

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 lipase immobilisée
issue d'une souche de *Rhizopus niveus* non génétiquement modifiée
pour l'industrie des huiles et graisses alimentaires**

1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a été saisie le 12 juillet 2010 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relatif à une demande d'autorisation d'emploi d'une lipase immobilisée issue d'une souche de *Rhizopus niveus* non génétiquement modifiée pour l'industrie des huiles et graisses alimentaires.

2. METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisé (CES) « Biotechnologie » réuni le 21 octobre 2010.

Ce dossier entre dans le cadre du décret du 31 juillet 2001 relatif aux auxiliaires technologiques pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine et doit être établi selon le guide pour la constitution d'un dossier relatif à l'emploi de préparations enzymatiques en alimentation humaine (Afssa, 26 septembre 2003).

3. ARGUMENTAIRE

L'argumentaire de l'Afssa est fondé sur l'avis du Comité d'experts spécialisé « Biotechnologie » dont les éléments sont présentés ci-dessous :

3.1 Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action

3.1.1 Activité enzymatique principale

L'enzyme est une lipase (triacylglycérol lipase, EC 3.1.1.3, CAS 9001-62-1). Elle catalyse la libération des acides gras en positions 1- et 3- des glycérides.

3.1.2 Activités enzymatiques secondaires

Le pétitionnaire indique des activités alpha-amylasique et protéasique résiduelles. Ces activités enzymatiques ne sont plus détectables dans les huiles traitées par la préparation enzymatique.

3.1.3 Applications technologiques

La préparation enzymatique est un auxiliaire technologique destiné à la production d'huiles et de graisses alimentaires. Elle conduit à une modification des propriétés des huiles et graisses par inter-estérification. Les ingrédients produits sont susceptibles d'être présents dans les produits de boulangerie, de viennoiserie, de confiserie et d'assaisonnements...

3.2 Souche de production

La souche initiale de *Rhizopus niveus* ou *Rhizopus stolonifer* utilisée a été caractérisée non-pathogène suite à une étude de pathogénicité chez la souris, réalisée par inoculation intra-veineuse ou par ingestion de spores de ce micro-organisme, et d'une recherche bibliographique sur la pathogénicité et la toxogénicité de l'espèce *Rhizopus niveus*.

La souche de production de la préparation enzymatique est la souche de *Rhizopus niveus* NL-1 non modifiée génétiquement.

3.3 Procédé de fabrication de la préparation enzymatique

Le procédé de production de la préparation enzymatique est une fermentation aérobie, suivie de différentes étapes de filtration et de purification jusqu'à la standardisation.

Le système de gestion de la qualité appliqué au processus de production de la préparation enzymatique est conforme aux exigences de la norme ISO 9001 : 2000. Les matières premières et auxiliaires technologiques utilisés sont de qualité alimentaire. La préparation enzymatique est utilisée après immobilisation selon un protocole décrit par le pétitionnaire.

3.4 Préparation enzymatique

3.4.1 Critères de pureté

Les critères de pureté chimique et biologique répondent aux exigences de l'arrêté du 19 octobre 2006 modifié, relatif à l'emploi d'auxiliaires technologiques dans la fabrication de certaines denrées alimentaires.

3.4.2 Données de sécurité

Toutes les études de toxicité ont été réalisées selon les lignes directrices internationales de l'OCDE¹ et en conformité avec les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

L'étude de toxicité orale sub-chronique pendant 90 jours chez le Rat conclut à une NOAEL² de 2000 mg/kg de poids corporel/jour.

¹ Organisation de Coopération et de Développement Economiques

L'étude de mutagénicité *in vitro* (test d'Ames sur quatre souches de *Salmonella typhimurium* histidine dépendante et une souche d'*Escherichia coli* tryptophane dépendante) n'a révélé aucune augmentation du nombre de révertants en présence de la préparation enzymatique, avec et sans activation métabolique (S9) et donc aucun effet mutagène. Le test d'aberrations chromosomiques sur fibroblastes de poumon de hamster chinois, en culture, n'a pas mis en évidence d'effet clastogène de la préparation enzymatique. On peut donc conclure de ces deux tests que la préparation enzymatique n'est pas génotoxique.

La marge de sécurité calculée est au minimum de 873 selon la dose journalière absorbée estimée (EDI) de l'enzyme en utilisant des données de consommation basées sur le taux de lipides ingérés, issues de l'étude INCA2³.

3.5 Devenir de la préparation enzymatique dans le produit final et risque allergique

Les traces de la préparation enzymatique sont éliminées au cours du procédé de raffinage des huiles et graisses alimentaires (filtrations successives, chauffage au-delà de 160 °C). L'activité lipasique et les activités enzymatiques secondaires ne sont pas détectées dans ces produits finis.

Une recherche bibliographique de cas documentés de réactions allergiques aux lipases et un suivi par la médecine du travail sur le site de production de la préparation enzymatique ne permettent pas de suspecter un potentiel allergique de la lipase.

4. CONCLUSION

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) estime que l'emploi d'une lipase immobilisée issue d'une souche de *Rhizopus niveus* non génétiquement modifiée (souche NL-1) pour l'industrie des huiles et graisses alimentaires 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

Auxiliaire technologique, enzyme, lipase, *Rhizopus niveus*, *Rhizopus stolonifer*, huiles, graisses

² No Observed Adverse Effect Level

³ Etude individuelle et nationale sur les consommations alimentaires (2006)