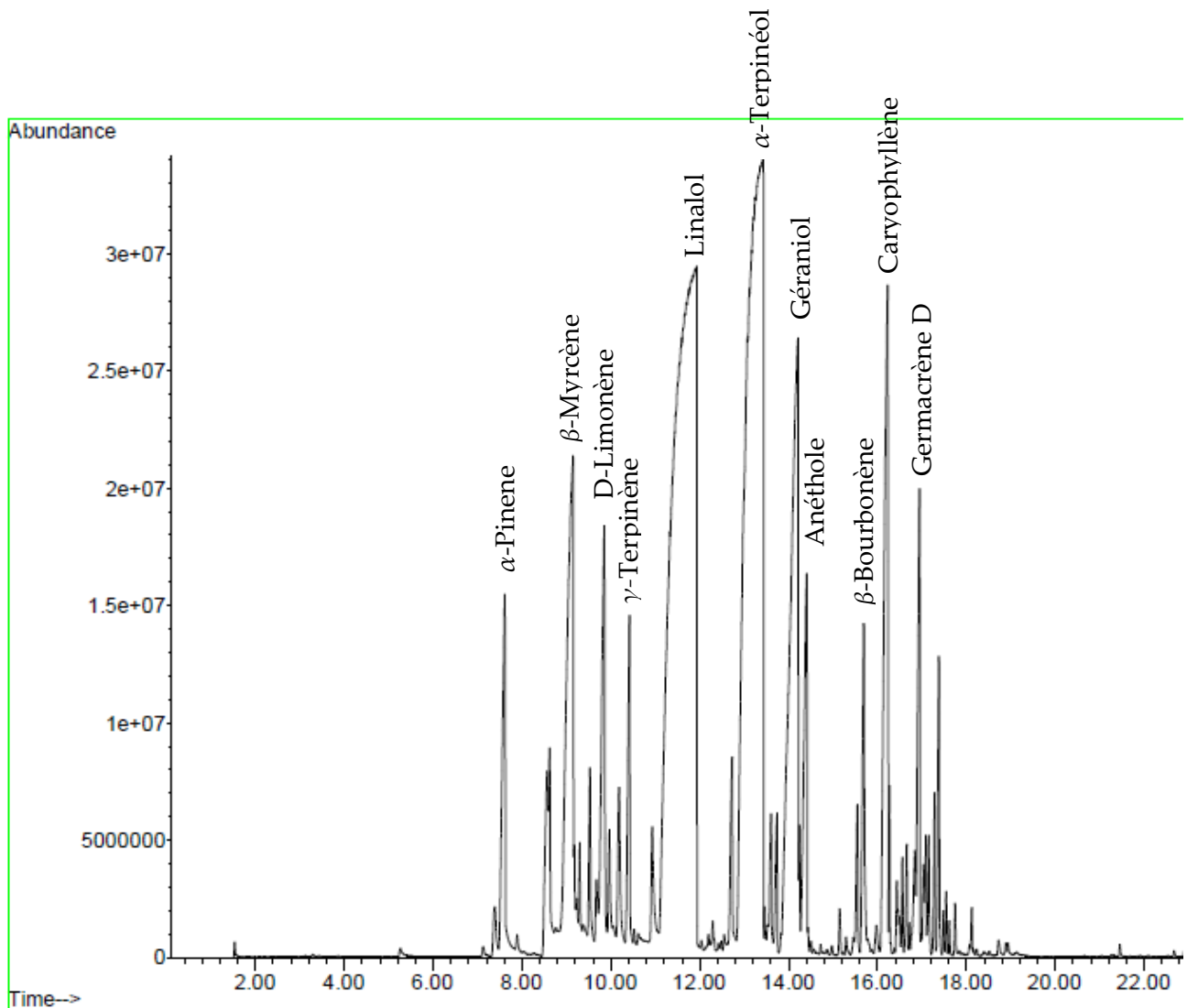


Figure 14 : Chromatogramme HS-SPME-GCMS obtenu à partir de l'analyse de l'HE de *T. numidicus*

Tableau 7 : Liste des composés volatiles identifiés dans l'HE de *T. numidicus* par HS-SPME-GC-MS

N°	Composé	Classe chimique	Formule moléculaire	CAS	IR	(%) Moyenne ± SD
1	Hashishene	Alcène bicyclique	C ₁₀ H ₁₆	16626-39-4	921	0,053 ± 0,005
2	α -Thujene	Alcène bicyclique	C ₁₀ H ₁₆	2867-05-2	929	0,296 ± 0,010
3	α -Pinene	Monoterpène bicyclique	C ₁₀ H ₁₆	80-56-8	937	2,225 ± 0,042
4	Camphène	Monoterpène bicyclique	C ₁₀ H ₁₆	79-92-5	952	0,108 ± 0,012
5	Sabinène	Monoterpène bicyclique	C ₁₀ H ₁₆	3387-41-5	974	1,085 ± 0,041
6	β -Pinène	Monoterpène bicyclique	C ₁₀ H ₁₆	127-91-3	979	0,618 ± 0,044
7	β -Myrcène	Monoterpène acyclique	C ₁₀ H ₁₆	123-35-3	991	5,938 ± 0,150
8	α -Phellandrène	Monoterpène monocyclique	C ₁₀ H ₁₆	99-83-2	1005	0,279 ± 0,022
9	α -Terpinène	Monoterpène monocyclique	C ₁₀ H ₁₆	99-86-5	1017	0,701 ± 0,016
10	<i>p</i> -Cymène	Monoterpène monocyclique	C ₁₀ H ₁₄	99-87-6	1025	0,328 ± 0,005
11	D-Limonène	Monoterpène monocyclique	C ₁₀ H ₁₆	5989-27-5	1031	2,515 ± 0,027
12	<i>cis</i> - β -Ocimène	Monoterpène acyclique	C ₁₀ H ₁₆	3338-55-4	1038	0,481 ± 0,022
13	β -Ocimène	Monoterpène acyclique	C ₁₀ H ₁₆	13877-91-3	1037	0,872 ± 0,016
14	γ -Terpinène	Monoterpène acyclique	C ₁₀ H ₁₆	99-85-4	1060	1,369 ± 0,011
15	<i>trans</i> -Sabinène hydraté	Monoterpénoïde bicyclique	C ₁₀ H ₁₈ O	17699-16-0	1070	0,083 ± 0,008
16	Terpinolène	Monoterpène monocyclique	C ₁₀ H ₁₆	586-62-9	1088	0,734 ± 0,018
17	Linalol ¹	Monoterpénoïde acyclique	C₁₀H₁₈O	78-70-6	1099	30,252 ± 0,336
18	endo-Bornéol	Monoterpénoïde bicyclique	C ₁₀ H ₁₈ O	507-70-0	1167	0,058 ± 0,005
19	Terpinène-4-ol	Monoterpénoïde monocyclique	C ₁₀ H ₁₈ O	562-74-3	1177	0,816 ± 0,036

20	α-Terpinéol	Monoterpénoïde monocyclique	C₁₀H₁₈O	98-55-5	1189	25,167 ± 0,168
21	<i>cis</i> -Géraniol	Monoterpénoïde acyclique	C ₁₀ H ₁₈ O	106-25-2	1228	0,496 ± 0,030
22	Néral	Monoterpénoïde acyclique	C ₁₀ H ₁₆ O	106-26-3	1240	0,547 ± 0,012
23	Géraniol	Monoterpénoïde acyclique	C₁₀H₁₈O	106-24-1	1255	9,440 ± 0,176
24	α -Citral	Monoterpénoïde acyclique	C ₁₀ H ₁₆ O	141-27-5	1270	0,184 ± 0,032
25	Anéthole	Monoterpénoïde monocyclique	C ₁₀ H ₁₂ O	104-46-1	1287	2,108 ± 0,108
26	Carvacrol	Monoterpénoïde monocyclique	C ₁₀ H ₁₄ O	499-75-2	1299	0,052 ± 0,004
27	Formiate de géranyle	Monoterpène ester	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	105-86-2	1301	0,036 ± 0,000
28	α -Cubébène	Sesquiterpène tricyclique	C ₁₅ H ₂₄	17699-14-8	1351	0,130 ± 0,005
29	Eugénol	Monoterpénoïde monocyclique	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	97-53-0	1358	0,061 ± 0,002
30	Acétate de géranyle	Monoterpénoïde acyclique	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	105-87-3	1382	0,529 ± 0,014
31	β -Bourbonène	Sesquiterpène tricyclique	C ₁₅ H ₂₄	5208-59-3	1384	1,345 ± 0,010
32	α -Gurjunene	Sesquiterpène tricyclique	C ₁₅ H ₂₄	489-40-7	1409	0,151 ± 0,006
33	Caryophyllène	Sesquiterpène bicyclique	C ₁₅ H ₂₄	87-44-5	1419	4,610 ± 0,032
34	<i>cis</i> - β -Copaène	Sesquiterpène tricyclique	C ₁₅ H ₂₄	18252-44-3	1432	0,265 ± 0,006
35	Cadina-3,5-diène	Sesquiterpène bicyclique	C ₁₅ H ₂₄	267665-20-3	1458	0,239 ± 0,028
36	Humulène	Sesquiterpène monocyclique	C ₁₅ H ₂₄	6753-98-6	1454	0,216 ± 0,004
37	<i>cis</i> -Muuro-la-4(15),5-diène	Sesquiterpène bicyclique	C ₁₅ H ₂₄	157477-72-0	1463	0,314 ± 0,007
38	γ -Muuro-lène	Sesquiterpène bicyclique	C ₁₅ H ₂₄	30021-74-0	1477	0,474 ± 0,035
39	Germacrène D	Sesquiterpène monocyclique	C ₁₅ H ₂₄	23986-74-5	1481	1,928 ± 0,089
40	γ -Amorphène	Sesquiterpène bicyclique	C ₁₅ H ₂₄	6980-46-7	1496	0,274 ± 0,020
41	α -Muuro-lène	Sesquiterpène bicyclique	C ₁₅ H ₂₄	10208-80-7	1499	0,269 ± 0,007

42	β -Bisabolène	Sesquiterpène monocyclique	C ₁₅ H ₂₄	495-61-4	1509	0,361 ± 0,021
43	γ -Cadinène	Sesquiterpène bicyclique	C ₁₅ H ₂₄	39029-41-9	1513	0,403 ± 0,019
44	δ -Cadinène	Sesquiterpène bicyclique	C ₁₅ H ₂₄	483-76-1	1524	0,940 ± 0,038
45	Cubnène	Sesquiterpène bicyclique	C ₁₅ H ₂₄	29837-12-5	1532	0,087 ± 0,006
46	α -Cadinène	Sesquiterpène bicyclique	C ₁₅ H ₂₄	24406-05-1	1538	0,140 ± 0,006
47	α -Calacorène	Sesquiterpène bicyclique	C ₁₅ H ₂₀	21391-99-1	1542	0,058 ± 0,006
48	Nérolidol	Sesquiterpénoïde acyclique	C ₁₅ H ₂₆ O	40716-66-3	1564	0,129 ± 0,014
49		Sesquiterpénoïde bicyclique	C ₁₅ H ₂₄ O	1139-30-6	1581	0,126 ± 0,016
50	Caryophylle-4(12),8(13)-diène-5.beta.-ol	Sesquiterpénoïde bicyclique	C ₁₅ H ₂₄ O	19431-80-2	1644	0,069 ± 0,005
51	α -Cadinol	Sesquiterpénoïde bicyclique	C ₁₅ H ₂₆ O	481-34-5	1653	0,041 ± 0,006
Groupe de composés [%]						
Monoterpènes hydrocarbonés						17,25
Monoterpènes oxygénés						69,83
Sesquiterpènes hydrocarbonés						12,20
Sesquiterpènes oxygénés						0,37
autres						0,35

¹ En gras : composés majeurs

3.2 Activité antioxydante

Le test de l'activité antioxydante *in vitro* a été réalisé en évaluant la capacité des HE de la plante à piéger le radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). En présence d'antioxydants, le radical violet DPPH se transforme en jaune. Le degré de changement de couleur indique la capacité à piéger les radicaux libres. Généralement, l'activité antioxydante est exprimée par la concentration d'antioxydant nécessaire pour réduire de 50% l'absorbance du contrôle (IC₅₀). Cependant, la valeur IC₅₀ varie en fonction de la concentration finale de DPPH utilisée. Par conséquent, pour une meilleure comparaison, l'activité antioxydante a été exprimée à l'aide de l'indice d'activité antioxydante (IAA) calculé à l'aide de l'équation (4). Compte tenu de la concentration finale de DPPH utilisée (49,53 µg/mL) et de l'IC₅₀ (12,13 ± 0,24 mg/mL) dans la présente étude, l'indice d'activité antioxydante (IAA) calculé pour l'HE de *T. numidicus* était de 0,004 ± 0,000. Cette valeur est inférieure à 0,5, ce qui signifie que l'HE a une faible activité antioxydante. Ce faible résultat était attendu en raison de l'absence de composés phénoliques tels que le thymol dans la composition de l'HE. Selon la littérature, le potentiel antioxydant des HEs de thym est attribué à leurs constituants phénoliques, qui ont la capacité de piéger les radicaux libres par l'intermédiaire de leurs groupes hydroxyles. Dans une étude précédente évaluant l'activité antioxydante de l'HE de *T. numidicus* et du thymol à l'aide de la méthode DPPH, les auteurs ont enregistré des valeurs IC₅₀ de 156,53 ± 20,23 µg/mL et 104,44 ± 6,76 µg/mL pour l'HE de *T. numidicus* et le thymol, respectivement. Sur la base de la concentration finale de DPPH utilisée (9,85 µg/mL), les valeurs de l'IAA calculées dans leur étude étaient de 0,063 pour *T. numidicus* et de 0,09 pour le thymol (Adrar *et al.*, 2016). Ces résultats sont en accord avec les conclusions de la présente étude, qui a révélé que les HEs de *T. numidicus* ont une faible activité antioxydante.

En revanche, dans une autre étude, où l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *T. numidicus* a été évaluée en utilisant une concentration finale de DPPH de (34,75 µg/mL), les auteurs ont enregistré un IC₅₀ de (13,18 µg/mL). En appliquant le calcul de l'IAA, une valeur de 2,64 a été enregistrée. Selon l'échelle adoptée, un IAA supérieur à 2 signifie que l'extrait méthanolique de *T. numidicus* a une activité antioxydante très élevée (Ben El Hadj Ali *et al.*, 2014). De même, dans une autre étude, où l'extraction méthanolique a été suivie d'une extraction butanolique, l'activité antioxydante de l'extrait final, exprimée comme IC₅₀, était de 42,76 ± 1,40 µg/mL, et l'IAA calculé était de 7,37 (IAA > 2), ce qui signifie que cet extrait butanolique de *T. numidicus* a une très forte activité antioxydante. Ce résultat

pourrait s'expliquer par la richesse de l'extrait butanolique de *T. numidicus* en composés phénoliques par rapport à l'HE. En effet, dans la même étude, l'analyse HPLC-TOF/MS a permis d'identifier 15 composés phénoliques, dont huit acides phénoliques, six flavonoïdes et un glycoside stilbénolique appelé polydatine. Ce dernier composé aurait une activité biologique similaire à celle du resvératrol (Kaki *et al.*, 2021).

3.3 Étude de l'activité antimicrobienne *in vitro*

Le potentiel antimicrobien des HEs contre divers microorganismes alimentaires par contact direct a été largement documenté. Toutefois, la phase vapeur et les composants volatils présents dans les HEs n'ont pas fait l'objet d'études suffisantes (Reyes-Jurado *et al.*, 2020).

Dans la présente étude, l'activité antimicrobienne *in vitro* de l'HE de *T. numidicus* et de ses principaux composés volatils (linalol, α -terpinéol et géraniol) a été évaluée en phase vapeur contre différents groupes de microorganismes, notamment des bactéries (Gram-positives et Gram-négatives), des levures et des micromycètes filamenteux. Les composés majeurs de l'HE de *T. numidicus* ont été testés individuellement ou en combinaison. Après les tests préliminaires, seuls trois composés (α -terpinéol, géraniol et HE de *T. numidicus*) ainsi qu'une combinaison α -Ter/Ger : 2.5/1 (m/m) ont été retenus pour un examen plus approfondi contre les microorganismes sélectionnés (Tableau 8). Le linalol a été écarté en raison de son activité antimicrobienne relativement faible contre les microorganismes testés. Cela peut s'expliquer par certaines propriétés intrinsèques des composés, telles que la volatilité, ou par leur mode d'action particulier sur des microorganismes spécifiques.

Comme le montre le Tableau 8, la croissance des micromycètes filamenteux a été inhibée par les quatre composés actifs testés avec des CMI's en phase vapeur allant de 263 à 526 μ L/L, *P. roqueforti* CECT 2905 étant l'espèce la plus sensible, suivie d'*A. niger* CECT 2088 puis d'*A. flavus* CECT 2687. *S. cerevisiae* CECT 1172 a été inactivée avec des CMI's de 132 à 526 μ L/L. D'autre part, les bactéries ont montré une plus grande résistance antimicrobienne aux composés testés, puisque les quatre substances volatiles actives n'ont pas pu inhiber la croissance de *S. aureus* ATCC 29213 à 526 μ L/L, tandis que seul l' α -terpinéol et la combinaison α -Ter/Ger : 2.5/1 ont pu inhiber la croissance d'*E. coli* ATCC 25922 à 263 et 526 μ L/L, respectivement. Dans l'ensemble, les composés volatils semblent être plus efficaces contre les micromycètes que contre les bactéries. Il a été suggéré que la phase vapeur des HEs a un impact

particulier sur les micromycètes en raison de leur croissance superficielle, ce qui les rend plus sensibles aux composés volatils des HEs (Reyes-Jurado *et al.*, 2020).

Tableau 8 : Résultats de l'activité antimicrobienne en phase vapeur des souches testées

	CMI ($\mu\text{L/L}$)			
	α -Terpinéol	Géraniol	HE <i>T. numidicus</i>	α -Ter/Ger ¹ : 2.5/1
<i>P. roqueforti</i> CECT 2905	263	263	263	263
<i>A. flavus</i> CECT 2687	526	526	526	526
<i>A. niger</i> CECT 2088	263	263	10	263
<i>S. cerevisiae</i> CECT 1172	526	132	263	132
<i>E. coli</i> ATCC 25922	263	> 526	> 526	526
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	> 526	> 526	> 526	> 526

¹ α -Ter/Ger : combinaison α -terpineol/geraniol

Généralement, en raison de la protection supplémentaire offerte par la membrane externe, les bactéries Gram-négatives sont plus résistantes aux HEs que les bactéries Gram-positives (Lupia *et al.*, 2024). Néanmoins, dans la présente étude, l'inverse a été observé pour les bactéries testées, *E. coli* ATCC 25922 (Gram-négative) étant plus sensible que *S. aureus* ATCC 29213 (Gram-positif) aux composés actifs testés. Ces observations sont en accord avec des études antérieures utilisant à la fois la méthode de diffusion sur gélose (Adrar *et al.*, 2016) et la méthode de diffusion sur disque (Tagnaout *et al.*, 2022), où il a été observé que *S. aureus* était plus résistant qu'*E. coli*. Il est probable que certains composés d'HE aient des difficultés à pénétrer la paroi cellulaire des bactéries Gram-positives, qui ont une paroi cellulaire plus épaisse avec une teneur plus élevée en peptidoglycane et un plus grand nombre de structures spéciales d'acide téichoïque, contrairement aux bactéries Gram-négatives (Wang *et al.*, 2017).

Les résultats des tests de l'activité antimicrobienne sont généralement difficiles à comparer en raison des différences entre les méthodes de test, les milieux de culture, la concentration de l'inoculum, etc. Dans la présente étude, l'HE de

T. numidicus a montré une activité antifongique à des valeurs variant de 263 à 526 $\mu\text{L/L}$. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Elaïssi *et al.* (2020), qui ont rapporté que la CMI de deux HE de *T. numidicus* contre *A. flavus* était de 400 $\mu\text{g/mL}$.

Cependant, en ce qui concerne l'activité antibactérienne, nos résultats ont montré que *T. numidicus* était inefficace contre *E. coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 29213 à 526 $\mu\text{L/L}$. Ceci est en désaccord avec un travail précédent utilisant un test de diffusion sur disque où il a été observé que l'HE de *T. numidicus*, ayant le thymol comme composé principal, a inhibé la croissance d'*E. coli* et de *S. aureus* sur une zone allant de 42 à 60 mm et de 52 à 60 mm, respectivement, autour d'un disque de papier imprégné avec 10 μL d'HE (Laouer *et al.*, 2009). Cette différence d'efficacité pourrait être attribuée à la présence de thymol, connu pour son activité antimicrobienne contre une large gamme de microorganismes. En effet, dans une autre étude soutenant cette supposition, il a été montré que le papier disque imbibé de 10 μg de thymol empêchait la croissance d'*E. coli* et de *S. aureus* sur un diamètre de zone de 41,2 mm et 42,3 mm, respectivement (El Atki *et al.*, 2020).

Les principaux composants de l'HE sont les principaux responsables de son activité antimicrobienne (Reyes-Jurado *et al.*, 2022). Dans le présent travail, l'activité antimicrobienne des alcools monoterpéniques individuels α -terpinéol et géraniol était assez similaire. Tous deux étaient capables d'inhiber *P. roqueforti* CECT 2905 et *A. niger* CECT 2088 à 263 $\mu\text{L/L}$ et *A. flavus* CECT 2687 à 526 $\mu\text{L/L}$. Le géraniol était plus efficace contre *S. cerevisiae* CECT 1172 (132 $\mu\text{L/L}$) que l' α -terpinéol (526 $\mu\text{L/L}$). En revanche, le géraniol était inefficace contre les deux bactéries ($>526 \mu\text{L/L}$) et l' α -terpinéol était actif contre *E. coli* ATCC 25922 à 263 $\mu\text{L/L}$.

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux obtenus par d'autres auteurs. Par exemple, Tang *et al.* (2018) ont rapporté que le géraniol inhibait *A. flavus* de 98,44% à une concentration de 0,4 $\mu\text{L/mL}$. Parallèlement, Pinto *et al.* (2014) ont montré que l' α -terpinéol présentait également une activité antifongique contre 19 souches de levures et de micromycètes filamenteux, y compris *A. flavus* et *A. niger*, avec des CMI allant de 0,64 à 1,25 $\mu\text{L/mL}$. Pour *S. cerevisiae*, Scariot *et al.* (2021) ont enregistré une CMI plus faible pour le géraniol (6,25 mM) que pour l' α -terpinéol (25 mM). En ce qui concerne l'activité antibactérienne, El Atki *et al.* (2020) ont observé que *E. coli* et *S. aureus* étaient résistants au géraniol ($> 5 \text{ mg/mL}$) et Hussein *et al.* (2021) ont constaté que *E. coli* était plus sensible à l' α -terpinéol que *S. aureus*, avec des CMI de 0,125 $\mu\text{L/mL}$ et 0,250 $\mu\text{L/mL}$, respectivement.

3.4 Capacité antimicrobienne des films actifs multicouches

Après l'évaluation *in vitro*, la combinaison α -Ter/Ger : 2,5/1 a été sélectionnée comme agent actif pour préparer les films multicouches actifs. Les films préparés à partir des adhésifs contenant 0%, 6% et 8% de l'agent actif ont été désignés par 0%, 6% et 8%, respectivement (Figure 15). La capacité antimicrobienne des films a été testée contre les bactéries et les micromycètes en phase vapeur. Les résultats du test sont présentés dans le Tableau 9.

L'activité antimicrobienne des films actifs était proportionnellement corrélée à la concentration de l'agent actif. Les films multicouches 8% ont complètement inhibé la croissance des micromycètes filamenteux et de la levure (*P. roqueforti* CECT 2905, *A. flavus* CECT 2687, *A. niger* CECT 2088 et *S. cerevisiae* CECT 1172), tandis que les films 6% étaient relativement moins efficaces contre *A. flavus* CECT 2687. Ces résultats mettent en évidence le potentiel antifongique des films actifs préparés contre ces micromycètes. Il semble que les composés volatils actifs exercent leur capacité antifongique à différents stades du cycle de vie des micromycètes, depuis la germination jusqu'à la croissance apicale des hyphes et la sporulation (Reyes-Jurado *et al.*, 2020). En revanche, ni les films actifs (6%) ni ceux (8%) n'ont pu empêcher complètement la croissance des bactéries (*E. coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 29213), mais une réduction visuelle de la croissance, qui était proportionnelle à la concentration de l'agent actif, a été observée. Cela suggère que l'effet antibactérien dans la phase vapeur dépend de la concentration et que, dans le cas des bactéries, des concentrations plus élevées sont nécessaires.



Figure 15 : Photo des films actifs préparés

Tableau 9 : Résultats de la capacité antimicrobienne en phase vapeur des films actifs

	Film 0% (control)	Film actif 6%	Film actif 8%
<i>P. roqueforti</i> CECT 2905	(-)	(+++)	(+++)
<i>A. flavus</i> CECT 2687	(-)	(++)	(+++)
<i>A. niger</i> CECT 2088	(-)	(+++)	(+++)
<i>S. cerevisiae</i> CECT 1172	(-)	(+++)	(+++)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	(-)	(+)	(++)
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	(-)	(+)	(++)

(+++): Inhibition totale ; (++) : Inhibition moyenne ; (+) : Inhibition faible ; (-) : Pas d'inhibition.

D'après l'analyse bibliographique récente, il n'existe aucun rapport sur l'inhibition fongique par une combinaison de vapeurs d' α -terpinéol et de géraniol incorporés dans un matériau d'emballage. Cependant, certaines études ont démontré l'effet antibactérien d'emballages actifs incorporés avec ces deux composés actifs naturels (α -terpinéol et géraniol) individuellement. Par exemple, il a été rapporté que les films de copolymère éthylène-alcool vinylique (EVOH) contenant 6% de géraniol et 6% d' α -terpinéol ralentissaient la croissance d'*E. coli* de $2,02 \pm 0,01$, $7,43$ et $1,42 \pm 0,05$ unités logarithmiques, respectivement (Wang *et al.*, 2017).

3.5 Essais de migration et évaluation de la sécurité

Les essais de migration sont effectués pour garantir la sécurité suivant les exigences réglementaires (EC n° 10/2011). Les films multicouches actifs développés ont été préparés avec deux films plastiques destinés à être en contact avec les aliments, le PET 12 μm et le LDPE 35 μm , qui sont connus pour leur relative résistance aux produits chimiques. En outre, l'adhésif utilisé est à base d'eau et approuvé pour être appliqué sur les matériaux en contact des aliments (FCM : Food contact materials). Cependant, dans certains cas, l'agent actif ajouté peut compromettre l'intégrité des matériaux et entraîner la libération de composés toxiques et indésirables (migration négative) qui peuvent atteindre les denrées

alimentaires et constituer une menace pour la santé et la sécurité des consommateurs. Dans le présent travail, les deux agents actifs incorporés, l' α -terpinéol et le géraniol, sont des alcools monoterpéniques qui, en théorie, ne sont pas corrosifs et ne peuvent pas affecter l'intégrité des polymères utilisés (PET et LDPE). Lorsque des composés désirables (ajoutés intentionnellement ou inhérents) provenant des matériaux d'emballage migrent dans l'aliment, on dit que la migration est positive. En revanche, si les composés sont indésirables et toxiques, la migration est dite négative.

L'analyse des chromatogrammes (Annexe 4) obtenus après injection de l'agent actif pur dilué α -Ter/Ger : 2,5/1 et des extraits récupérés sur le simulant vierge, le multicouche témoin (0%) et les multicouches actifs (6% et 8%) par GC-MS (composés volatils) et UPLC-ESI-Q-TOF-MSE (composés non volatils) a révélé l'absence de tout pic correspondant à un composé volatil ou non volatil étranger dans les films actifs 6% et 8%. Les pics détectés pour les films multicouches 6% et 8% correspondent à l'agent actif incorporé (migration positive). La détection de l'agent actif indique qu'il a été libéré avec succès de l'adhésif et a diffusé à travers la couche LDPE pour atteindre le simulant alimentaire. Ces résultats confirment que les matériaux de la partie passive des films multicouches ont conservé leur intégrité et que les composants indésirables de l'adhésif ont été retenus derrière la couche du LDPE. Une étude antérieure sur les emballages multicouches a montré que le LDPE empêchait la migration des composés non volatils de l'adhésif vers le simulant alimentaire (Oudjedi *et al.*, 2019).

Par conséquent, le type de film actif développé ici peut être considéré comme sûr au regard de la législation européenne (règlement n° 450/2009 concernant les matériaux et objets actifs et intelligents destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires (European Commission, 2009) et règlement n° 1935/2004 concernant les matériaux et objets destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires (European Commission, 2004)), qui exige l'absence de migration de molécules toxiques et indésirables du matériau en contact avec les denrées alimentaires vers les denrées alimentaires (migration négative). Quant à l' α -terpinéol et au géraniol, ils sont classés comme substances aromatiques dans le règlement alimentaire de l'UE et sont considérés comme sûrs lorsqu'ils sont utilisés conformément aux bonnes pratiques de fabrication (European Commission, 2008; European Commission, 2024).

3.6 Mesure de la couleur

La transparence est une caractéristique essentielle des emballages alimentaires, car elle permet aux consommateurs de voir plus clairement les aliments qu'ils

contiennent et d'en apprécier la qualité et la fraîcheur, ce qui facilite leurs décisions d'achat. La mesure de la couleur a été effectuée pour évaluer l'influence de l'ajout de l'agent actif sur la transparence des films. Pour cette raison, le changement de couleur (ΔE) entre le contrôle (0%) et les multicouches actifs préparés (6 et 8%) a été calculé pour estimer les différences. Les deux films, PET 12 μm et LDPE 35 μm , utilisés dans la préparation du multicouche présentaient de bonnes propriétés de transparence. La comparaison visuelle n'a révélé aucune différence entre les films de contrôle et les films actifs. Les données des mesures instrumentales sont présentées dans le Tableau (10).

Tableau 10 : Propriétés colorimétriques et changement de couleur total (ΔE) des films multicouches préparés

	L^*	a^*	b^*	(ΔE)
Film (0%)(contrôle)	95.93 \pm 0.20	0.03 \pm 0.01	2.37 \pm 0.09	0.00
Film (6%)	96.2 \pm 0.00	0.08 \pm 0.02	2.26 \pm 0.02	0.30
Film (8%)	95.89 \pm 0.01	0.08 \pm 0.00	2.42 \pm 0.03	0.08

L^* (clarté), a^* (rougeur ou verdure) et b^* (bleu ou jaune)

L^* représente la clarté ($L^* = 100$) et l'obscurité ($L^* = 0$), a^* représente le rouge/vert pour les valeurs positives/négatives, et b^* représente le jaune/bleu pour les valeurs positives/négatives. Les valeurs de luminosité (L^*) enregistrées pour tous les films sont supérieures à 95%, ce qui indique qu'ils sont très transparents. L'analyse statistique a révélé que les valeurs L^* , a^* , b^* pour le contrôle et les échantillons actifs n'étaient pas significativement différentes à ($p \leq 0,001$), ce qui signifie que l'ajout de composés de l'HE n'a pas eu d'influence sur la couleur de l'emballage. Il convient également de noter que l'analyse statistique n'a révélé aucune différence significative ($p \leq 0,001$) entre le film témoin (0% d'agent actif) et le film sans adhésif ni agent actif, ce qui indique que l'adhésif n'a aucune influence sur la transparence et la couleur des films. Les valeurs de changement de couleur total (ΔE) enregistrées pour les films multicouches actifs 6% et 8% étaient respectivement de 0,30 et 0,08. Il est considéré que le changement de couleur n'est pas perceptible par l'œil humain lorsque $\Delta E < 1$. Dans des travaux antérieurs, la valeur de changement de couleur enregistrée pour des emballages antioxydants à base d'extraits éthanoliques de caroube (8%) variait de 0,76 à 2,87 (Ait Ouahioune *et al.*, 2022a). Lorsque $\Delta E = 2-10$, le changement est perceptible au premier coup d'œil. Ces différences pourraient être attribuées au fait que les HEs des plantes et leurs composés sont relativement incolores par rapport aux extraits de solvants.

4 Conclusion

Les résultats rapportés ici ont permis d'identifier, à partir de l'analyse de la composition de l'HE de *Thymus numidicus* de l'Algérie, un nouveau chémotype, jamais rapporté auparavant, et dont le composé principal est le linalol.

Les résultats ont montré la capacité antifongique en phase vapeur de l'HE de *T. numidicus*, de l' α -terpinéol, du géraniol et de la combinaison α -Ter/Ger : 2,5/1 contre *P. roqueforti* CECT 2905, *A. flavus* CECT 2687, *A. niger* CECT 2088 et *S. cerevisiae* CECT 1172. Néanmoins, une faible activité antibactérienne a été observée contre *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 29213.

Un nouveau film multicouche antimicrobien incorporant une combinaison d' α -terpinéol et de géraniol (α -Ter/Ger : 2,5/1) a été décrit et testé en phase vapeur contre les microorganismes susmentionnés. Les films contenant la plus forte concentration d'agent actif (8%) ont montré la plus forte activité antifongique et antibactérienne. Ces résultats mettent en évidence la sensibilité des micromycètes filamenteux et des levures, par rapport aux bactéries, aux composés volatils actifs en phase vapeur. Les films actifs développés étaient conformes à la réglementation européenne sur les matériaux destinés à être en contact des aliments.

Ces films à base de molécules bioactives naturelles peuvent constituer une alternative aux conservateurs synthétiques pour une application à l'échelle industrielle sans pour autant apporter des modifications importantes dans le processus de production et engendrer des coûts économiques considérables.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives

Les produits à base de céréales, les fruits secs et les fruits à coques sont des aliments susceptibles à la contamination par les micromycètes filamenteux et par leurs mycotoxines. En Algérie, ces aliments sont largement consommés par la population comme aliments de base et certains d'entre eux sous la forme de préparations traditionnelles, telles que le *Bradj*, le *Metlou* ...etc., qui sont souvent produits de façon artisanale et commercialisés sans étiquetage et informations sur les ingrédients.

Des AFs ont été trouvées dans 37,9% des produits alimentaires analysés, et 2% de ces échantillons, exclusivement des arachides, dépassaient le niveau maximum légal dans l'Union européenne pour l'AFB1 (2 µg/kg). De même, tous les échantillons de *Bradj* et de *Metlou* étaient contaminés par des AFs, ce qui représente un risque potentiel pour la santé car ces produits traditionnels sont largement consommés par la population algérienne. L'exposition aux AFs chez les consommateurs algériens moyens représente un problème de santé puisque les apports journaliers estimés à partir des arachides, du *Bradj*, de *Rechta* et du *Metlou* ont donné des marges d'exposition (MOE) en dessous du seuil critique (valeurs MOE inférieures à 10 000).

Le manque de moyens et qualification se traduit souvent par des pratiques de production et/ou de stockage défectueuses, qui peuvent entraîner la contamination des denrées alimentaires par les micromycètes toxigènes et leur mycotoxines. Le renforcement des programmes de formation des différents acteurs de la chaîne alimentaire par rapport aux risques potentiels des micromycètes filamenteux et de leurs mycotoxines pourrait constituer une mesure préventive de grande importance.

En Algérie, il existe très peu de rapports sur la présence et les teneurs de mycotoxines dans les aliments consommés par la population, et une seule étude sur l'évaluation de l'exposition. La compilation de données sur l'occurrence et l'exposition de la population algérienne aux mycotoxines permettrait de mieux appréhender le risque et de prendre des mesures de prévention appropriées. La mise en place de programmes de contrôle réguliers et de recherche sur les mycotoxines pourrait constituer un moyen pour recueillir des données et des connaissances suffisantes sur ce risque. Par ailleurs, la révision de la réglementation algérienne sur les mycotoxines pourrait contribuer à améliorer la santé publique et à faciliter le développement des échanges et des partenariats régionaux et internationaux dans le secteur agricole.

Ces dernières années, l'utilisation des antifongiques chimiques synthétiques a fait l'objet de vives critiques en raison de leurs effets indésirables sur la santé des consommateurs, de leur biorésistance et de leur impact négatif sur l'environnement. Plusieurs études ont montré que l'utilisation des HE et de leurs composés volatils actifs pour des applications spécifiques et ciblées dans le secteur alimentaire constitue une meilleure alternative. L'introduction des HEs dans les systèmes d'emballages actifs a, aussi, suscité un grand intérêt et a fait l'objet de nombreuses études à travers le monde, mais cette stratégie est encore peu explorée en Algérie, où les recherches sur le sujet restent limitées.

L'analyse de l'huile essentielle d'une plante endémique de l'Algérie (*Thymus numidicus*) a permis d'identifier un nouveau chémotype, jamais rapporté auparavant, et dont le composé principal est le linalol.

L'huile essentielle de *T. numidicus* et ses composés principaux (α -terpinéol, géraniol et de la combinaison α -Ter/Ger : 2,5/1) ont montré une forte activité antifongique, en phase vapeur, contre *P. roqueforti* CECT 2905, *A. flavus* CECT 2687, *A. niger* CECT 2088 et *S. cerevisiae* CECT 1172.

Un nouveau film multicouche actif, incorporant une combinaison d' α -terpinéol et de géraniol (α -Ter/Ger : 2,5/1) a été décrit et testé en phase vapeur contre les microorganismes susmentionnés. Les films multicouches préparés avec des adhésifs contenant 6% et 8% de l'agent actif ont montré une forte activité antifongique en phase vapeur. Les films actifs développés étaient conformes à la réglementation européenne sur les matériaux destinés à être en contact des aliments.

Ces films à base de molécules actives naturelles peuvent constituer une stratégie appropriée pour certains produits de terroir et traditionnels (dattes, figues...) cherchant à être commercialisés sous des labels de qualité biologique et supérieure. De plus, ce type de film actif ne nécessite pas de modifications importantes de la ligne de conditionnement ni de coûts substantiels, ce qui le rend facile à appliquer à l'échelle industrielle.

Et pour perspectives il est recommandé de :

- Réaliser des études élargies sur l'occurrence et les niveaux de contamination des différentes denrées alimentaires y compris les aliments pour animaux d'élevage.

- Réaliser des enquêtes de consommation alimentaires pour une meilleure estimation des apports alimentaire et une meilleure évaluation de l'exposition aux mycotoxines et autres contaminants.
- Réaliser des études pour améliorer la production et la commercialisation des produits alimentaires locaux et artisanaux.
- Etudier l'influence du changement climatique sur la prévalence des micromycètes filamenteux et leurs mycotoxines dans les différentes cultures agricoles, en Algérie.
- Biosurveillance des mycotoxines chez la population algérienne par l'analyse des liquides physiologiques et évaluation des risques.
- Application en conditions réelles du film actif développé pour l'emballage alimentaire.
- Tester d'autres stratégies d'emballage actif utilisant la nanotechnologie.
- Etc.

Références

Abdallah, M.F., Gado, M., Abdelsadek, D., Zahran, F., El-Salhey, N.N., Mehrez, O., Abdel-Hay, S., Mohamed, S.M., de Ruyck, K., Yang, S., Gonzales, G.B. et Varga, E. (2023) « Mycotoxin contamination in the Arab World: highlighting the main knowledge gaps and the current legislations. », *Mycotoxin Research*, 2023(40), p. 19-44. Disponible sur: <https://doi.org/10.31220/agrirxiv.2023.00193>.

Abdallah, M.F., Krska, R. et Sulyok, M. (2018) « Occurrence of Ochratoxins, Fumonisin B2, Aflatoxins (B1 and B2), and Other Secondary Fungal Metabolites in Dried Date Palm Fruits from Egypt: A Mini-Survey », *Journal of Food Science*, 83(2), p. 559-564. Disponible sur: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14046>.

Adeyeye, S.A.O. (2016) « Fungal mycotoxins in foods: A review », *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), p. 1213127. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1213127>.

Adrar, N., Oukil, N. et Bedjou, F. (2016) « Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination », *Industrial Crops and Products*, 88, p. 112-119. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.007>.

AENOR, A.E. de N. (2004) « UNE-EN 14338:2004 Papel y cartón para contacto alimentario. Condiciones para la determinación de la migración en papel y cartón utilizando óxido de polifenileno modificado (MPPO) como simulante »

Ait Mimoune, N., Arroyo-Manzanares, N., Gámiz-Gracia, L., García-Campaña, A.M., Bouti, K., Sabaou, N. et Riba, A. (2018) « *Aspergillus* section Flavi and aflatoxins in dried figs and nuts in Algeria », *Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance*, 11(2), p. 119-125. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/19393210.2018.1438524>.

Ait Ouahioune, L., Wrona, M., Becerril, R., Salafranca, J., Nerín, C. et Djenane, D. (2022) « *Ceratonia siliqua* L. kibbles, seeds and leaves as a source of volatile bioactive compounds for antioxidant food biopackaging applications », *Food Packaging and Shelf Life*, 31(May 2021). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100764>.

Ait Ouahioune, L., Wrona, M., Nerín, C. et Djenane, D. (2022) « Novel active biopackaging incorporated with macerate of carob (*Ceratonia siliqua* L.) to extend shelf-life of stored Atlantic salmon fillets (*Salmo salar* L.). », *LWT*, 156. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113015>.

Alassane-Kpembi, I. (2013) *Toxicite intestinale des mycotoxines: analyse des interactions entre trichothecenes B*. Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse).

Alassane-Kpembi, I., Schatzmayr, G., Taranu, I., Marin, D., Puel, O. et Oswald, I.P. (2017) « Mycotoxins co-contamination: Methodological aspects and biological relevance of combined toxicity studies », *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(16), p. 3489-3507. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1140632>.

Alim, M., Iqbal, S.Z., Mehmood, Z., Asi, M.R., Zikar, H., Chanda, H. et Malik, N. (2018) « Survey of mycotoxins in retail market cereals, derived products and evaluation of their dietary intake », *Food Control*, 84, p. 471-477. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.08.034>.

Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M. et Falah, F. (2019) « Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy », *Microbial Pathogenesis*, 136(August). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103716>.

Alshannaq, A. et Yu, J.H. (2017) « Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food », *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(6). Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/ijerph14060632>.

AMS-USDA, (Agricultural Marketing Service – United States Department of Agriculture). (2024) « FGIS Performance Verified Aflatoxin Test Kits – Updated 8/30/2024 », p. 2024-2027. Disponible sur: <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/FGISApprovedMycotoxinRapidTestKits.pdf>.

An, P., Yang, X., Yu, J., Qi, J., Ren, X. et Kong, Q. (2019) « α -terpineol and terpene-4-ol, the critical components of tea tree oil, exert antifungal activities in vitro and in vivo against *Aspergillus niger* in grapes by inducing morphous damage and metabolic changes of fungus », *Food Control*, 98(August 2018), p. 42-53. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.11.013>.

Anater, A., Manyes, L., Meca, G., Ferrer, E., Luciano, F.B., Pimpão, C.T. et Font, G. (2016) « Mycotoxins and their consequences in aquaculture: A review », *Aquaculture*, p. 1-10. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.08.022>.

Anelli, P., Haidukowski, M., Epifani, F., Cimmarusti, M.T., Moretti, A., Logrieco, A. et Susca, A. (2019) « Fungal mycobiota and mycotoxin risk for traditional artisan Italian cave cheese », *Food Microbiology*, 78(May 2018), p. 62-72. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.09.014>.

Anfossi, L., Giovannoli, C. et Baggiani, C. (2016) « Mycotoxin detection », *Current Opinion in Biotechnology*, 37, p. 120-126. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.11.005>.

Asare Bediako, K., Dzidzienyo, D., Ofori, K., Offei, S.K., Asibuo, J.Y., Adu Amoah, R. et Obeng, J. (2019) « Prevalence of fungi and aflatoxin contamination in stored groundnut in Ghana », *Food Control*, 104(April), p. 152-156. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.04.034>.

Asensio-Casas, E., Ferrer-Gallego, P.P., Georgiev, V., Pavlov, A. et Juan-Vicedo, J. (2022) « Volatile composition of the critically endangered plant *Thymus webbianus* Rouy from the Natural Park “Penyal d’Ifach” (Calp, Spain) », in. Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/mol2net-08-13098>.

Asensio, E., de Medinacelli Juan-Méndez, R. et Juan-Vicedo, J. (2022) « In Vitro Propagation

and Phytochemistry of Thymol-Producing Plants from a Horticultural Form of *Thymus × josephi-angeli* Mansanet & Aguil. (Lamiaceae) », *Horticulturae*, 8(12). Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/horticulturae8121188>.

Assunção, R., Martins, C., Vasco, E., Jager, A., Oliveira, C., Cunha, S.C., Fernandes, J.O., Nunes, B., Loureiro, S. et Alvito, P. (2018) « Portuguese children dietary exposure to multiple mycotoxins – An overview of risk assessment under MYCOMIX project », *Food and Chemical Toxicology*, 118, p. 399-408. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.05.040>.

El Atki, Y., Aouam, I., Taroq, A., El Kamari, F., Timinouni, M., Lyoussi, B. et Abdellaoui, A. (2020) « Antibacterial effect of combination of cinnamon essential oil and thymol, carvacrol, eugenol, or geraniol », *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*, 9(1), p. 104-109. Disponible sur: https://doi.org/10.4103/jrptps.JRPTPS_25_19.

Ayelnig, A. et De Saeger, S. (2020) « Mycotoxins in Ethiopia: Current status, implications to food safety and mitigation strategies », *Food Control*. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107163>.

Azaiez, I., Font, G., Mañes, J. et Fernández-Franzón, M. (2015) « Survey of mycotoxins in dates and dried fruits from Tunisian and Spanish markets », *Food Control*, 51, p. 340-346. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.11.033>.

Badji, T., Durand, N., Bendali, F., Piro-Metayer, I., Zinedine, A., Ben Salah-Abbès, J., Abbès, S., Montet, D., Riba, A. et Brabet, C. (2023) « In vitro detoxification of aflatoxin B1 and ochratoxin A by lactic acid bacteria isolated from Algerian fermented foods », *Biological Control*, 179(January). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105181>.

Beladel, B., Nedjimi, B., Mansouri, A., Tahtat, D., Belamri, M., Tchanchane, A., Khelfaoui, F. et Benamar, M.E.A. (2013) « Selenium content in wheat and estimation of the selenium daily intake in different regions of Algeria », *Applied Radiation and Isotopes*, 71(1), p. 7-10. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2012.09.009>.

Belili, S.M., Hadj Sadok, T., Megatli, S. et Saidi, F. (2024) « The impact of thyme extract as a coating film on the physicochemical and microbiological profile of date fruit (*Phoenix dactylifera*) », *Food Control*, 158(November 2023). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.110209>.

Benayache, Fériale, Chalard, P., Figueredo, G., Benayache, Fadila et Benayache, S. (2014) « Chemical composition of the essential of *Thymus numidicus* Poiret », *Der Pharmacia Lettre*, 6(1), p. 182-185.

Berthiller, F., Cramer, B., Iha, M.H., Krska, R., Lattanzio, V.M.T., MacDonald, S., Malone, R.J., Maragos, C., Solfrizzo, M., Stranska-Zachariasova, M., Stroka, J. et Tittlemier, S.A. (2018) « Developments in mycotoxin analysis: an update for 2016-2017 », *World Mycotoxin Journal*, p. 1-28. Disponible sur: <https://doi.org/10.3920/WMJ2017.2250>.

Bhardwaj, K., Meneely, J.P., Haughey, S.A., Dean, M., Wall, P., Zhang, G., Baker, B. et Elliott, C.T. (2023) « Risk assessments for the dietary intake aflatoxins in food: A systematic review (2016–2022) », *Food Control*, 149(November 2022). Disponible sur:

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109687>.

Bhat, R., Rai, R. V. et Karim, A.A. (2010) « Mycotoxins in Food and Feed: Present Status and Future Concerns », *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(1), p. 57-81. Disponible sur: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00094.x>.

Boonen, J., Malysheva, S. V., Taevernier, L., Diana Di Mavungu, J., De Saeger, S. et De Spiegeleer, B. (2012) « Human skin penetration of selected model mycotoxins », *Toxicology*, 301(1-3), p. 21-32. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.06.012>.

Bouafifssa, Y., Manyes, L., Rahouti, M., Mañes, J., Berrada, H., Zinedine, A. et Fernández-Franzón, M. (2018) « Multi-occurrence of twenty mycotoxins in pasta and a risk assessment in the moroccan population », *Toxins*, 10(11), p. 1-14. Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/toxins10110432>.

Brera, C., Bertazzoni, V., Debegnach, F., Gregori, E., Prantera, E. et de Santis, B. (2013) « Exposure assessment for Italian population groups to deoxynivalenol deriving from pasta consumption », *Toxins*, 5(12), p. 2293-2309. Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/toxins5122293>.

Bumbangi, N.F., Muma, J.B., Choongo, K., Mukanga, M., Velu, M.R., Veldman, F., Hatloy, A. et Mapatano, M.A. (2016) « Occurrence and factors associated with aflatoxin contamination of raw peanuts from Lusaka district's markets, Zambia », *Food Control*, 68, p. 291-296. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.004>.

Canellas, E., Vera, P. et Nerín, C. (2015) « UPLC–ESI-Q-TOF-MSE and GC–MS identification and quantification of non-intentionally added substances coming from biodegradable food packaging », *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(22), p. 6781-6790. Disponible sur: <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8848-2>.

Cano-Sancho, G., Sanchis, V., Marín, S. et Ramos, A.J. (2013) « Occurrence and exposure assessment of aflatoxins in Catalonia (Spain) », *Food and Chemical Toxicology*, 51(1), p. 188-193. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.032>.

Chen, W. et Viljoen, A.M. (2010) « Geraniol - A review of a commercially important fragrance material », *South African Journal of Botany*, 76(4), p. 643-651. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2010.05.008>.

Chilaka, C.A., Obidiegwu, J.E., Chilaka, A.C., Atanda, O.O. et Mally, A. (2022) « Mycotoxin Regulatory Status in Africa: A Decade of Weak Institutional Efforts », *Toxins*, 14(7), p. 1-20. Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/toxins14070442>.

Churklam, W., Chaturongakul, S., Ngamwongsatit, B. et Aunpad, R. (2020) « The mechanisms of action of carvacrol and its synergism with nisin against *Listeria monocytogenes* on sliced bologna sausage », *Food Control*, 108(August 2019). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106864>.

Couic-Marinier, F. et Lobstein, A. (2013) « Composition chimique des huiles essentielles », *Actualités Pharmaceutiques*, 52(525), p. 22-25. Disponible sur:

<https://doi.org/10.1016/j.actpha.2013.02.006>.

Cunha, S.C., Sá, S.V.M. et Fernandes, J.O. (2018) « Multiple mycotoxin analysis in nut products: Occurrence and risk characterization », *Food and Chemical Toxicology*, 114, p. 260-269. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.02.039>.

Debonne, E., Van Bockstaele, F., Samapundo, S., Eeckhout, M. et Devlieghere, F. (2018) « The use of essential oils as natural antifungal preservatives in bread products », *Journal of Essential Oil Research*, 30(5), p. 309-318. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/10412905.2018.1486239>.

Dellafiora, L. et Dall'Asta, C. (2016) « Masked mycotoxins: An emerging issue that makes renegotiable what is ordinary », *Food Chemistry*, 213, p. 534-535. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.112>.

Dijksterhuis, J. (2019) « Fungal spores: Highly variable and stress-resistant vehicles for distribution and spoilage », *Food Microbiology*, 81(December 2017), p. 2-11. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.11.006>.

Djebari, S., Wrona, M., Boudria, A., Salafranca, J., Nerin, C., Bedjaoui, K. et Madani, K. (2021) « Study of bioactive volatile compounds from different parts of *Pistacia lentiscus* L. extracts and their antioxidant and antibacterial activities for new active packaging application », *Food Control*, 120(July 2020). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107514>.

Edite Bezerra da Rocha, M., da Chagas Oliveira Freire, F., Erlan Feitosa Maia, F., Isabel Florindo Guedes, M. et Rondina, D. (2014) « Mycotoxins and their effects on human and animal health », *Food Control*, 36(1), p. 159-165. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.08.021>.

EFSA, E.F.S.A. (2005) « Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to A Harmonised Approach for Risk Assessment of Substances Which are both Genotoxic and Carcinogenic », *EFSA Journal*, 3(10), p. 1-31. Disponible sur: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2005.282>.

EFSA, E.F.S.A. (2017) « Risks to human and animal health related to the presence of deoxynivalenol and its acetylated and modified forms in food and feed », *EFSA Journal*, 15(9). Disponible sur: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4718>.

EFSA, E.F.S.A. (2020a) « Risk assessment of aflatoxins in food », *EFSA Journal*, 18(3). Disponible sur: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6040>.

EFSA, E.F.S.A. (2020b) « Risk assessment of ochratoxin A in food », *EFSA Journal*, 18(5). Disponible sur: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6113>.

van Egmond, H.P., Schothorst, R.C. et Jonker, M.A. (2007) « Regulations relating to mycotoxins in food », *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(1), p. 147-157. Disponible sur: <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1317-9>.

El Mokni, R., Domina, G. et Barone, G. (2023) « Taxonomic, nomenclatural, and conservation

notes to the Algerian-Tunisian endemic *Thymus numidicus* (Nepetoideae, Lamiaceae) », *Feddes Repertorium*, (March), p. 1-9. Disponible sur: <https://doi.org/10.1002/fedr.202300010>.

El-Sayed, R.A., , Ali B. Jeburb, W.K., Jeburb, A.B., El-Sayed, R.A., Kangc, W. et El-Demerdasha, F.M. (2022) « An overview on the major mycotoxins in food products: characteristics, toxicity, and analysis », 2, p. 91-102.

Ben El Hadj Ali, I., Bahri, R., Chaouachi, M., Boussaïd, M. et Harzallah-Skhiri, F. (2014) « Phenolic content, antioxidant and allelopathic activities of various extracts of *Thymus numidicus* Poir. organs », *Industrial Crops and Products*, 62, p. 188-195. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.08.021>.

Elaïssi, A., Elsharkawy, E., El Mokni, R., Debbabi, H., Brighenti, V., Nardoni, S., Pellati, F. et Hammami, S. (2020) « Chemical composition, antifungal and antiproliferative activities of essential oils from *Thymus numidicus* L. », *Natural Product Research*, 35(24), p. 5888-5893. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1800697>.

Eskola, M., Kos, G., T. Elliott, C., Hajšlová, J., Mayar, S. et Krska, R. (2020) « Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited 'FAO estimate' of 25% », *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(16), p. 2773-2789. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1658570>.

European Commission (2008) « Regulation (EC) No 1334/2008 on flavourings and certain food ingredients with flavouring properties for use in and on foods and amending Council Regulation (EEC) No 1601/91, Regulations (EC) No 2232/96 and (EC) No 110/2008 and Directive 2000/13/EC », *Official Journal of the European Union*, L354(1334), p. 34-48.

European Commission (2004) « REGULATION (EC) No 1935/2004 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 27 October 2004 on materials and articles intended to come into contact with food and repealing Directives 80/590/EEC and 89/109/EEC », *Official Journal of the European Union*, 338(1935), p. 4-17.

European Commission (2009) « REGULATION (EC) No 450/2009 of 29 May 2009 on active and intelligent materials and articles intended to come into contact with food », *Official Journal of the European Union*, 135, p. 3-11.

European Commission (2011) « Commission Regulation (EU) N° 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food », *Official Journal of the European Union* [Preprint].

European Commission (2014) « COMMISSION REGULATION (EU) No 519/2014 of 16 May 2014 », *Official journal of the European Union* [Preprint], (519).

European Commission (2024) *Food and Feed Information Portal Database _ FIP*. Disponible sur: <https://ec.europa.eu/food/food-feed-portal/screen/food-flavourings/search> (Consulté le: 3 octobre 2024).

European Commission, E. (2006a) « COMMISSION REGULATION (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs », *Official*

Journal of the European Union, 364, p. 5-24. Disponible sur: <http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/> (Consulté le: 17 mai 2019).

European Commission, E. (2006b) « Commission Regulation (EC) No 401/2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs », *Official journal of the European Union*, 24, p. 1-42.

European Commission, E. (2017) « Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. SANTE/11813/2017 », *SANTE/11813/2017, European Commission Directorate-General for Health and Food Safety*. [Preprint].

European Commission, E. (2024) « COMMISSION REGULATION (EU) 2024/1038 of 9 April 2024 amending Regulation (EU) 2023/915 as regards maximum levels of T-2 and HT-2 toxins in food », *Official Journal of the European Union*, 1038(1), p. 1-5.

FAO (2003) *Réglementations relatives aux mycotoxines dans les produits d'alimentation humaine et animale, à l'échelle mondiale en 2003, Etude FAO Alimentation et Nutrition*. Disponible sur: <https://doi.org/10.3138/9781487896195-toc>.

FAO (2022) *FAOSTAT*. Disponible sur: <https://www.fao.org/faostat/fr/#data/TCL> (Consulté le: 3 janvier 2022).

FAO, (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2004) *Worldwide Regulations for Mycotoxins in Food and Feed in 2003; Food and Agricultural Organisation (FAO) Food and Nutrition Paper 81; FAO: Rome, Italy, 2004*.

Farah Nadira, A., Rosita, J., Norhaizan, M.E. et Mohd Redzwan, S. (2016) « Screening of aflatoxin M1 occurrence in selected milk and dairy products in Terengganu, Malaysia », *Food Control*, 73, p. 209-214. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.08.004>.

Ferrão, J., Fernandes, T., Bell, V. et Chabite, I. (2017) « Mycotoxins, Food and Health », *Journal of Nutritional Health & Food Science*, 5(7), p. 1-10. Disponible sur: <https://doi.org/10.15226/jnhfs.2017.001118>.

Flores-Flores, M.E., Lizarraga, E., López de Cerain, A. et González-Peñas, E. (2015) « Presence of mycotoxins in animal milk: A review », *Food Control*, 53, p. 163-176. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.01.020>.

FSAI (2016) *Report on a Total Diet Study carried out by the Food Safety Authority of Ireland in the period 2001 – 2005*.

Georgiou, D., Djeddi, S. et Skaltsa, H. (2015) « Secondary metabolites from *Thymus numidicus* Poiret. », *Biochemical Systematics and Ecology*, 59, p. 104-106. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2015.01.015>.

Ghali, R., Hmaissia-khlifa, K., Ghorbel, H., Maaroufi, K. et Hedili, A. (2008) « Incidence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in tunisian foods », *Food Control*, 19(9), p. 921-924. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.09.003>.

Ghorab, H., Kabouche, A. et Kabouche, Z. (2014) « Comparative compositions of essential oils of *Thymus* growing in various soils and climates of North Africa », *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(1), p. 299-303.

Giordani, R., Hadeif, Y. et Kaloustian, J. (2008) « Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants », *Fitoterapia*, 79(3), p. 199-203. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.11.004>.

Golge, O. et Kabak, B. (2020) « Occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in cereals and cereal products from Turkey », *Food Control*, 110(September 2019), p. 1-6. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106982>.

González-Osnaya, L., Cortés, C., Soriano, J.M., Moltó, J.C. et Mañes, J. (2011) « Occurrence of deoxynivalenol and T-2 toxin in bread and pasta commercialised in Spain », *Food Chemistry*, 124(1), p. 156-161. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.002>.

Gorris, L.G.M. et Yoe, C. (2014) *Risk Analysis: Risk Assessment: Principles, Methods, and Applications, Encyclopedia of Food Safety*. Elsevier Ltd. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00031-7>.

Gruber-Dorninger, C., Jenkins, T. et Schatzmayr, G. (2019) « Global mycotoxin occurrence in feed: A ten-year survey », *Toxins*, 11(7). Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/toxins11070375>.

Hadeif, Y., Kaloustian, J., Chefrouf, A., Mikail, C., Abou, L., Giodani, R., Nicolay, A. et Portugal, H. (2007) « Chemical composition and variability of the essential oil of *Thymus numidicus* Poir. from Algeria », *Acta Botanica Gallica*, 154(2), p. 265-274. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/12538078.2007.10516056>.

Han, Z., Ren, Y., Zhu, J., Cai, Z., Chen, Y., Luan, L. et Wu, Y. (2012) « Multianalysis of 35 mycotoxins in traditional Chinese medicines by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with accelerated solvent extraction », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(33), p. 8233-8247. Disponible sur: <https://doi.org/10.1021/jf301928r>.

Hathout, A.S., Abel-Fattah, S.M., Abou-Sree, Y.H. et Fouzy, A.S.M. (2020) « Incidence and exposure assessment of aflatoxins and ochratoxin A in Egyptian wheat », *Toxicology Reports*, 7(July), p. 867-873. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.07.003>.

Hazzit, M., Baaliouamer, A., Faleiro, M.L. et Miguel, M.G. (2006) « Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(17), p. 6314-6321. Disponible sur: <https://doi.org/10.1021/jf0606104>.

Heshmati, A., Zohrevand, T., Mousavi, A., Sasan, A., Nejad, M. et Sant, A.S. (2017) « Co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in dried fruits in Iran : Dietary exposure risk assessment », *Food and Chemical Toxicology*, 106, p. 202-208.

Hou, T., Sana, S.S., Li, H., Xing, Y., Nanda, A., Netala, V.R. et Zhang, Z. (2022) « Essential oils

and its antibacterial, antifungal and anti-oxidant activity applications: A review », *Food Bioscience*, 47(November 2021). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101716>.

Huang, B., Han, Z., Cai, Z., Wu, Y. et Ren, Y. (2010) « Simultaneous determination of aflatoxins B1, B2, G1, G2, M1 and M2 in peanuts and their derivative products by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry », *Analytica Chimica Acta*, 662(1), p. 62-68. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.01.002>.

Hussein, K.N., Csehi, B., József, S., Ferenc, H., Kiskó, G., Dalmadi, I. et Friedrich, L. (2021) « Effect of α -terpineol on chicken meat quality during refrigerated conditions », *Foods*, 10(8). Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/foods10081855>.

IARC, I.A. for R. on C. (1993) *Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins*.

IARC, I.A. for R. on C. (2021) « List of Classifications by cancer sites with sufficient or limited evidence in humans , Volumes 1 to 113 * », p. 1-14. Disponible sur: <https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/>.

IARC, I.A. for R. on C.W.H.O. (1993) *Toxins derived from Fusarium moniliforme: Fumonisin B1 and B2 and fusarin C, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks To Humans*. Disponible sur: <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono56-16.pdf> (Consulté le: 2 mai 2019).

Imperato, R., Campone, L., Piccinelli, A.L., Veneziano, A. et Rastrelli, L. (2011) « Survey of aflatoxins and ochratoxin a contamination in food products imported in Italy », *Food Control*, 22(12), p. 1905-1910. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.05.002>.

Iqbal, S.Z., Asi, M.R. et Ariño, A. (2013) « Aflatoxins », *Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition*, p. 43-47. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.00022-X>.

Iqbal, S.Z., Asi, M.R., Jinap, S. et Rashid, U. (2014) « Detection of aflatoxins and zearalenone contamination in wheat derived products », *Food Control*, 35(1), p. 223-226. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.048>.

ISO, I.O. for S. (2009) *Method EN 14132:2009. Determination of ochratoxin A in barley and roasted coffee. High-performance liquid chromatographic method with immunoaffinity column cleanup*.

ISO, I.O. for S. (2010) *Method EN 15891:2010. Determination of deoxynivalenol in cereals, cereal products and cereal based foods for infants and young children - HPLC method with immunoaffinity column cleanup and UV detection*.

ISO, I.O. for S. (2011) *Method EN 16050:2011 Determination of aflatoxin B1, and the total content of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in cereals, nuts and derived products*. ISO.

Jafarzadeh, S., Hadidi, M., Forough, M., Nafchi, A.M. et Mousavi Khaneghah, A. (2022) « The control of fungi and mycotoxins by food active packaging: a review », *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [Preprint]. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2031099>.

Juan, C., Zinedine, A., Moltó, J.C., Idrissi, L. et Mañes, J. (2008) « Aflatoxins levels in dried fruits and nuts from Rabat-Salé area, Morocco », *Food Control*, 19(9), p. 849-853. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.08.010>.

Kaanin-Boudraa, G., Brahmi, F., Wrona, M., Nerín, C., Moudache, M., Mouhoubi, K., Madani, K. et Boulekbache-Makhlouf, L. (2021) « Response surface methodology and UPLC-QTOF-MSE analysis of phenolic compounds from grapefruit (*Citrus X paradisi*) by-products as novel ingredients for new antioxidant packaging », *Lwt*, 151(July). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112158>.

Kabak, B. (2016) « Aflatoxins in hazelnuts and dried figs: Occurrence and exposure assessment », *Food Chemistry*, 211, p. 8-16. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.141>.

Kabak, B. (2021) « Aflatoxins in foodstuffs: Occurrence and risk assessment in Turkey », *Journal of Food Composition and Analysis*, 96(October 2020). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103734>.

Kabouche, A., Kabouche, Z. et Bruneau, C. (2005) « Analysis of the essential oil of *Thymus numidicus* (Poiret) from Algeria », *Flavour and Fragrance Journal*, 20(2), p. 235-236. Disponible sur: <https://doi.org/10.1002/ffj.1433>.

Kaki, F.A., Benkiniouar, R., Touil, A. et Demirtas, I. (2021) « *Thymus numidicus*: phenolic constituents, antibacterial, and antioxidant activities of butanolic extract », *Environmental and Experimental Biology*, 19(2), p. 67-72. Disponible sur: <https://doi.org/10.22364/eeb.19.06>.

Karbancioglu-Güler, F. et Heperkan, D. (2009) « Natural occurrence of fumonisin B1 in dried figs as an unexpected hazard », *Food and Chemical Toxicology*, 47(2), p. 289-292. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.11.003>.

Karbancıoğlu-Güler, F. et Heperkan, D. (2008) « Natural occurrence of ochratoxin A in dried figs », *Analytica Chimica Acta*, 617(1-2), p. 32-36. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.01.009>.

Keller, N.P. (2019) « Fungal secondary metabolism: regulation, function and drug discovery », *Nature Reviews Microbiology*, 17(3), p. 167-180. Disponible sur: <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0121-1>.

Kigathi, R.N., Weisser, W.W., Reichelt, M., Gershenzon, J. et Unsicker, S.B. (2019) « Plant volatile emission depends on the species composition of the neighboring plant community », *BMC Plant Biology*, 19(1), p. 1-17. Disponible sur: <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1541-9>.

Kooprasertying, P., Maneeboon, T., Hongprayoon, R. et Mahakarnchanakul, W. (2016) « Exposure assessment of aflatoxins in Thai peanut consumption », *Cogent Food and Agriculture*, 2(1), p. 1-9. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1204683>.

Kortei, N.K., Annan, T., Akonor, P.T., Richard, S.A., Annan, H.A., Kwagyan, M.W., Ayim-Akonor, M. et Akpaloo, P.G. (2021) « Aflatoxins in randomly selected groundnuts (*Arachis hypogaea*) and its products from some local markets across Ghana: Human risk assessment

and monitoring », *Toxicology Reports*, 8, p. 186-195. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.01.002>.

Laouer, H., Boulaacheb, N., Akkal, S., Meierhenrich, U.J., Baldovini, N. et Prado, S. (2009) « Composition and in vitro antimicrobial activities of the essential oils of two populations of thymus numidicus poiret », *Journal of Essential Oil Research*, 21(4), p. 374-377. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700195>.

Lattanzio, V.M.T., von Holst, C., Lippolis, V., De Girolamo, A., Logrieco, A.F., Mol, H.G.J. et Pascale, M. (2019) « Evaluation of mycotoxin screening tests in a verification study involving first time users », *Toxins*, 11(2), p. 1-18. Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/toxins11020129>.

Lempart-Rapacewicz, A., Kudlek, E., Brukało, K., Rapacewicz, R., Lempart, Ł. et Dudziak, M. (2023) « The Threat of Food Additive Occurrence in the Environment – A Case Study on the Example of Swimming Pools », *Foods*, 12(6). Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/foods12061188>.

Lešić, T., Hengl, B., Vulić, A., Vahčić, N., Kudumija, N., Kos, I., Milićević, D. et Pleadin, J. (2025) « Dietary exposure assessment to mycotoxins from traditional meat products in Croatia », *Food Control*, 167(June 2024). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110829>.

Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M.R. et Wu, H. (2020) « The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants », *Plant Physiology and Biochemistry*, 148(January), p. 80-89. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>.

Liu, Z., Wang, M., Wu, M., Li, X., Liu, H., Niu, N., Li, S. et Chen, L. (2023) « Volatile organic compounds (VOCs) from plants: From release to detection », *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 158. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116872>.

López-Rubio, A. (2011) « Bioactive food packaging strategies », *Multifunctional and Nanoreinforced Polymers for Food Packaging*, p. 460-482. Disponible sur: <https://doi.org/10.1533/9780857092786.3.460>.

Luo, S., Terciolo, C., Bracarense, A.P.F.L., Payros, D., Pinton, P. et Oswald, I.P. (2019) « In vitro and in vivo effects of a mycotoxin, deoxynivalenol, and a trace metal, cadmium, alone or in a mixture on the intestinal barrier », *Environment International*, 132(March), p. 1-12. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105082>.

Luo, Y., Liu, X. et Li, J. (2018) « Updating techniques on controlling mycotoxins - A review », *Food Control*, p. 123-132. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.01.016>.

Lupia, C., Castagna, F., Bava, R., Naturale, M.D., Zicarelli, L., Marrelli, M., Statti, G., Tilocca, B., Roncada, P., Britti, D. et Palma, E. (2024) « Use of Essential Oils to Counteract the Phenomena of Antimicrobial Resistance in Livestock Species », *Antibiotics*, 13(2). Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/antibiotics13020163>.

Luttfullah, G. et Hussain, A. (2011) « Studies on contamination level of aflatoxins in some dried fruits and nuts of Pakistan », *Food Control*, 22(3-4), p. 426-429. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.09.015>.

Mączka, W., Duda-Madej, A., Grabarczyk, M. et Wińska, K. (2022) « Natural Compounds in the Battle against Microorganisms—Linalool », *Molecules*, 27(20). Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/molecules27206928>.

Maczka, W., Winska, K. et Grabarczyk, M. (2020) « One hundred faces of geraniol », *Molecules*, 25(14), p. 1-16. Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/molecules25143303>.

Mahdjoubi, C.K., Arroyo-Manzanares, N., Hamini-Kadar, N., García-Campaña, A.M., Mebrouk, K. et Gámiz-Gracia, L. (2020) « Multi-mycotoxin occurrence and exposure assessment approach in foodstuffs from Algeria », *Toxins*, 12(3). Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/toxins12030194>.

Marin, S., Ramos, A.J., Cano-Sancho, G. et Sanchis, V. (2013) « Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment », *Food and Chemical Toxicology*, 60, p. 218-237. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.047>.

Masood, M., Iqbal, S.Z., Asi, M.R. et Malik, N. (2015) « Natural occurrence of aflatoxins in dry fruits and edible nuts », *Food Control*, 55, p. 62-65. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.02.041>.

Masyita, A., Mustika Sari, R., Dwi Astuti, A., Yasir, B., Rahma Rumata, N., Emran, T. Bin, Nainu, F. et Simal-Gandara, J. (2022) « Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives », *Food Chemistry: X*, 13(October 2021). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100217>.

Maurya, A., Prasad, J., Das, S. et Dwivedy, A.K. (2021) « Essential Oils and Their Application in Food Safety », *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5(May). Disponible sur: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.653420>.

Medina, A., Akbar, A., Baazeem, A., Rodriguez, A. et Magan, N. (2017) « Climate change, food security and mycotoxins: Do we know enough? », *Fungal Biology Reviews*, p. 143-154. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2017.04.002>.

Meerpoel, C., Vidal, A., Andjelkovic, M., De Boevre, M., Tangni, E.K., Huybrechts, B., Devreese, M., Croubels, S. et De Saeger, S. (2021) « Dietary exposure assessment and risk characterization of citrinin and ochratoxin A in Belgium », *Food and Chemical Toxicology*, 147(November 2020). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111914>.

Messara, Y., Fernane, F. et Meddour, R. (2018) « Chemical composition, antibacterial, and antifungal activities of the essential oil of *Thymus numidicus* poiret from Algeria », *Phytotherapie*, 16(3), p. 163-168. Disponible sur: <https://doi.org/10.3166/phyto-2018-0044>.

Mina, K., Salima, B., Abdelghani, D. et Saoudi, A. (2014) « Antipseudomonal activity of the essential oil of *thymus numidicus* poiret », *International Journal of Pharmaceutical Sciences*

Review and Research, 25(2), p. 149-153.

Moretti, A., Logrieco, A.F. et Susca, A. (2017) « Mycotoxins: An underhand food problem », *Methods in Molecular Biology*, 1542(58), p. 3-12. Disponible sur: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6707-0_1.

Narváez, A., Castaldo, L., Izzo, L., Pallarés, N., Rodríguez-Carrasco, Y. et Ritieni, A. (2022) « Deoxynivalenol contamination in cereal-based foodstuffs from Spain: Systematic review and meta-analysis approach for exposure assessment », *Food Control*, 132(September 2021). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108521>.

De Nijs, M., Mengelers, M.J.B., Boon, P.E., Heyndrickx, E., Hoogenboom, L.A.P., Lopez, P. et Mol, H.G.J. (2016) « Strategies for estimating human exposure to mycotoxins via food », *World Mycotoxin Journal*, 9(5), p. 831-845. Disponible sur: <https://doi.org/10.3920/WMJ2016.2045>.

Oliva, A., Garner, R.E., Walsh, D. et Huot, Y. (2022) « The occurrence of potentially pathogenic fungi and protists in Canadian lakes predicted using geomatics, in situ and satellite-derived variables: Towards a tele-epidemiological approach », *Water Research*, 209(December 2021), p. 117935. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117935>.

Oudjedi, K., Manso, S., Nerin, C., Hassissen, N. et Zaidi, F. (2019) « New active antioxidant multilayer food packaging films containing Algerian Sage and Bay leaves extracts and their application for oxidative stability of fried potatoes », *Food Control*, 98(August 2018), p. 216-226. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.11.018>.

Pateiro, M., Munekata, P.E.S., Sant'Ana, A.S., Domínguez, R., Rodríguez-Lázaro, D. et Lorenzo, J.M. (2021) « Application of essential oils as antimicrobial agents against spoilage and pathogenic microorganisms in meat products », *International Journal of Food Microbiology*, 337(November 2020). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108966>.

Pereira, I., Severino, P., Santos, A.C., Silva, A.M. et Souto, E.B. (2018) « Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems », *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 171(August), p. 566-578. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.08.001>.

Pereira, V.L., Fernandes, J.O. et Cunha, S.C. (2014) « Mycotoxins in cereals and related foodstuffs: A review on occurrence and recent methods of analysis », *Trends in Food Science and Technology*, p. 96-136. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.01.005>.

Pinto, E., Gonçalves, M.J., Oliveira, P., Coelho, J., Cavaleiro, C. et Salgueiro, L. (2014) « Activity of *Thymus caespitosus* essential oil and α -terpineol against yeasts and filamentous fungi », *Industrial Crops and Products*, 62, p. 107-112. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.08.004>.

Pisoschi, A.M., Pop, A., Georgescu, C., Turcuş, V., Olah, N.K. et Mathe, E. (2018) « An overview of natural antimicrobials role in food », *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143, p. 922-935. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.095>.

Pitt, J.I. et Miller, J.D. (2017) « A Concise History of Mycotoxin Research », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(33), p. 7021-7033. Disponible sur: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04494>.

Prakash, B., Kedia, A., Mishra, P.K. et Dubey, N.K. (2015) « Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities - Potentials and challenges », *Food Control*, 47, p. 381-391. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.023>.

Reyes-Jurado, F., Bárcena-Massberg, Z., Ramírez-Corona, N., López-Malo, A. et Palou, E. (2022) « Fungal inactivation on Mexican corn tortillas by means of thyme essential oil in vapor-phase », *Current Research in Food Science*, 5(December 2021), p. 629-633. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.crf.2022.03.010>.

Reyes-Jurado, F., Navarro-Cruz, A.R., Ochoa-Velasco, C.E., Palou, E., López-Malo, A. et Ávila-Sosa, R. (2020) « Essential oils in vapor phase as alternative antimicrobials: A review », *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(10), p. 1641-1650. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1586641>.

Riba, A., Matmoura, A., Mokrane, S., Mathieu, F. et Sabaou, N. (2013) « Investigations on aflatoxigenic fungi and aflatoxins contamination in some nuts sampled in Algeria », *African Journal of Microbiology Research*, 7(42), p. 4974-4980. Disponible sur: <https://doi.org/10.5897/ajmr2013.5867>.

Ribeiro-Santos, R., Andrade, M., Melo, N.R. de et Sanches-Silva, A. (2017) « Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends », *Trends in Food Science and Technology*, 61, p. 132-140. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.021>.

Saidj, F., Rezzoug, S.A., Bentahar, F. et Boutekdjiret, C. (2008) « Chemical Composition and Insecticidal Properties of Thymus numidicus (Poiret) Essential Oil from Algeria », *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 11(4), p. 397-405. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2008.10643646>.

Saint-Cyr, M. (2013) « Impact des mycotoxines sur le microbiote intestinal humain, cas particulier du deoxynivalénol », *thèse de doctorat en biologie et sciences de la santé, Rennes 1*, p. 3.

Sales, A., Felipe, L. de O. et Bicas, J.L. (2020) « Production, Properties, and Applications of α -Terpineol », *Food and Bioprocess Technology*, 13(8), p. 1261-1279. Disponible sur: <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02461-6>.

Santeramo, F.G. (2021) « Exploring the link among food loss, waste and food security: what the research should focus on? », *Agriculture and Food Security*, 10(1), p. 4-6. Disponible sur: <https://doi.org/10.1186/s40066-021-00302-z>.

Scariot, F.J., Pansera, M.S., Longaray Delamare, A.P. et Echeverrigaray, S. (2021) « Antifungal activity of monoterpenes against the model yeast *Saccharomyces cerevisiae* », *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(5), p. 1-9. Disponible sur: <https://doi.org/10.1111/jfpp.15433>.

Scherer, R. et Godoy, H.T. (2009) « Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-

picrylhydrazyl method », *Food Chemistry*, 112(3), p. 654-658. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>.

Sifuentes Dos Santos, J., Souza, T.M., Ono, E.Y.S., Hashimoto, E.H., Bassoi, M.C., Miranda, M.Z. De, Itano, E.N., Kawamura, O. et Hirooka, E.Y. (2013) « Natural occurrence of deoxynivalenol in wheat from Paraná State, Brazil and estimated daily intake by wheat products », *Food Chemistry*, 138(1), p. 90-95. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.100>.

Silva, F. et Domingues, F.C. (2017) « Antimicrobial activity of coriander oil and its effectiveness as food preservative », *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(1), p. 35-47. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.847818>.

Simionato, I., Domingues, F.C., Nerín, C. et Silva, F. (2019) « Encapsulation of cinnamon oil in cyclodextrin nanosponges and their potential use for antimicrobial food packaging », *Food and Chemical Toxicology*, 132. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110647>.

Sirot, V., Fremy, J.M. et Leblanc, J.C. (2013) « Dietary exposure to mycotoxins and health risk assessment in the second French total diet study », *Food and Chemical Toxicology*, 52, p. 1-11. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.10.036>.

Smith, M.-C. (2017) *Incidence de la multi- contamination aux mycotoxines de Fusarium sur cellules humaines : évaluation de la cytotoxicité et approche toxico- protéomique*. Université de Bretagne Occidentale, Laboratoire Microbienne, Ecologie.

Snini, S. (2014) *Elucidation de la voie de biosynthèse d'une mycotoxine, la patuline: caractérisation du cluster de gènes et étude de la régulation (Thèse doctorat)*. Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse).

Souiy, Z., Al-Shaikh, T.M., Alghamdi, O.A. et Krifi, B. (2023) « Optimization of extraction yield, chemical composition, antioxidant, and antimicrobial activities of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut essential oils », *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 47(December 2022). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102593>.

Stefanaki, A. et van Andel, T. (2021) *Mediterranean aromatic herbs and their culinary use, Aromatic Herbs in Food: Bioactive Compounds, Processing, and Applications*. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822716-9.00003-2>.

Tabuc, C. (2007) *Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines (Thèse doctorat)*. Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse).

Tagnaout, I., Zerkani, H., Hadi, N., Moumen, B. El, Makhoukhi, F. El, Bouhrim, M., Al-Salahi, R., Nasr, F.A., Mechchate, H. et Zair, T. (2022) « Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of *Thymus broussonetii* Boiss and *Thymus capitatus* (L.) Hoffmann and Link Essential Oils », *Plants*, 11(7), p. 1-16. Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/plants11070954>.

Tang, X., Shao, Y.L., Tang, Y.J. et Zhou, W.W. (2018) « Antifungal activity of essential oil compounds (geraniol and citral) and inhibitory mechanisms on grain pathogens (*aspergillus*

flavus and aspergillus ochraceus) », *Molecules*, 23(9). Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/molecules23092108>.

Tantaoui-Elaraki, A., Riba, A., Oueslati, S. et Zinedine, A. (2018) « Toxigenic fungi and mycotoxin occurrence and prevention in food and feed in northern Africa – a review », *World Mycotoxin Journal*, 11(3), p. 385-400. Disponible sur: <https://doi.org/10.3920/wmj2017.2290>.

Tola, M. et Kebede, B. (2016) « Occurrence, importance and control of mycotoxins: A review », *Cogent Food & Agriculture*, 2(1), p. 1191103. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1191103>.

Tolosa, J., Graziani, G., Gaspari, A., Chianese, D., Ferrer, E., Mañes, J. et Ritieni, A. (2017) « Multi-mycotoxin analysis in durum wheat pasta by liquid chromatography coupled to quadrupole orbitrap mass spectrometry », *Toxins*, 9(2), p. 59. Disponible sur: <https://doi.org/10.3390/toxins9020059>.

Turner, N.W., Subrahmanyam, S. et Piletsky, S.A. (2015) « Analytica Chimica Acta Analytical methods for determination of mycotoxins : A review », 632, p. 168-180. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.11.010>.

Udomkun, P., Wiredu, A.N., Nagle, M., Bandyopadhyay, R., Müller, J. et Vanlauwe, B. (2017) « Mycotoxins in Sub-Saharan Africa: Present situation, socio-economic impact, awareness, and outlook », *Food Control*, p. 110-122. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.07.039>.

Ünüsün, N. (2019) « Systematic review of mycotoxins in food and feeds in Turkey », *Food Control*, p. 1-14. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.10.015>.

Varghese, S.A., Siengchin, S. et Parameswaranpillai, J. (2020) « Essential oils as antimicrobial agents in biopolymer-based food packaging - A comprehensive review », *Food Bioscience*, 38(October). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100785>.

Vera, P., Canellas, E., Dreolin, N., Goshawk, J. et Nerín, C. (2024) « The analysis of the migration of per and poly fluoroalkyl substances (PFAS) from food contact materials using ultrahigh performance liquid chromatography coupled to ion-mobility quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC- IMS-QTOF) », *Talanta*, 266(July 2023). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.124999>.

Villanueva Bermejo, D., Angelov, I., Vicente, G., Stateva, R.P., Rodriguez García-Risco, M., Reglero, G., Ibañez, E. et Fornari, T. (2015) « Extraction of thymol from different varieties of thyme plants using green solvents », *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(14), p. 2901-2907. Disponible sur: <https://doi.org/10.1002/jsfa.7031>.

Wall-Martínez, H.A., Ramírez-Martínez, A., Wesolek, N., Brabet, C., Durand, N., Rodríguez-Jimenes, G.C., García-Alvarado, M.A., Salgado-Cervantes, M.A., Robles-Olvera, V.J. et Roudot, A.C. (2019) « Risk assessment of exposure to mycotoxins (aflatoxins and fumonisins) through corn *tortilla* intake in Veracruz City (Mexico) », *Food Additives & Contaminants: Part A*, 0049, p. 1-11. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1588997>.

Wang, L.H., Yang, C., Wang, J., Chen, M., Luan, D. et Li (2017) « EVOH Films Containing Antimicrobials Geraniol and α -Terpilenol Extend the Shelf Life of Snakehead Slices », *Packaging Technology and Science*, 30(587-600). Disponible sur: <https://doi.org/10.1002/pts>.

Wang, Q., Chen, W., Zhu, W., McClements, D.J., Liu, X. et Liu, F. (2022) « A review of multilayer and composite films and coatings for active biodegradable packaging », *npj Science of Food*. Disponible sur: <https://doi.org/10.1038/s41538-022-00132-8>.

Wang, Y. jiao, Nie, J. yun, Yan, Z., Li, Z. xia, Cheng, Y. et Saqib, F. (2018) « Multi-mycotoxin exposure and risk assessments for Chinese consumption of nuts and dried fruits », *Journal of Integrative Agriculture*, 17(7), p. 1676-1690. Disponible sur: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)61966-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)61966-5).

Wikström, F., Verghese, K., Auras, R., Olsson, A., Williams, H., Wever, R., Grönman, K., Kvalvåg Pettersen, M., Møller, H. et Soukka, R. (2019) « Packaging Strategies That Save Food: A Research Agenda for 2030 », *Journal of Industrial Ecology*, 23(3), p. 532-540. Disponible sur: <https://doi.org/10.1111/jiec.12769>.

Wrona, M., Manso, S., Silva, F., Cardoso, L., Salafranca, J., Nerín, C., Alfonso, M.J. et Caballero, M.Á. (2023) « New active packaging based on encapsulated carvacrol, with emphasis on its odour masking strategies », *Food Packaging and Shelf Life*, 40(July). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101177>.

Wu, F., Groopman, J.D. et Pestka, J.J. (2014) « Public Health Impacts of Foodborne Mycotoxins », *Annual Review of Food Science and Technology*, 5(1), p. 351-372. Disponible sur: <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030713-092431>.

Wu, L.X., Ding, X.X., Li, P.W., Du, X.H., Zhou, H.Y., Bai, Y.Z. et Zhang, L.X. (2016) « Aflatoxin contamination of peanuts at harvest in China from 2010 to 2013 and its relationship with climatic conditions », *Food Control*, 60, p. 117-123. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.029>.

Wu, Q., Xie, L. et Xu, H. (2018) « Determination of toxigenic fungi and aflatoxins in nuts and dried fruits using imaging and spectroscopic techniques », *Food Chemistry*, 252(September 2017), p. 228-242. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.076>.

Yang, Y., Li, G., Wu, D., Liu, J., Li, X., Luo, P., Hu, N., Wang, H. et Wu, Y. (2020) « Recent advances on toxicity and determination methods of mycotoxins in foodstuffs », *Trends in Food Science and Technology*, 96(April 2019), p. 233-252. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.021>.

El Youssfi, M., El Akhdari, S., El Jalil, M.H., Laghzizil, A., Sifou, A., Tantaoui-Elaraki, A. et Zinedine, A. (2025) « Mycotoxins status in Morocco during the period 2011–2024: Monitoring in food and feed, risk assessment and regulation aspects », *Food Control*, 172(January). Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2025.111151>.

Zafar, S., Ra, M. et Jinap, S. (2014) « Short communication Aflatoxins in dates and dates products », 43. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.03.010>.

Zebiri, S., Mokrane, S., Verheecke-Vaessen, C., Choque, E., Reghioui, H., Sabaou, N., Mathieu, F. et Riba, A. (2018) « Occurrence of ochratoxin A in Algerian wheat and its milling derivatives », *Toxin Reviews*, 38(3), p. 206-211. Disponible sur: <https://doi.org/10.1080/15569543.2018.1438472>.

Zeghib, A., Laggoune, S., Semra, Z., Smati, F., Touzani, R. et Kabouche, Z. (2013) « Composition, antibacterial and antioxidant activity of the essential oil of thymus numidicus poiret from constantine (Algeria) », *Der Pharmacia Lettre*, 5(3), p. 206-210.

Zhang, C., Qu, Z., Hou, J. et Yao, Y. (2024) « Contamination and Control of Mycotoxins in Grain and Oil Crops ».

Zinedine, A. et Mañes, J. (2009) « Occurrence and legislation of mycotoxins in food and feed from Morocco », *Food Control*, 20(4), p. 334-344. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.07.002>.

Zinedine, A., Fernández-Franzón, M., Mañes, J. et Manyes, L. (2017) « Multi-mycotoxin contamination of couscous semolina commercialized in Morocco », *Food Chemistry*, 214, p. 440-446. Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.098>.

Annexes

Annexe 1 : Instructions pour le test d'analyse du déoxynivaléol

DON-V ROOM TEMPERATURE TEST PROCEDURE

SAMPLE EXTRACTION

1. Scan the room temperature test kit barcode for the lot of strips that you are testing.
2. Weigh 5 g of ground sample* into an extraction tube.
3. Measure 20 mL of distilled water with a graduated cylinder and pour the water into the extraction tube.
4. Cover the extraction tube and vortex the mixture for 2 minutes at max speed.
5. Filter the extract into a clean extraction tube.
6. Transfer 100 μ L of the filtered extract to a strip test vial, add 1 mL purified water and mix well.
7. Transfer 100 μ L of the DON-V diluent to another strip test vial.
8. Using the same pipette tip add 100 μ L of the diluted sample extract from step 6 to the vial from step 7. Cover vial and mix well by vortexing.
9. Transfer 100 μ L of solution from strip test vial to the circular opening on the DON-V strip at a rate of about 1 drop per second. Be sure to hold the pipette straight up and down.
10. Allow the strip test to develop for 3 minutes on a flat surface.
11. Insert the DON-V strip test into the Vertu reader (circular opening side in first).
12. Press the center key on the reader to take a reading.
13. To print the result, move the cursor to "P" in the upper left hand corner of the display using the arrow keys, then press the center key.
14. To run the next sample, move the cursor to "NT" using the arrow keys and press the center key. If you are using the same lot of strips, you are now ready to insert the next sample. If you are using a different lot of strips, you will need to scan in the new bar code.

**wheat, barley and corn can be used*

Annexe 1 (suite) : Instructions pour le test d'analyse du déoxynivalénol

RESULTS OUT OF RANGE

15. If the sample reads ">Range" transfer 100 µL of diluted sample extract from step 6 into a new strip test vial.
16. Add 100 µL of water to the same strip test vial.
17. Transfer 200 µL of the DON-V diluent into the strip test vial, mix well (400 µL total). Repeat steps 9 through 14.
18. Multiply the results by two.
19. If the reader displays ">Range" after dilution, the sample is greater than 10 ppm.

Strip tests must be refrigerated. Store at 4 ° – 8 °C (39 ° – 46 °F).

Strip test and sample extract should be at room temperature of between 20 °C (68 °F) and 25 °C (77 °F) before use. If room temperature is lower than 20 °C (68 °F) or higher than 25 °C (77 °F), use DON-V incubator method.

Use in accordance with VICAM's testing procedure. To be used for testing food products only. Not to be ingested or applied to the skin.



Annexe 2 : Instructions pour le test d'analyse de la zéaralénone

Refer to GIPSA Test Kit Instructions for Complete Test Procedure

ROSA® WET-S5 Zearealene Quantitative Test Flow Chart – 3:1 Extraction

Approved Commodities: Corn, Sorghum, Wheat

See Approved Commodities Below
Test Range: 100 to 1000 ppb

Sample Preparation

(1) Weigh
Ground sample
50 g

(2) Add WET-S Extraction Powder
Use packet labeled with appropriate sample size
1 Packet for 50 g sample

(3) Add Solvent
Deionized or Distilled Water
150 mL

(4) Extract
Shake vigorously for at least 1.5 minutes; do not exceed 2.5 minutes^c

(5) Clarify
Centrifuge^d

(6) Dilute
Prepare Diluted Extract

Filter for:
Sorghum Only
Pass extract through RC15 Filter and collect

100 µL centrifuged or filtered Extract + 900 µL ZEARQ-WETS5 Dilution Buffer → Mix → Diluted Extract

^c Use the extract within 30 minutes of extraction
^d Use the centrifuged extract within 2 hours

Test Procedure

(1) Place test strip in ROSA Incubator.

(2) Peel tape. Pipet 300 µL Diluted Extract into sample compartment. Reseal tape.

(3) Close lid. Incubate for 5 minutes.

Read Result

(1) Inspect test strip

Valid Test

Invalid Test

(2) Read result with Charm EZ-M reader

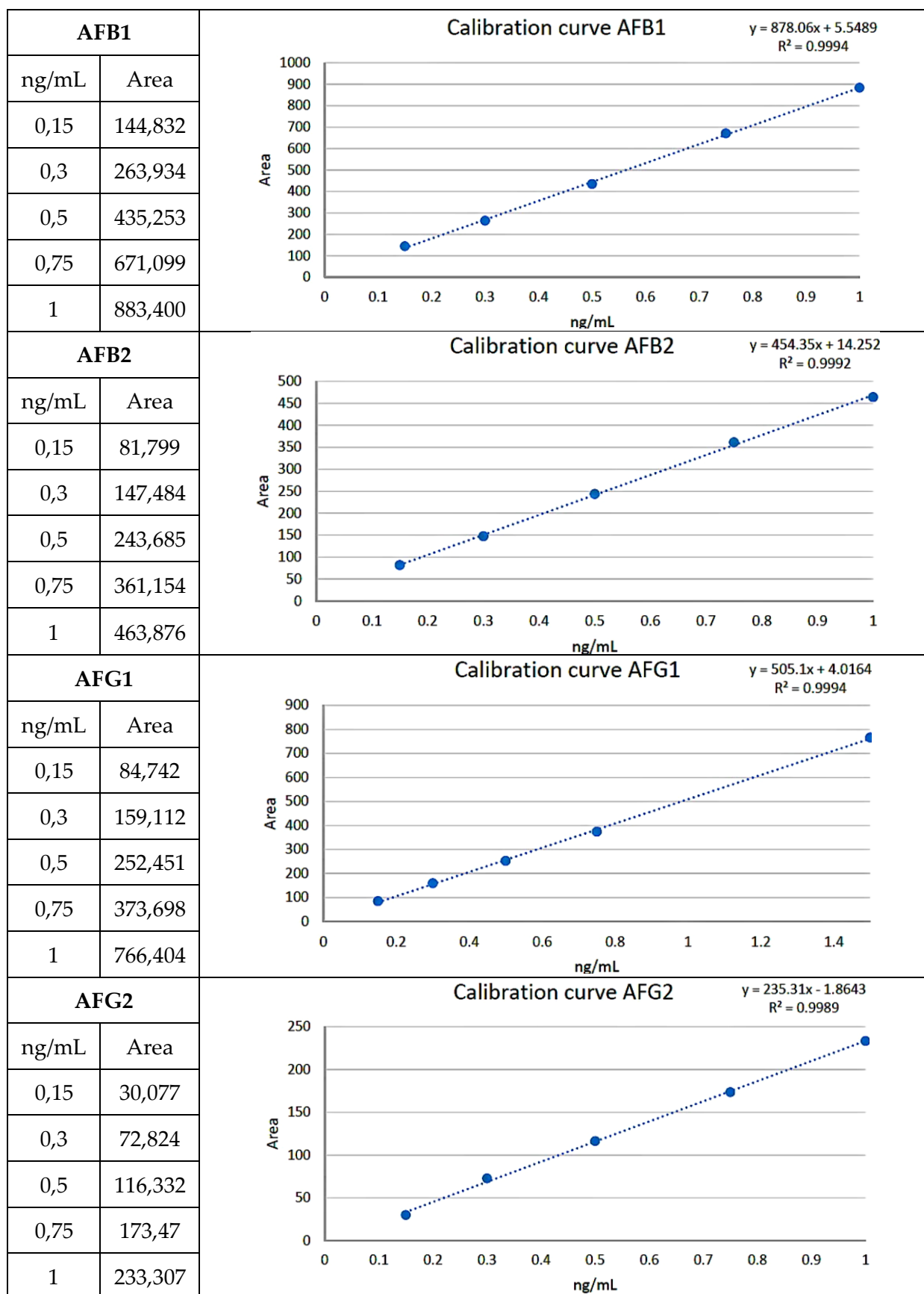
Charm EZ-M reader: Select appropriate test (ZEARQ-WETS5), commodity and dilution if prompted.

Sample	Dilution	Quantitation Range
Diluted Extract	DE	100 to 1000 ppb

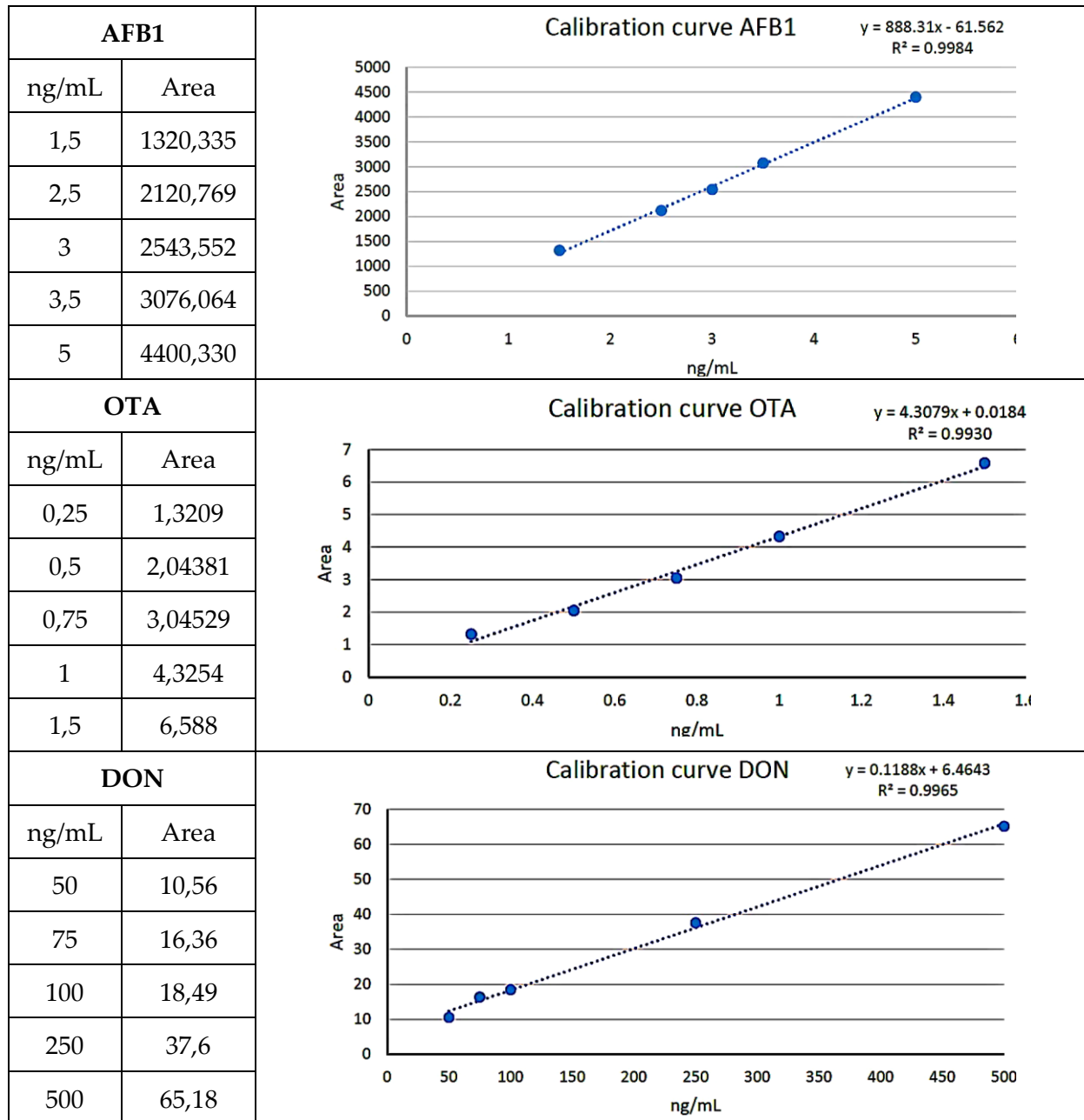
659 Andover Street, Lawrence, MA 01843-1032, USA
 T +1.978.687.9200 | F +1.978.687.9218 | E info@charm.com | www.charm.com
 MRK-1188-002 May 2017

© 2017 Charm Sciences, Inc. Charm, Charm EZ, ROSA and WET are registered trademarks, and test strip product packaging is trade dress, of Charm Sciences, Inc.

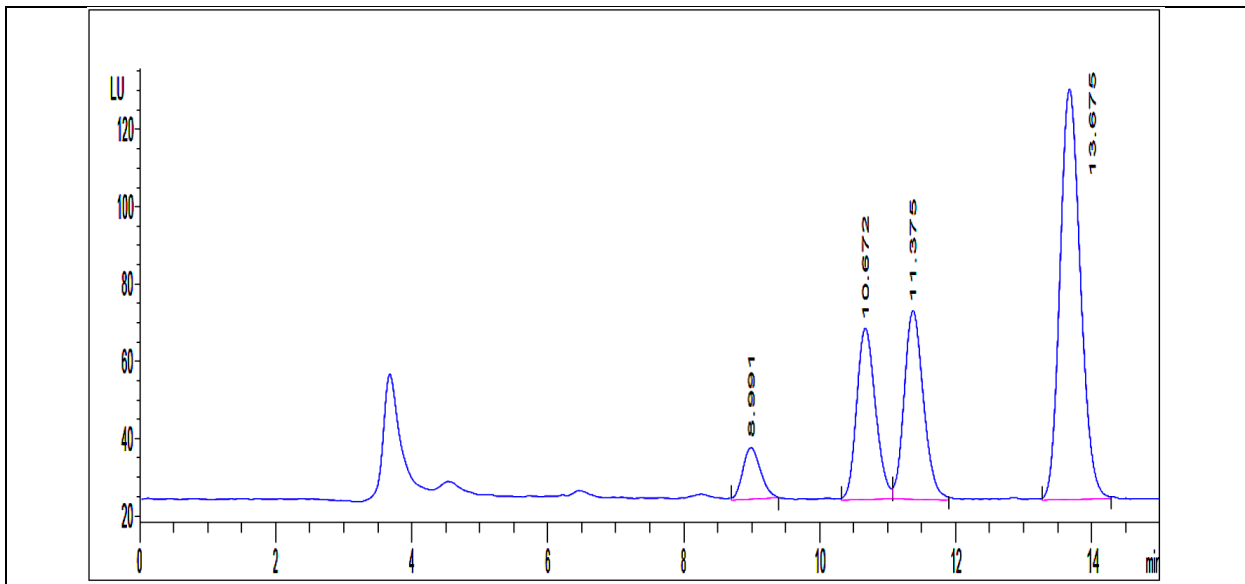
Annexe 3 : Courbes d'étalonnage pour les quatre aflatoxines (de 0,15 à 1 ng/mL).



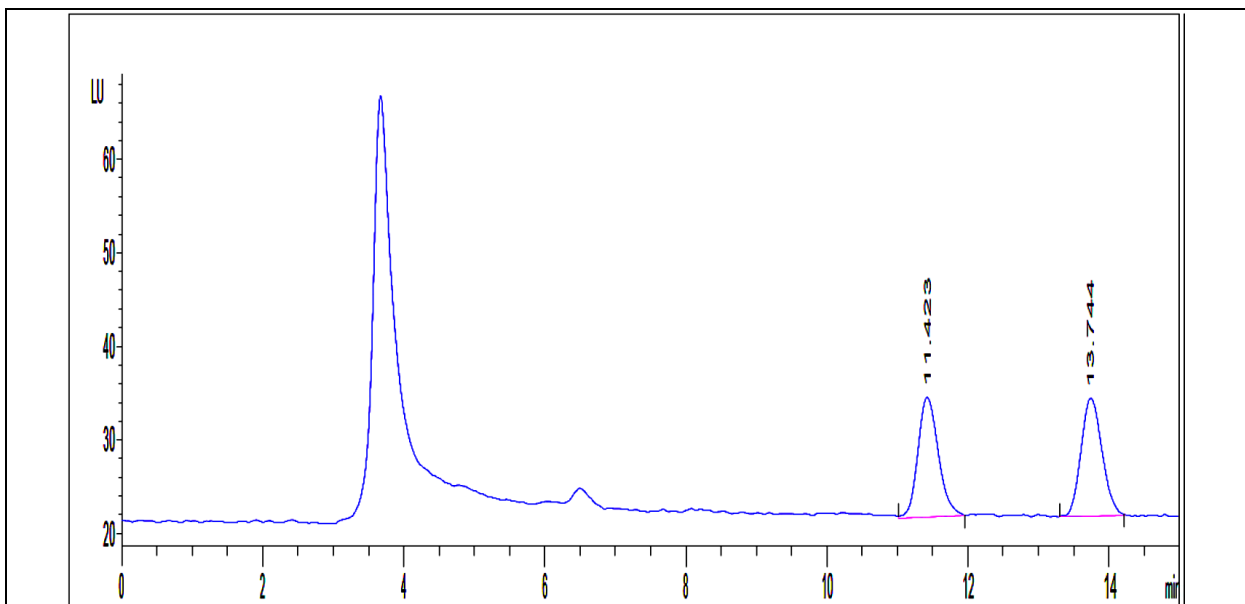
Annexe 3 (suite) : Courbes d'étalonnage pour l'AFB1 (1,5 to 5 ng/mL), OTA (0,25 to 1,5 ng/mL) et DON (50 to 500 ng/mL).



Annexe 4 : Quelques chromatogrammes des analyses des mycotoxines



Chromatogramme HPLC d'un échantillon d'arachide contaminé par les quatre aflatoxines.



Chromatogramme HPLC d'un échantillon de dattes contaminé par l'AFB1 et l'AFB2.

Annexe 5 : Identification de la plante *T. numidicus*

T. numidicus présente les caractéristiques morphologiques d'un sous-arbrisseau buissonnant de moins de 20 cm de haut, avec des tiges ligneuses et des feuilles opposées et lancéolées. Ses inflorescences sont en forme de racème, de couleur rose à violette, et dégagent un parfum agréable (El Mokni *et al.*, 2023; Ben El Hadj Ali *et al.*, 2014; Georgiou *et al.*, 2015; Kabouche *et al.*, 2005; Laouer *et al.*, 2009; Messara *et al.*, 2018).



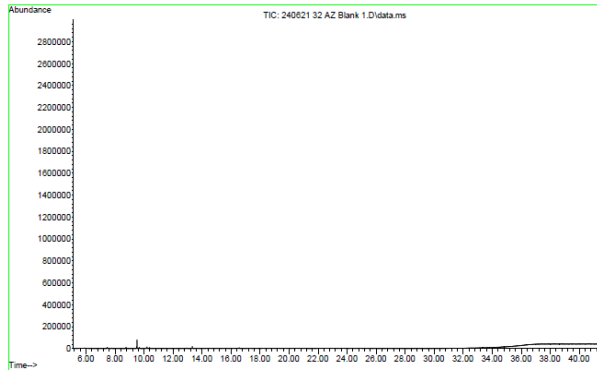
Sous-arbrisseau buissonnant à feuilles opposées et lancéolées



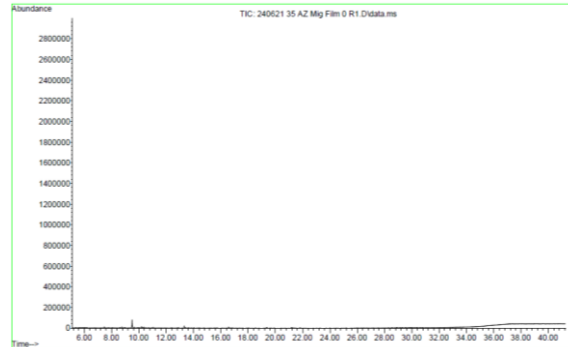
Inflorescences en forme de racème

Annexe 6 : Chromatogrammes obtenus par les essais de migration

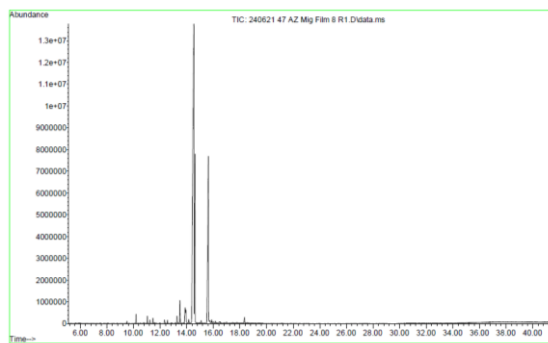
- Composés volatiles (DI-GC-MS)



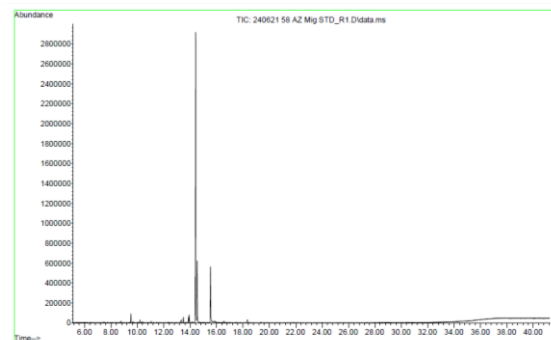
Le blanc



Film contrôle (0% agent actif)



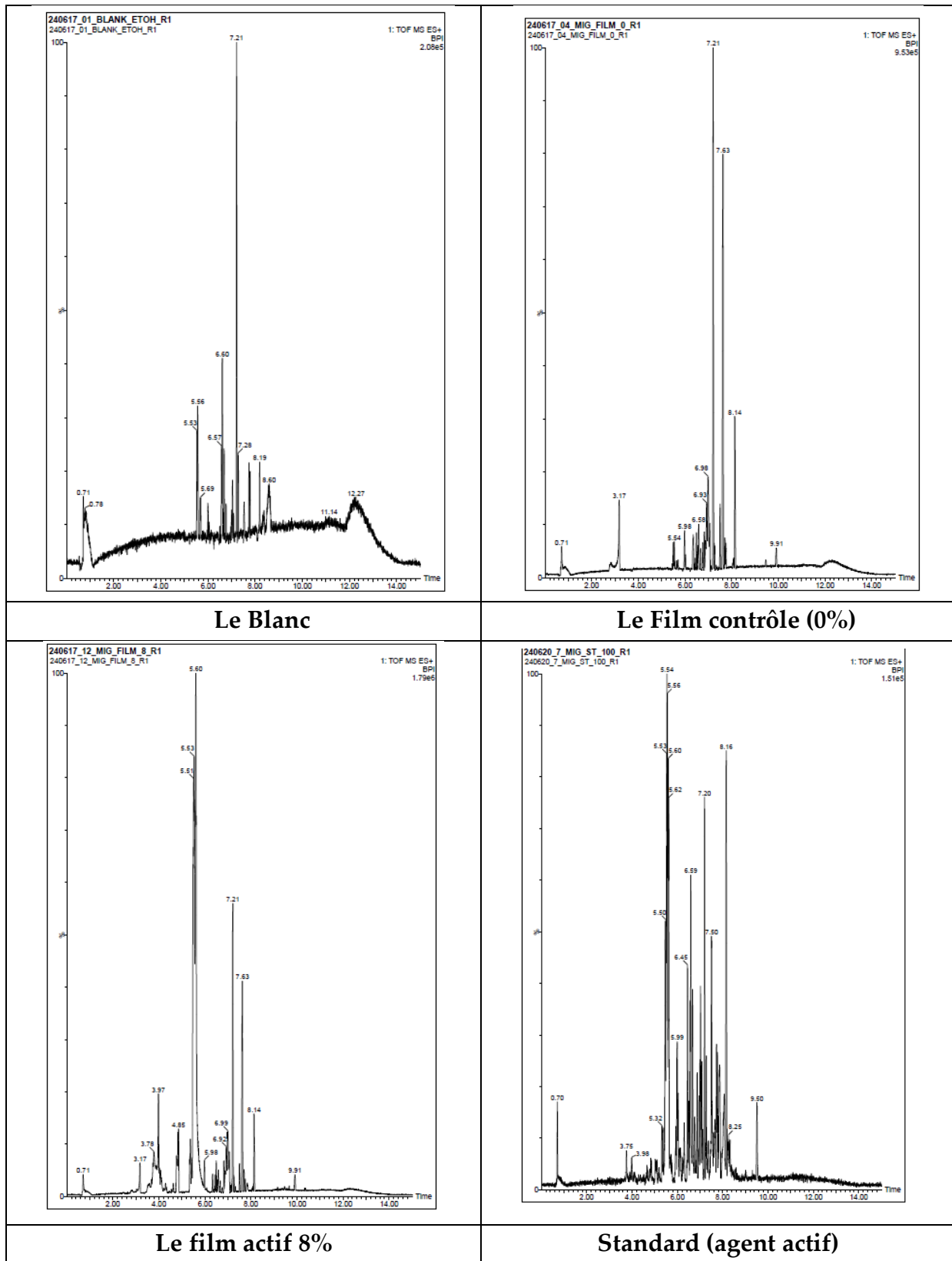
Film actif (8%)



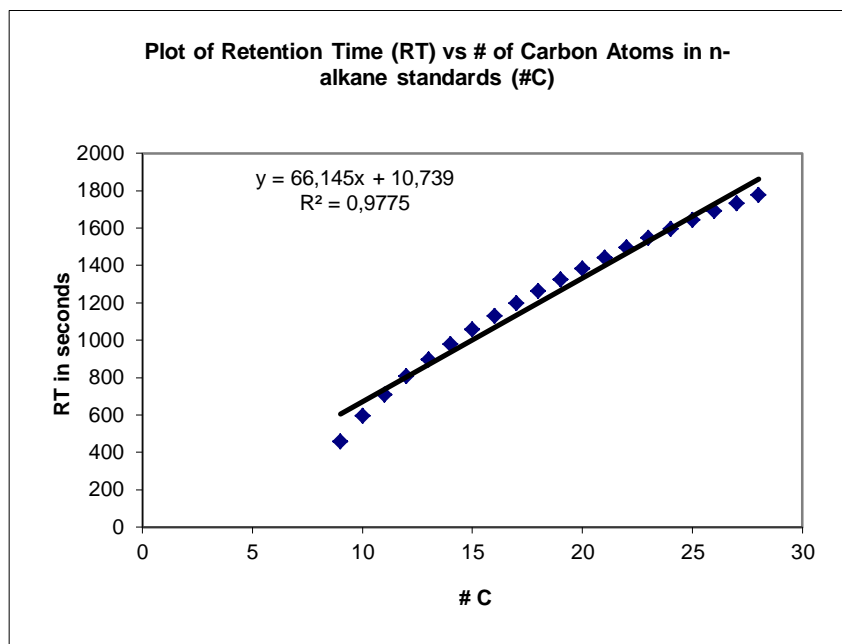
Agent actif (standards)

Annexe 7 : Chromatogrammes obtenus par les essais de migration

- Composés non-volatiles (UPLC-ESI-Q-TOF-MSE).



Annexe 8 : Courbes de calibration des alcanes et formule de calcul de l' IR



$$RI = ((tzA \text{ sec} - tz \text{ sec}) / (tz+1 \text{ sec} - tz \text{ sec})) * 100 + (100 * \text{Carbon } N^{\circ})$$

RI - Kovatz retention index

tz - retention time (in minutes) of alkane before my peak (my analyte)

tz sec - retention time of alkane before my peak converted into seconds
(remember that in our Varian GC-MS 1 min = 100 s)

tzA - retention time (in minutes) of my peak (my analyte)

tz A sec - retention time of my peak converted into seconds

tz+1 - retention time (in minutes) of alkane after my peak (my analyte)

tz+1 sec - retention time of alkane after my peak converted into seconds

Carbon N° - amount of carbons in alkane which peak is before my peak

Annexe 9 : Analyse statistique des résultats du test de la couleur du film actif

$L^*(C)$

Laminate_0%	Laminate_6%	Laminate_8%
96,02	96,2	95,89
95,64	96,2	95,91
96,14	96,2	95,88

Analyse de variance: un facteur

RAPPORT DÉTAILLÉ

<i>Groupes</i>	<i>Nombre d'échantillons</i>	<i>Somme</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Variance</i>
Laminate_0%	3	287,8	95,93333333	0,068133333
Laminate_6%	3	288,6	96,2	0
Laminate_8%	3	287,68	95,89333333	0,000233333

ANALYSE DE VARIANCE

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Entre Groupes	0,166755556	2	0,083377778	3,658703072	0,091452339	27
A l'intérieur des groupes	0,136733333	6	0,022788889			
Total	0,303488889	8				

Annexe 9 (suite) : Analyse statistique des résultats du test de la couleur du film actif

a(C)*

Laminate_0%	Laminate_6%	Laminate_8%
-0,01	-0,06	-0,08
0,11	-0,1	-0,08
-0,04	-0,07	-0,07

Analyse de variance: un facteur

RAPPORT DÉTAILLÉ

<i>Groupes</i>	<i>Nombre d'échantillons</i>	<i>Somme</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Variance</i>
Laminate_0%	3	0,06	0,02	0,0063
Laminate_6%	3	-0,23	-0,076666667	0,000433333
Laminate_8%	3	-0,23	-0,076666667	3,33333E-05

ANALYSE DE VARIANCE

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Entre Groupes	0,018688889	2	0,009344444	4,142857143	0,074088	27
A l'intérieur des groupes	0,013533333	6	0,002255556			
Total	0,032222222	8				

Annexe 9 (suite) : Analyse statistique des résultats du test de la couleur du film actif

b(C)*

Laminate_0%	Laminate_6%	Laminate_8%
2,23	2,28	2,42
2,05	2,23	2,37
2,44	2,28	2,47

Analyse de variance: un facteur

RAPPORT DÉTAILLÉ

<i>Groupes</i>	<i>Nombre d'échantillons</i>	<i>Somme</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Variance</i>
Laminate_0%	3	6,72	2,24	0,0381
Laminate_6%	3	6,79	2,263333333	0,000833333
Laminate_8%	3	7,26	2,42	0,0025

ANALYSE DE VARIANCE

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Entre Groupes	0,057488889	2	0,028744444	2,081255028	0,205802566	27
A l'intérieur des groupes	0,082866667	6	0,013811111			
Total	0,140355556	8				

Annexe 10 : Quelques photo de la capacité antifongique des films actifs

A) Contre *A. Flavus* CECT 2687



B) Contre *A. niger* CECT 2088



C) Contre *P. roqueforti* CECT 2905

