



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

Maisons-Alfort, le 29 janvier 2007

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la demande d'autorisation d'emploi d'une alpha-amylase de *Bacillus amyloliquefaciens* autocloné en panification et boulangerie fine, en brasserie et dans l'industrie de l'alcool éthylique d'origine agricole

Par courrier reçu le 16 octobre 2006, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 13 octobre 2006 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relatif à la demande d'autorisation d'emploi d'une alpha-amylase de *Bacillus amyloliquefaciens* autocloné en panification et boulangerie fine, en brasserie et dans l'industrie de l'alcool éthylique d'origine agricole, adressée par le bureau C2.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé «Biotechnologie», réuni le 21 décembre 2006, l'Afssa rend l'avis suivant :

Applications technologiques envisagées – mécanisme d'action

Activité enzymatique principale

Considérant que l'enzyme est une 1,4- α -D-glucane glucanohydrolase (ou α -amylase, EC 3.2.1.1.) ;

Considérant que l'enzyme hydrolyse les liaisons endo- α -1,4-D-glucosidiques des oligosaccharides et des polysaccharides comme l'amidon (amylose et amylopectine) de façon endomoléculaire ;

Activités enzymatiques secondaires

Considérant que des activités protéasique et bêta-glucanasique sont présentes en quantité résiduelle ;

Applications technologiques

Considérant que la préparation enzymatique est un auxiliaire technologique destiné à la panification, à la brasserie et à l'industrie de l'alcool ;

En panification, le pétitionnaire indique que la préparation enzymatique allongerait la durée de vie du pain et des produits de boulangerie en réduisant le rassissement de la mie, et qu'en brasserie, elle réaliserait une liquéfaction rapide de l'amidon améliorant ainsi le rendement d'extraction et empêchant la rétrogradation de l'amidon ;

Souche de production

Sécurité du micro-organisme producteur

Considérant que *Bacillus amyloliquefaciens* est utilisé depuis de nombreuses années pour la production de préparations enzymatiques destinées à l'alimentation humaine ;

Considérant que la souche initiale de *Bacillus amyloliquefaciens* utilisée est non-pathogène et non-toxinogène ;

Obtention de la souche de production

Considérant que la souche de production de la préparation enzymatique est la souche de *Bacillus amyloliquefaciens* EBA 1-H2A obtenue par autoclonage ;

Procédé de fabrication de la préparation enzymatique

Considérant que la préparation enzymatique est produite selon les Bonnes Pratiques de Fabrication pour l'alimentation et que 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 ;

Considérant que le procédé de production de la préparation enzymatique est un procédé de fermentation immergée, suivie d'étapes de purification, concentration, standardisation de l'enzyme ;

Considérant que les matières premières et auxiliaires technologiques utilisés sont de qualité alimentaire ;

Préparation enzymatique

Critères de pureté

Considérant que les critères de pureté chimique et biologique répondent aux exigences de l'arrêté du 19 octobre 2006 relatif à l'emploi d'auxiliaires technologiques dans la fabrication de certaines denrées alimentaires ;

Données de sécurité

Considérant que 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 ;

Considérant que le test de toxicité orale subaiguë à 14 jours chez le rat a permis de fixer la valeur NOAEL² à 5000 ppm (équivalent à 739 mg/kg de poids corporel/jour) ;

Considérant que le test de toxicité orale sub-chronique à 90 jours chez le rat a permis de fixer la valeur NOEL³ à 1000 ppm (équivalent respectivement à 96,6 et 111,8 mg/kg de poids corporel/jour pour les femelles et les mâles) ;

Considérant que l'étude de mutagénicité *in vitro* (test d'Ames sur des souches de *Salmonella typhimurium*) n'a révélé aucune augmentation du nombre de révertants en présence de la préparation enzymatique et donc aucun effet mutagène ;

Considérant que le test d'aberrations chromosomiques sur des lymphocytes périphériques humains en culture n'a pas mis en évidence d'effet clastogène de la préparation enzymatique ;

Considérant que le facteur de sécurité calculé [rapport de la dose sans effet observé, établie par l'étude de toxicité à 90 jours, sur l'estimation de la consommation maximale de l'enzyme susceptible de se trouver dans l'alimentation] est de 20000 pour le pain (1,5 kg par jour) et de 88 pour la bière (5 l par jour) ;

¹ Organisation de Coopération et de Développement Economiques

² No Observed Adverse Effect Level

³ No Observable Effect Level

Devenir de la préparation enzymatique dans le produit final

Considérant que l'activité enzymatique n'est pas mesurable dans le pain cuit ou la bière ;

Considérant que le risque allergique n'a pas été documenté,

Conclusion :

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que l'emploi d'une alpha-amylase de *Bacillus amyloliquefaciens* autocloné (EBA 1-H2A) en panification et boulangerie fine, en brasserie et dans l'industrie de l'alcool éthylique d'origine agricole ne présente pas de risque sanitaire pour le consommateur, dans les conditions d'emploi présentées par le pétitionnaire. L'Afssa rend un avis favorable à cette demande.

Mots clé : Autoclonage, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, boulangerie, brasserie, industrie de l'alcool, panification, amylase.

Pascale BRIAND