

# Etude de ligands organiques capables de former des complexes avec des mycotoxines et de limiter leur impact sur l'animal et la présence de résidus dans les produits animaux

## Study of organic binders able to complex mycotoxins and limit their impact on animals and residues in edible animal products

A. YIANNIKOURIS (1,2), L. POUGHON (3), J. FRANÇOIS (4), X. CAMELEYRE (4), G.A. DUSSAP (3), G. BERTIN (2), J-P JOUANY (1)

(1) INRA, Unité de Recherches sur les Herbivores, 63122 St Genès Champanelle

(2) Alltech, 2-4 avenue du 6 juin 1944, 95190 Goussainville

(3) CUST, Université Blaise-Pascal, Les Cézeaux, 63170 Aubière

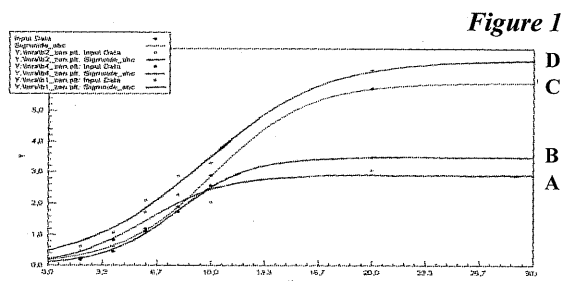
(4) INSA-INRA, Centre de Bio-ingénierie Gilbert Durand, Rangueil, 31077 Toulouse cedex 04

### INTRODUCTION

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires des moisissures qui se développent sur les fourrages et les céréales au cours de leur culture, de leur transport et pendant leur stockage. Environ 25 % des aliments contiennent des doses détectables de mycotoxines (Pittet 1998). Par ailleurs, un même aliment est souvent contaminé par plusieurs mycotoxines opérant en synergie. Elles agissent au niveau du foie, des reins, et provoquent chez l'animal des troubles du système immunitaire, de la reproduction, des fonctions hématopoïétiques. Elles ont des effets tératogènes et surtout carcinogènes. Elles ne sont pas détruites au cours des transformations technologiques des aliments ou par la cuisson. Un des moyens de limiter les risques de toxicité pour l'homme et pour l'animal consiste à ajouter à l'aliment des produits capables de former des complexes avec les mycotoxines ce qui limite leur absorption dans le tractus digestif. L'étude présentée porte sur la mesure de l'efficacité de fixation de la zéaralénone (ZEN) par des ligands organiques naturels préparés à partir de la paroi de la levure *Saccharomyces cerevisiae*.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Quatre souches de levures (A, B, C, D) ayant des parois dont les teneurs en glucanes, mannanes et chitine sont très différentes, ont été mises en culture. Les cellules ont été cassées à l'aide d'un broyeur à billes de verre et la fraction pariétale a été isolée par centrifugation. Les parois (PAR) des levures ont été fractionnées par une solution alcaline pour obtenir des glucanes alcali-insolubles (GAI), des glucanes alcali-solubles (GAS) et des mannanes solubles (MAN). Les fractions de GAS et MAN ont été séparées par chromatographie d'affinité sur une colonne de concanavaleine A. Chacune des fractions a été hydrolysée par  $H_2SO_4$  et les monosaccharides ont été analysés et dosés par chromatographie liquide (système Dionex) et par colorimétrie (méthode Dubois). La teneur en chitine a été déterminée par voie enzymatique. La capacité de fixation de la ZEN a été mesurée *in vitro* (Dawson *et al* 2001). Les courbes ont été traitées selon le modèle de Hill. Une analyse de paramètres multiples indépendants a permis d'étudier les interactions entre la quantité de toxine fixée, la quantité de toxine ajoutée et la composition chimique de la paroi de levure.



### RÉSULTATS

La proportion moyenne de ZEN fixée par les parois des souches A, B, C, D, était respectivement de 58,4; 61,5; 82,6; 95,2 %. Le rapport glucanes/mannanes et le rapport (GAS/GAI) des parois étaient de 0,5; 0,5; 4,7; 0,8 et de 0,07; 0,10; 0,01; 27,3 respectivement pour les mêmes souches. La teneur en chitine était également fortement discriminante entre souches (6,0; 3,2; 10,0; 2,5 % PAR respectivement pour A, B, C, D). La **figure 1** [quantité de ZEN fixée = f (quantité de ZEN libre)] a une forme sigmoïde indiquant un phénomène de coopérativité entre le ligand et la toxine. La quantité de glucanes totaux dans les parois de levure (X1) explique majoritairement ( $r^2 = 0,836$ ) la quantité de ZEN fixée (Y) par rapport à la quantité de ZEN libre (X2), **figure 2**. Le nombre de sites actifs était égal à 1,6 indiquant qu'il s'agit d'un phénomène mettant en jeu un nombre limité d'interactions chimiques simples entre ligand et toxine. La distinction des fractions GAS et GAI dans le modèle améliore la prédiction de la capacité de fixation ( $r^2 = 0,938$ ).

### DISCUSSION ET CONCLUSION

La capacité de fixation de la zéaralénone a été très différentes entre les 4 souches de levure testées.

La teneur en glucanes et en GAI des parois de levure sont des paramètres importants pour discriminer l'efficacité de fixation de la zéaralénone entre souches de levures.

La souche D qui est la plus riche en glucanes totaux et en GAI, a également la teneur la plus élevée en chitine. Cette dernière rigidifie l'organisation tri-dimensionnelle et limite l'accessibilité des toxines aux structures internes du polymère. Ceci explique que la paroi de la levure A ait été la plus efficace dans la fixation *in vitro* de ZEN.

Dawson, K., Evans, J., Kudupoje, M., 2001. In LYONS T.P. and JACQUES K. (Editors), Science and technology in the feed industry, Nottingham University Press, USA, 169-181.

Pittet, A., 1998. Rev. Med. Vet., 149, 479-492.

