

Propriétés antifongiques des huiles essentielles de quelques plantes du genre *Aframomum* du Cameroun contre *Aspergillus flavus*

Nadege L. KWAZOU¹, Pierre M. JAZET DONGMO^{1,2*}, Leopold TATSADJIEU NGOUNE³, Modeste L. SAMEZA², Bernadin NDONGSON DONGMO¹, Paul H. AMVAM ZOLLO¹ et Chantal MENU⁴.

¹ENSAI, Université de Ngaoundéré, BP 455, Ngaoundéré, Cameroun, ²Faculté des Sciences, Université de Douala, BP 24157, Douala, Cameroun, ³IUT, Université de Ngaoundéré, BP 455, Ngaoundéré, Cameroun, ⁴UMR 5032 – ENSCM 8, rue de l'Ecole Normale 34296 Montpellier Cedex 5

* Corresponding author : mjazet@yahoo.com, Tel : (237) 99 98 59 27

RESUME

La recherche d'alternatives aux molécules synthétiques dans la lutte contre les moisissures est à l'origine de cette étude. Ainsi, les huiles essentielles (HE) des feuilles et graines de *Aframomum daniellii*, *Aframomum melegueta* et *Aframomum latifolium* et celles des coques de *Aframomum latifolium* du Cameroun ont été extraites par hydrodistillation. Leurs activités antifongiques contre *Aspergillus flavus* ont été évaluées par la méthode d'incorporation en milieu solide. Les résultats révèlent que l'huile essentielle la moins active est représentée par l'huile essentielle des graines de *A. melegueta* et la plus active est représentée par celle des coques de *A. latifolium* à une concentration de 5000 ppm. L'analyse statistique par ANOVA à ($p < 0,05$) montre que les HE des feuilles de *A. melegueta* et des coques de *A. latifolium* sont les plus efficaces. Une comparaison de l'activité de nos HE à celle de deux antifongiques de référence (Amphotéricine B; acide sorbique) relève une activité relativement faible de nos HE excepté celles des feuilles de *A. melegueta* et des coques de *A. latifolium*. On peut conclure que les HE des feuilles de *A. melegueta* et des coques pourraient être utilisées comme conservateurs naturels des aliments contre les *Aspergillus*.

Mots clés : *Aframomum daniellii*, *Aframomum melegueta*, *Aframomum latifolium*, Huile essentielle, composition chimique, *Aspergillus flavus*.

ABSTRACT

The research for alternative in synthetic molecules against molds was the object of this study. Cameroonian essential oils (EO) of leaves and seeds of *Aframomum daniellii*, *Aframomum melegueta* and *Aframomum latifolium* and those of husk of *Aframomum latifolium* were extracted by hydrodistillation. Antifungal activities of these essential oils against *Aspergillus flavus* were evaluated using incorporation method. Results showed that the percentage of inhibition of tested oils varies from 28.06 % to 100% respectively for essential oil of seeds of *A. melegueta* and essential oil of the husk of *A. latifolium* at 5000 ppm. EO of leaves of *A. melegueta* and husk of *A. latifolium* exhibited the most effective inhibition. A comparison of our EOs with two standard fungicides (Amphotericin B, sorbic acid) showed that our oils have relatively low activities. It could be concluded that essential oils of *A. melegueta* leaves and *A. latifolium* husk could be used as natural food preservative against *Aspergillus*.

Keys words: *Aframomum daniellii*, *Aframomum melegueta*, *Aframomum latifolium* essential oil, chemical composition, *Aspergillus flavus*

INTRODUCTION

Les moisissures filamenteuses du genre *Aspergillus* sont connues pour être des contaminants des produits agricoles en stockage ou en champ et/ou pour leur capacité à produire des métabolites secondaires toxiques [1]. Par ailleurs, selon la FAO [2], plus de 25% des récoltes mondiales sont contaminées par les mycotoxines dont la plus dangereuse reconnue pour ses effets tératogènes, mutagènes et cancérigènes demeure l'aflatoxine produite par l'espèce *flavus*. Face aux dangers que ces

moisissures et leurs mycotoxines représentent, les fongicides chimiques sont souvent utilisés [3]. Cependant, ces derniers présentent des limites telles la résistance de l'agent pathogène, la présence de leurs résidus dans l'aliment les aliments et la non dégradation de certaines molécules. Ainsi, on note un regain d'intérêt dans la recherche d'agents antimicrobiens alternatifs naturels. Par ailleurs, il est établi que certaines plantes et leurs dérivés tels que les huiles essentielles possèdent des propriétés antimicrobiennes [4]. Nguefack *et al.* [5] ont montré

que les huiles essentielles de *Ocimum gratissimum*, *Thymus vulgaris* et *Cymbopogon citratus* prolongent la durée de conservation du maïs en empêchant la croissance des germes tels : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* et *Fusarium moniliforme*. Viuda-Martos *et al.*, [6] montrent également que les huiles essentielles des agrumes (orange, lemon, etc..) exercent un effet inhibiteur sur la croissance d' *Aspergillus niger*.

Compte tenu de la richesse de la flore camerounaise, du faible coût d'investissement nécessaire à la production des huiles essentielles, il nous a paru intéressant d'investiguer sur les potentiels conservateur et antifongique des huiles essentielles des graines et des feuilles de trois *Aframomum* à savoir *A. daniellii*, *A. melegueta*, *A. latifolium* couramment utilisées en alimentation à l'état frais ou comme emballage [7] et en médecine traditionnelle comme laxatif [8]. De plus l'huile essentielle des coques de *A. latifolium* a été également testée.

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

Le matériel utilisé dans le cadre de ce travail est constitué :

-Des feuilles et graines de *A. daniellii* et *A. melegueta* récoltées à Bazou (Ouest-Cameroun) en Mai 2007 ;

-Des feuilles et graines de *A. melegueta* récoltées à Bazou (Ouest-Cameroun) en Mai 2007.

-Et enfin des feuilles, graines et coques de *A. latifolium*. récoltées à Ngaoundéré (Adamaoua-Cameroun) en Décembre 2007.

Les différentes espèces végétales récoltées ont fait l'objet d'une identification à l'herbier national du Cameroun selon les codifications ci-après : *A. daniellii*: N°43130/HNC/CAM ; *A. melegueta*: N°25912/SRF/CAM ; *A. latifolium*: N°52536/HNC/CAM

Matériel fongique

Le matériel fongique utilisé dans cette étude est constitué de la souche de *Aspergillus flavus* Lab1 offerte par le laboratoire de microbiologie de l'ENSAI (Université de Ngaoundéré) isolée des arachides, puis conservée dans une gélose inclinée à 4°C.

Extraction des huiles essentielles

Les HE de nos échantillons ont été extraites par la méthode d'hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Avant toute extraction, un pré-traitement adéquat est effectué, les graines sont broyées et les feuilles découpées.

Le matériel végétal ainsi préparé est pesé et introduit dans le réacteur. On y ajoute une quantité d'eau représentant 3 à 5 fois son poids. L'extracteur est effectué pendant 5 heures.

Analyse de la composition chimique

Les huiles essentielles obtenues ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).

Analyse par CPG

Le chromatographe utilisé est de type Varian CP 3380 et équipé d'une colonne apolaire caractérisée par une phase stationnaire de type méthylsilicone (DB5).

Une solution pentanique d'huile essentielle à 10% est préparée, et 0,5 microlitre est introduite en tête de colonne où il est vaporisé au niveau de l'injecteur de type SPLIT. Le détecteur est à ionisation de flamme (FID). Les conditions opératoires sont les suivantes :

température de l'injecteur : 200°C, température du détecteur : 200°C, température du four : 50°C à 200°C avec un gradient de 5°C/min ; le gaz vecteur est l'azote avec un débit de 1 ml/min ; l'enregistreur est de type « Star chromatography workstation » ou « STARWS ».

L'analyse quantitative est effectuée par intégration des mesures des surfaces de pics et les résultats donnés en pourcentages relatifs.

Couplage CPG/SM

L'appareillage de couplage CPG/SM utilisé est de type Hewlett-Packard, type 5970, équipé d'une colonne capillaire en silice fondue avec une phase stationnaire greffée de type DB1. Le détecteur de masse est de type quadrupole, l'énergie d'ionisation utilisée est égale à 70 eV. Les conditions de manipulation sont les suivantes : programmation de température : 70-200° à 10°C/min, température d'injection : 220°C ; débit du gaz vecteur (hélium) est 0,6 ml/min ; volume d'injection : 0,1 microlitre d'une solution d'huile essentielle diluée à 10 % dans l'hexane.

Identification des constituants par les indices de rétention

Pour un composé, on dispose ainsi des données de rétention (correspondant au type de colonne utilisé) et d'un spectre de masse ; la comparaison de l'indice de rétention calculé et du spectre de masse avec les données de la littérature permet en général l'identification de tous les composants usuels. [9]

Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles

La technique d'incorporation à la gélose décrite par De Billerbeck [10] a permis d'évaluer l'activité antifongique de nos huiles essentielles. Cette technique consiste à suivre la croissance mycélienne de disques de culture microbienne,ensemencés au centre des boîtes de pétri contenant le milieu de culture supplémenté par de l'huile essentielle à différentes concentrations. 0, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 ppm. Ce milieu est rendu sélectif aux champignons par l'introduction de deux antibiotiques (streptomycine et chloramphénicol)

Préparation des solutions d'huiles essentielles

Les différentes HE sont mélangées au Tween 20 dans les proportions 1/9 HE-Tween 20, lequel est dilué au 1/10 à l'eau distillée au préalable ; ce tensioactif permet une meilleure diffusion de l'HE dans la gélose. La solution d'HE/Tween 20 obtenue est incorporée au milieu gélosé de manière à obtenir les concentrations désirées. Pour chaque concentration, trois essais ont été effectués.

Le milieu ainsi supplémenté est coulé dans des boîtes de pétri de 90 mm à raison de 20 ml par boîte en ce qui concerne *Aspergillus flavus*. Le repos des boîtes est nécessaire pour la solidification du milieu à 25°C.

Ensemencement

Après solidification du milieu dans les boîtes de Pétri, un disque mycélien obtenu à l'aide d'une pipette pasteur provenant d'une pré culture de 2 jours pour *A. flavus* est déposé au centre de la boîte à l'aide d'une pipette pasteur. L'ensemble est incubé en position renversée à 30°C dans un incubateur. La croissance mycélienne est suivie en mesurant le diamètre du disque mycélien suivant deux droites perpendiculaires au disque. Les mesures se font tous les jours pendant 8 jours, et les essais sont répétés 3 fois.

Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition de la croissance du champignon est calculé par rapport au témoin sans HE (PDA +Tween 20) à partir de la formule suivante

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{dt - de}{dt} \times 100 ;$$

dt (mm) = diamètre de la croissance fongique dans la boîte témoin ;

de (mm) = diamètre de la croissance fongique dans la boîte essai.

Analyse statistique des résultats

L'analyse des variances, le test des comparaisons multiples de Duncan et le calcul des corrélations ont été effectués par le logiciel Statgraphics plus 5.0

RESULTATS

Composition chimique des huiles essentielles,
Les résultats de la composition chimique des huiles essentielles étudiées son réunis dans le tableau 1

Ce tableau montre que nos extraits sont essentiellement riches en monoterpènes, et principalement en monoterpènes hydrocarbonés, excepté l'huile essentielle des feuilles de *A. danielii*.

Tests antifongiques

Les valeurs moyennes des mesures journalières de diamètre de croissance du germe nous ont permis de réaliser les figures de la croissance mycélienne en fonction de la concentration en HE et du nombre de jours d'incubation pour chaque extrait lesquelles nous permettent de voir rapidement l'influence de ces 2 paramètres sur la croissance de la moisissure en fonction de l'HE utilisée.

L'analyse des figures des seules huiles essentielles considérées comme actives montre une augmentation de la croissance mycélienne avec l'augmentation du temps d'incubation. L'analyse statistique montre que le témoin négatif présente une différence significative de croissance mycélienne du 1^{er} au 8^{ème} jour. L'augmentation de la croissance mycélienne des essais est par contre réduite avec l'augmentation de la concentration d'une part et devient non significative dans le temps. De plus le témoin positif (acide ascorbique) montre l'effet inhibiteur le plus marqué avec un effet nul à 3000ppm effet

proche de celui de l'huile essentielle des coques de *A. latifolium* qui montre un effet nul à 5000ppm.

Pour mieux appréhender l'effet antifongique des différentes huiles essentielles au bout de 8 jours, le tableau 2 a été réalisé.

Tableau 1: Composition chimique des huiles essentielles étudiées. [11]

N°	compounds	RI	<i>A. daniellii</i>		<i>A. melegueta</i>		<i>A. latifolium</i>		
			feuilles	graines	feuilles	graines	feuilles	graines	coques
monoterpènes			84,7	83,6	57,1	26,4	93,1	61,6	93,1
monoterpènes hydrocarbonés			78,5	35,9	40,9	8,2	91,6	60,0	68,4
1	α- thujène	928	0,1	-	-	-	-	-	-
2	α -pinène	936	3,9	4,2	6,2	0,6	8,7	8,1	9,1
3	camphène	950	0,1	-	-	-	0,5	-	-
4	sabinène	971	0,4	-	-	-	-	-	-
5	β -pinène	981	17,1	17,8	34,7	-	77,9	-	-
6	myrcène	983	0,2	-	-	-	2,2	50,2	40
	Δ ³ carène	997							1,7
7	α- phellandrène	1002	0,1	-	-	-	-	-	-
8	α -terpinène	1015	0,1	-	-	-	-	-	1,4
9	p-cymène	1022	1,0	1,0	-	0,6	-	-	1,2
10	limonène	1035	53,9	12	-	-	2,3	-	4,0
11	Z-β-ocimène	1039	-	-	-	2,5	-	1,7	6,8
12	E-β-ocimène	1040	0,8	-	-	4,5	-	-	3,7
13	γ-terpinene	1055	0,8	0,9	-	-	-	-	0,5
monoterpènes oxygenés			6,2	47,7	16,2	18,2	1,5	1,6	24,7
14	acétate de 2- heptyle	1031	-	-	-	5,4	-	-	-
15	1,8-cinéole	1035	-	47,7	-	-	-	1,6	-
16	hydrate de sabinène	1063	-	-	-	-	0,4	-	7,1
17	oxyde de linalol	1078	-	-	-	0,7	-	-	-
18	terpinolène	1085	0,9	-	-	-	-	-	-
19	linalol	1088	0,1	-	-	12,1	-	-	2,0
20	citronellal	1137	0,1	-	-	-	-	-	-
21	terpinen-4-ol	1173	0,4	-	1,9	-	-	-	-
22	α -terpinéol		4,2	-	-	-	-	-	-
23	myrténol	1180	-	-	-	-	0,7	-	14,8
24	acétate d'octyle	1194	-	-	-	-	0,4	-	-
25	néral	1228	-	-	-	-	-	-	0,8
26	acétate de bornyle	1233	0,1	-	7,2	-	-	-	-
27	géraniol	1241	0,4	-	-	-	-	-	-
28	acétate de pinyle	1301	-	-	2,5	-	-	-	-
29	acétate de myrtényle	1315	-	-	4,6	-	-	-	-
sesquiterpènes			14,0	12,3	43,0	70,7	-	37,7	5,0
sesquiterpènes hydrocarbonés			13,2	12,3	27,4	66,9	-	37,7	5,0
30	δ-élémane	1341	0,1	-	-	-	-	-	-
31	α-copaène	1388	0,6	0,6	-	-	-	-	-
32	β -élémane	1389	-	0,7	-	-	-	1,3	-
33	β- cubébène	1398	0,7	-	-	-	-	-	-
34	cis α bergamotène		-	-	-	-	-	4,8	0,7
35	β-caryophyllène	1434	1,1	1,1	27,4	19,5	-	12,8	1,9
36	α-guaiène	1448	-	1,3	-	-	5,0	-	-
37	aromadendrène	1449	1,2	-	-	-	-	-	-
38	(Z) -β - farnesène	1458	0,4	-	-	-	-	-	-
39	sativène	1461	0,7	0,7	-	-	-	-	-
40	α-humulène	1469	0,7	0,8	-	47,1	-	10,5	1,4

41	α -muurolène	1477	0,1	-	-	-	-	-	-
41	cis β guaiène	1484	-	-	-	-	-	1,6	-
42	α -gurjunène	1486	0,8	0,8	-	-	-	-	-
43	guaiène	1489	0,7	0,7	-	-	-	-	-
	bicyclogermacrène	1493	-	-	-	-	-	-	0,5
44	trans- β - guaiène	1494	0,4	-	-	-	-	4,1	-
45	γ - selinène	1500	0,8	0,8	-	0,3	-	-	-
46	β - selinène	1510	0,9	0,9	-	-	-	-	-
47	δ - guaiène	1516	1,2	1,3	-	-	-	-	-
48	δ - cadinène	1525	0,3	-	-	-	-	2,6	0,5
49	β -sesqui-phellandrène	1531	-	2,6	-	-	-	-	-
50	cadina 1,4 -diène	1533	2,5	-	-	-	-	-	-
	sesquiterpènes oxygénés		0,8	-	15,6	3,8	-	-	-
51	oxyde de caryophyllène	1596	0,1	-	13,0	1,0	-	-	-
52	oxyde de α -humulène	1620	0,1	-	-	1,8	-	-	-
53	épi- α -muurolol	1634	0,1	-	-	-	-	-	-
54	caryophylladienol	1643	-	-	2,6	1,0	-	-	-
55	cis-calamenen-10-ol	1662	0,2	-	-	-	-	-	-
56	β -bisabolol	1672	0,1	-	-	-	-	-	-
57	cubébol	1507	0,2	-	-	-	-	-	-
	Composés linéaires		0,6	-	-	1,4	1,7	-	-
58	hexanol	886	0,3	-	-	-	-	-	-
59	2- heptanol	889	0,1	-	-	1,4	-	-	-
60	acétate d'octyle	1194	0,2	-	-	-	-	-	-
61	dodécanol	1476	-	-	-	-	1,7	-	-

RI= indices de rétention sur DB-5 colonne

-= non trouvé

Tableau 2 : Pourcentages d'inhibition (%) de tous les extraits et du fongicide de référence sur *Aspergillus flavus*.

Conc (ppm)	<i>A. melegueta</i> (Feuilles)	<i>A. daniellii</i> (Feuilles)	<i>A. latifolium</i> (Feuilles)	<i>A. melegueta</i> (Graines)	<i>A. daniellii</i> (Graines)	<i>A. latifolium</i> (Graines)	<i>A. latifolium</i> (Coques)	Amphoté-ricine B	acide sorbique
1000	43,45±5,29 a,J	9,98±3,05 b, c, J	12,87±0,57 c, J	8,83±1,15 b, c, J	7,29±0,66 b, J	17,29±3,33 d, J	42,3±0,00 a, J		55,57±0,82 e, J
2000	60,18±4,58 a, K	12,68±1,76 b, J	14,22±1,76 b, d, J	23,45±4,36 c, K	18,45±2,40 d, e, K	19,03±0,32 e, c, J	47,29±0,66 f, K	74,99±0,82 g, J	61,05±0,41 a, K
3000	61,72±1,85 a, K	21,14±3,33 b, K	22,49±0,32 b, K	29,60±2,00 c, L	28,06±4,66 c, K	18,45±2,40 b, J	52,30±0,66 d, L	-	100±0,00 e, L
4000	64,22±2,30 a, K	30,37±2,90 b, L	29,99±0,66 b, L	29,20±1,76 b, L	25,18±0,33 c, L	18,06±1,99 d, J	75,95±2,32 e, M	75,87±1,23 e, J	100±0,00 f, L
5000	64,99±2,32 a, K	44,41±1,66 b, M	41,91±1,76 b, M	28,06±0,66 c, L	19,98±0,66 d, L	24,60±0,66 e, K	100±0,00 b, O, N	75,57±1,64 g, J	100±0,00 h, L

Les valeurs portant les mêmes lettres minuscules (a-h) sur la même ligne ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) suivant le test de comparaison multiple de Duncan ;

Les valeurs portant les mêmes lettres majuscules (J-O) sur la même colonne ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$) suivant le test de comparaison multiple de Duncan ;

Les valeurs contenues dans le tableau sont les moyennes des pourcentages d'inhibition des 3 essais

De ce tableau, il ressort que les pourcentages d'inhibition des huiles testées augmentent avec l'augmentation de leur concentration. En effet, pour une concentration donnée les feuilles de *A. melegueta* et des coques de *A. latifolium* présentent les valeurs inhibitrices les plus

élevées. Comparé aux molécules de référence utilisées, seule l'huile essentielle des coques présente un effet inhibiteur comparable à l'acide sorbique et supérieur à l'amphotéricine à 5000ppm.

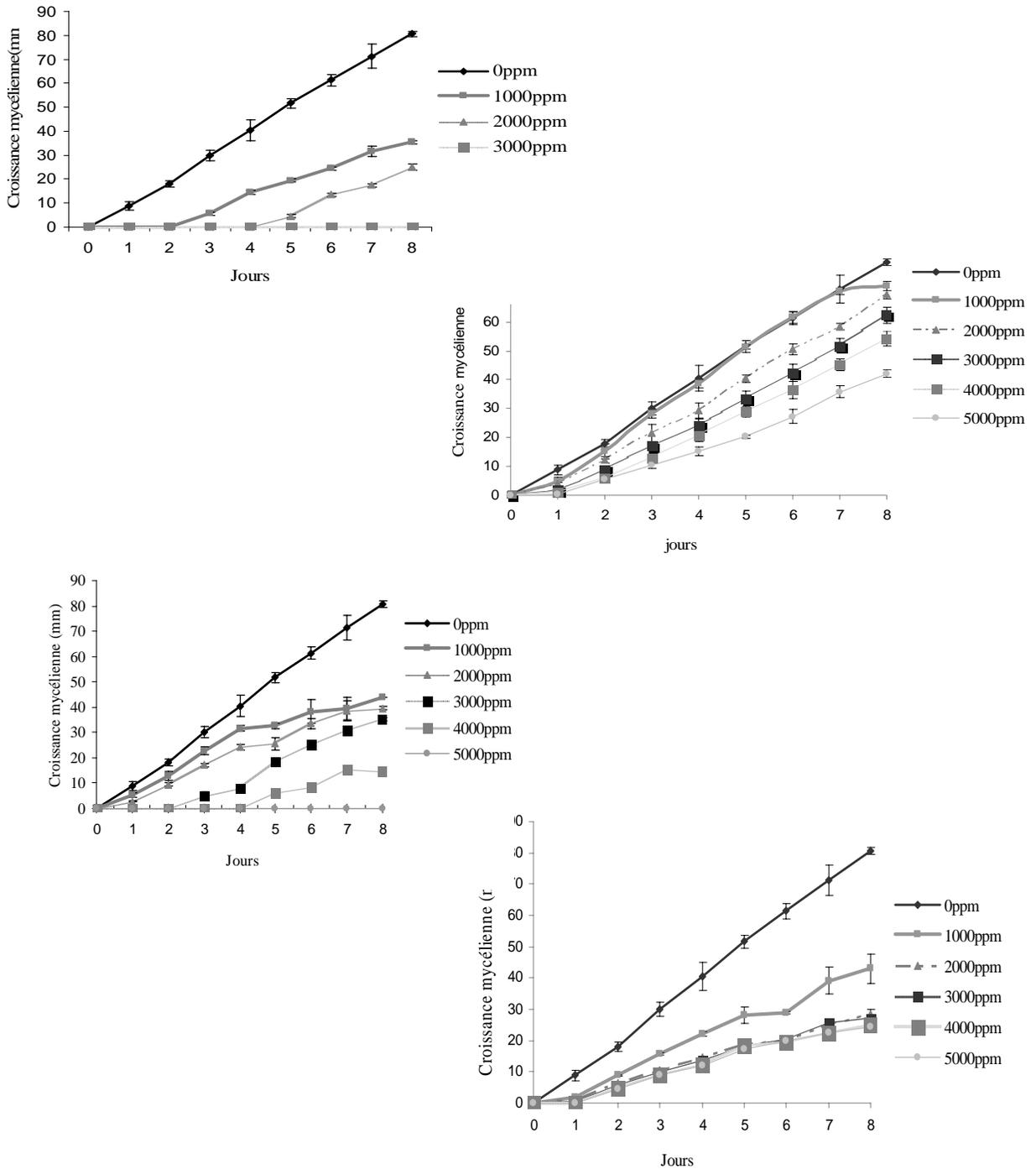


Figure 1 : Croissance mycélienne de *A. flavus* en fonction du nombre de jours et de la concentration comparée au témoin en présence de l'HE : (a) feuilles de *A. melegueta* ; (b) feuilles de *A. daniellii*, (c) coques de *A. latifolium* ; (d) acide sorbique.

DISCUSSION ET CONCLUSION

D'une manière générale, la diminution de la croissance en présence de l'huile essentielle comparée au témoin pourrait s'expliquer par la présence dans ces HE des composés terpéniques à activité antifongique [12]. La concentration minimale inhibitrice trouvée dans le présent travail est différente de celle de Nguefack *et al.* [5] d'une part et de Jazet *et al.* [13] d'autre part qui ont obtenu respectivement avec les HE des rhizomes de *Zingiber officinale* et des feuilles de *Cinnamomum zeylanicum* une croissance nulle de *A. flavus* à des concentrations plus faibles notamment 2500 ppm et 500 ppm. Cette divergence de résultat serait due à une différence dans la composition chimique. En effet, la présence de l'eugénol (composé phénolique) dans les feuilles de *Cinnamomum zeylanicum* justifierait son activité plus élevée sur *A. Flavus* car la nature alcoolique de ce composé favoriserait la rupture membranaire de la cellule fongique du fait de leur nature majoritairement lipidique.

Par ailleurs, l'activité antifongique est comparable à celle de Uribe *et al.* [14] d'une part et Carson *et al.* [15] d'autre part qui ont énoncé que les faibles concentrations en HE de certains citrus (orange, pamplemousse, citron) ont un effet inhibiteur partiel du fait que la respiration est inhibée et la perméabilité des cellules membranaires altérée tandis que des fortes concentrations en HE provoquent des dommages membranaires sévères et une perte d'homéostasie d'où mort cellulaire ou inhibition totale. Nous notons également qu'à 5000 ppm, l'HE des coques de *A. latifolium* exerce une inhibition totale de la croissance radiale (100%) significativement différente ($p < 0,05$) de celle de l'Amphotéricine B (fongicide de référence) avec une valeur de 75,6%. Toutefois, l'acide sorbique se révèle être le fongicide le plus efficace contre *A. flavus* avec un pourcentage d'inhibition de 100% à 3000ppm. La faible activité des HE des graines de *A. daniellii*, de *A. melegueta* et de *A. latifolium* pourrait s'expliquer par un effet antagoniste des différents constituants. En effet, Setzer *et al.* [16] ont montré que l'effet binaire du limonène et du β -pinène réduit fortement l'activité du β -pinène, de même un mélange binaire de l' α -humulène et du β -caryophyllène réduit l'activité inhibitrice de ces deux composés.

En définitive, nos extraits révèlent des activités faibles comparées à celles des molécules de

référence étudiées (amphotéricine B et acide sorbique). On note toutefois que l'HE des coques de *A. latifolium* montre une activité élevée par rapport à Amphotéricine B à 5000 ppm contre *A. flavus*. Ce potentiel antifongique des huiles essentielles des coques lui ouvre des perspectives comme conservateur alimentaire palliant ainsi à l'utilisation des molécules chimiques qui ne sont pas toujours sans effets secondaires néfastes. L'activité supérieure des coques par rapport à l'amphotéricine B lui ouvre une issue éventuelle en application pharmaceutique.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient sincèrement la Fondation Internationale pour la Science (FIS) pour son soutien financier et matériel à travers le projet F/3897-1.

RÉFÉRENCES

1. Meyer A., Deiana J. & Bernard A. 2004. Cours de microbiologie générale. 2^{ème} édition Doin. France
2. FAO. 2001. Safety evaluation of certain mycotoxins in food. Prepared by the 56th meeting of the joint FAO /WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA).FAO food and nutrition paper, Rome, FAO 74. 1-25
3. Bahous M, Ouazzani A., Badoc A., Douira A.. 2006. Persistance d'action et effet trans-laminaire de l'azoxystrobine sur les feuilles de riz. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 145, 19-30
4. Amvam Zollo P.H., Biyiti L, Tchoumboungang F, Menut C, Lamaty G, Bouchet P. 1998. Aromatic plants of tropical Central Africa. Part XXXII. Chemical composition and antifungal activity of thirteen essential oils from aromatic plants of Cameroon. *Flavour and Fragrance Journal*, 13:107-114.
5. Nguefack J., Leth V., Mathur S.B. and Amvam Zollo P.H. 2004. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. *Int J Food Microbiol*, 94 (3): 329-340.
6. Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas J., Fernandez-Lopez., Perez A. J. (2008). Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradise* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food control*, 12 (3):1471-1480.

7. Zapfack L., Ngobo Ngongo M. (1999). *A Participatory Survey and Inventory of Timber and Non Timber Forest Products of the Tikar Plain*. Yaoundé : IR1/CARPE.
8. Tane P., Tatsimo S. D., Ayimele G. A. and Connolly J. D. (2005). Bioactive metabolites from *Aframomum* species. 11th NAPRECA Symposium Book of Proceedings, Antananarivo, Madagascar. PP 214-223.
9. Adams R.P. (2001). Identification of essential oils by gas chromatography quadrupole mass spectrometry. Allured publishing corporation, Carol Stream, USA. 456p.
10. De Billerbeck G. 2000. Activité fongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon nardus* sur *Aspergillus niger*. Evaluation d'un bioréacteur pour l'étude de l'effet inhibiteur des substances volatiles en phase vapeur. Faculté des sciences pharmaceutiques, Institut National Polytechnique de Toulouse 236P.
11. Jazet D.P.M., Fekam B.F., Sameza M.L., Ndongson D.B., Kwazou N.L., Amvam Z. P. H. and Menut C. 2008. Investigations on the essential oils of some *Aframomum* (Zingiberaceae) of Cameroon for its potential use as antioxidant and anti-inflammatory agents, *International Journal of essential oils therapeutics*,
12. Tatsadjieu N. L. (2003). Etude de l'activité inhibitrice des huiles essentielles de quelques épices et plantes aromatiques du Cameroun sur la croissance et la toxigénèse des moisissures du genre *Aspergillus*. Thèse de Doctorat/phD, Ecole Nationale Supérieure des sciences Agro-industrielles, 176p.
13. Jazet D.P.M., Tatsadjieu L. N., Tchoumboungang F., Sameza M., Ndongson D. B., Amvam Z. P. H. and Menut C. 2007. Chemical Composition, Antiradical and Antifungal Activities of Essential Oil of the Leaves of *Cinnamomum zeylanicum* Blume from Cameroon. *Natural Product Communications (NPC)*, 12 (2):1287-1290.
14. Uribe S., Ramirez T., Pena A. 1985. Effects of β -pinene on yeast membrane functions. *Journal of Bacteriology*, 161: 1195-1200.
15. Carson C. F., Me B. J., et Riley T. V. 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46:1914-1920.
16. Setzer W. N., Stokes S. L. , Penton A. F. , Sayaka Takaku , Haber W. A. , Hansell E. , Caffrey C. R. and McKerrow J. H. 2007. Cruzain Inhibitory Activity of Leaf Essential Oil of Neotropical Lauraceae and Essential Oil Components. *Natural Product Communications (NPC)* ; 2 (12):1203-1210.