



**HAL**  
open science

## Traitement à froid des tourteaux d'arachide par une solution aqueuse d'ammoniaque : conséquence sur la réduction de la teneur du lait en Aflatoxine M1

G. Viroben, J.M. Fremy, J. Delort-Laval

► **To cite this version:**

G. Viroben, J.M. Fremy, J. Delort-Laval. Traitement à froid des tourteaux d'arachide par une solution aqueuse d'ammoniaque : conséquence sur la réduction de la teneur du lait en Aflatoxine M1. *Le Lait*, 1983, 63 (625\_626), pp.171-179. hal-00928972

**HAL Id: hal-00928972**

**<https://hal.science/hal-00928972>**

Submitted on 11 May 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## NOTE TECHNIQUE

### Traitement à froid des tourteaux d'arachide par une solution aqueuse d'ammoniacque : conséquence sur la réduction de la teneur du lait en Aflatoxine M<sub>1</sub>

par

G. VIROBEN\*, J. M. FREMY\*\*, J. DELORT-LAVAL\*

#### Résumé

Un procédé simple ayant pour but de détoxifier le tourteau d'arachide au niveau de la ferme par une solution aqueuse d'ammoniacque à température ambiante et sous la pression ordinaire a été expérimenté.

Le taux de détoxification apparent du tourteau est de 98 %. Distribué à des vaches laitières dans les conditions de la salle de traite, le tourteau détoxifié se révèle un peu moins appétent, mais provoque une réduction sensible de la quantité d'aflatoxine M<sub>1</sub>, excrétée dans le lait. Cette réduction est toutefois plus faible que celle à laquelle on pourrait s'attendre au vu de la quantité d'aflatoxine B<sub>1</sub> ingérée par les animaux et du taux usuel de son transfert dans le lait.

Alors que l'irréversibilité de la réaction entre aflatoxines et ammoniac à chaud en l'absence ou en présence de formol, telle quelle commence à être appliquée industriellement, a été démontrée, il semble qu'il n'en soit pas de même quand ce traitement est conduit à la température ordinaire.

---

\* Laboratoire de Technologie des Aliments des Animaux, Centre de Recherches de Nantes, I.N.R.A., rue de la Géraudière - 44072 Nantes cedex.

\*\* Laboratoire Central d'Hygiène Alimentaire, Service Mycotoxines, 43, rue de Dantzig 75015 Paris.

## Summary

### TECHNICAL NOTE

#### TREATMENT OF PEANUT MEAL

#### WITH AQUEOUS AMMONIA AT AMBIENT TEMPERATURE: EFFECT ON REDUCTION OF AFLATOXIN M<sub>1</sub> CONTENT IN MILK

*A simple on-farm detoxification process, to remove aflatoxin from peanut meal, by aqueous ammonia, at ambient temperature and under atmospheric pressure, was tested by laboratory and animal assays.*

*The apparent detoxification level was about 98 percent.*

*The treated meal, given to dairy cows, under practical conditions in the milking-parlour, reduced about 10 fold aflatoxin M<sub>1</sub> content in the milk, but had a rather adverse effect on appetite. Excretion of aflatoxin M<sub>1</sub> was higher than that forecast from the amount of ingested aflatoxin B<sub>1</sub> and the usual observed rate of passage of this substance into milk.*

*Whereas the irreversibility of reaction between aflatoxin and gaseous ammonia, either used alone or with formaldehyde, but always under warm conditions, such as it begins to be applied on industrial scale, was proved, it would be possible that some reversibility occurs if the same treatment is carried out under milder conditions.*

## INTRODUCTION

La contamination des tourteaux d'arachide par les aflatoxines, en particulier sous la forme B<sub>1</sub>, préoccupe depuis longtemps les responsables de l'hygiène alimentaire et ceux de la qualité des produits laitiers, du fait de la transformation de cette toxine dans l'organisme de l'animal en aflatoxine M<sub>1</sub> ou « Milk aflatoxine » qui, sans présenter les mêmes dangers que la forme B<sub>1</sub>, n'en constitue pas moins un risque pour la santé publique, notamment pour celles des jeunes enfants.

L'arrêté ministériel du 5 octobre 1981 fixe à 0,3 ppm la teneur en aflatoxine admissible dans les tourteaux d'arachide importés ou fabriqués en France et destinés aux fabricants d'aliments pour animaux et l'arrêté ministériel du 29 mai 1980 fixe à 0,02 ppm (20 µg/kg) la teneur correspondante pour les aliments destinés au bétail laitier. Une part importante des tourteaux d'arachide n'étant pas conforme aux limites fixées par cette législation, la mise en application de ces arrêtés, ainsi qu'une importante campagne de presse, ont eu rapidement pour conséquence l'exclusion de cette matière première des aliments pour vaches laitières, provoquant

un profond malaise économique au Sénégal, ainsi qu'une recrudescence des importations de tourteau de soja en France.

Cette situation pourrait certainement être améliorée, à moyen terme, grâce aux progrès attendus des recherches effectuées au plan agronomique et, à plus long terme, par des actions de prévention menées au niveau des producteurs de graines ; mais pour l'heure, seul un procédé de détoxification par voie chimique peut rendre les tourteaux contaminés conformes aux normes requises (Briantais *et al.*, 1982).

Les résultats encourageants des études entreprises dans le cadre d'une action concertée D.G.R.S.T. sur le traitement de détoxification par l'ammoniac gazeux sous pression et à chaud (Frayssinet *et al.*, 1976 ; Viroben *et al.*, 1978 ; Delort-Laval *et al.*, 1980), ont conduit les responsables sénégalais de la commercialisation des tourteaux d'arachide à la mise en œuvre industrielle de ce procédé. La détoxification des tourteaux s'accompagne d'une augmentation de leur teneur en azote total, fixé essentiellement sous forme non protéique ainsi que d'une réduction de leur solubilité azotée et de leur désamination par les micro-organismes du rumen. Elle améliore donc l'efficacité du tourteau pour l'alimentation du ruminant, comme l'a montré Vérité (1981) et cet effet bénéfique pourrait compenser partiellement le coût du traitement.

En attendant que soient connus les résultats des expérimentations en cours pour vérifier le taux de passage de l'aflatoxine M<sub>1</sub> dans le lait des animaux ayant consommé les tourteaux détoxifiés selon ce procédé, il est apparu utile de s'intéresser à des solutions plus simples en vue de réaliser un assainissement des lots au moyen d'un traitement à l'ammoniac à froid applicable si possible à la ferme, comme l'a proposé Thiesen (1977).

## MATERIEL ET METHODES

### Traitement du tourteau

Un tourteau d'arachide contaminé par l'aflatoxine B<sub>1</sub> (450 µg/kg matière sèche) est traité, à raison de 20 kg de réactif pour 100 kg de tourteau, par une solution commerciale d'ammoniaque à 28° Baumé (environ 32 % NH<sub>3</sub>), dans une bétonneuse de 120 litres, par charge de 15 kg.

Après homogénéisation pendant 5 min, le produit est immédiatement ensaché en sacs doublés plastique et conservé au moins 2 semaines avant distribution.

### Animaux et protocole expérimental

Trois lots (A, B, C) de 6 vaches à niveau de production répartis entre 15 et 25 kg de lait reçoivent à volonté une ration de base

constituée d'ensilage de maïs. La complémentation azotée est assurée, au cours des 6 semaines expérimentales, soit par du tourteau de soja, soit par l'un des deux tourteaux d'arachide, contaminé ou traité, selon un dispositif en carré latin (Cotto *et al.*, 1982).

Des prélèvements de chacun des tourteaux d'arachide sont effectués au moment de leur distribution. De plus, à la fin des semaines II, IV, VI, un échantillon moyen de lait est constitué pour chaque lot d'animaux et lyophilisé en vue de la détermination de son taux d'aflatoxine  $M_1$ .

### Techniques analytiques

Les échantillons de chacun des tourteaux d'arachide sont analysés selon la méthode officielle communautaire de dosage de l'aflatoxine  $B_1$ , (J.O.C.E., L 102 du 15-4-76).

Cette analyse comporte trois étapes : une extraction de la toxine par le chloroforme, puis une purification de l'extrait dans une colonne de chromatographie composée de gel de silice, enfin une séparation par chromatographie sur couche mince. Le dosage de l'aflatoxine est effectué par fluorodensitométrie.

La teneur en aflatoxine  $M_1$  dans les échantillons de lait lyophilisé provenant de chaque lot d'animaux est déterminée par spectrofluorométrie après chromatographie liquide haute performance (Frémy et Boursier, 1981).

## RESULTATS

### Décontamination des tourteaux

La teneur en aflatoxine  $B_1$  de l'arachide traité se situe, suivant les prélèvements, entre 4 et 13,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de matière sèche, ce qui correspond à un taux de détoxification de 98 % environ. Elle semble décroître avec la durée de stockage puisque la valeur la plus faible est celle de l'échantillon prélevé lors de la semaine VI (tab. 1).

La lecture des plaques de CCM sous ultraviolet permet d'observer un plus grand nombre de taches fluorescentes pour les extraits de tourteaux traités que pour ceux de tourteaux non traités. La présence d'aflatoxine  $M_1$  et  $GM_1$  parmi ces composés supplémentaires a été recherchée en effectuant un gradient d'élué au niveau de l'étape de purification prévue dans la méthode officielle communautaire. Les résultats de cette recherche ont été négatifs.

### Essais zootechniques

Les principaux résultats de ces essais publiés par ailleurs (Cotto *et al.*, 1982) sont rappelés dans le tableau 2. Il est à noter

TABLEAU 1

Evolution, sous l'effet du traitement à froid par une solution aqueuse d'ammoniac, de la contamination du tourteau d'arachide consommé et du lait excrété par les animaux au cours de l'expérience

Numéro semaine expérimentale	Arachide contaminé			Arachide traité		
	II	IV	VI	II	IV	VI
Teneur des tourteaux en aflatoxine B <sub>1</sub> (µg/kg)*	450 ± 12	ND	ND	11 ± 1,5	8 ± 1,0	3 ± 0,5
Teneur du lait lyophilisé en aflatoxine M <sub>1</sub> (µg/kg)**	7,5	13	12	1,4	1,6	0,8

ND : non dosé.

\* : moyenne et écarts-types (3 déterminations).

\*\* : moyenne de 2 déterminations ne différant pas de plus de 12 %.

TABLEAU 2

Bilan d'ingestion d'aflatoxine B<sub>1</sub> et d'excrétion d'aflatoxine M<sub>1</sub> dans le lait de vaches laitières consommant du tourteau d'arachide contaminé ou traité à froid par une solution aqueuse d'ammoniac

Numéro semaine expérimentale	Arachide contaminé			Arachide traité		
	II	IV	VI	II	IV	VI
Lot d'animaux	B	A	C	C	B	A
Consommation individuelle moyenne de tourteau (kg de MS/jour)	2,02	2,33	1,76	1,75	1,61	1,73
Production laitière moyenne (kg de lait/jour)	17,2	15,5	14,7	17,4	15,5	14,6
Aflatoxine B <sub>1</sub> ingérée (µg)	996	1 149	868	23,6	16,1	6,6
Aflatoxine M <sub>1</sub> excrétée (µg) dans le lait	16,9	28,2	21,6	3,0	3,4	1,5
$\frac{M_1}{B_1} \times 100$	1,7	2,4	2,5	12,6	21,2	23,0

que, malgré une aération d'au moins 24 h avant distribution, il existe quelques problèmes d'appétence avec le tourteau détoxifié, encore fortement chargé en ammoniac.

### Excrétion d'aflatoxine M<sub>1</sub>

Le lait des animaux ayant consommé le tourteau détoxifié contient 0,10 à 0,22 µg/kg d'aflatoxine (tab. 1). La contamination du lait correspondant à l'ingestion de tourteau d'arachide contaminé (1 à 1,8 µg/kg d'aflatoxine M<sub>1</sub>) est donc réduite de 8 à 10 fois par le traitement.

Cependant, rapportée à l'aflatoxine B<sub>1</sub> ingérée, l'excrétion d'aflatoxine M<sub>1</sub> est nettement plus élevée avec les tourteaux traités (tab. 2).

## DISCUSSION

Exprimée par rapport à l'aflatoxine B<sub>1</sub> ingérée, la quantité d'aflatoxine M<sub>1</sub> excrétée par les animaux ayant reçu le tourteau initial est de 1,7 à 2,5 %, valeurs conformes à celles communément admises.

Dans une expérimentation portant sur un nombre limité d'animaux recevant du tourteau d'arachide détoxifié par l'ammoniac à chaud (95° C), Vérité (1981) observe une excrétion du même ordre de grandeur (1 à 2 %).

L'accroissement relatif de l'excrétion d'aflatoxine M<sub>1</sub> constatée dans le présent essai confirme les données de Thiesen (1977). Comme le suggère cet auteur, une certaine réversibilité de la réaction est possible dans les conditions de traitement modéré de ce type de détoxification.

Si la réaction entre aflatoxine B<sub>1</sub> et ammoniac sous pression à une température au moins égale à 75° C a fait l'objet de nombreux travaux (Lee *et al.*, 1974 ; Lee et Cucullu, 1978 ; Lee *et al.*, 1979 ; Stanley *et al.*, 1975 ; Cucullu *et al.*, 1976), il existe par contre moins d'information sur les mécanismes qui interviennent lors du traitement par une solution ammoniacale à température ambiante et sous pression normale. On sait que l'étape fondamentale de la détoxification est l'ouverture du cycle lactone de l'aflatoxine B<sub>1</sub>, qui peut se produire dans des conditions relativement douces (Coomes *et al.*, 1966) avec formation d'acide o-coumarique substitué. Ce composé formerait une association intramoléculaire faisant intervenir une liaison hydrogène avec le groupe carbonyle du noyau cyclopenténone de la molécule d'aflatoxine ; cela expliquerait que l'aflatoxine B<sub>1</sub> est presque intégralement récupérée après acidifi-



cation. Cette hypothèse avancée par Vesonder *et al.* (1975) semble confirmée par des travaux plus récents sur le comportement vis-à-vis de l'ammoniaque, de deux produits modèles dérivés de la coumarine (Grove *et al.*, 1981).

D'autres raisons peuvent être invoquées pour expliquer la distorsion entre l'excrétion d'aflatoxine M<sub>1</sub> et le taux de détoxification apparente du tourteau :

— problème d'extraction quantitative de l'aflatoxine B<sub>1</sub> dû à l'existence d'interactions entre la toxine et d'autres constituants du tourteau sous l'effet du traitement ;

— exacerbation de la réversibilité de la réaction lors du passage dans le tractus digestif, comme le suggère Thiesen (1977) ;

— modulation chez l'animal, en fonction des quantités d'aflatoxine B<sub>1</sub> ingérées, de son catabolisme ;

— métabolisation en aflatoxine M<sub>1</sub> des composés labiles faisant intervenir la fonction carbonyle du noyau cyclopenténone.

## CONCLUSION

La détoxification du tourteau d'arachide par une solution aqueuse d'ammoniaque à température ambiante et à la pression ordinaire est une réaction réversible. Bien qu'elle entraîne une réduction importante de l'excrétion d'aflatoxine M<sub>1</sub>, elle laisse subsister dans le lait des animaux recevant le tourteau détoxifié, une teneur en toxine incompatible avec les impératifs de l'hygiène alimentaire. De plus, la distribution des tourteaux traités et leur acceptabilité par les animaux posent des problèmes qui ne peuvent être résolus par la neutralisation du mélange, cette opération ne pouvant qu'accroître la réversibilité de la réaction.

Ce procédé pourrait toutefois présenter un intérêt pour « assainir » des lots de tourteaux destinés à être consommés par d'autres espèces animales moins sensibles à l'aflatoxine.

Des études complémentaires seraient nécessaires pour trouver des explications à l'élévation relative au taux d'excrétion en aflatoxine M<sub>1</sub>, en vue notamment de :

— vérifier si le taux d'élimination de l'aflatoxine B<sub>1</sub> est le même selon qu'elle est présente, à même dose, dans un tourteau traité ou un tourteau non traité ;

— définir le rendement d'extraction de l'aflatoxine B<sub>1</sub> résiduelle et identifier les composés dérivant de l'aflatoxine B<sub>1</sub> à la suite du traitement, à l'aide d'aflatoxine B<sub>1</sub> marquée.

### Bibliographie

- BRIANTAIS (G.), CALET (C.), LE LAY (Y.), VIROBEN (G.) (1982). — Rapport de mission au Sénégal sur la détoxification du tourteau d'arachide. *Rev. Alim. Anim.*, 2, 9-14.
- COOMES (J. T.), CROWTHERS (P. C.), FEVELL (A. J.), FRANCIS (B. J.) (1966). — Nature (London), 209-406.
- COTTO (G), GASCOIN (A.), VIROBEN (G.) (1982). — Appétence du tourteau d'arachide détoxifié par l'ammoniac (procédé artisanal) lors de son utilisation à l'état pur par les vaches laitières. Bulletin ITEB, n° 82052.
- CUCULLU (A. F.), LEE (L. S.), PONS (W. A.) Jr., STANLEY (J. B.) (1976). — Ammoniation of aflatoxine B<sub>1</sub>: isolation and characterization of a product with molecular weight 206. *J. Agric. Food Chem.*, 24 (2), 408-410.
- DELORT-LAVAL (J.), VIROBEN (G.), BORGIDA (L. P.) (1980). — Efficacité biologique pour le poulet de chair du tourteau d'arachide traité à l'ammoniac ou à la monométhylamine en vue de l'inactivation des aflatoxines. *Ann. Zoot.*, 29 (4), 387-400.
- FRAYSSINET (Ch.), GOUSSE (R.), TRÉMOLIÈRES (E.) (1976). — Evaluation toxicologique et nutritionnelle des tourteaux d'arachide traités à l'ammoniac. 3<sup>e</sup> Symposium International IUPAC sur les mycotoxines dans l'alimentation, Paris, 16-18 septembre 1976.
- FRÉMY (J. M.), BOURSIER (B.) (1981). — Rapid determination of aflatoxin M<sub>1</sub> in dairy products by reversed phase HPLC. *J. Chromatogr.*, 219, 156-161.
- GROVE (M. D.), PLATTNER (R. D.), WEISLEDER (D.) (1981). — Ammoniation products of an aflatoxin model coumarin. *J. Agric. Food Chem.*, 29 (6), 1161-1164.
- LEE (L. S.), STANLEY (J. B.), CUCULLU (A. F.), PONS (W. A.) Jr., GOLDBLATT (L. A.) (1974). — Ammoniation of aflatoxin B<sub>1</sub>: Isolation and identification of the major reaction product. *J. AOAC*, 57 (3), 626-631.
- LEE (L. S.), CUCULLU (A. F.) (1978). — Conversion of aflatoxin B<sub>1</sub> to aflatoxin D<sub>1</sub> in ammoniated peanut and cottonseed meals. *J. Agric. Food Chem.*, 26 (4), 881-884.
- LEE (L. S.), CONKERTON (E. J.), ORY (R. L.), BENNET (J. W.) (1979). — (<sup>14</sup>C) aflatoxin B<sub>1</sub> as an indicator of toxin destruction during ammoniation of contaminated peanut meal. *J. Agric. Food Chem.*, 27 (3), 598-602.
- STANLEY (J. B.), LEE (L. S.), CUCULLU (A. F.), de GRUY (I. V.) (1975). — Ammoniation of aflatoxin B<sub>1</sub>. Mass spectral analysis of compounds separated by micro-sublimation. *J. Agric. Food Chem.*, 23 (3), 447-449.
- THIESEN (J.) (1977). — Detoxification of aflatoxins in groundnut meal. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2 (1), 67-75.
- VÉRITÉ (R.) (1981). — Données non publiées.
- VESONDER (R. F.), BECKWITH (A. C.), CIEGLER (A.), DIMLER (R. J.) (1975). — Ammonium hydroxyde treatment of aflatoxin B<sub>1</sub>. Some chemical characteristics and biological effects. *J. Agric. Food Chem.*, 23 (2), 242-243.
- VIROBEN (G.), DELORT-LAVAL (J.), COLIN (J.), ADRIAN (J.) (1978). — Inactivation des aflatoxines par traitement à l'ammoniac : étude *in vitro* de tourteaux d'arachide détoxiqués. *Ann. Nutr. Alim.*, 32, 167-185.