

AVIS
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une endo-bêta-glucanase issue d'une souche de *Geosmithia emersonii* non génétiquement modifiée pour la brasserie, l'amidonnerie, la production de sirops de glucose et l'industrie de l'alcool potable

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Anses a été saisie le 9 septembre 2011 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) pour la réalisation de l'expertise suivante : Demande d'avis relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une endo-bêta-glucanase issue d'une souche de *Geosmithia emersonii* non génétiquement modifiée pour la brasserie, l'amidonnerie, la production de sirops de glucose et l'industrie de l'alcool potable.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Ce dossier entre dans le cadre du décret du 10 mai 2011¹ fixant les conditions d'autorisation et d'utilisation des auxiliaires technologiques pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine.

Après consultation du CES « Biotechnologie », réuni le 17 novembre 2011, l'Anses a effectué une demande de compléments d'information auprès de la DGCCRF, le 8 décembre 2011. Le 8 février 2012, l'Anses a reçu des éléments de réponse permettant de poursuivre l'expertise.

¹ Décret n° 2011-529 du 10 mai 2011 fixant les conditions d'autorisation et d'utilisation des auxiliaires technologiques pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisé (CES) « Biotechnologie », réuni les 17 novembre 2011 et 16 février 2012, sur la base de 6 rapports d'expertise.

Selon l'article 1 de l'arrêté du 7 mars 2011², le dossier doit être établi selon le guide³ de l'EFSA pour la soumission d'un dossier sur les enzymes alimentaires.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

3.1 Identité de l'enzyme alimentaire⁴

L'enzyme alimentaire présente deux activités endo-bêta-glucanase distinctes. Ces endo-bêta-glucanases (endo-1,3 (4)-bêta-glucanase, E.C. 3.2.1.6, CAS 62213-14-3) hydrolysent les liaisons O-glycosyliques, plus précisément les liaisons (1-3) ou (1-4) des β -D-glucanes, lorsque le groupe réducteur des résidus de glucose impliqué dans la liaison à hydrolyser est lui-même substitué en position C-3 (par exemple dans les bêta-glucanes des céréales). Cette enzyme appartient à la famille des glycosidases.

Une unité (U) d'activité de l'endo-bêta-glucanase est définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour libérer à partir de bêta-glucanes d'orge, l'équivalent en sucres réducteurs, de 1 μ mol de glucose, par minute à pH 5 et à 50 °C.

Les caractéristiques de l'enzyme alimentaire sont décrites. Les solides organiques totaux (TOS⁵) sont calculés selon la formule $TOS = 100 \% - \text{humidité} - \text{cendres} - \text{diluants} - \text{stabilisants}$. La formulation finale de l'endo-bêta-glucanase présente une activité de 5782 U/g avec un TOS de 1,68 % (p/p).

Des activités secondaires sont indiquées par le pétitionnaire (cellulase, xylanase) ; ces enzymes présentent une activité hydrolytique qui complète l'activité enzymatique principale.

² Arrêté du 7 mars 2011 relatif aux lignes directrices pour la constitution des dossiers de demande d'autorisation d'emploi d'auxiliaires technologiques en alimentation humaine

³ Guidance of EFSA prepared by the Scientific Panel of Food Contact Material, Enzymes, Flavourings and Processing Aids on the Submission of a Dossier on Food Enzymes. *The EFSA Journal* (2009) 1305, 1-26

⁴ Définition dans le Règlement (CE) 1332/2008 du parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 : *produit obtenu à partir de plantes, d'animaux ou de micro-organismes ou de produits dérivés, y compris un produit obtenu par un procédé de fermentation à l'aide de micro-organismes qui contient une ou plusieurs enzymes capables de catalyser une réaction biochimique spécifique et qui est ajouté à des denrées alimentaires à des fins technologiques à toute étape de leur fabrication, transformation, préparation, traitement, conditionnement, transport ou entreposage.*

⁵ Total Organic Solids

Les critères de pureté chimique et biologique de la préparation enzymatique répondent aux exigences de l'arrêté du 19 octobre 2006 modifié⁶. La recherche de la souche de production et d'activité antibactérienne est négative dans l'enzyme alimentaire.

3.2 Organisme de production et procédé de fabrication

3.2.1 Organisme de production

La souche de production de la préparation enzymatique est la souche de *Geosmithia emersonii* BWW1016.2 non génétiquement modifiée, sélectionnée après mutagenèse classique. Cette souche est déjà destinée à la production d'endo-bêta-glucanase utilisée en tant qu'additif zootechnique pour l'alimentation animale.

Une revue de la littérature sur *Geosmithia emersonii* conclut que cette espèce serait non-pathogène. *Geosmithia emersonii* est capable de produire des spores.

Une revue de la littérature complétée par la recherche des mycotoxines principales à partir de 5 souches différentes de *Geosmithia emersonii* conclut que cette espèce n'est pas toxigène.

La stabilité de la souche de *Geosmithia emersonii* BWW1016.2 a été établie.

3.2.2 Procédé de fabrication

Le procédé de production de la préparation enzymatique est un procédé de fermentation aérobie confiné, suivie d'étapes de filtrations, concentration par ultrafiltration et standardisation de l'enzyme. Les additifs et auxiliaires technologiques utilisés dans cette production sont indiqués et leur sécurité documentée.

L'enzyme alimentaire est produite selon les Bonnes Pratiques de Fabrication pour la production d'enzyme alimentaire d'origine microbienne⁷. L'usine de production est certifiée à la norme ISO 9001 : 2008 et possède un plan HACCP. Les matières premières utilisées sont de qualité alimentaire.

3.3 Réaction et devenir dans les denrées alimentaires

Les produits de la réaction de l'endo-bêta-glucanase sont des oligosaccharides naturels de type cellobiose, cellotriose et glucose. L'endo-bêta-glucanase est inactivée au cours d'étapes de fabrication des denrées alimentaires revendiquées, dans les conditions recommandées par le pétitionnaire.

3.4 Utilité technologique et conditions d'utilisation proposées

L'enzyme alimentaire serait un auxiliaire technologique destiné à la brasserie, l'amidonnerie, la production de sirops de glucose et l'industrie de l'alcool potable.

Les conditions d'utilisation de l'enzyme alimentaire dans les denrées alimentaires revendiquées sont présentées par le pétitionnaire.

⁶Arrêté du 19 octobre 2006 modifié relatif à l'emploi d'auxiliaires technologiques dans la fabrication de certaines denrées alimentaires

⁷ Good manufacturing practice in microbial food enzyme production.

3.5 Exposition alimentaire

La marge de sécurité calculée est de 320 selon la méthode du Budget⁸, méthode maximaliste en considérant que le huitième des denrées solides (6,25 g/kg p.c.) et le quart des denrées liquides (25 ml/kg p.c.) consommées quotidiennement par la population générale⁹ est traitée par l'enzyme à la dose maximale recommandée et que l'activité enzymatique est conservée intégralement dans les denrées.

3.6 Données toxicologiques

Toutes les études de toxicité ont été réalisées selon les lignes directrices internationales de l'OCDE¹⁰ et en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

Le test de toxicité orale aiguë par gavage (administration unique) à la dose maximale de 2 g d'enzyme alimentaire/kg de poids corporel chez le Rat n'a révélé aucun effet néfaste.

L'étude de toxicité orale sub-chronique pendant 90 jours chez le Rat conclut à une NOAEL¹¹ de 2 g d'enzyme alimentaire/kg de poids corporel/jour soit 69 mg TOS¹²/kg de poids corporel/jour, correspondant à la dose la plus forte testée.

L'étude de mutagénicité *in vitro* (test d'Ames sur quatre souches de *Salmonella typhimurium* histidine dépendante) n'a révélé aucune augmentation du nombre de révertants en présence de l'enzyme alimentaire et donc aucun effet mutagène. Le test d'aberrations chromosomiques sur des lymphocytes périphériques humains, en culture, n'a pas mis en évidence d'effet clastogène de l'enzyme alimentaire. Ces deux tests montrent que l'enzyme alimentaire n'est pas génotoxique.

3.7 Allergénicité

La comparaison de séquences de l'endo-bêta-glucanase de *Talaromyces emersonii* avec les séquences d'allergènes et de toxines connus selon les deux protocoles (recherche d'une identité supérieure à 35 % sur les différents blocs de 80 acides aminés ou une identité sur 8 acides aminés contigus) n'a révélée aucune homologie.

3.8 Conclusion du CES

Le Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie » estime que l'emploi d'une endo-bêta-glucanase issue de la souche de *Geosmithia emersonii* non génétiquement modifiée BWW1016.2, pour la brasserie, l'amidonnerie, la production de sirops de glucose et l'industrie de l'alcool potable ne présente pas de risque sanitaire pour le consommateur, dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire.

⁸ FAO/WHO (2009). Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food: Chapter 6. Dietary exposure assessment of chemicals in food. Environmental health criteria 240, World Health Organization 2009. http://whqlibdoc.who.int/ehc/WHO_EHC_240_9_eng_chapter6.pdf

⁹ Les niveaux de consommation alimentaire utilisés sont les niveaux de consommation physiologiques maximaux, c'est-à-dire une consommation quotidienne de 0,1 l/kg p.c. de boissons (en dehors du lait) et de 50 g/kg p.c. de denrées alimentaires solides. Pour une personne de 60 kg, ces niveaux correspondent à une consommation quotidienne de 6 l de boissons (en dehors du lait) et de 3 kg de denrées alimentaires solides.

¹⁰ Organisation de Coopération et de Développement Economiques

¹¹ No Observed Adverse Effect Level

¹² Total Organic Solids

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail estime que l'emploi d'une endo-bêta-glucanase issue de la souche de *Geosmithia emersonii* non génétiquement modifiée BWW1016.2, pour la brasserie, l'amidonnerie, la production de sirops de glucose et l'industrie de l'alcool potable ne présente pas de risque sanitaire pour le consommateur, dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire.

L'Anses rend donc un avis favorable à cette demande.

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

Enzyme, auxiliaire technologique, bêta-glucanase, *Geosmithia emersonii*, *Talaromyces emersonii*, amidonnerie, brasserie, production de sirop, alcool potable.