

Décontamination du blé tendre et du blé dur en trichothécènes (DON) par le procédé Oxygreen

*Desprès-Pernot, A-G. (1) ; Coste, C. (1) ; Chaurand, M. (2) ; Sicart, G. (3) ; Clément J. (3) ; Dubois M.(1)**

(1) Green-Technologies (Groupe Goëmar), ZAC La Madeleine, Av Général Patton CS 61848, 35418 Saint Malo Cedex, France

(2) UMR 1208 Ingénierie des Agropolymères et Technologies Emergentes, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro-Université, Montpellier II, 2 place Pierre Viala, F-34000 Montpellier, France

(3) CTCPA, ZI Est – 11, rue Marcel Luquet BP 41, 32001 Auch Cedex, France

**courriel : mdubois@goemar.com*

Résumé

Le procédé Oxygreen®, nouveau procédé de traitement à l’ozone des grains de céréales, est utilisé comme auxiliaire technologique. Il permet la réalisation de produits nouveaux, en panification et autres applications. L’effet du procédé Oxygreen® sur la décontamination en mycotoxines fusariennes a été étudié sur deux lots de blé tendre contaminés (800 µg/kg et 2800 µg/kg de DON) et sur un lot de blé dur contaminé (3000 µg/kg de DON). Deux niveaux de traitement Oxygreen® ont été testés (5 et 10 g d’ozone / kg de grains). Selon le niveau, le traitement « détruit » (réduit de) 50% et 65% la teneur en DON présent sur le grain de blé tendre (à la dose de taux de 5 g et 10 g, respectivement). Les résultats sont plus différenciés pour le blé dur (30% et 70% aux deux mêmes doses d’ozone). Cette réduction de la teneur en DON consécutive au traitement Oxygreen® est plus accentuée sur les parties périphériques (de 62% à 87% selon le traitement ou la fraction) que sur les parties centrales du grain (de 10% à 60% selon le traitement ou la fraction). Cette évolution peut être suivie jusqu’au niveau des produits finis. Le procédé Oxygreen® peut permettre ainsi la réalisation de produits céréaliers plus riches en parties périphériques du grain (ayant subi le procédé Oxygreen®), et donc en fibres, sans augmenter le risque sanitaire lié à la présence de mycotoxines fusariennes.

Mots clés : Oxygreen®, ozone, blé tendre, blé dur, décontamination, trichothécènes, deoxynivalenol, DON.

Abstract

Oxygreen® process, a new process for ozone treatment of cereal grains, may be used as a processing aid. It offers the opportunity to make new products, for bread-making or other applications. The effect of Oxygreen® treatment on fusariotoxins decontamination has been studied on two batches of contaminated wheat (800 µg/kg and 2800 µg/kg) and on a batch of contaminated durum wheat (3000 µg/kg). Two Oxygreen® treatment rates have been tested (5 and 10 g of ozone per kg of grains).

Depending on the rate, the treatment induced a reduction of DON content originally found on common bread-making wheat grain of 50% and 65% (rate of 5 and 10 g ozone, respectively). The results are more differentiated for durum wheat with 30% and 70% reduction in the same treatment conditions, respectively. This reduction in DON content was more accentuated in peripheral parts of the grain (observed from 62% to 87% according to treatment or analysed processed fraction) than in central parts (from 10% to 60% according to treatment or analysed processed fraction). This favourable change in DON content following Oxygreen® treatment remained stable with time, until food finished products ready to be consumed. Oxygreen® process should offer the possibility to make fibre-enriched cereal finished products, by the use of external parts of the grains after their treatment by Oxygreen® process, without increasing sanitary risk associated to fusariotoxins.

Keywords: Oxygreen®, ozone, wheat, durum wheat, decontamination, trichothecenes, deoxynivalenol, DON.

Introduction

L'ozone, utilisé dans le cadre du procédé Oxygreen® (brevets WO 95/09523, WO 01/43556 A1, WO 2004/028695), est un auxiliaire technologique ayant reçu l'autorisation de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) en 2004 en tant que traitement d'amélioration de la qualité des farines. Le procédé Oxygreen® prend place dans la procédure classique de meunerie entre le nettoyage des grains et la mouture en elle même. Il a été démontré que le traitement du blé par le procédé Oxygreen® n'entraînait pas d'effet indésirable chez le rat par une étude de toxicité orale 28 jours (Gaou et al., 2005) et qu'il y avait équivalence en substance entre les grains traités à l'ozone et les grains non traités (Dubois et al., 2006).

Le but du procédé Oxygreen® est d'apporter des avantages technologiques aux pâtes (machinabilité, tolérance, prise en eau, absence de collant) en limitant les additifs (amylase, acide ascorbique, gluten), et de permettre la réalisation de produits céréaliers de cuisson de qualité exceptionnelle (goût, couleur, croustillant, conservation). Utilisé sur des blés de qualité, et répondant aux exigences réglementaires, il permet d'améliorer la qualité globale des produits finis issus du blé pour l'alimentation humaine (Pernot et al., 2007).

Etant données ses caractéristiques réactionnelles, et son utilisation sur d'autres matrices (Dwarakanath et al., 1968; Horvath et al., 1985; Guay et al., 2005; Mac Kenzie et al., 1997), on peut supposer que l'ozone ait une activité décontaminante sur le grain de blé, dans le cadre du procédé Oxygreen®. De plus, le procédé Oxygreen® permet d'obtenir des grains très fortement décontaminés en microorganismes (résultats non encore publiés), dont les résidus d'insecticides de stockage sont détruits (résultats non encore publiés), et dont l'OTA éventuellement présente est fortement diminuée (Canadas et al., 2005). Qu'en est-il des toxines fusariennes présentes sur le grain ?

Le but de cette étude est d'analyser l'effet du traitement Oxygreen® sur la concentration en DON (Deoxynivalenol) de grains de blé dur et de blé tendre naturellement contaminés, et sur la répartition du DON selon les fractions de moutures après traitement.

Matériel et Méthodes

Le traitement Oxygreen® est réalisé dans le pilote de laboratoire de contenance 10 kg, tel que décrit par Dubois *et al.* (2005). Après remplissage du réacteur, de l'eau est ajoutée progressivement, jusqu'à raison de 4% du poids initial de grains, de manière homogène dans la masse de grains en mouvement. Le taux traitement Oxygreen® (5g ou 10 g d'ozone par Kg de grains) est obtenu, en faisant varier le temps de traitement.

Deux lots de blé tendre (*Triticum Aestivum*) naturellement contaminés en DON, fournis par Champagne Céréales, contamination de 800 ppb pour le lot 1 et 2800 ppb pour le lot 2, ont été utilisés. Ces lots ont été préalablement nettoyés, afin de les utiliser d'une manière semblable à l'utilisation en meunerie. Du lot 1 ont été préparés 3 sous-lots de chacun 10 kg ; le premier n'a subi aucun traitement de décontamination et servira de référence, le second a bénéficié d'un traitement par Oxygreen®, au taux de 5g d'ozone par Kg de grains, dit traitement 1, et le troisième un traitement par Oxygreen®, au taux de 10g d'ozone par Kg de grains, dit traitement 2. Du lot 2 ont été préparés 3 sous-lots de chacun 20 kg ; le premier n'a subi aucun traitement de décontamination et servira de référence pour le lot 2, le second a bénéficié d'un traitement par Oxygreen®, au taux de 5g d'ozone par Kg de grains, dit traitement 1, et le troisième un traitement par Oxygreen®, au taux de 10g d'ozone par Kg de grains, dit traitement 2.

Trois échantillons provenant respectivement de chacun des trois sous-lots du premier lot ont été broyés sur un moulin de laboratoire Brabender, situé au CTCPA d'Auch. Le dosage de DON a été réalisé pour les différentes fractions par un laboratoire accrédité (Qualtech).

Trois échantillons provenant respectivement de chacun des trois sous-lots du deuxième lot ont été broyés sur le même moulin de laboratoire Brabender, situé au CTCPA d'Auch. Le dosage de DON a été réalisé pour les différentes fractions par le laboratoire Qualtech.

Ces six échantillons ont permis de produire de la farine qui a été utilisée pour fabriquer du pain selon le même protocole (BIPEA). Le dosage de DON a été réalisé sur ces pains, par le laboratoire Qualtech.

Trois autres échantillons en provenance du lot 1 ont été broyés sur un moulin pilote homologue d'un moulin industriel (Moulin de l'ENSMIC). Ceci a permis de séparer trois farines : la farine 1 provient du centre de l'amande, la farine 2 de la partie moyenne, et la farine 3 de la partie périphérique de l'amande (farine basse). Le dosage de DON a été réalisé pour les différentes fractions par le laboratoire Qualtech.

Un lot de blé dur (*Triticum durum*) naturellement contaminé en DON, fourni par Agralis, contamination de 3000 ppb, a été utilisé. A partir de ce lot, ont été préparés 3 sous-lots de 150 kg chacun ; le premier n'a subi aucun traitement de décontamination et servira de référence, le second a bénéficié d'un traitement par Oxygreen®, au taux de 5g d'ozone par Kg de grains, dit traitement 1, le troisième un traitement par Oxygreen®, au taux de 10g d'ozone par Kg de grains, dit traitement 2.

Le fractionnement a été réalisé sur le pilote de semoulerie pré-industrielle de l'INRA de Montpellier. Le dosage de DON des différentes fractions a été réalisé par le laboratoire Qualtech.

Résultats et discussion

Tableau 1 : Analyses de DON sur les fractions simples des deux lots de blé tendre

Analyses réalisées par Qualtech Fractions de Moutures réalisées sur le moulin de laboratoire Brabender du CTCPA d'Auch	Premier lot de blé tendre		
	Témoin	Traitement 1	Traitement 2
Fractions de mouture	en ppb sur matière sèche	Contamination en % du témoin sur MS	
Farine	305	88%	68%
Remoulage	514	48%	50%
Son	1232	42%	24%
Somme des fractions de mouture	610	59%	46%
Pains (à partir de farine T55)	325	75%	59%

Analyses réalisées par Qualtech Fractions de moutures obtenues sur le moulin de laboratoire Brabender du CTCPA d'Auch	Deuxième lot de blé tendre		
	Témoin	Traitement 1	Traitement 2
Fractions de mouture	en ppb sur matière sèche	Contamination en % du témoin sur MS	
Farine	1222	65%	62%
Remoulage	1601	42%	39%
Son	3768	39%	18%
Somme des fractions de mouture	1948	49%	50%
Pains (à partir de farine T55)	1013	57%	55%

Les résultats des fractions provenant des lots traités par Oxygreen® ont été présentés en pourcentage de contamination du témoin, sur matière sèche. Ceci permet d'évaluer l'effet relatif du traitement selon les fractions. Pour les deux lots de grains témoins, la concentration en DON, calculée pour la somme des fractions de mouture, est inférieure à la

concentration d'origine. Ceci provient de l'efficacité du nettoyage préalable. Les poussières éliminées contiennent du DON en concentration pouvant dépasser 30000 ppb.

Pour les deux lots de grains témoins, on constate un gradient décroissant de concentration du DON de la périphérie vers l'intérieur du grain. Les extraits provenant des couches externes sont plus fortement contaminés en DON que les extraits provenant des couches internes du grain.

Pour les sous-lots obtenus après traitement Oxygreen®, on constate un effet du procédé d'autant plus fort que les fractions sont plus périphériques. De plus, le traitement 2 (10 g d'ozone) est nettement efficace que le traitement 1 (5 g d'ozone), et cette différence d'efficacité apparaît plus importante sur la périphérie du grain. Cela suggère que la contamination des farines est produite par le mélange des différentes fractions, lors du process de mouture, avant la séparation par tamisage. La teneur en DON des pains apparaît, de manière surprenante, au moins une fois, moins diminuée par le traitement Oxygreen® que celle des farines. Cela pourrait provenir d'une variabilité dans la méthode d'analyse.

Ici aussi, les résultats des fractions provenant des lots traités par Oxygreen® ont été présentés en pourcentage de contamination du témoin, sur matière sèche.

Tableau 2 : Analyses de DON sur les fractions du deuxième lot de blé tendre, séparant l'origine des farines

Analyses réalisées par Qualtech Fractions de mouture produites sur le moulin de l'ENSMIC	Deuxième lot de blé tendre		
	Témoin	Traitement 1	Traitement 2
Fractions de mouture	En ppb sur matière sèche	Contamination en % du témoin sur MS	
Farine 1 (centre de l'amande)	642	90%	70%
Farine 2 (partie moyenne de l'amande)	1112	66%	51%
Farine 3 (farines périphériques)	1741	63%	59%
Remoulage	4945	32%	23%
Son	5158	18%	13%
Pellicules			13%
Somme des fractions de mouture	1603	46%	35%

Pour les deux lots de grains témoins, on constate que le gradient décroissant de concentration du DON de la périphérie vers l'intérieur du grain concerne aussi les farines. Les extraits provenant des farines externes sont plus fortement contaminés en DON que les extraits provenant des farines internes du grain. Le process meunier fait en sorte que plus une farine est d'origine périphérique, plus elle sera longtemps, durant le process, en contact avec les (et mélangée aux) fractions en provenance de la périphérie du grain.

De plus, la meilleure séparation des fractions sur ce type de moulin montre que le gradient est nettement plus important que ce que laisserait croire le moulin de laboratoire.

Pour les sous-lots obtenus après traitement Oxygreen®, on constate à nouveau un effet du procédé d'autant plus fort que les fractions sont périphériques, et ceci s'applique aussi aux farines. De plus, le traitement 2 (10 g d'ozone), nettement efficace que le traitement 1 (5 g

d'ozone), montre également une différence d'efficacité d'autant plus importante que la farine est d'origine plus périphérique. Cela suggère à nouveau que la contamination des farines est produite par le mélange des différentes fractions, lors du process de mouture, avant la séparation par tamisage. On constate aussi que le gradient de l'effet du traitement apparaît plus accentué, lui aussi, comme conséquence d'une meilleure séparation des fractions.

Tableau 3 : Analyses de DON sur les fractions du lot de blé dur.

Analyses réalisées par Qualtech Moutures réalisées sur le pilote de l'INRA Montpellier	Moyenne des témoins	Oxygreen Traitement 1		Oxygreen Traitement 2	
	Ppb DON / ms	Ppb DON / ms	% par rapport au témoin	Ppb DON / ms	% par rapport au témoin
Grains nettoyés	2900	1700	59%	900	31%
Semoule totale	2519	2270	90%	1149	46%
Farine Totale	4673	2861	61%	1873	40%
Pellicules		1900	67%	760	27%
Remoulage	5100	2600	51%	1200	24%
Son	2820	1211	43%	962	34%
Pâtes alimentaires crues	850	650	76%	400	47%
Pâtes alimentaires cuites (Moyenne)	473	300	63%	185	39%
Eaux de cuisson	248	182	73%	110	44%

L'analyse sur le blé dur comporte également une analyse de la fraction « pellicules » générée par le procédé Oxygreen (Pernot, 2007). Deux résultats montrent une forte différence de comportement du blé dur par rapport au blé tendre. D'une part, remoulages et farines montrent une contamination originaire nettement plus forte que celle du son et des pellicules. Sur le blé dur, le pic de concentration se situe au niveau des remoulages et des farines, c'est à dire en contact avec l'amande, et non dans les couches périphériques. D'autre part, la décontamination des farines est nettement inférieure à celle des parties plus périphériques.

Même si les valeurs montrent une variabilité, propre à la méthode d'analyse elle-même, les résultats en terme de décontamination, gardent une certaine similarité à ceux obtenus sur le blé tendre. La décontamination est toujours plus forte sur la périphérie et diminue considérablement le gradient décroissant de contamination de la périphérie vers l'intérieur du grain de blé. Par contre, il apparaît que les farines issues du blé dur viennent d'un lieu physique particulier qui d'un côté favorise la pénétration du champignon et la production de DON, mais, de l'autre, favorise également la pénétration de l'ozone et la décontamination (contamination originaire et décontamination à l'ozone plus fortes que celle des semoules). Ainsi, le procédé Oxygreen® permet une décontamination du grain qui peut atteindre entre 50% et 70%, selon le taux de traitement. Les parties périphériques sont généralement plus décontaminées que les parties internes du grain, ce qui permet de répondre aux exigences

des nutritionnistes de développer des farines riches en fibres. Grâce au procédé Oxygreen®, des blés réglementaires permettront de produire des farines T80, ou même complètes, dont le risque de contamination ne sera pas supérieur, ou sera peu supérieur, à celui des farines blanches ou des semoules.

Il reste deux questions importantes. D'abord, cette décontamination est-elle une détoxification ? Peut-on exclure l'hypothèse de la présence dans les extraits d'un produit éventuel néoformé lors du traitement Oxygreen® plus myélotoxique que DON ? Ensuite, peut-on encore faire un pain de qualité après le traitement Oxygreen® ?

A la première question, la réponse est apportée par Sibiril *et al.* (2007) de manière positive. A la deuxième question, la réponse est apportée par Pernot *et al.* (2007), également de manière positive.

Bibliographie

Brevets

Method and system for the treatment of seeds and bulbs – International patent WO 95/09523 PCT/FR 94/01153: 4/10/1993.

Method and installation for making flour from ozone treated grains. French patent 9915955 on 17/12/1999 – PCT/FR 00/03573– international WO 01/43556 A1.

Device for ozone treatment of plant materials. Priority date: 27/09/2002. PCT/FR2003/002831 International publication number: WO 2004/028695 on 08/04/2004

Autres publications

Afssa. Sept 21, 2004. Avis de l'Agence Française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'extension d'autorisation d'emploi d'ozone en tant qu'auxiliaire technologique dans le traitement des grains de blé destinés à la fabrication de farine entrant dans la composition de pain et de produits de panification contenant jusqu'à 7% de sucres ajoutés, à l'exclusion du pain de tradition française. Saisine No. 2004-SA-0161, publié sur : www.afssa.fr.

Canadas D., Dubois M, Coste C., Pfohl-Leszkowicz A(2005). Décontamination du blé en ochratoxine A par le procédé Oxygreen® ; étude toxicologique, Récents progrès en génie des procédés, N° 92, Lavoisier, Paris (sous presse).

Dubois M., Coste C., Despres AG., Efstathiou T., Nio C., Dumont E, Parent-Massin D., 2006. Safety of Oxygreen®, an ozone treatment on wheat grains. Part 2. Is there a substantial equivalence between Oxygreen-treated wheat grains and untreated wheat grains?, *Food Additives and Contaminants*, 23, 1-15.

Dwarakanath, C.T., Rayner E.T., Mann G.E., Dollear F.G., 1968. Reduction of Aflatoxin Levels in Cottonseed and Peanut Meals by Ozonisation. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 45:93-95.

FDA, 1982).GRAS status of ozone. Fed. Reg. 47, 50209-50210.

- Gaou I., Dubois M., Pfohl-Leszkowicz A., Coste C., DeJouffrey S., Parent-Massin D., 2005. Safety of Oxygreen®, an ozone treatment on wheat grains. Part 1. A four-week toxicity study in rats by dietary administration of treated wheat, *Food Additives and Contaminants*, 22, 1113-1119.
- Guay, C., Rodriguez, M., and Serodes, J., (2005), Using ozonation and chloramination to reduce the formation of trihalomethanes and haloacetic acids in drinking water, *Desalination*, 176, 229-240. Horvath, M., Bilitzky, L., Huttner, J., 1985. Fields of utilization of ozone, p 257-316, in R.J.H. Clark (Ed.), *ozone*, Elsevier Science Publishing Co, Inc., New York.
- Mac Kenzie KS, Sarr AB, Mayura K, Bailey RH, Miller DR, Rogers TD, Norred WP, Voss KA, Plattner RD, Kubena LF, Phillips TD.,(1997), Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. *Food Chemical Toxicology* 35:807-820.
- Pernot AG., Dubois M., Coste C., 2007. Dépelliculage du grain de blé par le traitement Oxygreen®, *Industrie des céréales*, 152, 25-28.
- Pernot AG., Dubois M., Coste C., 2007. Le procédé Oxygreen® - 1° partie : description, objectifs et intérêts en meunerie, *Industrie des céréales*, 153, 2-8.
- Pernot AG., Dubois M., Coste C., 2007. Le procédé Oxygreen® - 2° partie : caractéristiques biochimiques et technologiques des produits finis, 154, 11-18.
- Young JC., Zhu H., Zhou T., 2006. Degradation of trichothecene mycotoxins by aqueous ozone, *Food and Chemical Toxicology*, 44, 417-424.
- Sibiril Y., Dubois M., Parent-Massin D., 2008. Etude de l'innocuité sur progéniteurs hématopoïétiques de fractions de blé traité par le procédé Oxygreen® (en cours de publication).