

Des microorganismes capables de dégrader les mycotoxines: de nouveaux levains pour garantir la qualité sanitaire d'aliments à base de céréales ?

Savoie J-M.¹, Martinez Tuppia C.¹, Richard-Forget F.¹

¹ INRA, UR 1264 Mycologie et Sécurité des Aliments, CS 20032, F-33882 Villenave d'Ornon cedex

Correspondance : jean-michel.savoie@bordeaux.inra.fr

Résumé

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par divers champignons dans les matrices alimentaires et qui ont des effets délétères sur la santé des consommateurs humains ou animaux. Considérant l'importance mondiale de la contamination des céréales par certaines mycotoxines et leur place prépondérante dans l'alimentation, il est primordial de réduire le risque d'exposition des consommateurs. L'une des options prometteuse est la détoxification par des microorganismes, en particulier au cours de procédés fermentaires utilisés dans la préparation d'aliments du bétail ou l'industrie boulangère et la brasserie. Un exposé de travaux récents dans le domaine est présenté. Il souligne le potentiel de la démarche et met en lumière les besoins en recherche et développement pour aboutir à l'utilisation de levains innovants et/ou au contrôle de consortium microbiens fermentaires capables de dégrader les mycotoxines et de garantir ainsi la qualité sanitaire d'aliments à base de céréales.

Mots-clés : Mycotoxines, ensilage, céréales, levains

Abstract: Microorganisms able to degrade mycotoxins: new sourdoughs for the safety of cereal products used as feed or food?

Mycotoxins are secondary metabolites produced by various fungi in food or feed matrices and having deleterious effects on health of human or animals consuming them. Considering the global importance of the contamination of cereals by some mycotoxins and their important place in the diet, it is essential to reduce the risk of consumer exposure. One promising option is detoxification by microorganisms, particularly during fermentation processes used in the preparation of feed or in the baking and beverage industries. Recent inputs in this area are presented. They highlight the potential of the approach and underline the need for research and development to achieve the use of innovative starters and / or control of fermentative microbial consortia capable of degrading mycotoxins and ensuring the safety of cereal derived products.

Keywords: Mycotoxins, silage, cereals, sourdoughs

Introduction

De la fourche à la fourchette ou du champ à la mangeoire, tout au long de la chaîne de production de l'alimentation humaine et animale, différents groupes de champignons sont susceptibles de se développer et de produire des mycotoxines lorsque les conditions environnementales leur sont favorables. Les céréales sont particulièrement concernées avec différentes mycotoxines. Les aflatoxines (AFB), les ochratoxines (OTA), les trichothécènes (TCT), la zéaralénone (ZEN) les fumonisines (FB) et les alcaloïdes de l'ergot, produites par quatre genres fongiques *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, et *Claviceps*, sont les plus importantes. Du fait de leurs conséquences sur la santé des populations humaines et sur les performances des animaux d'élevage, des réglementations

fixant des taux maximaux autorisés ou recommandés et des moyens de contrôle ont été mis en place ces dernières années. Le RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) est un outil de l'Union Européenne permettant un partage d'information sur les risques sanitaires alimentaires entre les états membres et avec l'EFSA. Dans le rapport préliminaire 2014 (RASFF, 2014), le nombre moyen de notifications (résultant d'analyses d'échantillons alimentaires) concernant les mycotoxines dans l'alimentation humaine, représentait 15 % du total en moyenne entre 2011 et 2014, à égalité avec les résidus de pesticides et à la seconde place après les microorganismes pathogènes (20 %). Pour l'alimentation animale, les mycotoxines représentaient 20 % à la seconde place après les microorganismes pathogènes (42 %) et loin devant les autres contaminants. En 2014, les notifications mycotoxines étaient majoritairement représentées par des problèmes d'aflatoxines dans les fruits secs à coques d'importation, mais 1/3, soit 116 notifications, ont concerné des céréales et produits de boulangerie. Malgré les réglementations et les systèmes de contrôle, ces données illustrent l'existence d'un risque sanitaire en Europe qu'il faudrait pouvoir minimiser avant l'utilisation des céréales, et produits dérivés, par les consommateurs finaux. Au niveau global, face à l'importance de la contamination des récoltes mondiales par des mycotoxines, estimée à 25 % par la FAO (2003), et le déficit de denrées pour subvenir aux besoins de la population mondiale, il est nécessaire de trouver des procédés de décontamination pour permettre leur utilisation comme aliments. Ce serait une alternative aux solutions actuelles qui conduisent à la destruction des produits contaminés ou leur utilisation dans des circuits non-alimentaires.

Compte tenu de ce contexte, le développement de procédés de **détoxification ou dégradation des mycotoxines** garantissant l'innocuité des produits céréaliers est un enjeu pour la salubrité et la sécurité alimentaire. Ces procédés peuvent être basés sur des méthodes physiques de détoxification (désactivation thermique, adsorption), ou la dégradation chimique. Cependant, selon le règlement de la Commission Européenne CE n°1881/2006, les denrées alimentaires contenant des mycotoxines ne peuvent être délibérément décontaminées par des traitements chimiques. Jusqu'à présent, il n'existe pas de méthode efficace de décontamination et des mycotoxines persistent le long des procédés industriels. **La détoxification biologique par des microorganismes et/ou enzymes** est cependant une voie prometteuse. Sur la base des travaux existants, nous défendons l'idée que la détoxification biologique est aussi une solution potentielle dans les processus de transformation faisant intervenir des étapes de fermentation, comme lors de la production d'aliments du bétail par ensilages, dans la brasserie, la boulangerie et voir aussi la production de nouveaux aliments fermentés à base de végétaux. La maîtrise de ces procédés de détoxification est cependant complexe et doit s'appuyer sur des connaissances approfondies du fonctionnement des écosystèmes microbiens efficaces.

1. Dégradation des mycotoxines par des microorganismes

Les toxines fongiques étant fréquentes dans certains environnements, divers microorganismes sont confrontés à ces molécules et il est probable que certains aient développé des aptitudes à métaboliser ou transformer ces molécules. Quelques bactéries et levures, ainsi que des champignons, capables de dégrader diverses mycotoxines ont en effet été isolés de populations microbiennes complexes. Certains de ces microorganismes sont issus de systèmes digestifs d'animaux et peuvent potentiellement trouver une application comme complément d'alimentation du bétail. Les autres sources de microorganismes dégradant des mycotoxines sont des sols, des végétaux contaminés par des mycotoxines et des ensilages. Cette aptitude peut être écologiquement utile aux microorganismes pour se protéger des mycotoxines et entrer en compétition avec les champignons mycotoxinogènes. C'est dans ces milieux que l'on cherchera préférentiellement des isolats pouvant être utilisés dans des procédés de décontamination biologique des aliments, avant ingestion par les hommes ou les animaux.

1.1 Isolement de microorganismes dégradants les mycotoxines, cas des Fumonisines

Des microorganismes d'intérêt peuvent être trouvés dans des collections existantes. Dans un criblage de 202 bactéries fermentaires provenant de diverses collections et initialement isolées de produits laitiers et de matières végétales, Niderkorn *et al.* (2007) ont trouvé huit souches de *Lactobacilli* et trois de *Leuconostoc* capables de bio-transformer le ZEN en α -zearalenol moins toxique, mais aucune bactérie n'a été détectée pour la biotransformation des fumonisines.

Souvent, les souches capables de métaboliser des mycotoxines ont été trouvées à partir de travaux d'isolement et de sélection dédiés à cet objectif (Tableau 1). A partir de 21 échantillons de sols, Benedetti *et al.* (1996) ont réalisé un mélange des communautés microbiennes extraites de ces sols. Par cultures successives sur un milieu minimum enrichi avec des fumonisines comme seule source de carbone et d'azote, ils ont obtenu un consortium microbien simplifié capable de métaboliser les fumonisines. Ainsi ils ont finalement isolé 30 souches bactériennes dont une seule s'est révélée capable de dégrader entièrement la fumonisine B1 (FB1) après 1 jour d'incubation à 25°C. Elle est très proche phylogénétiquement de *Delftia amylovorens*, mais l'espèce n'a pas pu être déterminée.

Tableau 1 : Microorganismes connus comme dégradant les Fumonisines et activités impliquées.

	Nom	Milieu d'isolement	Activité impliquée	Référence bibliographique
Bactéries	NCB1492 (<i>Delftia Comamonas</i>)	sols	inconnu	Benedetti <i>et al.</i> , 2006
	ATCC 55552 ou 2412.1	Grains de maïs	Décarboxylation transamination - aminotransferase	Heinl, 2010 - 2011
	<i>Sphingopyxis</i> sp. MTA144	sols	décarboxylation et transamination	Täubel, 2005
	<i>Bacillus</i> spp. S9 S10 S69	Ensilages maïs	dégradation partielle	Camilo <i>et al.</i> , 2000
Levures	<i>Exophiala spinifera</i>	différents organes de maïs	Décarboxylation et déamination oxydative	Duvick <i>et al.</i> , 1999
	<i>Rhinoctadiella atrovirens</i>			

Trois isolats capables de dégrader la Fumonisine B1 en composés non toxiques (ou moins toxiques) ont été isolés à partir de grains de maïs récoltés aux Etats-Unis : une levure *Exophiala spinifera* (ATCC 74269), un champignon ascomycète *Rhinoctadiella atrovirens* (ATCC 74270), et une bactérie indéterminée (ATCC 55552). Des enzymes impliquées dans cette dégradation ont été identifiées et des procédés pour leur production et leur utilisation en nutrition animale, ou leur introduction dans des plantes génétiquement modifiées, ont été brevetés (Duvick *et al.*, 1999). Il a par exemple été tiré de ces travaux une enzyme (nommée fumD) produite par génie génétique qui est capable d'hydrolyser les fumonisines. Récemment, cette enzyme, dénommée FUMzyme®, a reçu une autorisation de l'UE comme additif pour biotransformer spécifiquement et irréversiblement les fumonisines en produits moins toxiques.

L'ensilage est une méthode de conservation de végétaux encore humides pour la nutrition animale qui fait appel à une fermentation lactique anaérobie. Quelques travaux indiquent que des mycotoxines pourraient être dégradées ou fortement adsorbées au cours du processus d'ensilage, donnant une

diminution des teneurs mesurées. A partir d'une collection de 150 microorganismes provenant d'ensilages de maïs brésilien, Camilo *et al.* (2000) ont sélectionné trois bacilles Gram+ et une levure capables, dans des tests *in vitro* en milieu liquide, d'inhiber la croissance de *F. moniliforme* et de faire baisser significativement la concentration en fumonisines mesurables. Dans notre laboratoire, nous avons également pu mettre en évidence une dégradation effective de la fumonisine B1 associée à la production de la fumonisine FB1 hydrolysé (HFB1) au cours de la fermentation dans différents lots d'ensilage de maïs grains humide. Nous avons montré qu'ils contiennent des bactéries ou des levures potentiellement aptes à utiliser la toxine comme source de carbone et azote (Martinez Tuppia *et al.*, travaux en cours de publication).

1.2 Approches globales pour repérer des espèces dégradantes, cas de l'OTA et des fumonisines

La **métagénomique** consiste en l'étude collective d'un ensemble de génomes d'espèces différentes issus d'un même écosystème microbien où peuvent se côtoyer bactéries, levures et moisissures. Il s'agit d'une discipline relativement récente basée sur les technologies de séquençage à haut débit. Elle permet d'une part d'étudier la dynamique des communautés microbiennes et leurs réponses aux fluctuations de l'environnement et d'autre part de développer des approches fonctionnelles, en mettant en évidence des gènes impliqués dans les réponses adaptatives des communautés.

Récemment, Guo *et al.* (2014) ont recherché les effets de la présence d'OTA sur le microbiome intestinal de rats en combinant des approches d'isolement de microorganismes cultivables et de métagénomique basée soit sur l'amplification de l'ARN ribosomique 16S des bactéries, soit avec un séquençage non ciblé du métagénome. Leur but était d'identifier les changements dans la composition taxonomique et génétique du microbiome intestinal après différents temps d'exposition à l'OTA. Ainsi, ils ont observé une diminution de la diversité microbienne, avec une très forte augmentation de l'abondance relative des *Lactobacillus* sp. qui ont été sélectionnés en réponse à l'OTA. L'analyse fonctionnelle des gènes montre une augmentation des gènes liés à la limitation de la génotoxicité de l'OTA, mais pas de gènes connus de dégradation. La diminution des concentrations d'OTA libre dosées en parallèle au cours du temps semble donc plus liée à une absorption sur les cellules des lactobacilles qu'à une hydrolyse effective de l'OTA.

A notre connaissance, il n'y a pas d'étude, publiée, équivalente sur l'effet de la présence de mycotoxines dans des ensilages. Cependant, des changements dans les profils taxonomiques de la communauté bactérienne (après amplification de l'ARN 16S) ont été étudiés au cours du processus d'ensilage d'herbe (Eikmeyer *et al.*, 2013). L'abondance relative des *Lactococcus* sp. diminuait au cours de la fermentation alors que celle des *Proteobacteria* et *Bacteroidetes* augmentait. Lorsque les auteurs perturbaient le système en ajoutant une souche de *Lactobacillus* sp. comme ferment en début d'ensilage, ils observaient une augmentation de l'abondance relative globale des *Lactobacillus* spp. Des travaux en cours dans notre laboratoire sur des ensilages de maïs grain humide (Martinez Tuppia *et al.*, non publié) indiquent que des approches globales de métagénomique permettent de différencier les consortia microbiens présents dans différents ensilages, et en particulier entre un ensilage produisant une forte dégradation de fumonisines et un ensilage moins dégradant. Certaines espèces ou certains genres pourraient être indicateurs de l'aptitude du consortium à dégrader les fumonisines.

Ces exemples d'études récentes de métagénomique illustrent le fait que **la contamination en mycotoxines ou l'introduction d'un inoculum spécifique modifient les communautés microbiennes** dans des processus de fermentation. En augmentant nos connaissances sur ces systèmes, nous pouvons espérer pouvoir diriger leur évolution pour favoriser le développement d'espèces possédant un potentiel d'hydrolyse des mycotoxines et donc de détoxification.

2. Stabilité des mycotoxines pendant le processus de production de pain et autres produits de boulangerie. Cas du DON

Bien que le Règlement CE N°1881/2006 (révisé, CE n° 1126/2007 le 28 septembre 2007), en application depuis le premier octobre 2007, fixe **les teneurs maximales en certaines mycotoxines** dans les céréales et produits céréaliers destinés à l'alimentation humaine (Tableau 2), des lots de céréales contaminés peuvent se retrouver dans les matières premières utilisées par l'industrie boulangère ou les ateliers de transformation liés à des circuits courts. Les teneurs acceptées dans les produits transformés sont plus faibles que celles des matières premières. Par exemple pour le déoxynivalénol (DON), la teneur maximale autorisée dans les farines (750 µg/kg) représente 60 % de celle des grains pour tenir compte de la répartition différentielle des richesses en toxine dans les enveloppes et le corps du grain. De plus, du fait de l'utilisation de divers additifs à la farine, il y a un effet de dilution normal qui est évalué à 30 % dans la norme qui fixe donc un taux maximum dans le pain à 500 µg/kg.

Du fait de ces teneurs autorisées décroissantes au cours de la chaîne de transformation, nous devons donc nous interroger sur la stabilité réelle des mycotoxines pendant le processus de production de pain et autres produits de boulangerie.

Les trichothécènes produits par des *Fusarium* spp. qui affectent les épis des céréales, regroupent plus de 160 mycotoxines que l'on peut retrouver dans le blé, l'orge, le seigle, le riz, le maïs et d'autres plantes. La structure chimique des trichothécènes est relativement stable. Ainsi quand des farines sont contaminées, ces mycotoxines ne sont pas ou peu affectées par les divers procédés mis en œuvre dans l'industrie boulangère. On peut donc les retrouver dans des produits dérivés comme le pain, la farine, les pâtes, ou la bière. **Le déoxynivalénol (DON)**, aussi connu comme la vomitoxine, est le plus répandu des trichothécènes contaminant régulièrement les céréales. (EFSA, 2006). De nombreuses études se sont intéressées à l'occurrence du DON dans les céréales ou les produits issus des céréales, mais les travaux publiés portant sur sa stabilité dans la chaîne de production sont actuellement peu nombreux. Certains montrent une diminution de l'ordre de 50 % dans le produit fini par rapport à la farine, alors que d'autres notent une stabilité ou une augmentation.

Tableau 2 : Teneurs maximales en mycotoxines autorisées dans les produits céréaliers dans l'Union Européenne.

	Toxines				
	Aflatoxine B1	Aflatoxines B1+B2+G1+G3	Ochratoxine A	Déoxynivalénol	Zéaralénone
Céréales brutes autres que le blé dur, l'avoine et le maïs	2,0 (µg/kg)	4,0	5,0	1250	100
Pain, pâtisseries, biscuits, collations aux céréales et céréales pour petit-déjeuner I	2,0	4,0	3,0	500	50

Les travaux expérimentaux de Samar *et al.* (2001) montrent qu'une diminution de la concentration en DON soluble se produit pendant la phase de fermentation activée par l'utilisation de levure. Le pourcentage de réduction de la teneur en DON augmente avec le temps et la température de fermentation. Ainsi en utilisant de la farine contenant autour de 100 µg de DON par kg au cours d'une fermentation de 45 min à 40 °C pour un pain français, ces auteurs ont obtenu une réduction de 40 %. Pour un pain viennois, une perte de 56 % du DON dosable a été obtenue pour une fermentation de 60 min à 50°C. Par contre, avec des températures de fermentation plus conventionnelles (30°C) le DON était plus stable. A l'opposé, Bergamini *et al.* (2010) montrent une augmentation significative de la teneur en DON pendant la fermentation, à la fois à l'échelle pilote et industrielle. Ils attribuent ce résultat

à la libération enzymatique de DON natif qui était sous forme liée dans la matière première et qui est rendu accessible au dosage, par la fermentation. Ces deux exemples soulignent la complexité de la question et la **nécessité de doser les toxines masquées ou complexées** pour bien définir le potentiel de dégradation, libération, ou au contraire complexation, d'un procédé fermentaire.

C'est ce qui a été tenté récemment par Vidal *et al.* (2014a,b) qui ont dosé, en plus du DON, le Deoxynivalenol-3-glucoside (DON-3-G). C'est un métabolite qui peut être produit par les végétaux à partir du DON fongique, réalisant ainsi une détoxification partielle du DON en le conjuguant avec une molécule de glucose. Le DON-3-G est considéré comme une mycotoxine masquée. Il est fortement présent dans le blé, mais il n'est pas stable et peut être converti de nouveau en DON pendant la cuisson des produits de boulangerie ou par des bactéries lactiques (Berthiller *et al.*, 2011 ; De Angelis *et al.*, 2013). Il est donc considéré comme un facteur additionnel contribuant à l'exposition alimentaire au DON (JEFCA, 2010). Dans le cas des travaux de Vidal *et al.* (2014a), la teneur en DON mesurée dans la pâte après fermentation n'était que de 63 à 88 % celle de la farine utilisée. Cependant, compte tenu des divers ingrédients mélangés avant le pétrissage, la farine ne représente que 60% des composants de la pâte, et les teneurs relatives en DON devraient se situer autour de cette valeur s'il n'y avait pas d'effet de la fermentation. Ainsi une augmentation de concentration en DON a été obtenue dans certains échantillons par une fermentation à température standard (30°C) pendant 1 h, ce qui confirme les résultats d'autres études. Dans le même temps, la concentration en DON-3-G augmentait aussi de 10 à 20 %. L'enrichissement en DON dosable n'était donc apparemment pas dû seulement à une dé-glycosylation du DON-3-G par l'activité microbienne. Parallèlement, les activités enzymatiques microbiennes ont dû permettre de rendre accessible au dosage du DON et du DON-3-G complexés dans la matrice et qui n'avaient pas été extraits lors des analyses sur les échantillons de farine. L'activité microbienne peut aussi avoir été responsable d'une partie de l'augmentation de la teneur en DON-3-G par glycosylation du DON.

Donc au-delà des mycotoxines masquées sous formes conjuguées, il faut aussi pouvoir prendre en compte les toxines incorporées à la matrice végétale et qui peuvent potentiellement être libérées par des activités microbiennes ou des facteurs physico-chimique. **Des méthodes d'extractions des toxines qui soient le plus exhaustives possible doivent être développées** pour réaliser des bilans de transformation du DON au cours des processus de fermentation. Elles permettront de prendre en compte les toxines fortement liées et masquées par la matrice.

Les études présentées ci-dessus utilisaient des levures de boulangerie pures, *Saccharomyces cerevisiae*. Ces dernières années, l'utilisation de **levains naturels** reçoit un regain d'intérêt en lien avec la valeur ajoutée fournie par les produits à image traditionnelle. Ce levain est un écosystème complexe dans lequel des levures et des bactéries lactiques contribuent à la levée de la pâte à pain. Dans un levain mature, le ratio bactéries lactiques (*Leuconostoc* sp., *Lactobacillus sakei*, *L. lactis*, *L. plantarum*,...) sur levures (essentiellement *S. cerevisiae*) est de 100/1 (Ercolini *et al.*, 2013). Etant constitué sur une base de farine, il peut être une source d'apport supplémentaire de DON. En utilisant du levain, Vidal *et al.* (2014b) ont montré que la concentration en DON est affectée pendant le pétrissage et la fermentation (30°C, 1h), mais de façon variable en fonction du levain et du niveau de contamination initiale de la farine. Le DON-3-G avait tendance à augmenter, mais les teneurs mesurées étaient souvent proches des limites de détection. Les augmentations du DON et DON-3-G peuvent être attribuées en partie au métabolisme des bactéries qui seraient capables de transformer des précurseurs de DON présents en DON ou de libérer du DON et du DON-3-G liés à la matrice. De la même façon la **diminution de DON observée dans certains échantillons peut être attribuée à l'activité métabolique du consortium microbien** apporté par le levain.

Dans la même optique de diversification des produits de boulangerie et de demande de produits traditionnels et de bonne qualité nutritionnelle, le pain au son et le pain complet sont de plus en plus demandés par les consommateurs. Or, le son et le germe sont les parties les plus riches en mycotoxines. 42 % des échantillons de son vendus comme complément alimentaire en Espagne qui ont

été analysés par Vidal *et al.* (2013) contenaient du DON et 19% dépassaient les teneurs réglementaires. Cependant, l'ajout de son dans diverses préparations à base de levain ne modifiait pas l'évolution du DON (Vidal *et al.*, 2014b). Le germe étant connu pour contenir des antifongiques naturels, il pourrait affecter l'évolution du DON due à l'activité des levures. Dans l'étude de Gimenez *et al.* (2014), l'enrichissement avec 15 % de germe de blé a induit une augmentation de 3.5 % de la teneur en DON pendant une fermentation de 90 min à 30°C avec *S. cerevisiae*, alors que le DON a été réduit de façon négligeable (2.1 %) dans le témoin non supplémenté. Cet effet négatif du germe de blé est donc relativement faible.

Finalement, la description du comportement du DON pendant la fermentation et la levée de la pâte à pain est difficile car des modifications physico-chimiques complexes se produisent sous l'effet des activités microbiennes. Nous avons vu que l'accès au DON pour son dosage est un élément primordial pour évaluer la transformation réelle de cette mycotoxine. Une autre voie pour aborder la question est l'élucidation des **mécanismes et réactions de dégradation** (Figure 1), et l'identification de gènes codant pour des enzymes impliquées dans ces réactions. Cela aidera à trouver plus facilement des espèces microbiennes possédant un potentiel de dégradation ainsi que d'identifier ce potentiel dans les métagénomiques qui peuvent être trouvés dans différentes matrices (Karlovsy, 2011). Cette approche par recherche et détection d'activités enzymatiques ou de gènes spécifiques n'en est qu'à son début, mais elle mérite d'être travaillée car elle offre de grandes opportunités.

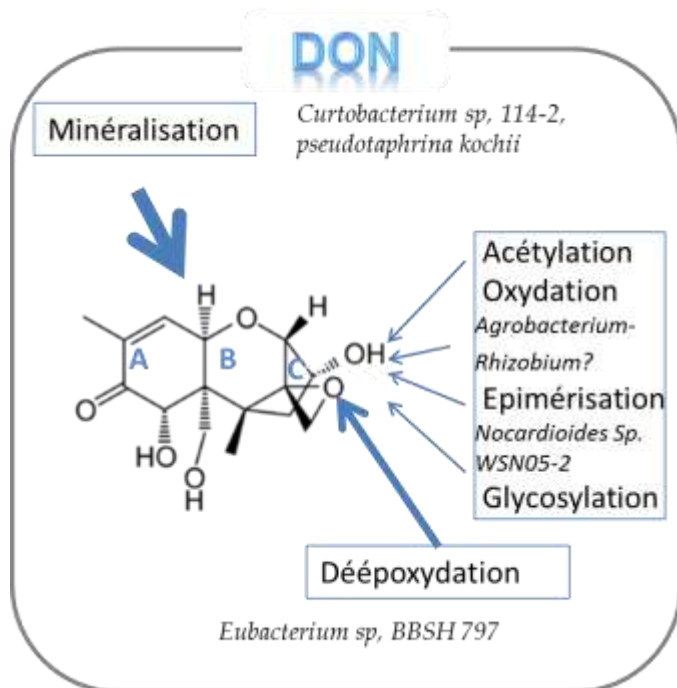


Figure 1 : Différentes réactions de dégradation du DON (d'après (Karlovsy, 2011) et quelques microorganismes identifiés comme pouvant réaliser ces réactions.

3. Vers le développement de levains dégradant les mycotoxines

Dans une revue sur les bactéries lactiques de levains qui pourraient être utilisées comme agents de contrôle des mycotoxines, Hassan *et al.* (2015) constatent qu'il existe divers exemples de bactéries lactiques issues de différents milieux, mais très peu d'études concernent les bactéries des levains. De plus, la propriété principalement mise en évidence chez ces bactéries est l'adsorption des mycotoxines plutôt qu'une dégradation enzymatique irréversible (Hassan et Bullerman, 2013). Cependant, l'exposé de travaux de recherches récents qui précède a souligné, d'une part, qu'il est possible de trouver dans différents environnements des microorganismes, en particulier **des bactéries lactiques et des levures, capables de dégrader les divers mycotoxines** que l'on peut rencontrer dans les céréales, et, d'autre part, que la transformation des mycotoxines et l'évolution de leurs teneurs lors des processus fermentaires que sont les ensilages ou la levée de pâtes à pain sont un phénomène complexe et

variable qui peut dépendre de la qualité de la matrice, des conditions physico-chimiques de fermentation, et des microorganismes fermentaires présents. Ces facteurs qui affectent le devenir d'une mycotoxine sont également des cibles sur lesquelles nous pouvons agir pour contrôler le phénomène et le diriger dans le sens souhaité, à savoir une diminution des teneurs en mycotoxines. Pour atteindre cet objectif, le passage par plusieurs étapes de recherche et développement est nécessaire.

La première étape consiste en la **mise en évidence certaine de la dégradation des mycotoxines** dans certains échantillons. La qualité de la matrice et les modifications de ses propriétés physico-chimiques, apportées par les divers additifs utilisés ou les activités enzymatiques microbiennes, interviennent comme facteurs de masquage ou de libération de mycotoxines présentes dans les matières premières. Pour pouvoir doser toutes les mycotoxines présentes, qu'elles soient libres, conjuguées ou adsorbées à la matrice, les méthodes standard ne sont pas suffisantes. Des modifications de la matrice (de type hydrolyse) doivent être pratiquées pour libérer les toxines et l'analyse des différentes formes conjuguées doit être réalisée. Une alternative, pour mettre en évidence une activité de transformation d'une mycotoxine, est de caractériser ses métabolites de dégradation, et de pouvoir les doser, s'ils s'accumulent en quantité suffisante. Des travaux en cours dans notre laboratoire, appliqués à la dégradation de la fumonisine B1 ont permis de pointer l'intérêt de cette approche, mais aussi les difficultés de sa mise en œuvre.

La seconde étape est l'**identification de consortia microbiens ou d'isolats spécifiques associés à l'activité de dégradation** dans les échantillons montrant une réelle dégradation des mycotoxines. Les techniques de séquençage à haut débit permettant d'étudier les aspects taxonomiques et fonctionnels de métagénomés, combinées à des approches d'isolement de microorganismes sélectionnés pour leur activité spécifique, ouvrent de nouvelles perspectives. Il est envisageable d'obtenir des marqueurs moléculaires, fonctionnels ou taxonomiques, permettant de caractériser le potentiel de dégradation d'un levain et de suivre la persistance de ce potentiel au cours du temps. Par ailleurs, si des bactéries lactiques et des levures cultivables actives sont isolées de levains ou ensilages ayant montré leur activité de dégradation, leur introduction dans des consortia existants, et leur installation, devraient permettre de garantir un potentiel de dégradation des mycotoxines.

La définition des **conditions optimales d'expression des potentiels de dégradation** constitue la troisième étape. Température, pH, activité de l'eau et temps nécessaire sont les premiers facteurs à prendre en compte. Les conditions finalement définies resteront bien sûr compatibles avec les exigences de qualité technologique, organoleptique et nutritionnelle du produit fini.

La quatrième étape renvoie à la **nécessité de contrôles toxicologiques**. Les produits de dégradation s'accumulant éventuellement à la fin du processus fermentaire se doivent d'être non ou moins toxiques que les mycotoxines initiales, et de ne pas être instables pendant la phase de cuisson.

Le développement de nouveaux levains ou ferments capables de dégrader les mycotoxines pour garantir la qualité sanitaire des produits de boulangerie, ou d'alimentation animale, n'est envisageable dans un premier temps qu'à travers des études focalisées sur une toxine ou famille de toxines. Mais il est évident qu'à plus long terme, il faudra envisager de pouvoir agir sur plusieurs toxines en parallèle.

Conclusions

La dégradation microbienne est une option prometteuse pour contrôler les mycotoxines de l'alimentation animale et humaine. Cette biotransformation peut être obtenue par l'utilisation d'enzymes dégradant des mycotoxines, ou des microorganismes produisant de telles enzymes, au cours de fermentations contrôlées, comme l'ensilage pour l'alimentation du bétail, les levains de l'industrie boulangère, ou en brasserie. A défaut d'une minéralisation complète, elle doit permettre d'obtenir des métabolites non toxiques ou moins toxiques que les molécules mères. Suivant les toxines, les réactions de biotransformation incluent entre autres des acétylations, des glycosylations, des ouvertures de

cycles, des hydrolyses diverses, des déaminations et des décarboxylations. L'exploitation de la biotransformation des mycotoxines pour contribuer à garantir la qualité sanitaire des produits alimentaires offre divers avantages comme son efficacité, la spécificité d'action et les possibilités d'application au cours de procédés fermentaires mis en œuvre dans les industries alimentaires.

Références bibliographiques

- Benedetti R., Nazzi F., Locci R., Firrao G., 2006. Degradation of fumonisin B1 by a bacterial strain isolated from soil. *Biodegradation* 17, 31–38
- Bergamini E., Catellani D., Dall'Asta C., Galaverna G., Dossena A., Marchelli R., Suman M., 2010. Fate of *Fusarium* mycotoxins in cereal product supply chain: the DON case within industrial bread-making technology. *Food Additives and Contaminants* 27, 677-687.
- Berthiller F., Krska R., Domig K.J., Kneifel W., Juge N., Schuhmache, R., Adam G., 2011. Hydrolytic fate of deoxynivalenol-3-glucoside during digestion. *Toxicology Letters* 206, 264–267.
- Camilo S.B., Ono C.J., Ueno Y., Hirooka E.Y., 2000. Anti-*Fusarium moniliforme* activity and fumonisin biodegradation by corn and silage microflora. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, 43, 159–64.
- De Angelis E., Monaci L., Pascale M., Visconti A., 2013. Fate of deoxynivalenol, T-2 and HT-2 toxins and their glucoside conjugates from flour to bread: an investigation by high-performance liquid chromatography high-resolution mass spectrometry. *Food Additives & Contaminants* 30, 345–355.
- Duvick J.P., Maddox J., Gilliam J., Folkerts O., Crasta O.R., 1999. Compositions and methods for fumonisin detoxification. Brevet WO1999US15824 19990714.
- Eikmeyer F.G., Köfinger P., Poschenel A., Jünemann S., Zakrzewski M., Heini S., Mayrhuber E., Grabherr R., Pühler A., Schwab H., Schlüter A., 2013. Metagenome analyses reveal the influence of the inoculant *Lactobacillus buchneri* CD034 on the microbial community involved in grass silaging. *Journal of Biotechnology* 167, 334–343.
- Ercolini D., Pontonio E., De Filippis F., Minervini F., La Stora A., Gobbetti M., Di Cagno R., 2013. Microbial ecology dynamics during rye and wheat sourdough preparation. *Applied and Environmental Microbiology* 79, 7827–7836.
- European Food Safety Authority (EFSA), 2006. Deoxynivalenol in food and feed: occurrence and exposure. *EFSA Journal* 11, 3379.
- Food and Agriculture Organization of the United Nation, 1996. Basic facts of the world cereal situation, *Food Outlook*. No 5/6.
- Giménez I., Blesa J., Herrera M., Ariño A., 2014. Effects of bread making and wheat germ addition on the natural deoxynivalenol content in bread. *Toxins* 6, 394-401.
- Grosjean F., Cabon G., Morel A., Taillet D., 2009. Devenir des fusariotoxines dans l'ensilage de maïs. Colloque Fusariotoxines des Céréales – Arcachon - 11–13 septembre 2007. <http://www.symposcience.org/exl-doc/colloque/ART-00002156.pdf>
- Guo M., Huang K., Chen S., Qi X., He X., Cheng WH., Luo Y., Xia K., Xu W., 2014. Combination of metagenomics and culture-based methods to study the interaction between ochratoxin A and gut microbiota. *Toxicological Sciences* 141, 314-23.
- Hassan Y.I., Bullerman L.B., 2013. Cell-surface binding of Deoxynivalenol to *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* isolated from sourdough starter culture. *Journal of Microbiology, Biotchnology and Food Sciences* 2, 2323-2325.
- Hassan Y.I., Zhou T., Bullerman L.B., 2015. Sourdough lactic acid bacteria as antifungal and mycotoxin-controlling agents. *Food Science and Technology International*, pp. 1-12. doi : 10.1177/1082013214565722

Heinl S., Hartinger D., Thamhesl M., Vekiruc E., Krskac R., Schatzmayr G., Mollb W-D, Grabherr R., 2010. Degradation of fumonisin B1 by the consecutive action of two bacterial enzymes. *Journal of Biotechnology* 145, 120–129.

JEFCA, 2010. WHO Technical Report Series 959: JEFCA, 2010: Seventy-second Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: Evaluation of Certain Contaminants in Food. WHO Technical Report Series. 959.

Manuel d'application du système d'analyse des risques – points critiques pour leur maîtrise (HACCP) pour la prévention et le contrôle des mycotoxines. *Etude FAO alimentation et nutrition* 73. 2003. ISBN 92-5-204611-9. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y1390F/y1390F00.pdf>.

Niderkorn V., Morgavi D.P., Pujos E., Tissandier A., Boudra H., 2007. Screening of fermentative bacteria for their ability to bind and biotransform deoxynivalenol, zearalenone and fumonisins in an in vitro model simulating corn silage. *Food Additives and Contaminants* 24, 406-415.

RASFF preliminary report, 2014. http://ec.europa.eu/food/safety/rasff/docs/rasff_preliminary_annual_report_2014_en.pdf

Samar M.M., Neirat M., Resnik S.L., Pacin A., 2001. Effect of fermentation on naturally occurring deoxynivalenol (DON) in Argentinean bread processing technology. *Food Additives and Contaminants* 18, 1004-1010.

Täubel M., 2005. Isolierung und Charakterisierung von Mikroorganismen zur biologischen Inaktivierung von Fumonisin. Doctoral Thesis. University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Austria.

Vidal A., Marín S., Ramos A.J., Cano-Sanch, G., Sanchis V., 2013. Determination of aflatoxins, deoxynivalenol, ochratoxin A and zearalenone in wheat and oat based bran supplements sold in the Spanish market. *Food & Chemical Toxicology* 53, 133–138.

Vidal A., Morales H., Sanchis V., Ramos A.J., Marín S., 2014a. Stability of DON and OTA during the breadmaking process and determination of process and performance criteria. *Food Control* 40, 234–242.

Vidal A., Marín S., Morales H., Ramos A.J., Sanchis V., 2014b. The fate of deoxynivalenol and ochratoxin A during the bread making process, effects of sourdough use and bran content. *Food and Chemical Toxicology* 68, 53–60.

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0)



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « *Innovations Agronomiques* », la date de sa publication, et son URL)