

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

ECOLE INTER - ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES
(E.I.S.M.V)



ANNEE 2012

N° 17

EVALUATION DE L'IMPACT DE L'APPLICATION DES BONNES
PRATIQUES DE TRANSFORMATION SUR LA TENEUR EN AFLATOXINE
DANS LES PÂTES ET FARINES D'ARACHIDE DE FABRICATION ARTISANALE

MEMOIRE DE MASTER EN QUALITE DES ALIMENTS DE L'HOMME

Spécialité: Produit d'Origine Animale

Présenté et soutenu publiquement le 1^{er} Septembre 2012 à 11 H à l'Ecole Inter-Etats
des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV) de Dakar.

Par:

Wilfried ZANMENO
Né le 16/06/83 à Azowlissè (BENIN)

MEMBRES DU JURY

PRESIDENT:

M. Louis Joseph PANGUI
Professeur à l'EISMV de Dakar

MEMBRES :

M. Bhen Sikina TOGUEBAYE
Professeur à la FST à l'UCAD

M. Germain Jérôme SAWADO
Professeur à l'EISMV de Dakar

M. Amadou KANE
Directeur de recherche et
de développement à l'ITA

**DIRECTEUR DE
RECHERCHE**

M. Malang SEYDI
Professeur à l'EISMV de Dakar

NOTE AUX LECTEURS

Ce document a été numérisé et mis en ligne par la Bibliothèque Centrale de l'Université Cheikh Anta DIOP de DAKAR



Bibliothèque Centrale UCAD

Site Web: www.bu.ucad.sn

Mail: bu@ucad.edu.sn

Tél: +221 33 824 69 81

BP 2006, Dakar Fann - Sénégal

DEDICACES

Au nom de Dieu, le tout puissant, le tout miséricordieux, je dédie ce travail à :

- Ma maman Joséphine HOUNSINO

Tu as depuis lors eu foi en cette aventure. J'espère que tu trouveras à travers ce travail, le réconfort pour tout le soutien. Daigne l'Eternel t'accorder la longévité pour nous appuyer de ton amour, tes conseils et prières.

- Mon papa Clément ZANMENO

Tu as toujours été rigoureux sur certains principes éducatifs qui pour nous aujourd'hui, se révèlent comme un trésor. Trouve en ce travail une satisfaction de grande fierté.

- A mon frère Jean de Capistan ZANMENO

Sois heureux d'avoir été un instrument précieux de Dieu dans la manifestation de son œuvre. Qu'il te bénisse et que ce qui nous uni soit le plus fort.

- Mes frères et sœurs

Merci pour tout le soutien. Que ce travail vous inspire à mieux faire.

- Christelle Gwladys ZOHOUN

Merci pour tout.

REMERCIEMENTS

Ce travail n'aurait pu être réalisé sans l'apport des uns des autres.

Nos sincères remerciements :

-Au Dr Symplice AYISSIHOUÉDE pour tous les conseils, soutien et disponibilité. Permettez de vous dire toutes nos gratitude.

-Aux autorités du master pour l'accueil et la qualité de la formation.

-A toute la promotion 2011-2012 de Master Qualité pour l'ambiance et la solidarité. Nous gardons de bons souvenirs.

-Au Professeur Malang SEYDI pour avoir recommandé ce stage à l'ITA et avoir accepté encadrer ce travail. Votre humilité et rigueur au travail sont pour nous un grand modèle. Les mots nous manquent pour vous remercier.

-Au Dr Ababacar NDOYE, Directeur Général de l'ITA pour avoir accepté notre stage à l'institut.

-Au Dr Amadou KANE, votre spontanéité, humilité et efficacité nous laissent sans mot. Vous nous avez guidé tout le long de ce travail en dépit de vos nombreuses occupations. Recevez toute notre reconnaissance et grande estime.

-A Mr Souleymane DIACK, vos grandes qualités humaines, votre sens d'écoute et l'ambiance très conviviale de travail nous ont vraiment impressionné et marqué. Merci pour tout.

-A Mr Babacar BEYE, vos grandes qualités humaines, vos conseils, votre sens d'écoute et rigueur au travail nous ont vraiment formé et marqué. Nos sincères gratitude.

-Au Fonds National de Recherche Agricole et Agroalimentaire (FNRAA) pour avoir financé cette étude.

-A Mme Yacine SOW pour tout le soutien.

-A Mr Pape Demba CAMARA du service de la documentation pour la disponibilité.

-A tous ceux qui de loin ou de près ont contribué à l'élaboration de ce travail.

A nos maîtres et juges

- A notre Maître et Président de jury, Monsieur Louis Joseph PANGUI, professeur à l'EISMV de Dakar.
Vous nous faites un grand honneur, malgré vos occupation de présider notre jury de mémoire. Veuillez trouver ici l'expression de nos sincères remerciements.
- A notre Maître et Juge, Monsieur Bhen Sikina TOGUEBAYE, professeur à la Faculté des Sciences et Techniques à UCAD. Nous sommes très reconnaissants pour l'honneur que vous nous faites en acceptant siéger dans ce jury. Vos inestimables qualités d'homme de science seront toujours gravées dans notre mémoire. Veuillez trouver ici l'assurance de nos sincères gratitudees.
- A notre Maître et Juge, Monsieur Germain SAWADOGO, professeur à l'EISMV de Dakar. Votre rigueur, clarté ainsi que les illustrations de votre enseignement nous ont fasciné. Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.
- A notre Maître, Juge et Directeur de recherche, Monsieur Malang SEYDI, professeur à l'EISMV de Dakar.
Vos qualités humaines, votre disponibilité et votre passion pour la recherche scientifique bien menée nous ont fascinés. Recevez ici toute notre profonde gratitude et nos hommages respectueux.

RESUME

L'aflatoxine est une mycotoxine issue du métabolisme des champignons du genre *Aspergillus*, notamment *Aspergillus flavus*. Sa présence dans les aliments, surtout les denrées alimentaires en général et les produits à base d'arachide en particulier, pose un problème de santé publique. Dans le cadre d'un projet financé par le Fonds National de Recherche Agricole et Agroalimentaire (FNRAA), l'ITA a organisé des ateliers de sensibilisation des acteurs de la filière de la transformation de l'arachide pour les sensibiliser et les former sur les bonnes pratiques de transformation, en vue de réduire la contamination par l'aflatoxine de leurs produits. Pour évaluer l'impact de cette sensibilisation, vingt prélèvements ont été effectués sur les produits qu'ils ont fabriqués après les ateliers, dont dix portaient sur la pâte et dix sur la farine d'arachide. Parallèlement, dix échantillons de farine et dix échantillons de pâte ont été prélevés au niveau des marchés des mêmes localités. Les résultats d'analyse ont révélé que la teneur moyenne en AFB1 est de 36,87 ppb dans les pâtes et 58,67 ppb dans les farines pour les échantillons prélevés dans les marchés alors qu'elle baissait à 5,75 ppb et 9,96 ppb respectivement dans les pâtes et farines d'arachide après la sensibilisation, ce qui correspond à une réduction de 84% et de 83%. Cette baisse obtenue a rendu les produits obtenus après sensibilisation conformes à la norme sénégalaise qui fixe la teneur en AFB1 admissible dans les pâtes d'arachide à 15ppb. Par ailleurs, nous avons constaté que les AFB2, AFG1 et AFG2 sont en proportions minoritaires.

Mots clés: Aflatoxine, pâte et farine d'arachide, santé publique, sensibilisation.

ABSTRACT

Aflatoxin is a mycotoxin resulting from the metabolism of mushrooms of the *Aspergillus* kind, in particular *Aspergillus flavus*. Its presence in the foods, especially the foodstuffs in general and the products based on groundnut in particular, poses a problem of public health. Within the framework of a project financed by the National Funds of Agricultural and Agroalimentary Research (FNRAA), the ITA organized workshops of sensitizing of the actors of the die of the transformation of groundnut to sensitize them and form them on the good practices of transformation, in order to reduce the contamination by aflatoxin of their products. To evaluate the impact of this sensitizing, twenty taking away were carried out on the products which they manufactured after the workshops, of which ten related to the paste and ten on the groundnut flour. In parallel, ten samples of flour and ten samples of paste were taken on the level of the markets of the same localities. The results of analysis revealed that the average content of AFB1 is of 36,87ppb in the pastes and 58,67ppb in the flours for the samples taken in the markets whereas it dropped with 5,75ppb and 9,96ppb respectively in the pastes and flours of groundnut after sensitizing, which corresponds to a reduction of 84% and 83%. This fall obtained returned the products obtained after sensitizing in conformity with the Senegalese standard which fixes the content of acceptable AFB1 in the groundnut pastes at 15ppb. In addition, we noted that the AFB2, AFG1 and AFG2 are in minority proportions.

Key words: Aflatoxin, paste and flour of groundnut, public health, sensitizing.

LISTE DES ABREVIATIONS

°C	: Degré Celsius
µg	: Microgramme
ADN	: Acide Désoxyribonucléique
AFB₁	: Aflatoxine B ₁
AFB₂	: Aflatoxine B ₂
AFG₁	: Aflatoxine G ₁
AFG₂	: Aflatoxine G ₂
AFNOR	: Association Française de Normalisation
A_w	: Activité de l'eau
CIRC	: Centre International de Recherche sur le Cancer
CSAH	: Comité Scientifique pour l'Alimentation Humaine
EPST	: Etablissement Public à caractère Scientifique et Technique
FAO	: Food and Agriculture Organization (Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture)
g/mol	: Gramme par mole
HPLC	: High-Performance Liquid Chromatography (Chromatographie liquide haute performance)
ITA	: Institut de Technologie Alimentaire
JECFA	: Joint Expert Committee on Food Additives and Contaminants
KBr	: Bromure de potassium
Kg	: Kilogramme
mL	: Millilitre
NaCl	: Chlorure de sodium

NF	: Norme Française
PBS	: Phosphate Buffered Saline
pH	: Potentiel d'Hydrogène
PME	: Petites et Moyennes Entreprises
PMI	: Petites et Moyennes Industries
ppb	: Part per billion (partie par milliard)
Rad	: Radiant
SNRASP	: Système National de Recherche Agro-Sylvo-Pastoral
Uv	: Ultra-violet
λ_{\max}	: Lambda maximal

Liste des Tableaux

<u>Tableau I</u> : Point de fusion et données spectrales des aflatoxines	6
<u>Tableau II</u> : Liste des échantillons	12
<u>Tableau III</u> : Teneur en aflatoxine des échantillons de pâte d'arachide	17
<u>Tableau IV</u> : Teneur en aflatoxine des échantillons de farine d'arachide « Noflaye »	18

Liste des Figures

<u>Figure N°1</u> : Structures chimiques des aflatoxines B1, B2, G1 et G2	5
<u>Figure N°2</u> : Chromatogramme d'un échantillon x	16
<u>Figure N°3</u> : Teneur moyenne en aflatoxine des échantillons	19
<u>Figure N°4</u> : Fréquence de détection des différents types d'aflatoxines dans les échantillons	19

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre 1: ARACHIDE ET AFLATOXINES	3
I- ARACHIDE	3
1- Définition:	3
2- Critères de qualité:.....	3
3- Usages locaux.....	3
3-1- Quelques plats populaires à base de pâte d'arachide	4
II- AFLATOXINES.....	4
1- Définition, origine et production	4
2- Propriétés physico-chimiques	5
3- Toxicité	6
4- Toxicocinétique.....	8
5- Risques pour l'homme	8
6- Moyens de lutte.....	9
6-1- Moyens préventifs.....	9
6-2- Moyens curatifs.....	9
6-2-1- Méthodes physiques d'élimination et de détoxification.....	9
6-2-2- Méthode de décontamination par adsorption des mycotoxines en solution.....	10
6-2-3- Méthodes chimiques de décontamination	10

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I : MATERIEL ET METHODES	11
I- Cadre de l'étude	11
II- Matériel :.....	12
II-1- Echantillons :.....	12
II-2- Matériel de laboratoire	13
II-2-1- Appareils et verrerie de laboratoire :.....	13
II-2-2- Réactifs de laboratoire :.....	13
III- Méthodes :	14
III-1- Echantillonnage :	14
III-2- Principe de dosage de l'aflatoxine	14
III-2-1- Extraction :.....	14
III-2-2- Purification :.....	14
III-2-3- Quantification :	15
III-3- Expression des résultats :	15
Chapitre 2 : RESULTATS	16
I- Présentation des résultats	16
I-1- Exploitation des chromatogrammes	16
I-2- Niveau de contamination en aflatoxine des échantillons :	16
I-2-1- Niveau de contamination en aflatoxine des pâtes :.....	16
I-2-2- Teneur en aflatoxine des échantillons de farine d'arachide :.....	17
I-2-3 Répartition de la teneur moyenne en aflatoxine des échantillons :.....	18
I-2-4 Fréquence de détection des différents types d'aflatoxines dans les échantillons :	19
Chapitre 3 : DISCUSSION	20
CONCLUSION	2
BIBLIOGRAPHIE	24

INTRODUCTION

L'arachide (*Arachis hypogaea*) est une légumineuse annuelle cultivée dans toute la zone inter-tropicale, de grande importance nutritionnelle et économique (Cirad, 2005).

Au Sénégal, la production s'effectue dans toutes les régions avec une forte concentration dans le bassin arachidier (Kaoloack, Fatick, Thiés, Diourbel, Louga.) (Gouvernement du Sénégal, Avril 2003).

En plus des effets induits sur d'autres secteurs, l'arachide crée une somme de petits emplois (triturateurs artisanaux, vendeurs d'arachides grillées, de pâtes, de fanes, etc.) qui contribuent à la lutte contre la pauvreté.

Par ailleurs, la Délégation de la Commission Européenne au Sénégal ainsi que le gouvernement du Sénégal (2003), notent que le marché parallèle tenu par les commerçants privés «absorbe près de 30% du volume de la production commercialisée ».

Dans la mesure où c'est le circuit informel qui assure l'approvisionnement du marché intérieur, son couplage avec l'autoconsommation permettrait d'évaluer la consommation intérieure.

D'après les statistiques officielles, celle-ci représentait 85 000 tonnes en moyenne en 1960 et 1979 alors que la moyenne de la production arachidière totale était à 900 000 tonnes. Pendant la période 1980 à 2003, elle était à 240 000 tonnes alors que la production arachidière totale était à 680 000 tonnes (Sidibé, 2005).

Il ressort une baisse de près de 25% de la production moyenne et une augmentation substantielle de la consommation intérieure, à hauteur de trois fois son volume quasiment.

En effet, la transformation artisanale est particulièrement liée aux fonctions alimentaires de l'arachide au Sénégal. Elle est basée sur le savoir local et la technologie manuelle et fournit aux ménages des villes et des campagnes, une variété de produits dont l'huile, les pâtes, les cacahuètes, la farine et les tourteaux pour la consommation humaine et animale. Elle s'effectue sans considération des aspects élémentaires en termes d'hygiène, de norme, de qualité et de conditionnement.

Par conséquent, la présence de l'aflatoxine et l'absence de techniques de décontamination accessibles aux artisans, entourent la transformation artisanale et ses produits de préoccupations légitimes de santé publique (Gouvernement du Sénégal, Avril 2003).

La plupart des denrées alimentaires principalement celles à base d'arachide échantillonnées au niveau de Dakar, Kaolack et Diourbel, après analyse étaient contaminées par l'aflatoxine avec une très forte concentration dans les produits arachidières (Kane et al, 1991).

La même conclusion est obtenue selon d'autres études portant sur les produits

arachidières (Sall, 1998 ; Mikodé, 2011; Ndong, 2012 ; Mbenghat, 2012).

Selon l'avis du Comité Scientifique pour l'Alimentation Humaine (CSAH) le 23 Septembre 1994 concernant l'évaluation du risque, même de très faibles niveaux d'exposition aux aflatoxines contribuent toujours au risque de cancer de foie. Le même avis a été confirmé le 19 Septembre 1997 suite au rapport du JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives and Contaminants) relatif aux aflatoxines.

Dans le souci d'améliorer la filière transformation artisanale de l'arachide pour augmenter d'une part les revenus des transformateurs et protéger les consommateurs contre les risques liés à la consommation de produits contaminés par l'aflatoxine, l'ITA mène des activités de sensibilisation des transformateurs sur les bonnes pratiques pour réduire la contamination des produits de transformation artisanale. Notre étude se fixe comme objectif **d'évaluer l'impact de ces bonnes pratiques sur la teneur en aflatoxine dans les pâtes et farines d'arachide de fabrication artisanale.** Elle comprend deux parties :

- Une première partie sera consacrée à une synthèse bibliographique sur l'arachide et les produits dérivés d'une part et sur l'aflatoxine d'autre part.
- Une deuxième partie sera réservée à la présentation du lieu de stage, le matériel et les méthodes avant de donner les résultats et de les discuter.

Chapitre 1: ARACHIDE ET AFLATOXINES

I- ARACHIDE

1- Définition:

L'arachide, *Arachis hypogaea* est une plante oléagineuse de la famille des fabacées, provenant de l'Amérique du sud et introduite en Afrique de l'ouest au XVIème siècle. La base de l'ovaire fécondé s'allonge pour former un pédoncule appelé gynophore qui s'enfonce dans le sol où se forme le fruit (gousse) composé d'une coque indéhiscente contenant 1 à 4 graines. Il porte des nodosités fixatrices d'azote atmosphérique, caractéristiques des légumineuses, qui permettent à la plante d'enrichir le sol en azote (**Kouadio, 2007**).

2- Critères de qualité:

La qualité sanitaire est principalement liée à l'absence de contamination par les aflatoxines et les parasites des stocks (**Kane et al, 2009**).

La limite actuelle de la concentration en aflatoxine dans les produits agricoles destinés à la consommation humaine, établie par la Commission du *Codex Alimentarius*, est de 15ppb.

Pour une qualité export vers l'Europe, le marché le plus exigeant, la teneur en aflatoxine totale doit être inférieure ou égale à 4 µg/kg (ppb) pour l'arachide ou des produits dérivés de leur transformation et destinés à la consommation directe humaine.

Les arachides en gousses ou en graines doivent être exemptes de brûches (*Caryedon serratus*) et autres parasites des stocks, vivants ou morts, ainsi que des produits de leur métabolisme (**Delobel et al, 1996**). Les gousses doivent être mures et bien remplies, calibrées, exemptes de tout défaut apparent (attaques d'insectes, blessures, taches...), de couleur homogène et sans corps étrangers. Pour une commercialisation en graines, elles doivent être mures, entières, calibrées, de couleur homogène, récoltées de l'année et propres (**Cirad, 2005**).

3- Usages locaux

En l'état ou transformée, l'arachide constitue l'un des produits les plus consommés au Sénégal. Elle sert de condiment le plus souvent car le poisson ou la viande sont rarement préparés dans certaines régions. Les plats cuisinés à base de mil ou de riz sont souvent accompagnés d'une sauce à base de la pâte ou de farine d'arachide. Fabriquée à partir des graines grillées et ensuite passées au moulin, la pâte d'arachide ou « tiga dégué » est utilisée dans la préparation de beaucoup de plats.

3-1- Quelques plats populaires à base de pâte d'arachide

- **Le niéling**: il est préparé avec de la semoule de mil accompagnée d'une sauce à base de pâte d'arachide ;
- **le mafé** : c'est le riz blanc accompagné de la sauce à base de la pâte d'arachide, de légumes et de la viande ;
- **le diakhine** : c'est un mélange de la pâte avec un peu de riz, de la viande, des oignons, du poisson fumé et séché, du bouillon de bœuf, de la tomate concentrée, du piment, du tamarin etc ;
- **le tiérré bassi** : c'est un couscous de mil accompagné de la sauce à base de pâte d'arachide, de tomate concentrée, du niébé, de légumes et de la viande ;
- **le ngalakh** : il s'agit d'une bouillie de mil accompagnée d'une sauce à base de pâte d'arachide, de pain de singe, de sucre, de sucre vanillé, de noix de muscade et d'un peu de fleur d'oranger (**Sidibé, 2005**).

II- AFLATOXINES

1- Définition, origine et production

Le terme mycotoxine vient du grec « mycos » qui signifie champignon et latin « toxicum » qui signifie poison (**Moreau, 1994**). Les mycotoxines sont des produits du métabolisme secondaire des moisissures pouvant se développer sur les céréales, les oléagineux, les fruits séchés et autres.

Plus de 300 métabolites secondaires ont été identifiées, mais seulement une trentaine possède de réelles propriétés toxiques préoccupantes dont l'aflatoxine (**Moreau, 1994**).

A la suite d'une maladie, « *Turkey X disease* », qui affectait la volaille en Angleterre, et plus particulièrement les dindons, (**Moreau, 1994**) il fut isolée de la nourriture de ces volailles, à base d'arachide, une substance capable d'induire expérimentalement la même maladie. C'était le début d'une série de recherches qui aboutit en 1965 à l'isolement et à la caractérisation de la structure des aflatoxines (**Asao et al, 1965**).

Trois souches d'*Apergillus* sont connues pour leur capacité à synthétiser les aflatoxines.

A.flavus produit principalement l'aflatoxine B1 et B2 alors qu'il ne produit habituellement ni l'aflatoxine G1 ni G2 bien que quelques rares exceptions aient été décrites (**Wicklów et Shotwell, 1983**).

A. parasiticus produit les 4 aflatoxines (**Doner et al, 1984**).

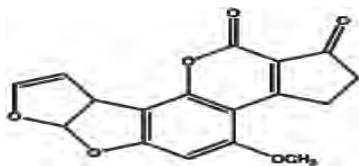
A. nomius, une souche rare, proche de *A. flavus*, est capable de produire de l'aflatoxine (**Kurtzman et al, 1987**).

La sécheresse ou l'humidité, la température, le substrat, le pH, l'oxygénation, ... sont autant de facteurs qui influencent la croissance des moisissures et le

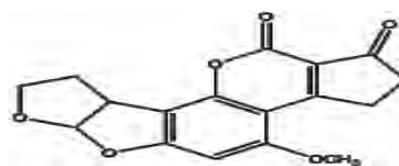
développement des toxines pendant la culture. Après la récolte, les conditions de transport des grains, de séchage, de stockage pourront augmenter de façon soudaine et importante la teneur en aflatoxines. Les conditions les plus favorables pour une production optimale en aflatoxines par *A. flavus* sont ; une activité en eau (a_w) relativement faible (0,84-0,86) ainsi qu'une température élevée entre 25°C et 40°C (**Christensen et al, 1973**).

2- Propriétés physico-chimiques

Les aflatoxines sont des molécules de faibles poids moléculaires (312 à 330g/mol) (**Afssa, 2006**). Ce sont des cristaux incolores ou jaune pâle-fluorescents de façon très intense sous une lumière ultra-violette. Les aflatoxines B1 et B2 émettent une fluorescence bleue « blue » et les aflatoxines G1 et G2 émettent une fluorescence verte « green ». La couleur des fluorescences est liée aux noms des mycotoxines (B pour blue et G pour green) (**Brochard et Bâcle, 2009 ; Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 1999**). Notons par ailleurs que par voie métabolique, certains ruminants (vaches, moutons...) sont capables de transformer des molécules d'aflatoxines ingérées en d'autres comme l'aflatoxine M (Milk aflatoxins) ayant tout d'abord été isolée du lait et non moins toxique pour l'homme.



AFB1



AFB2



AFG1



AFG2

Figure N°1 : Structures chimiques des aflatoxines B1, B2, G1 et G2

Solubilité : très peu soluble dans l'eau (10-30µg/ml) ; insoluble dans les solvants non-polaires, très soluble dans les solvants organiques moyennement polaires (chloroforme et alcool méthylique) tout particulièrement le diméthylsulfoxyde (**Cole & Cox, 1981**).

Stabilité : instable sous lumière ultraviolette en présence d'oxygène et à des pH extrêmes (pH < 3 ou pH 10) ou en présence d'oxydants.

Réactivité : le cycle lactone est sensible à une hydrolyse alcaline, mais en cas de neutralisation, il peut se reformer. Les aflatoxines sont aussi dégradées par l'ammoniaque et l'hypochlorite de sodium. Lors de cette dernière réaction, il se

forme le 2,3-dichloro-aflatoxine B₁ qui est directement génotoxiques (Castegnaro et pfohl-leszkowicz, 1999 ; El Khoury, 2007). Les points de fusion et données spectrales des différentes aflatoxines sont résumés dans le tableau n°1 ci-dessous (Castegnaro et pfohl-leszkowicz, 1999 ; El Khoury, 2007).

Tableau I : Point de fusion et données spectrales des aflatoxines

Aflatoxines	Point de fusion °C	Spectre d'absorption en lumière ultraviolette (solution dans l'éthanol)	
		λ_{\max} (nm)	ϵ
B1	268-269 (décomposition) (cristallisation dans le chloroforme)	223	25600
		265	13400
		362	21800
B2	287-289 (décomposition) Cristallisation dans un mélange de chloroforme et de pentane)	222	17000
		265	11700
		363	23400
G1	244-246 (décomposition) (cristallisation dans un mélange de chloroforme et de méthanol)	243	11500
		257	9900
		264	10000
		362	16100
G2	237-239 (décomposition) (cristallisation dans une solution d'acétate d'éthyle)	214	28100
		265	11600
		363	21000

Source : Castagnaro et al, (1999)

3- Toxicité

Des expériences menées sur les animaux ont prouvé la capacité de l'aflatoxine à provoquer des lésions au foie et/ou le cancer de foie chez plusieurs espèces. Cependant, la sensibilité animale varie d'une espèce à une autre et d'un individu à l'autre au sein d'une même espèce. Le veau, le poulet, le caneton, le cobaye, et le porc sont sensibles à l'aflatoxine alors que la chèvre, le mouton, le rat et la souris sont relativement résistants (Patterson & Allcroft, 1970). L'AFB1 est la plus toxique, suivi de par ordre décroissant de l'AFM1, l'AFG1, l'AFB2, l'AFG2. Le potentiel cancérogène de l'AFM1 est 10 fois inférieure à celui de l'AFB1 (Czeglédi, 2006). La toxicité des aflatoxines G1, B2 et G2 est respectivement de 50, 80, 90% moindre que celle de l'AFB1 (Cole & Cox, 1981).

On distingue deux cas d'intoxication:

- ✓ **L'intoxication aigüe** qui s'observe après ingestion massive d'aflatoxine en un temps très court peut entraîner un malaise, une perte de l'appétit puis un ralentissement de gain du poids, un ictère, une ascite, la mort... (Elle entraîne la mort chez le caneton et le porcelet en 2à3 jours par hépatite nécrosante).
- ✓ **L'intoxication chronique** s'observe lorsque l'ingestion se porte sur de faibles doses qui s'accumulent à long terme. A ce niveau, on distingue plusieurs propriétés toxiques : mutagène, cancérigène et tératogène (**Bourais et Amine, 2006**).
- **Mutagénicité** : des études réalisées sur des cellules humaines traitées par l'aflatoxine B₁ montrent un taux élevé d'aberration chromosomique principalement les cassures et les échanges (**Moulé, 1977**).
- **Tératogénicité** : l'aflatoxine B1 montre un effet tératogène se traduisant par des résorptions, des malformations fœtales avec un retard de développement embryonnaire chez les animaux. De plus, on observe chez les femelles gestantes, des nécroses hépatiques et rénales (**Ibeh, 1997 ; Moll, 2006 ; OMS, 1979**).
- **Gamétotoxicité** : une étude sur les rats femelles montre que l'aflatoxine B1 est gamétotoxique et trouble l'équilibre hormonal des animaux exposés (**Ibeh, 1997**).
- **Effet sur la reproduction** : des effets nuisibles sur les gonades et une baisse rapide de la fertilité avec décès intra-utérin, une réduction des ovaires et de l'utérus ont été observés sur les rats femelles (**Ibeh, 1997**).
- **Immunotoxicité** : en dehors des propriétés cancérigènes, l'aflatoxine supprimerait le système immunitaire (**Berkelaar, 2005 ; Moll, 2006**). L'aflatoxine B1, la plus virile de toutes, possède ainsi des propriétés immunosuppressives. Des réactivations parasitaires et la diminution de l'efficacité vaccinale ont été observées sur plusieurs espèces animales (**Berkelaar, 2005 ; Moll, 2006**).
- **Hématotoxicité** : des effets d'altération de la moelle osseuse et également la diminution des facteurs de coagulation et des troubles de l'hémostases dus à l'altération des fonctions hépatiques sont observés chez certaines espèces animales (**Bourais & Amine, 2006**).

- **Effet sur les réponses inflammatoires** : l'aflatoxine provoque l'altération de la viabilité des cellules phagocytaires et la modulation de la synthèse de cytokines ou de médiateurs (**Moll, 2006 ; Oswald, 2007**).

4- Toxicocinétique

L'absorption peut avoir lieu par voie orale et trachéale (**Ewaskiewicz et al, 1991**). Elle est rapide et s'effectue au niveau de l'intestin grêle dans la partie duodénale (**Kumagai, 1989**). L'AFB1 rejoint le foie par la veine porte (**Wogan et al, 1967**). La distribution à partir du plasma dans les hépatocytes est réalisée par diffusion passive à travers les membranes (**Müller & Petzinger, 1988**). Le stockage dans l'organisme se fait par liaisons covalentes avec des molécules tissulaires. Une partie de l'AFB1 est éliminée par la bile après biotransformation sous forme conjuguée au glutathion, à l'acide glucuronique et sulfate. Cette sécrétion biliaire représente environ 50% de la dose excrétée chez la plupart des espèces animales.

5- Risques pour l'homme

Les intoxications aiguës potentiellement liées à la consommation des aflatoxines ont été répertoriées par **Wild & Hall (1996)**. Les premières maladies pour lesquelles l'implication de ces toxines a été suspectée ont été décrites à Taïwan et en Ouganda. A Taïwan, en 1967, Ling et al. décrivent une maladie qui se caractérise par des oedèmes des jambes et des pieds, des douleurs abdominales, des vomissements et une hépatomégalie. Vingt-six personnes étaient atteintes et trois en sont mortes. Lors d'une étude rétrospective de la nourriture consommée, les aflatoxines furent trouvées dans le riz à des doses pouvant aller jusqu'à 200ug d'aflatoxine B1/Kg. Trois cas d'intoxications similaires ont été observés en Ouganda en 1970. Lors de l'étude de la contamination de la nourriture, **Sherk Hanssen (1970)** trouva des taux de 1,7 mg d'aflatoxine/ kg de manioc.

Après quelques signes précurseurs, les malades, principalement des enfants entre 3 à 8 ans, sont atteints de convulsions puis le coma qui s'amplifie, la respiration devient irrégulière et la mort survient généralement dans les 72 heures. Plus récemment, l'ingestion de nourritures contaminées par l'aflatoxine a été corrélée à des retards mentaux chez des femmes et des enfants dans le sud de la Géorgie (**Caster et al, 1996**). Des études écologiques ont clairement établi, l'implication de l'AFB1 dans des cancers hépatiques. Elle endommage l'ADN et constitue l'un des plus puissants cancérogènes connus. En 1993, le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) l'a déclarée agent cancérogène de la classe I pour les humains (**Berkelaar, 2005 ; Castegnaro et Pfohl-Leskowicz, 1999 ; Perdrix, 1997**).

6- Moyens de lutte

6-1- Moyens préventifs

Plusieurs moyens de luttés avant les récoltes ont été élaborées. La contamination par *Apergillus flavus* à lieu principalement en cours de culture, durant les phases de formation et de maturation des graines, particulièrement en cas de stress hydrique, de sécheresse de fin de cycle ou d'attaque des gousses par les insectes du sol (**Dimanche et al, 2000** ; **Bourais et Amine,2006** ; **Castagnaro et Pfohl-Leszkowicz, 1999**).

Il faut par exemple veiller sur le choix de la variété des semences et une bonne rotation des cultures. L'irrigation, si elle est disponible, peut réduire considérablement la contamination à l'aflatoxine (**Berkelaar, 2005**) ainsi-que la lutte contre les déprédateurs (insectes et rats) et l'élimination des pieds flétris, malades. De même, des précautions au moment de la récolte, comme une manipulation convenable de façon à éviter d'abîmer les graines (maîtriser les dommages mécaniques causées par les instruments), du fait de leur vulnérabilité aux attaques des moisissures (**Kane et al, 1996** ; **Afssa, 2006**) et un nettoyage avant l'entreposage sont recommandées. Les conditions de stockages ont été également étudiées et les recommandations formulées. Par exemple le séchage rapide de manière à ramener l'humidité à moins de 10% puisque, la période critique de contamination se situe après la récolte et avant le séchage. Le maintien du degré hygrométrique et de température adéquate, une aération suffisante des produits stockés sont également autant d'exigences. La protection contre les rongeurs est aussi de mise car l'action biologique de ces ravageurs génère de la vapeur d'eau, qui se condense et provoque l'humidité. En outre, les conditions lors de la transformation et de la vente des denrées ont leur importance. Il à été recommandé par exemple d'utiliser des méthodes manuelles, mécaniques ou électroniques pour éliminer les arachides abîmées des chaînes de transformation.

6-2- Moyens curatifs

6-2-1- Méthodes physiques d'élimination et de détoxification

➤ Elimination par nettoyage et séparation

Une quantité importante d'aflatoxine dans les cacahuètes peut être enlevée par un tri électronique ou à la main (**Dickens & Whitaker, 1975**). Puisque la toxine peut se répandre à l'intérieur du grain, une contamination résiduelle peut être présente dans le produit final. Les méthodes de flottaison et de ségrégation par densité des cacahuètes ont été proposées comme solutions possibles (**Cole, 1989**). **Kirksey et al, (1989)** ont ainsi décrit que dans 21 échantillons de cacahuètes, 29,95% de l'aflatoxine était localisée dans les grains flottant à la surface de l'eau. Egalement, **Phillips et al. (1994)** ont mentionné que

l'utilisation de la flottaison permettait de réduire le taux moyen d'aflatoxine de 301 ppb à 20 ppb.

➤ Détoxification par désactivation thermique :

Les aflatoxines sont résistantes à la dégradation thermique et ne sont donc pas totalement détruites par l'eau bouillante, par autoclavage ou par de nombreux procédés thermiques de transformation des aliments pour humains et animaux. Cependant, elles peuvent être partiellement détruites dans le cas de grillage à l'huile ou à sec des cacahuètes. Les aflatoxines sont stables dans les cacahuètes à température ambiante (**Castagnaro et al, 1999**). Toujours dans le même sens, aucun changement de la teneur en aflatoxines dans les aliments à base de cacahuètes crues ou grillées ou de beurre de cacahuètes, entreposés à 23°C pendant deux ans n'a été observé (**Castagnaro et al, 1999**).

➤ Irradiation

Une irradiation gamma (2,5Mrad) ne dégrade pas l'aflatoxine dans les aliments à base de cacahuètes (**Feuell, 1966**). Cependant, l'exposition d'huile de cacahuète contaminée à une alternance des ondes courtes et longues de lumière UV permet de réduire la contamination en aflatoxines (**Feuell, 1966**).

6-2-2- Méthode de décontamination par adsorption des mycotoxines en solution

Des charbons et des boues actives utilisés en solution aqueuse et certains aluminosilicates se sont avérés efficaces pour purifier l'huile d'arachide et les aliments pour animaux. Au nombre de ces derniers, on peut citer des essais de décontamination menés sur l'huile brute d'arachide obtenue de façon artisanale grâce à l'attapulгите. Le taux de détoxification obtenu est presque 100% (**Kane, 1994**). Par ailleurs, une boue de phyllosilicate, actuellement utilisée comme anti-agglomérant dans l'industrie alimentaire, a été étudiée pour sa capacité à lier l'aflatoxine et à réduire la toxicité du produit final. Une telle argile adsorbe fortement les aflatoxines en suspension aqueuse et diminue de manière appréciable sa biodisponibilité (**Phillips et al, 1994**). Cependant, seul son emploi comme anti-agglomérant est approuvé et son utilisation pour éliminer l'aflatoxine dans les aliments humains n'est pas encore autorisée.

6-2-3- Méthodes chimiques de décontamination

Le procédé d'ammoniation, utilisé pour diminuer les effets toxiques engendrés par une contamination à l'aflatoxine a fait l'objet de recherches nombreuses. Les résultats de ces études ont été résumés par **Park et al, (1988)**. Les évaluations de ce procédé montrent son efficacité et prouvent la sécurité de l'ammoniation dans le traitement des aliments pour les animaux.

Chapitre I : MATERIEL ET METHODES

I - Cadre de l'étude

Institut de Technologie Alimentaire (ITA)

L'I.T.A. est un institut de recherche - développement créé en 1963 (loi 63-11 du 5 février 1963). Il jouit du statut d'Etablissement Public à caractère Scientifique et Technique (EPST). Il est sous la tutelle du Ministère des Mines, de l'Industrie et des PME. L'ITA est partie intégrante du Système National de Recherche Agro-Sylvo-Pastoral (SNRASP).

L'I.T.A est chargé essentiellement de la valorisation des ressources alimentaires locales, avec les missions suivantes :

- Guider et coordonner les recherches et les études sur le traitement, la transformation, le conditionnement, la conservation et l'utilisation des produits alimentaires locaux, principalement dans le but de promouvoir l'implantation d'industries correspondantes ;
- Développer de nouvelles ressources alimentaires dérivées des productions locales qui soient d'une bonne valeur nutritive et adaptée au goût ainsi qu'au pouvoir d'achat des consommateurs ;
- Aider aux contrôles de la qualité des produits alimentaires aux stades de la production, de la commercialisation, de l'importation et de l'exportation ;
- Participer à la formation des corps de métiers de l'alimentation ;
- Promouvoir et appuyer l'installation d'unités de transformation industrielle ou artisanale des aliments (PME, PMI).

II- Matériel :

II-1- Echantillons :

40 échantillons ont été prélevés dans cinq régions dont 20 échantillons de pâte d'arachide et 20 échantillons de farine d'arachide. Les prélèvements ont été effectués au près des groupements ayant participé à des ateliers de formation sur les bonnes pratiques de transformation (Echantillon encadré « E ») d'une part et au niveau des marchés des mêmes localités (Echantillon non encadré« N ») d'autre part.

Tableau II : Liste des échantillons

Régions	Localités	Nombre et nature d'échantillon	Date de prélèvement
Kaolack	K Soce	2 E 2 N	07/05/2012
	Wack Ngouneu	2 E 2 N	08/05/2012
Fatick	Diossong	2 E 2 N	09/05/2012
	Niakhar	2 E 2 N	10/05/2012
Diourbel	Refane	2 E 2 N	11/05/2012
	Touba mosquée	2 E 2 N	12/05/2012
Tambacounda	Koumpentoum	2 E 2 N	12/06/2012
	Bouchoura	2 E 2 N	13/06/2012
Kaffrine	Ngodiba	2 E	14/06/2012
	Kaffrine	2 N	
	Ndiongnick	2 E 2 N	15/06/2012

2 E : 1 échantillon de pâte + 1 échantillon de farine ou « Noflaye » encadrés.
2 N : 1 échantillon de pâte + 1 échantillon de farine ou « Noflaye » non encadrés

II-2- Matériel de laboratoire

II-2-1- Appareils et verrerie de laboratoire :

- balance de précision ;
- broyeur pour homogénéiser les échantillons ;
- homogénéisateur à grande vitesse ;
- papier filtre ;
- réservoir de 75ml avec embout pour colonne d'immunoaffinité muni du système sous vide ;
- hotte ;
- pompe manuelle avec embout ou munie de bouchon en caoutchouc pour colonne d'immunoaffinité ;
- verrerie : erlenmeyer, bécher, pipettes, seringues, fiole conique, micropipettes, microtubes, flacons,...
- congélateur ;
- réfrigérateur ;
- Chaine HPLC avec un détecteur fluorimétrique ;
- spectrophotomètre ;
- évaporateur rotatif sous vide ;
- distillateur d'eau.

II-2-2- Réactifs de laboratoire :

Sauf spécification contraire, tous les produits sont de qualité pour analyse.

- méthanol pur ;
- méthanol/eau (80v/20v) ;
- hexane ;
- PBS (Phosphate Buffered Saline) ;
- NaCl ;
- acétonitrile qualité HPLC ;
- aflatoxine standard en poudre ;
- azote gaz ;
- eau distillée ;
- toluène ;
- phase mobile pour HPLC (410g de méthanol HPLC+265g d'acétonitrile + 1200g d'eau HPLC dans un flacon de 2,5L. Compléter avec 700µl d'acide nitrique 4M, et 240mg de KBr. Agiter et dégazer).
- KBr.

III- Méthodes :

III-1- Echantillonnage :

40 échantillons ont été prélevés au niveau de cinq régions dont 20 échantillons de pâte d'arachide et 20 échantillons de farine d'arachide. Les prélèvements ont été effectués au près des groupements ayant participé à des ateliers de formation sur les bonnes pratiques de transformation (Echantillon encadré « E ») d'une part et au niveau des marchés des mêmes localités (Echantillons non encadré« N ») d'autre part. Les échantillons ont été prélevés dans des flacons en plastiques soigneusement nettoyés. Tous les échantillons ont été acheminés au laboratoire à l'abri de la lumière et congelés immédiatement pour une bonne conservation.

III-2- Principe de dosage de l'aflatoxine

L'analyse des échantillons s'est effectuée suivant sur la norme française (NF EN 14 123) homologuée par le Directeur Général d'AFNOR le 26 Mars 2008 et qui à pris effet à partir du 26 Avril 2008 utilisant la méthode de dosage par HPLC avec dérivation post-colonne.

Une prise d'essai est extraite à l'aide du méthanol additionné à l'hexane. L'extrait d'échantillon est filtré et dilué avec un tampon phosphate (PBS : phosphate buffered saline) puis transféré dans une colonne d'immunoaffinité contenant des anticorps spécifiquement contre les aflatoxines B1, B2, G1 et G2. Les aflatoxines sont éluées de la colonne d'immunoaffinité grâce au méthanol. Elles sont ensuite quantifiées par HPLC (phase inverse) avec dérivation post-colonne par bromation suivi d'une détection fluorimétrique.

III-2-1- Extraction :

Prélever 25g de chaque échantillon auquel on ajoute 2.5g de sel (qui permet de casser les émulsions pour libérer les molécules d'aflatoxine emprisonnées). Ajouter 100ml de méthanol qui est le solvant d'extraction et 50ml d'hexane (qui permet la rétention de la matière grasse).

Mixer le mélange en utilisant l'homogénéisateur. Le produit obtenu est alors filtré.

III-2-2- Purification :

Elle consiste à ajouter 60ml de PBS (Phosphate Buffered Saline) qui permet de renforcer l'affinité entre l'aflatoxine et le gel de la colonne d'immunoaffinité et protège ce dernier contre la détérioration par le méthanol à 10 ml du filtrat. Le mélange ainsi obtenu est versé à travers la colonne d'immunoaffinité à faible

débit. Rincer la colonne avec 15ml d'eau distillée puis procéder au décrochage avec 2ml de méthanol. L'éluât obtenu est séché à sec sous l'azote.

Le résidu sec est ensuite repris avec 2ml d'acétone/eau (85v/15v) pour servir à l'injection (HPLC).

III-2-3- Quantification :

La chromatographie liquide haute performance (HPLC) a permis de déterminer la teneur en aflatoxine dans les échantillons collectés. Ces derniers doivent être totalement solubles dans la phase mobile qui sera appelé solvant d'élution (solvant ou mélange de solvants). Celui-ci doit être poussé à haute pression afin d'assurer un débit constant dans la colonne et y éviter toute perte de charges. Au niveau de la colonne, les composés en solution se répartissent suivant leur affinité, entre la phase mobile et la phase stationnaire. Ces interactions provoquent des échanges qui aboutissent à la séparation désirée. La théorie de la séparation montre que le signal enregistré à la sortie d'un détecteur approprié, en fin de colonne a la forme d'un pic. Si la séparation est bonne, chaque pic représente un constituant du mélange à séparer. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme.

L'HPLC fait intervenir des mécanismes d'échange soluté / phase mobile / phase stationnaire, basés sur les coefficients de partage ou d'adsorption selon la nature des phases en présence.

III-3- Expression des résultats :

La teneur en aflatoxine exprimée en ug/kg ou ppb est donnée par la relation suivante:

$$T_{af}(\mu\text{g/kg}) = R \times V_r / P_e$$

T_{af} : teneur en aflatoxine ;

R : résultat en ng/mg de la reprise suite à l'injection affiché après intégration (HPLC) ;

V_r : volume de reprise (quantité de solvant eau/acétone utilisée pour la reprise du résidu sec = 2ml) ;

P_e : poids de l'échantillon contenu dans 10ml de filtrat purifié.

La norme utilisée pour l'appréciation de la qualité des échantillons est la norme sénégalaise (NS 03-053 ; Avril 2001), éditée et diffusée par l'Association Sénégalaise de Normalisation (ASN) qui définit les caractéristiques de qualité que doit présenter la pâte d'arachide destinée à la consommation humaine. Elle fixe la teneur en AFB1 à 15ppb et en aflatoxines totales à 25ppb. Il n'y a pas encore de spécifications normatives en ce qui concerne la farine d'arachide.

Chapitre 2 : RESULTATS

I- Présentation des résultats

I-1- Exploitation des chromatogrammes

Les résultats de l'analyse de chaque échantillon se présentent sous forme d'un chromatogramme qui montre successivement un signal d'injection suivi de quatre pics d'aflatoxine avec des temps de rétention dans l'ordre AFG2, AFG1, AFB2 et AFB1 comme nous le montre la figure n°2 ci-dessous :

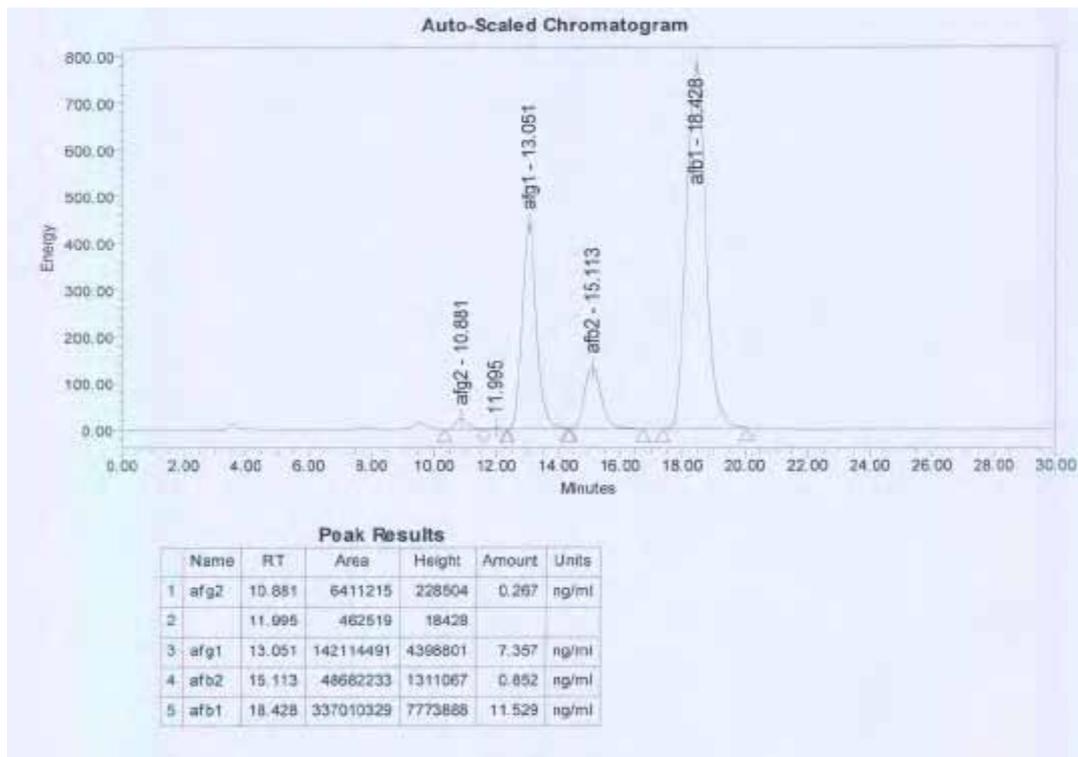


Figure N°2 : Chromatogramme d'un échantillon x

Les aires et tailles des pics ont permis de déterminer la concentration en aflatoxine des échantillons analysés en ng/ml puis celle en $\mu\text{g}/\text{kg}$ de l'échantillon.

I-2- Niveau de contamination en aflatoxine des échantillons :

I-2-1- Niveau de contamination en aflatoxine des pâtes :

Les résultats des échantillons de pâte d'arachide collectés dans cinq régions du Sénégal sont résumés dans le tableau III ci-après :

Tableau III : Teneur en aflatoxine des échantillons de pâte d'arachide

Localités	Echantillon	Teneurs en aflatoxine ($\mu\text{g}/\text{Kg}$ ou ppb)				
		AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	Totale
Koumpentom	N	48,4	4,4	1,0	ND	53,8
	E	4,6	0,6	1,1	0,3	6,6
Bouchoura	N	21,5	4,3	2,1	ND	27,9
	E	1,9	0,3	0,3	ND	2,5
Ngodiba Kaffrine	N	3,4	0,5	0,6	ND	4,5
	E	1,1	0,3	0,5	0,1	2,1
Ndiongnick	N	13,9	3,9	4,4	ND	22,2
	E	3,5	0,4	0,5	ND	4,5
K soce	N	54,0	2,0	11,6	2,1	69,7
	E	5,0	1,2	0,1	0,3	6,6
Wack Ngouneu	N	56,7	ND	5,8	18,1	80,6
	E	4,2	0,8	ND	ND	6,0
Diossong	N	25,6	3,1	9,7	0,6	39,0
	E	2,3	0,3	0,4	0,1	3,1
Niakhar (Mbafaye)	N	1,6	0,4	0,1	0,4	2,5
	E	3,0	0,5	ND	ND	3,5
Réfane	N	80,4	2,1	6,8	0,4	89,7
	E	16,4	2,2	4,4	0,4	23,4
Touba mosquée	N	63,2	ND	5,0	0,7	68,9
	E	15,5	1,9	6,4	0,7	24,5

N : échantillon du marché ; E : échantillon après encadrement ; ND : non détecté
 Ces résultats montrent que l'AFB1 est présente dans tous les échantillons prélevés tandis que l'AFG2 est inexistante dans les échantillons des régions de Bouchoura et Ndiongnick. On constate également que les échantillons prélevés au niveau des marchés sont nettement plus contaminés.

1-2-2- Teneur en aflatoxine des échantillons de farine d'arachide :

Les résultats des échantillons de farine d'arachide collectés dans cinq régions du Sénégal sont résumés dans le tableau IV ci-après :

**Tableau IV : Teneur en aflatoxine des échantillons de farine d'arachide
« Noflaye »**

Localités	Echantillon	Teneurs en aflatoxine ($\mu\text{g}/\text{Kg}$ ou ppb)				
		AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	Totale
Koumpentoum	N	26,0	6,0	4,4	ND	36,4
	E	0,3	0,1	ND	ND	0,4
Bouchoura	N	17,5	2,9	0,6	ND	21,0
	E	18,5	0,2	0,5	2.8	22,0
Ngodiba Kaffrine	N	38,0	ND	2,5	0.8	41,3
	E	2,6	1,1	0,2	1.3	9,2
Ndiongnick	N	44,5	ND	24,6	ND	69,1
	E	12,0	0,6	ND	5.2	17,8
K soce	N	31,1	2,8	3,4	ND	33,9
	E	8,2	1,2	ND	ND	9,4
Wack Ngouneu	N	101,8	8,0	ND	ND	109,8
	E	5,4	0,6	0,5	ND	6,5
Diossong	N	70,6	ND	26,3	ND	96,9
	E	30,2	1,9	4,4	ND	36,5
Niakhar (Mbafaye)	N	80,8	3,7	0,3	ND	84,8
	E	1,2	0,1	ND	ND	1,3
Réfane	N	122,1	ND	10,4	ND	132,5
	E	15,2	1,2	10,7	0.6	27,7
Touba mosquée	N	54,3	3,9	5,0	0.1	63,3
	E	6,0	0,5	3,1	3.2	12,8

N : échantillon du marché ; E : échantillon après encadrement ; ND : non détecté
Ces résultats montrent que l'AFB1 est présente dans tous les échantillons prélevés tandis-que l'AFG2 est inexistante dans les échantillons des régions de Koumpentoum, K soce, Wack Ngouneu, Diossong et Niakhar.

1-2-3 Répartition de la teneur moyenne en aflatoxine dans les échantillons :

La répartition de la teneur moyenne en aflatoxine B1 et en aflatoxine totale a été déterminée sur les échantillons de pâte et de farine fabriqués par les unités dont le personnel a été formé aux bonnes pratiques et sur ceux prélevés au niveau du marché comme l'indique la figure N° 3 ci-après :

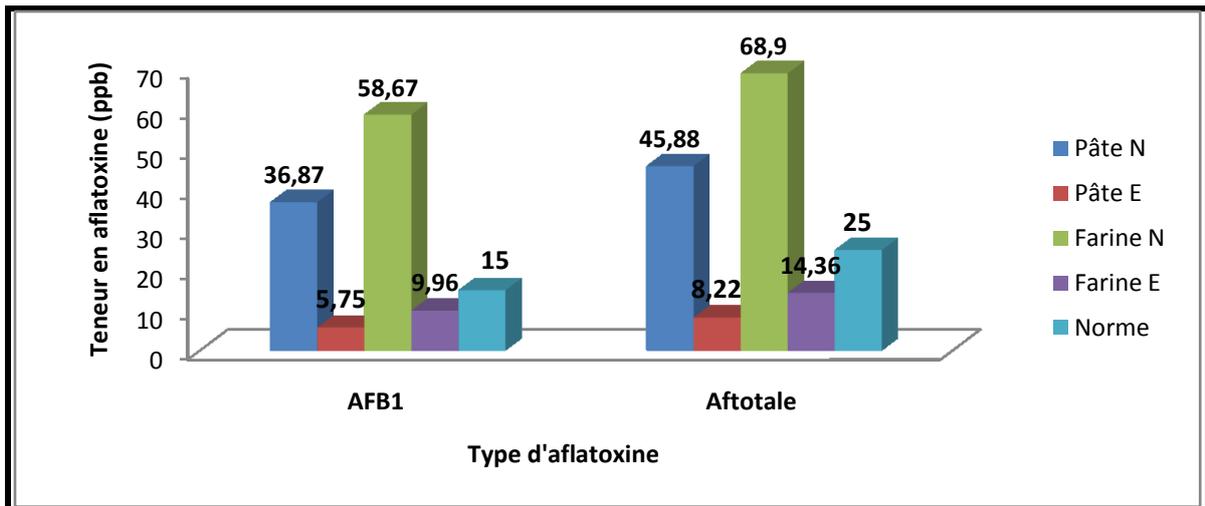


Figure N° 3: Teneur moyenne en aflatoxine des échantillons

On remarque que les échantillons de la farine d'arachide du marché renferment une concentration en AFB1 et en aflatoxine totale supérieure à celle des pâtes du marché tandis-que les échantillons provenant des unités encadrés renferment des teneurs nettement moins élevées.

I-2-4 Fréquence de détection des différents types d'aflatoxines des échantillons :

Elle permet de mettre en évidence le type d'aflatoxine le plus rencontré.

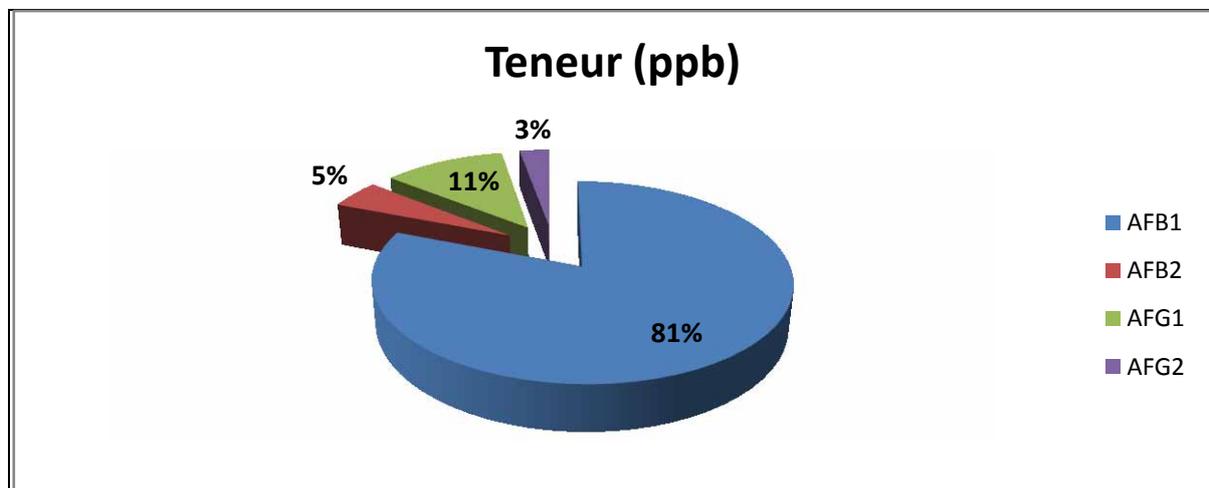


Figure N°4: Fréquence de détection des différents types d'aflatoxines dans les échantillons

On remarque que l'AFB1 est majoritaire avec une fréquence très élevée (81%) dans les échantillons. Viennent ensuite l'AFG1, AFB2 et AFG2 (minoritaires).

Chapitre 3 : DISCUSSION

Du point de vue règlementaire, certaines difficultés liées au caractère « incomplet » de la norme sénégalaise par rapport aux aflatoxines dans les denrées alimentaires tendent à limiter l'analyse et la discussion des résultats issus de cette étude.

En effet, la norme sénégalaise n'existe que pour la pâte. Elle fixe la teneur en aflatoxine B1 à 15ppb et en aflatoxines totales à 25ppb dans les pâtes d'arachide pour la consommation humaine. Il n'existe pas encore de seuil limite par rapport à la farine d'arachide. Néanmoins, vu que la farine est produite à partir de l'arachide et est également destinée à la consommation humaine, nous allons faire référence à la norme sur la pâte dans notre discussion.

Les résultats obtenus permettent de dire que l'AFB1 est fortement présente dans tous les échantillons et contribue presque à elle seule à la teneur en aflatoxine totale car celle des AFG1 est négligeable et celle des AFB2 et AFG2 est très minoritaire. Cela nous amènera à plus focaliser notre discussion sur l'AFB1.

Considérant le lot des pâtes d'arachide du marché, la teneur minimale en AFB1 est de 1,6ppb et est obtenue dans la région de Niakhar tandis-que celle maximale est de 80,4ppb obtenue à Réfane.

En ce qui concerne le lot des farines d'arachide du marché, la teneur minimale en AFB1 est de 17,5ppb obtenue dans la région de Bouchoura tandis-que celle maximale est de 122,1ppb à Réfane.

Pour cette localité, on peut soupçonner une très forte contamination de la matière première et la quasi inexistence des méthodes de décontamination dans le processus de transformation.

Il ressort au vu des résultats, une forte variabilité des teneurs en aflatoxine dans les pâtes et farines d'arachide d'une région à une autre. Cela expliquerait les différences des facteurs climatiques parfois peu perceptibles mais suffisantes pour influencer la contamination des produits alimentaires aussi bien au champ que pendant le stockage. Au nombre de ces facteurs, nous pouvons principalement citer la température et l'humidité.

Par ailleurs, les producteurs et les transformateurs d'arachide n'ayant pas le même niveau de perception par rapport au danger que constitue la présence de cette toxine dans les denrées ainsi que les moyens préventifs et de décontamination, adoptent des comportements variés. La plupart du temps, ils n'appliquent pas les bonnes pratiques. Les conséquences se traduisent par les fortes concentrations en aflatoxine observées dans les échantillons. Il arrive exceptionnellement que l'on trouve sur le marché un échantillon de bonne

qualité sanitaire comme c'est le cas à Niakhar où l'échantillon de la pâte d'arachide du marché est conforme à la norme de l'Union européenne avec une teneur en AFB1 de 1,6ppb et 2,5ppb pour celle en aflatoxine totale.

Il serait également possible que certaines souches d'*Aspergillus* produisant prioritairement de l'AFB1 au détriment du reste (AFB2, AFG1 et AFG2) soient plus présentes dans une région par rapport à une autre.

En fin, il y a l'avidité de certains transformateurs qui ne prennent pas la précaution de procéder au triage avant d'engager le processus de transformation guidés seulement par la quête d'un rendement élevé.

Notons que la forte concentration en aflatoxine, particulièrement celle en AFB1 corrobore celle menée par **Kane et al, 1991** portant sur 22 échantillons de pâtes. D'après cette étude, 55% des échantillons s'étaient révélés positifs pour une teneur moyenne de 62ppb avec 5ppb et 750ppb comme limites extrêmes. Cette moyenne est supérieure à la notre (45,88ppb) en dépit de la différence du nombre des échantillons et traduit une prise de conscience de plus en plus croissante de la population face à ce danger. Cependant, tous nos échantillons sont contaminés.

D'autres études à l'instar de celle menée par **Ndong, 2012** portant sur 44 échantillons de pâte, avaient révélé la moyenne en AFB1 de 25.66ppb. Cette valeur qui est inférieure à celle trouvée par **Mbenghat, 2012** (41.26ppb) et la notre (36.87ppb) peut s'expliquer par le fait que l'échantillonnage s'est déroulé dans des régions différentes et durant différentes périodes. En effet, le risque de contamination des produits varierait selon que les prélèvements aient lieu dans une période proche ou lointaine des récoltes. Ce qui pose le problème de gestion de stock (**Delobel et al, 1996**). Cette même étude (**Ndong, 2012**) aboutit à une moyenne de 68.08ppb pour l'AFB1 dans les échantillons de farine d'arachide. Une valeur qui semble être proche de la notre (58.67ppb).

Par contre, celle menée par **Sall, 1998** semble contredire nos résultats par rapport à la fréquence de détection des types d'aflatoxines dans les échantillons de pâte d'arachide du marché. En effet, selon cette étude, l'aflatoxine G1 est présente dans 95% des échantillons et est majoritaire, suivie des aflatoxines B1 (70%). Ce qui n'est pas le cas dans notre étude où l'AFB1 (majoritaire) et l'AFG1 sont présentes dans tous les échantillons. Une émergence de la colonisation des différentes souches d'*Aspergillus* avec une dominance de celles sécrétant l'AFB1 (*Aspergillus flavus*) dans le temps serait une hypothèse pour l'explication de cette contradiction.

La forte concentration moyenne (58,67ppb) en aflatoxine des lots de farine par rapport à celle des pâtes (36,87ppb) révélée par notre étude au niveau des

échantillons du marché et qui confirment les travaux de **Ndong, 2012** avec des valeurs respectives de 68,08ppb et 25,66ppb sont en accord avec les travaux de **Lee, 1965** qui rapporte une perte pouvant aller à 50% des aflatoxines lors de la torréfaction de l'arachide pour la fabrication du beurre (pâte).

Après sensibilisation, les résultats issus des analyses des échantillons montrent une baisse considérable des teneurs en aflatoxine. Elle s'illustre par les résultats obtenus par rapport aux lots après sensibilisation. Par exemple, les teneurs moyennes de 36,84ppb pour les pâtes du marché chutent à 5,75ppb, soit une baisse de 84,40% en ce qui concerne l'AFB1 et passent de 45,88ppb à 8,22ppb pour l'aflatoxine totale, soit une réduction de 82,08%.

Les teneurs moyennes de 58,67ppb pour les échantillons de farine chutent à 9,96ppb en ce qui concerne l'AFB1, soit une réduction de 83,02% et passent de 68,90ppb à 14,36ppb, soit une réduction de 79,15% en ce qui concerne la teneur en aflatoxine totale.

Les taux de réduction de l'aflatoxine observés après sensibilisation, ont sensiblement augmenté le taux de conformité des échantillons par rapport à la norme sénégalaise. En effet, 85% des échantillons du marché est non conforme par rapport à la dite norme. Ce taux passe à 25% des échantillons après sensibilisation. Notons que ce taux pourrait subir une baisse considérable si la matière première pouvait être moins contaminée et si les bonnes pratiques de stockage et de transformation deviennent un réflexe dans le comportement des transformateurs et sont convenablement appliquées.

CONCLUSION

L'arachide et les produits dérivés sont d'une importance alimentaire incontestée au Sénégal. Cependant, il est important d'alerter l'opinion publique sur le risque que constitue une potentielle présence des mycotoxines, en particulier l'aflatoxine dans les denrées alimentaires à base d'arachide. C'est un métabolite produit principalement par l'*Apergillus flavus* dans l'arachide et produits arachidières. Parmi autant de propriétés nocives à la santé de l'homme, elle fait partie des substances hautement cancérigènes.

Il se pose alors un véritable problème de santé publique qui mérite réflexion et solution pratique. Cette étude s'inscrit dans cette dynamique et vise surtout une prise de conscience sociale devant aboutir à un changement de comportement qui influencerait positivement la qualité des procédés de transformation artisanale de l'arachide par diffusion de bonnes pratiques.

Au terme de cette étude, les résultats obtenus sont encourageants et permettent de dire que la sensibilisation constitue l'un des moyens efficaces pour venir à bout de cette problématique que constitue la présence des aflatoxines dans les denrées alimentaires en général et celles à base d'arachide en particulier.

Néanmoins, faudrait-il qu'elle soit continue avec une fréquence régulière suivi d'évaluation de l'impact sur la qualité des produits élaborés pouvant ainsi permettre une réorientation ou non. Elle consistera surtout à informer les producteurs et les transformateurs sur le caractère dangereux de l'aflatoxine, puis des bonnes pratiques agricoles, de stockage et de transformations en vue d'une réduction de l'occurrence dans les aliments à un niveau acceptable garantissant ainsi la sécuritaire sanitaire des consommateurs.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- **Afssa : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, (2006)** Evaluation des risques liés à la présence des mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaines et animales. Rapport synthétique, p81.
- 2- **Asao, T., Büchi,G., Abdel-Kader, M.M., Chang, S.B., Wick, E.L. & Wogan, G.N. (1965)** Structures of Aflatoxins B and G₁. J. Am. Chem. Soc., 87, 822-826.
- 3- **Berkelaar, D. (2005)** Les aflatoxines, un problème sérieux. ECHO développement notes, N°87.
- 4- **Bourais, I. & Amine A. (2006)** Aflatoxine : toxine redoutable dans nos aliments. Les technologies de laboratoire, N° 0/2006 : 4-8.
- 5- **Brochard, G. & Le Bâcle, C. (2009)** Mycotoxines en milieu de travail. INRS, Document pour le médecin du travail, N° 119, p 25.
- 6- **Castegnaro, M. & Pfohl-Leszkowicz, A. (1999)** Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion de risque. Paris, éd.Tec et Doc : 199-247. ISBN : 2-7430-0293-X.
- 7- **Caster , W.O., Burton, T.A., Irvin, T.R. & Tanner, M.A. (1996)** Dietary aflatoxins, intelligence and school performance in southern Georgia. Int. J. Vitam. Nutr. Res., 56, 291-295.
- 8- **Christensen C.M., Nelson,G.H., Speers, G.M., & Mirocha, C.J. (1973)** Results of feeding tests with rations containing grain invaded by a mixture of naturally present fungus plus *Aspergillus flavus* NRRL 2999. Feedstuffs, April 2, pp 20-41.
- 9- **Cirad, (2005)** Le développement d'une filière d'arachide de bouche au Sénégal : un challenge pour les organisations de producteurs.
- 10- **Cole R.J & Cox R.H. (1981)** Handbook of Toxic Fungal Metabolites, New York, Academic Press, p 166.
- 11- **Cole, R.J., Sanders T.H., Dorner J.W. & Blankenship, P.D. (1989)** Environmental conditions required to induce preharvest aflatoxin contamination of groundnut: proceedings of the international workshop, 6-9 Oct. 1987, ICRISAT center, India, p.279-287.
- 12- **Czeglédi L. & Gutzwiller A. (2006)** Mycotoxines dans les aliments pour les animaux en Suisse: Revue de littérature. Rev Suisse Agric. ; 38(6) : 329-334.

- 13- **Dimanche P. & Kane A. (2000)** Filière arachide de bouche au Sénégal : Enjeux de la maîtrise de l'aflatoxine. Actes de l'atelier international, Montpellier, France, p4.
- 14- **Delobel A. & Kane A. (1996)** Contamination aflatoxique de l'arachide stockée à la ferme : Relation entre les différents défauts observés sur les graines et l'aflatoxine B₁ ; Keur-Baka, campagne 1996/97.
- 15- **Dickens, J.W. & Whitaker, T.B. (1975)** Efficacy of electronic color sorting and hand picking to remove aflatoxin contaminated kernels from commercial lots of shelled peanuts. *Peanut Sci.*, 2, 45-50.
- 16- **Doner, J/W., Cole, R.J. & Diener, U.L. (1984)** The relationship of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* with reference to production of aflatoxins and cyclopiazonic acid. *Mycopathologia*, 87, 13-15.
- 17- **El Khoury A. (2007)** Champignons mycotoxinogènes et ochratoxine A (OTA) et aflatoxine B₁ dans les vignobles libanais : Occurrence et origine. Thèse doctorale, Toulouse.
- 18- **Ewaskiewicz, J.I., Delvin, T.M. & Chich, J.J. (1991)** The in vivo disposition of aflatoxin B₁ in rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 179, 1095-1100.
- 19- **Feuell, A.J. (1966)** Aflatoxin in groundnuts. IX. Problems of detoxification. *Trop. Sci.*, 8, 61-63.
- 20- **Gouvernement du Sénégal, Avril 2003** Lettre de Politique de Développement de la Filière Arachide.
- 21- **Ibeh, I.N. & Saxena D.K. (1997)** Aflatoxin B₁ and reproduction: I. Reproductive Performance in female Rats. *African Journal of Reproductive and health*, 1(2): 79-84.
- 22- **Kane A., Ndir B., Sarr A.B., Diop N. & Diack T.S. (1991)** Occurrence de l'aflatoxine B₁ dans les denrées alimentaires vendues sur les marchés sénégalais. In : Alimentation et nutrition dans les pays en développement. KARTHALA-ACCT- AUPELF, Paris, 1991, pp 143-148.
- 23- **Kane A., Diack T.S., Gueye M.T. & Beye B. (2009)** Fiche technique d'obtention d'un bon produit dérivé de l'arachide, Fond Européen de Développement COM/Arachide avec le concours de l'ANCAR.

- 24- **Kane A. (1994)** l'aflatoxine dans l'huile brute d'arachide: occurrence et élimination. Communication présentée à la 4^e réunion régionale l'ICRISAT, pour l'Afrique de l'ouest, 29 Nov- 2 Déc ; 1994.
- 25- **Kirksey, J.W., Cole, R.J. & Dorner, J.W. (1989)** Relationship between aflatoxin content and buoyancy in florunner peanuts. *Peanut Sci.*, 16, 48-50.
- 26- **Kouadio A, (2007)** Prévision de la production nationale d'arachide au Sénégal à partir du modèle agro météorologique AMS et ADVI.
- 27- **Kumagai, S. (1989)** Intestinal absorption and excretion of aflatoxin in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 97, 88-97.
- 28- **Kurtzman, C.P., Horn, B.W. & Hesseltine, C.W. (1987)** *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 53, 147158.
- 29- **Lee L.S. ; CUCLLO A.F; France A.O., Jr PONS,W.A., (1965)** Destruction of aflatoxins in peanuts during dry and oil roasting. Symposium on natural food toxicants-J. agric (fd Chem. 1969, 17 (3), 451 – 453.
- 30- **Luter, L., Wyslouzil, W., & Kashyap, S.C. (1982)** The destruction of aflatoxins in peanuts by microwave roasting. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, 15, 236.
- 31- **Mbenghat A, (2012)** Les mycotoxines dans les aliments : Applications à l'analyse des aflatoxines. Mémoire de master chimie biologie.
- 32- **Mikodé H.S. (2011)** Profil de la contamination par l'aflatoxine de l'huile brute d'arachide fabriquée artisanalement au Sénégal. Mémoire de stage de master biotoxico, Dakar, N° 72.
- 33- **Moll M. & Moll N. (2006)** Sécurité alimentaire du consommateur. Paris, éd. Tec et Doc, 2^e éd : pp 123.
- 34- **Moreau C. (1994)** Moisissures toxiques dans l'alimentation. Pologne, Masson et Cie. Pologne, pp 322.
- 35- **Moulé Y. (1977)** Mode d'action des mycotoxines. *Pure et appl. Chem*, 49 : 1733-1736.

- 36- **Müller, N. & Petzinger, E. (1988)** Hepatocellular uptake of aflatoxin B1 by non-ionic diffusion. Inhibition of bile acid transport by interference with membrane lipids. *Biochim. Biophys. Acta*, 938, 334-344
- 37- **Ndong K, (2012)** Quelques données sur la contamination par l'aflatoxine de l'arachide et de ses produits dérivés. Mémoire de stage.
- 38- **OMS, (1979)** Critère d'hygiène de l'environnement. Principes et méthodes d'évaluation de la toxicité des produits chimiques. Partie I, Genève, Organisation Mondiale de la Santé, pp 288.
- 39- **Oswald I.P. (2007)** Effets immunosupresseurs des mycotoxines chez le porc. *Journées Recherche Porcine*, 39 : 419-426.
- 40- **Park, D.L., Lee, L.S., Prince, R.L., & Pohland, A.E. (1988)** Review of decontamination of aflatoxin by ammoniation: Current status and regulation. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 71, 685-702.
- 41- **Patterson, D.SP & Allcroft, R. (1970)** Metabolism of aflatoxin in susceptible and resistant animal species. *Food Cosmet. Toxicol.*, 8, 43-53.
- 42- **Perdrix A., Madon N., Maitre A., Parat S., Mann S. & Clavel T. (1997)** Risques biologiques autres qu'infectueux. *Encycl Méd Chir-Toxico path prof*, 16-080-B-10. pp 6.
- 43- **Phillips, T.D., Clement, B.A. & Park, D.L. (1994)** Approche to reduction of aflatoxins in foods and feeds. In: Eaton D.L. & Groopman, J.D., eds. *The technology of aflatoxins. Human Health, Veterinary and Agricultural significance*. AcademicPress, San Diego, pp 383.
- 44- **Sall A, (1998).**
Recherche et Dosage des aflatoxines dans les pâtes d'arachides alimentaires. Thèse pharm, Dakar, N° 58.
- 45- **Sherk Hanssen A. (1970)** Aflatoxin induced fatal hepatitis? A case report from Uganda. *Arch Environ. Health*, 20, 729-731.
- 46- **Sidibé M. (2003)** « Les Saloum-Saloum à la conquête de la forêt classée de Pata, Casamance, Sénégal: l'arachide comme vecteur d'un espace migratoire ». 304p., Cartes ., ill.
- 47- **Wicklowsky, D.T. & Shotwell, O.L. (1983)** Intrafungal distribution of aflatoxins among conidia and sclerotia of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Can. J. Microbiol.*, 29, 1-5.

- 48- Wild, C.P. & Hall, A.J. (1996)** Epidemiology of mycotoxin-related disease. In: Howard, J.D. & Miller D. eds, the mycota VI: Human and animal relationships. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. Pp213-227.
- 49- Wogan, G.N. & Newberne, P.M. (1967)** Dose-réponse characteristics of aflatoxin B₁ carcinogenesis in the rat. *Cancer Res.*, 27,2370-2376.

EVALUATION DE L'IMPACT DE L'APPLICATION DES BONNES PRATIQUES DE TRANSFORMATION SUR LA TENEUR EN AFLATOXINE DANS LES PÂTES ET FARINES D'ARACHIDE DE FABRICATION ARTISANALE.

RESUME

L'aflatoxine est une mycotoxine issue du métabolisme des champignons du genre *Aspergillus*, notamment *Aspergillus flavus*. Sa présence dans les aliments, surtout les denrées alimentaires en général et les produits à base d'arachide en particulier, pose un problème de santé publique. Dans le cadre d'un projet financé par le Fonds National de Recherche Agricole et Agroalimentaire (FNRAA), l'ITA a organisé des ateliers de sensibilisation des acteurs de la filière de la transformation de l'arachide pour les sensibiliser et les former sur les bonnes pratiques de transformation, en vue de réduire la contamination par l'aflatoxine de leurs produits. Pour évaluer l'impact de cette sensibilisation, vingt prélèvements ont été effectués sur les produits qu'ils ont fabriqués après les ateliers, dont dix portaient sur la pâte et dix sur la farine d'arachide. Parallèlement, dix échantillons de farine et dix échantillons de pâte ont été prélevés au niveau des marchés des mêmes localités. Les résultats d'analyse ont révélé que la teneur moyenne en AFB1 est de 36,87ppb dans les pâtes et 58,67ppb dans les farines pour les échantillons prélevés dans les marchés alors qu'elle baissait à 5,75ppb et 9,96ppb respectivement dans les pâtes et farines d'arachide après la sensibilisation, ce qui correspond à une réduction de 84% et de 83%. Cette baisse obtenue a rendu les produits obtenus après sensibilisation conformes à la norme sénégalaise qui fixe la teneur en AFB1 admissible dans les pâtes d'arachide à 15ppb. Par ailleurs, nous avons constaté que les AFB2, AFG1 et AFG2 sont en proportions minoritaires.

Mots clés: Aflatoxine, pâte et farine d'arachide,

ABSTRACT

Aflatoxin is a mycotoxin resulting from the metabolism of mushrooms of the *Aspergillus* kind, in particular *Aspergillus flavus*. Its presence in the food, especially the foodstuffs in general and the products based on groundnut in particular, poses a problem of public health. Within the framework of a project financed by the National Funds of Agricultural and Agroalimentary Research (FNRAA), the ITA organized workshops of sensitizing of the actors of the die of the transformation of groundnut to sensitize them and form them on the good practices of transformation, in order to reduce the contamination by aflatoxin of their products. To evaluate the impact of this sensitizing, twenty taking away were carried out on the products which they manufactured after the workshops, of which ten related to the paste and ten on the groundnut flour. In parallel, ten samples of flour and ten samples of paste were taken on the level of the markets of the same localities. The results of analysis revealed that the average content of AFB1 is of 36,87ppb in the pastes and 58,67ppb in the flours for the samples taken in the markets whereas it dropped with 5,75ppb and 9,96ppb respectively in the pastes and flours of groundnut after sensitizing, which corresponds to a reduction of 84% and 83%. This fall obtained returned the products obtained after sensitizing in conformity with the Senegalese standard which fixes the content of acceptable AFB1 in the groundnut pastes at 15ppb. In addition, we noted that the AFB2, AFG1 and AFG2 are in minority proportions.

Key words: Aflatoxin, paste and flour of

AUTEUR : Wilfried ZANMENO

BP : 126 Cotonou (BENIN). Téléphone : 0022997930754

Zawil02@yahoo.fr