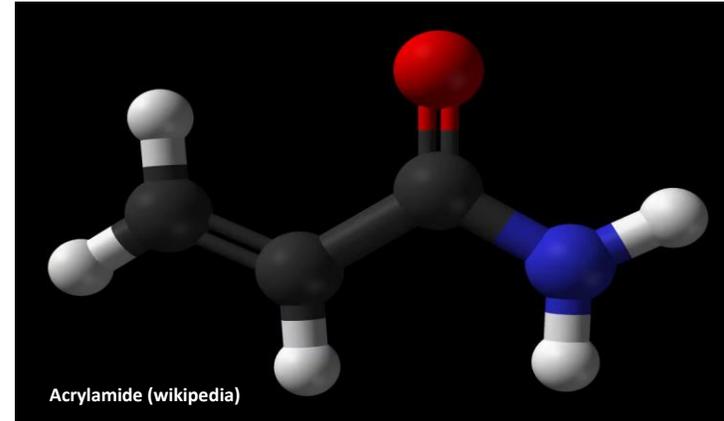


Variabilité génétique pour la concentration en asparagine libre

Jacques Le Gouis, Mélanie Lavoignat, Catherine Ravel
UMR GDEC, Clermont-Ferrand



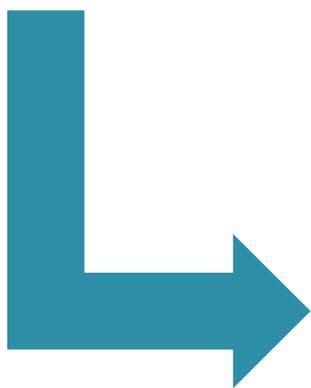
Introduction

Introduction

L'acrylamide

Produit néoformé, absent de l'aliment initial, formé au cours de la transformation

Ce n'est qu'en 2002 qu'elle est mise en évidence dans des aliments chauffés (Tareke et al. 2002)



Acides aminés libres = non incorporés à une protéine

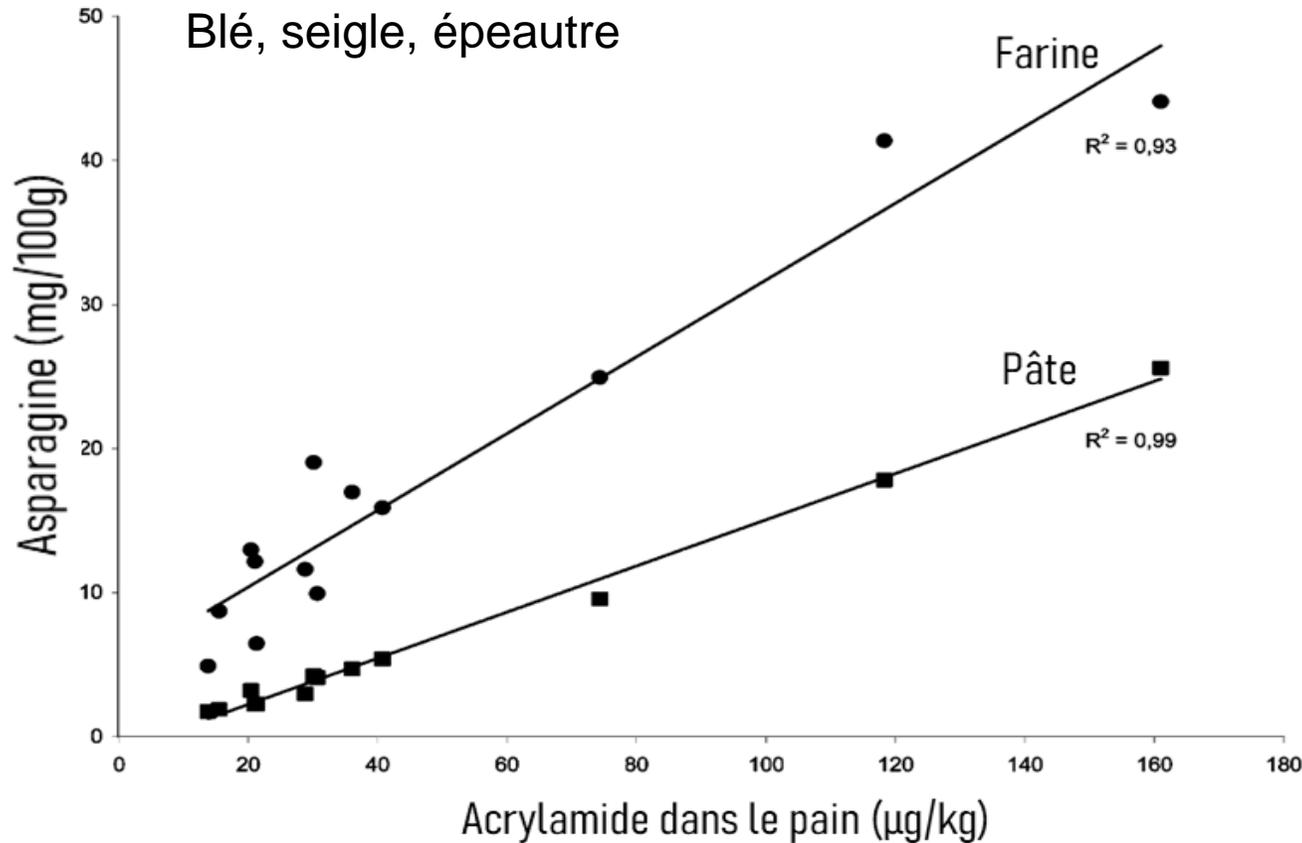
Ils représentent <5% de l'azote total du grain ou de la farine

L'asparagine représente <10% des acides aminés libres (Lea 2007)

Rôle essentiel dans le stockage et le transport de l'azote dans la plante

Introduction

L'asparagine libre



La concentration en acrylamide dans la pain est **fortement corrélée** à la teneur en asparagine libre

Pas de corrélation forte avec la teneur en sucres réducteurs pour les grains de céréales

Claus et al. (2006)

Introduction

Enjeu santé et réglementation

Acrylamide = molécule neurotoxique, **cancérogène avérée pour l'animal et probable pour l'Homme** selon le Centre International de Recherche sur le Cancer

- Au niveau de l'Union européenne, les teneurs en acrylamide dans les aliments font l'objet d'un **suivi depuis 2007**
- Mesures de gestion du risque définies dans le **Règlement (UE) 2017/2158** de la Commission Européenne
- Définition de valeurs indicatives au-delà desquelles il est recommandé de s'assurer que des mesures appropriées ont été mises en place pour limiter au maximum la formation d'acrylamide (pain à base de blé < 50 µg/kg)
- La fixation de **teneurs maximales réglementaires** en acrylamide est en discussion

Introduction

Réseau européen



ACRYRED

Reducing Acrylamide Exposure of Consumers by a Cereals Supply-chain Approach Targeting Asparagine (2022-2026)

WG2

Agronomy and Plant Breeding

[KNOW MORE →](#)



WG1

Interdisciplinary Exchange and Integration of Knowledge on Asparagine and Acrylamide

[KNOW MORE →](#)



WG3

Chemistry & Processing

[KNOW MORE →](#)

WG4

Cereal Supply Chain Economy

[KNOW MORE →](#)



Funded by the European Union



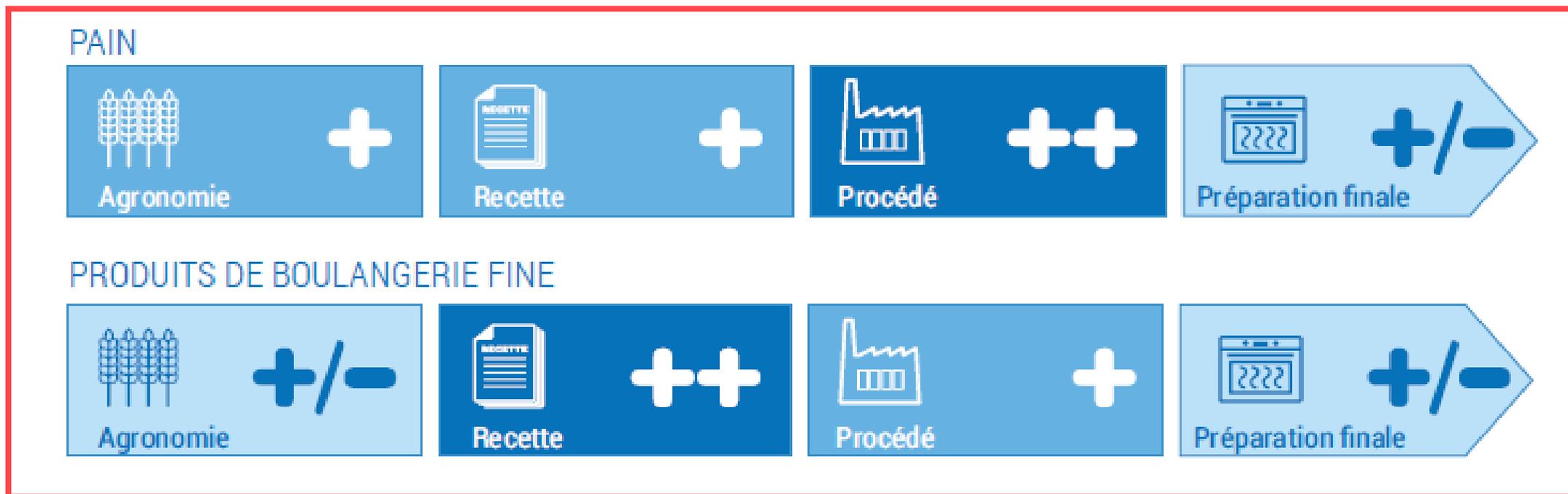
WG5

Risk-benefit of MR Products and its Mitigation

[KNOW MORE →](#)

Introduction

Mesures d'atténuation



-	+/-	+	++
Aucune action n'est possible à cette étape / Pas d'outil disponible	Action possible mais dépend du produit considéré / Peu d'outils disponibles	Quelques outils existent pour réduire la teneur en acrylamide	Étape primordiale pour la maîtrise de la teneur en acrylamide / Des outils sont disponibles

Guide acrylamide, ANIA 2019

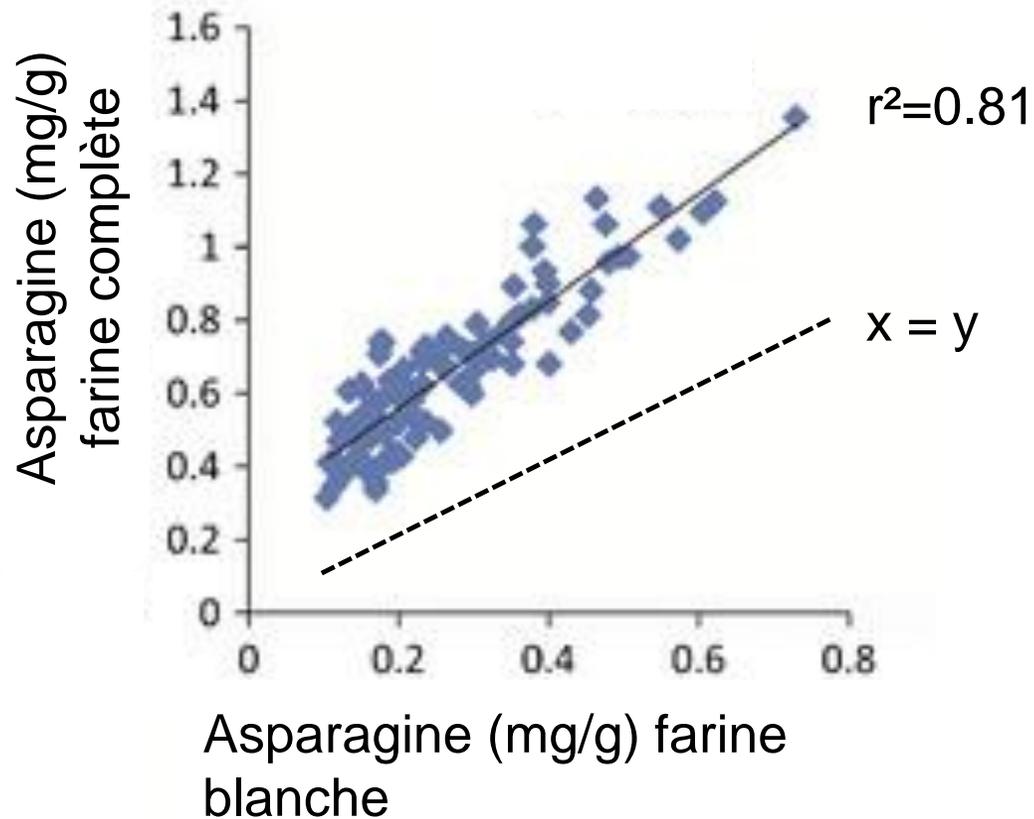
Possibilité de sélectionner des variétés à faible teneur en asparagine libre ?



Effet de la transformation et de l'environnement

Effet de la transformation et de l'environnement

La transformation



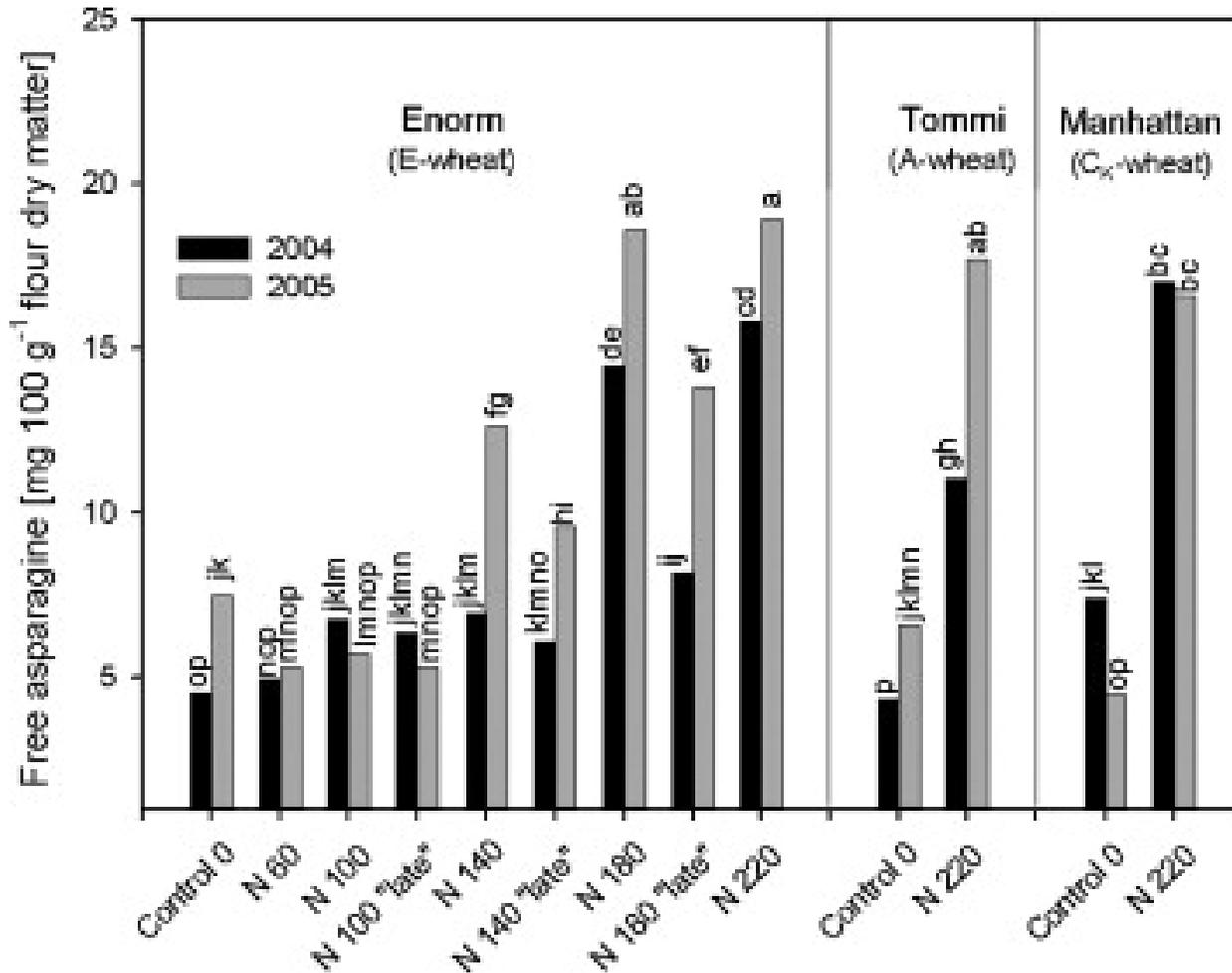
Corol et al. (2016)

Les farines complètes contiennent plus d'asparagine que les farines blanches

L'asparagine libre est un acide aminé réparti de façon hétérogène dans le grain de blé. Le germe contient le plus d'asparagine libre, suivi par le son et la farine tamisée (albumen) (Fredriksson et al. 2004)

Effet de la transformation et de l'environnement

La fertilisation azotée



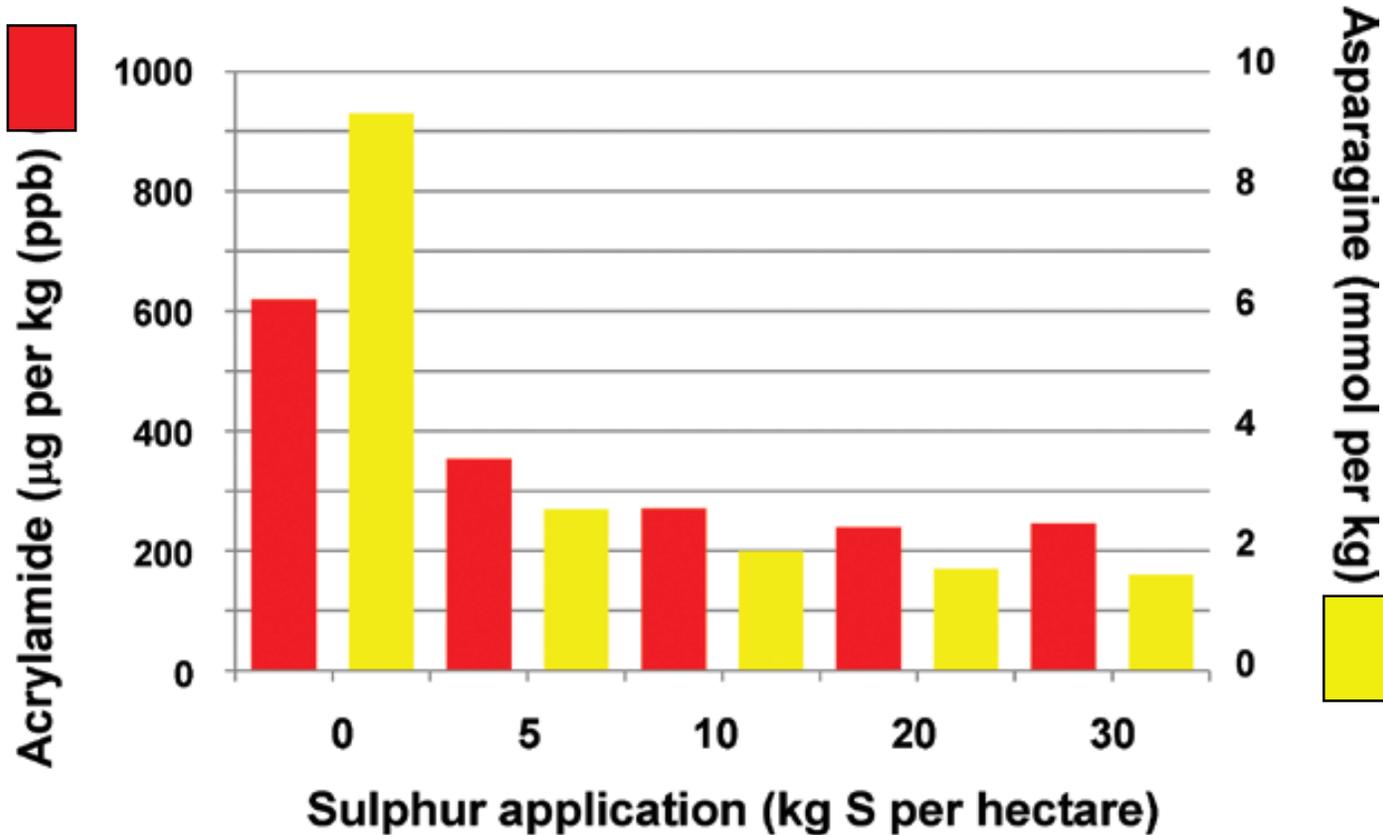
De 2 à 6 niveaux de fertilisation azotée sur 3 variétés × 2 années en Allemagne

L'azote en excès favorise l'accumulation d'asparagine libre dans la farine

Weber et al. (2008)

Effet de la transformation et de l'environnement

La fertilisation soufrée



Le soufre ne diminue l'accumulation d'asparagine et d'acrylamide qu'en **situation carencée**

Le déficit en soufre **limiterait la synthèse de protéines de réserve** ce qui augmenterait l'accumulation d'asparagine libre

Halford et al. (2015)

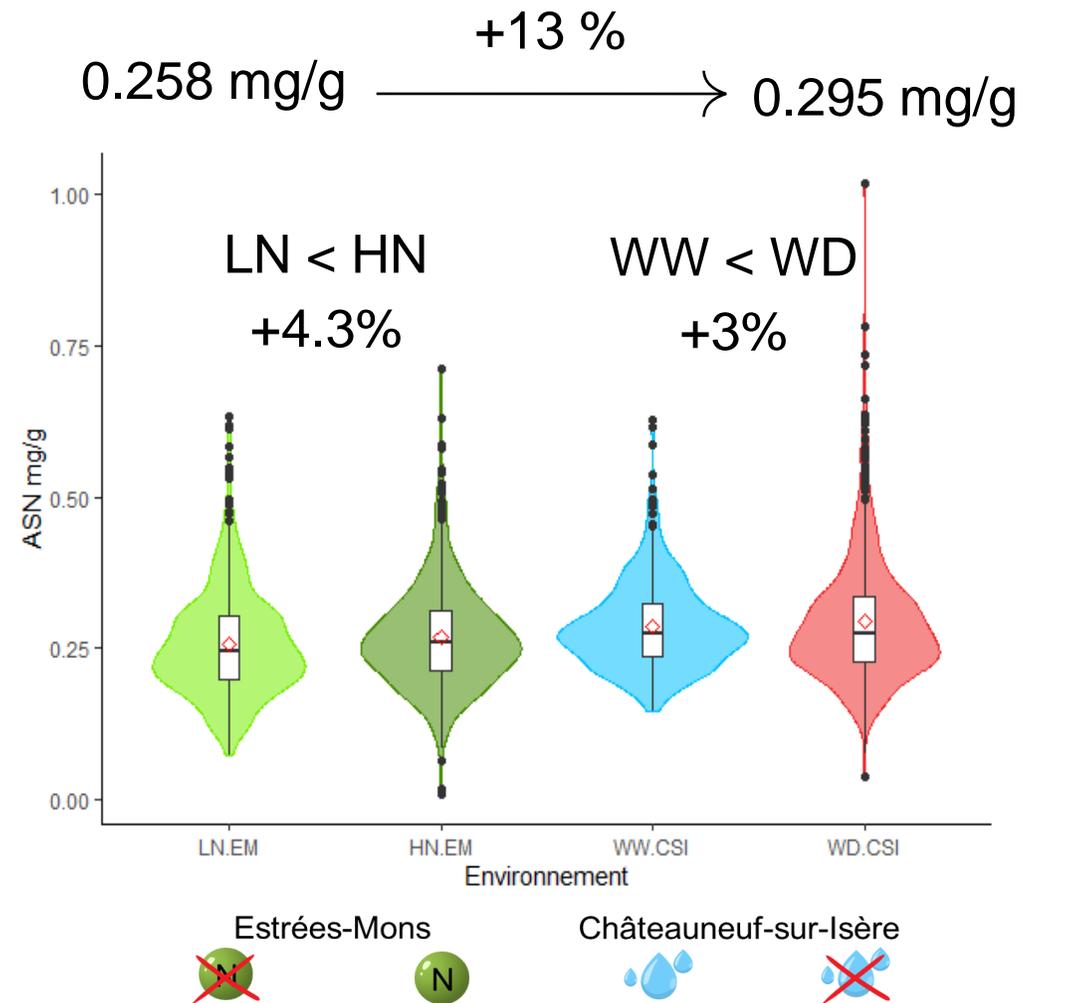
Effet de la transformation et de l'environnement

Effet de la sécheresse

Il est bien établi que la concentration de proline libre augmente dans les tissus végétaux soumis à la sécheresse (Lea et al. 2007)

Il a été montré que l'asparagine s'accumule en même temps que la proline (Lea et al. 2007)

On observe **une augmentation significative mais relativement limitée** d'asparagine libre en situation de sécheresse



Lavoignat et al. 2024



Effet de la variété

Effet de la variété

Des méthodes différentes

De nombreuses méthodes de mesure (broyage, extraction et quantification)

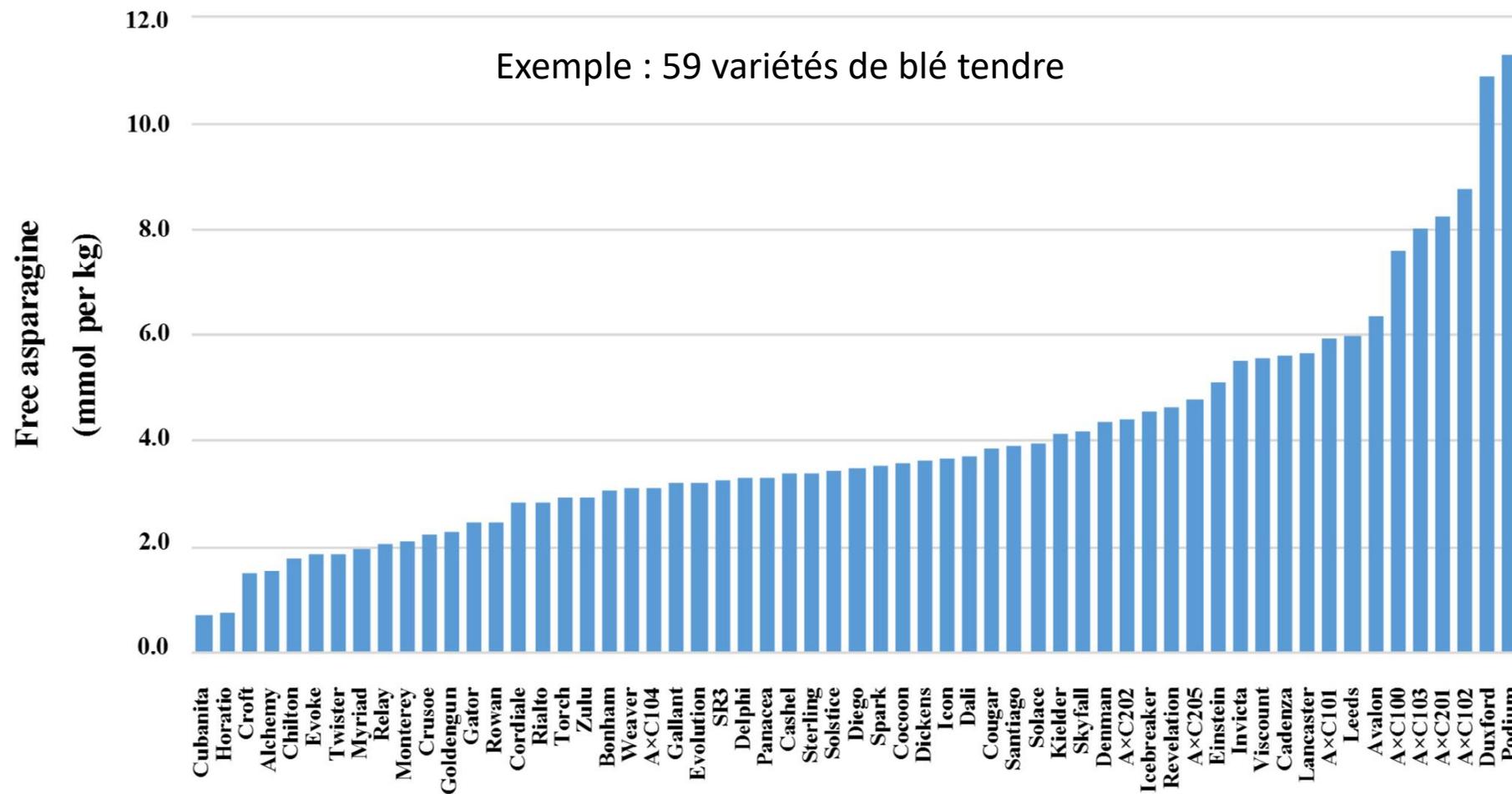
Difficulté de comparer les études

Article	Broyage	Extraction	Quantification	Unité	Variation (mg/g)
Claus et al 2006	Broyeur à cylindres	45% éthanol	GC-FID	mg/100g	0.049-0.249
Curtis et al 2009	Broyeur à billes	0.01M HCl	GC-MS	mmol/kg	0.08-8.19
Corol et al 2016	Broyeur grille 0.5mm	D2O:CD3OD - 0.05% d4-TSP	NMR	mg/g DW	0.31-1.35
Emebiri et al 2014	Broyeur "à café"	0.01M HCl	UPLC	mg/kg	0.14-0.47
Peng et al 2018	Broyeur à billes	70% méthanol	LC-MS	nmol/mg DW	0.007-0.032
Rapp et al 2018	Broyeur grille 1.0mm	Tampon pH 2.2 (méthanol)	GC	mg/kg	0.143-0.393
Stockmann et al 2018	Broyeur à cylindres	45% éthanol	HPLC	mg/100g	0.050-0.224
Lecart et al 2019	Broyeur grille 0.5mm	1M acide perchlorique	Spectrometry	%DW	0.15-0.22
Malunga et al 2019	Broyeur grille 0.5mm	0.01M HCl	UPLC	mg/kg	0.20-1.00
Wilson et al 2020	Broyeur grille 1.0mm	0.001N HCl	GC-MS	µmol/g	0.35-5.47
Zilic et al 2020	Broyeur grille 0.5mm	0.01 acide formique	LC-MS	mg/kg	0.26-0.53

Essai de développement d'un modèle de prédiction par NIRS sur grain (Rapp et al. 2018) sans succès

Effet de la variété

Variabilité génétique



Curtis et al. (2018)

Effet de la variété

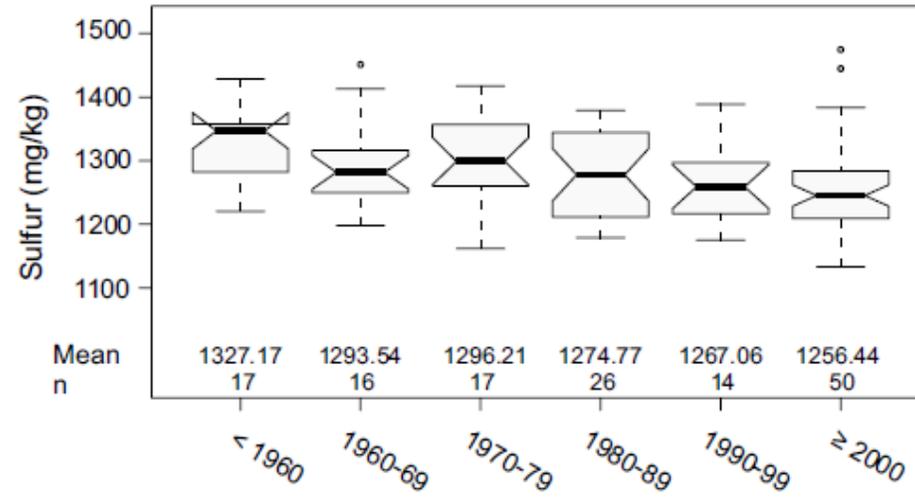
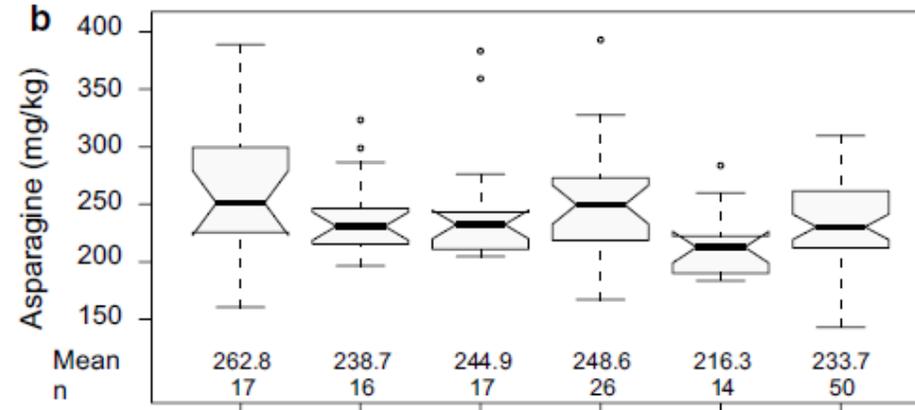
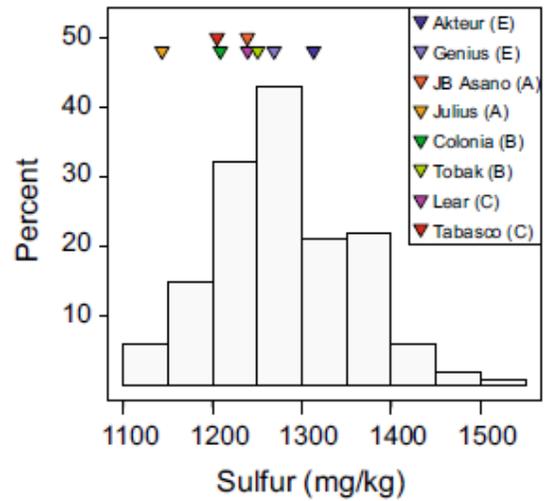
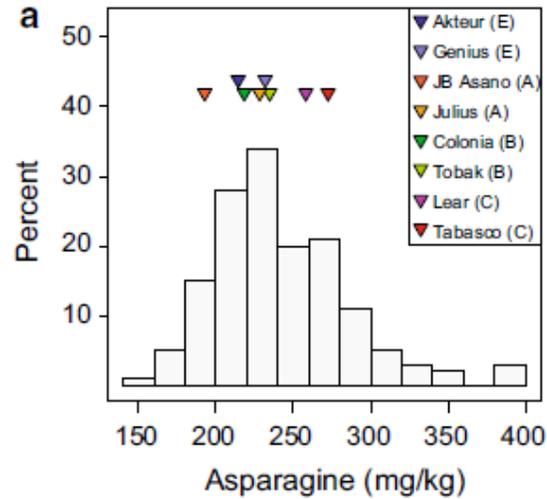
Variabilité génétique

- Gamme de variation large sur farine complète, de 1 à 3 en général

Etude	Site	Condition	Varieties	Element	[Asn] mg g ⁻¹ DM
Emibiri et al 2014	Australia	Pot in greenhouse	92 (Australia)	Wholemeal	1.37 – 4.71 (x3.4)
Corol et al 2016	Martonvasar (Hungary)	Conventional	150 (worldwide)	Wholemeal	0.32 – 1.56 (x4.9)
Corol et al 2016	Hungary, Poland, UK, France	Conventional	26 (worldwide)	Wholemeal	0.41 – 0.79 (x1.9)
Curtis et al 2018	Rothamsted (UK)	No S applied 40 kg S ha ⁻¹	25 (registered UK)	Wholemeal	0.20 – 0.40 (x2.0) 0.20 – 0.36 (x1.8)
Curtis et al 2018	Rothamsted (UK)	No S applied 40 kg S ha ⁻¹	59 (registered UK)	Wholemeal	0.98 – 6.22 (x6.3) 0.09 – 1.49 (x16.6)
Stockmann et al 2018	3 years (Germany)	Organic	19 (adapted to organic farming)	Wholemeal	0.05 – 0.22 (x4.4)
Rapp et al 2018	3 years (Germany)	Nursery	149 (registered in Germany, UK, France)	Wholemeal	0.14 – 0.39 (x2.8)
Peng et al 2018	2 sites (China)	Nursery	182 (chinese landrace and elite)	Wholemeal	0.007 – 0.032 (x4.6)
Malunga et al 2019	Manitoba, Alberta, Saskatchewan (Canada)	Conventional	30 (hard red spring)	Wholemeal White flour	0.30 – 0.96 (x3.2) 0.12 – 0.34 (x2.8)
Xie et al 2000	4 sites au Manitobal (Canada)	2 N x 2S treatments	8 (spring)	Wholemeal	0.39 – 0.69 (x1.8)

- Variabilité qui reste élevée si on compare par classe de qualité (panifiable, biscuitier...) et de dureté (*soft* et *hard*) (Curtis et al. 2018) et sur farine blanche

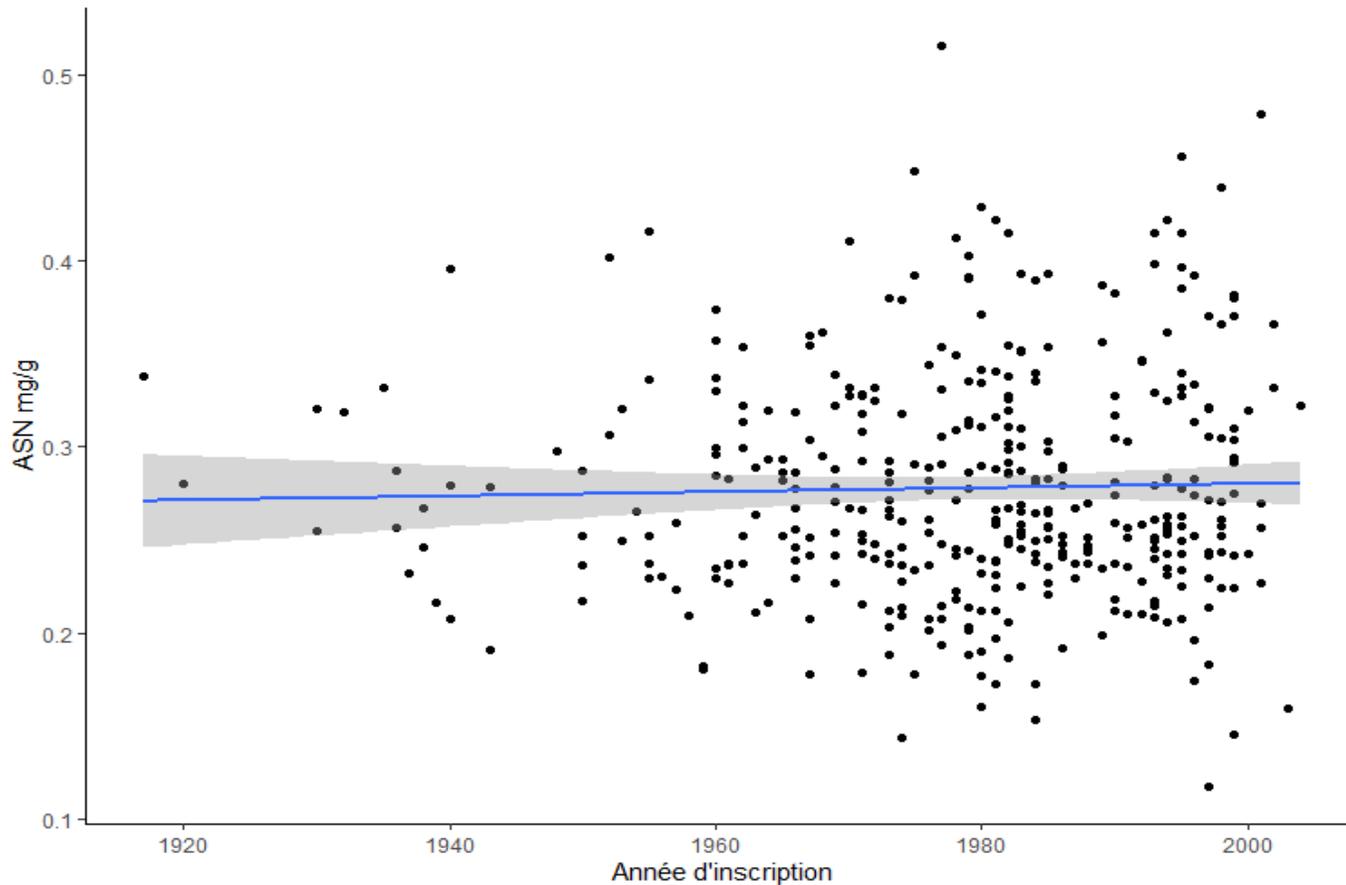
Effet de l'année d'inscription



Rapp et al 2018

Effet de la variété

Effet de l'année d'inscription



Pas d'effet de la date d'inscription sur la concentration en asparagine libre (Corol et al. 2016, Rapp et al. 2018, Lavoignat et al. soumis)

La sélection moderne **n'a pas indirectement augmenté le risque acrylamide**

Lavoignat et al. 2024

Effet de la variété

Corrélation entre caractères

Généralement **pas de forte corrélation** de la teneur en asparagine libre signalée avec :

- le rendement en grain
- le poids de mille grains
- le poids spécifique
- le rendement en farine
- et autres paramètres de qualité

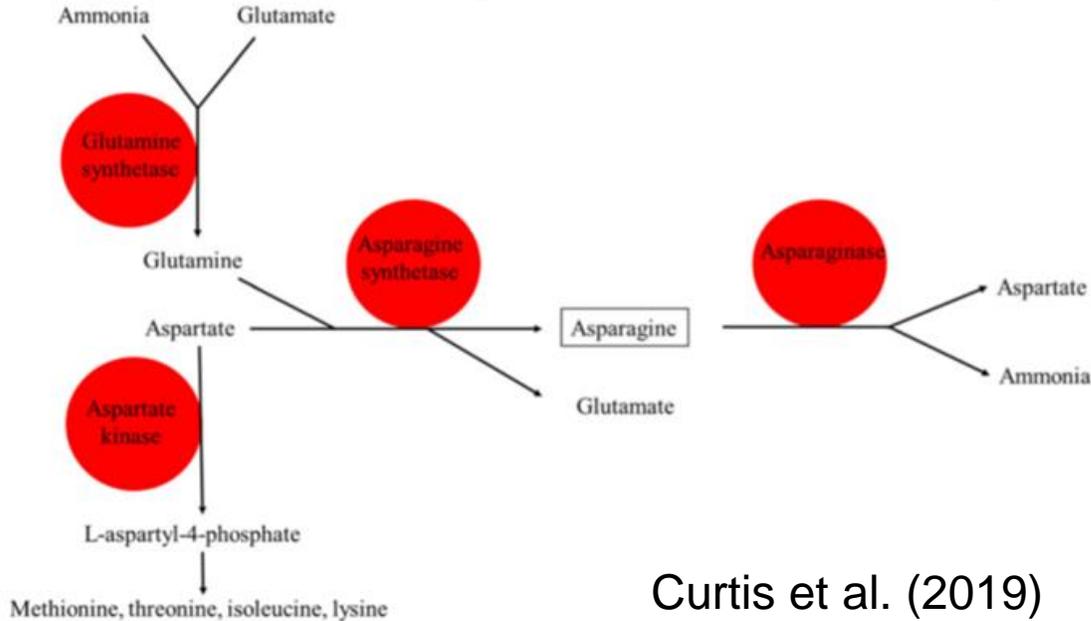
Corrélations signalées

- **avec la dureté**, les *soft* ayant une plus faible teneur que les *hard*
- parfois positive avec la teneur en protéine (Corol et al. 2016, Navrotsky et al 2018, Rapp et al 2018, Lavoignat et al. 2024) mais **reste relativement faible** ($r = 0.12-0.52$)

Effet de la variété

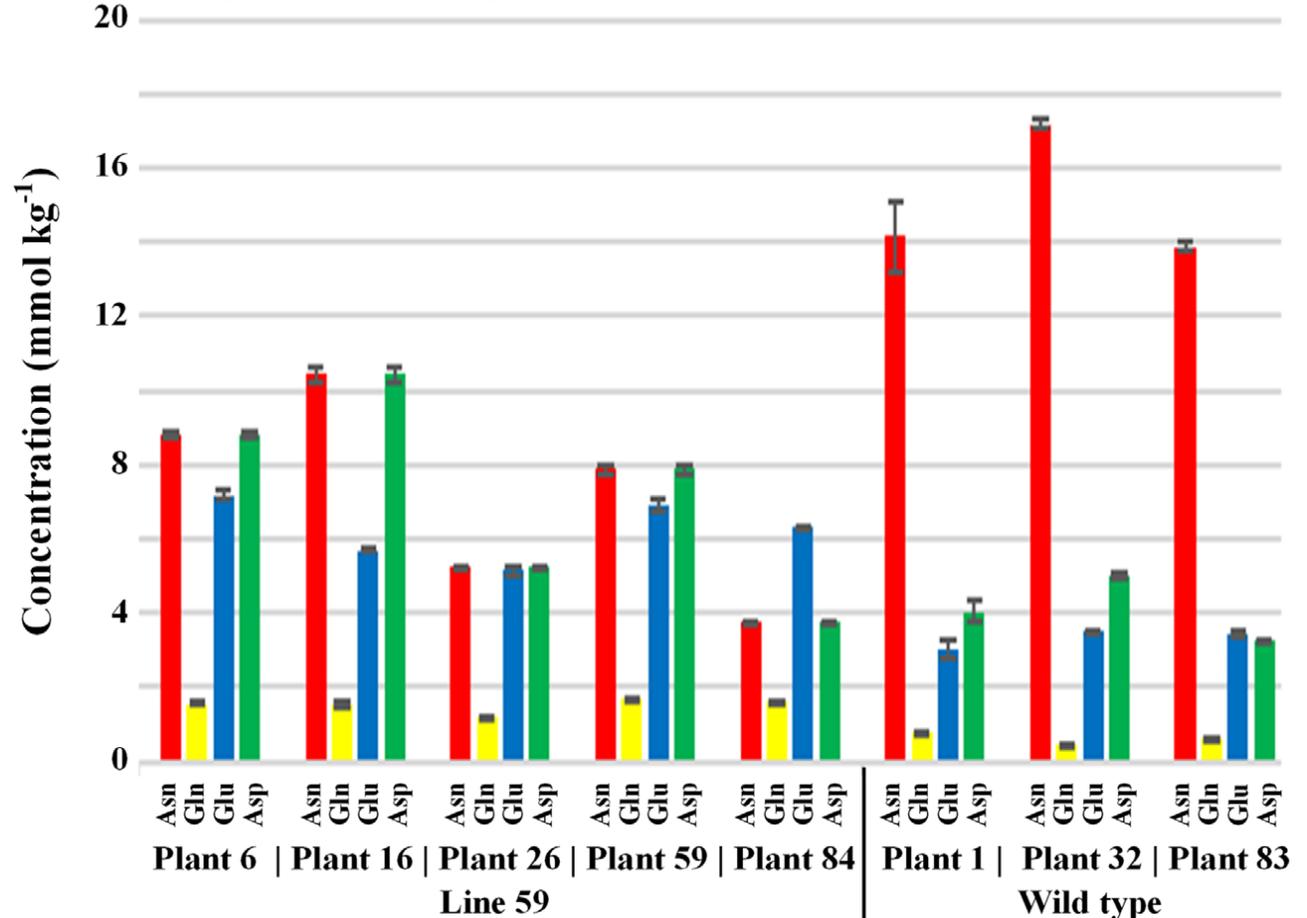
Asparagine synthétase

Schéma de synthèse de l'asparagine



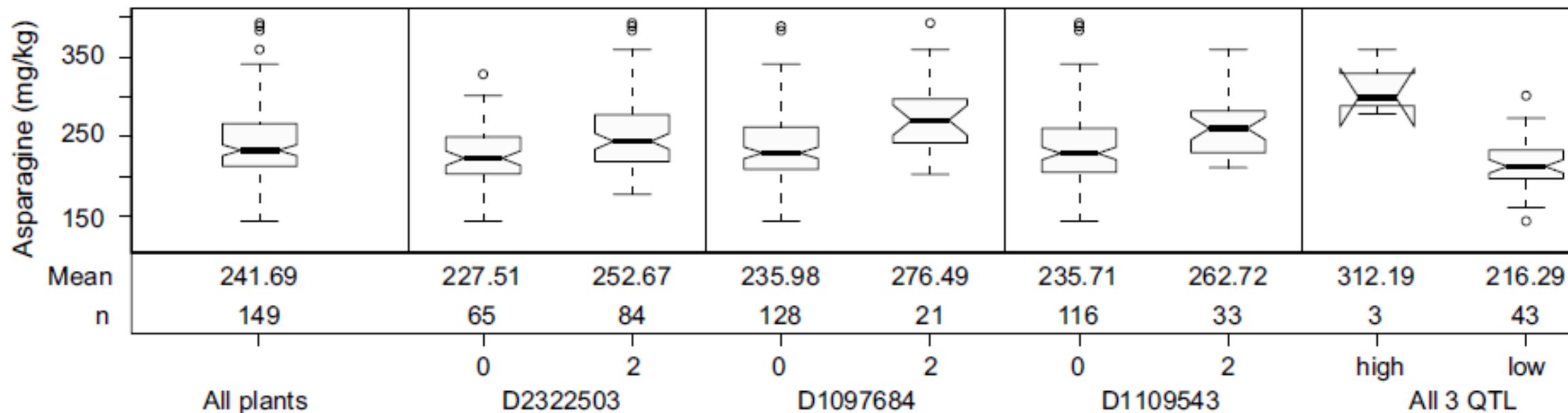
5 gènes d'Asparagine Synthétase (TaASN) présents chez le blé

Comparaison de plantes sans gène TaASN2 fonctionnel



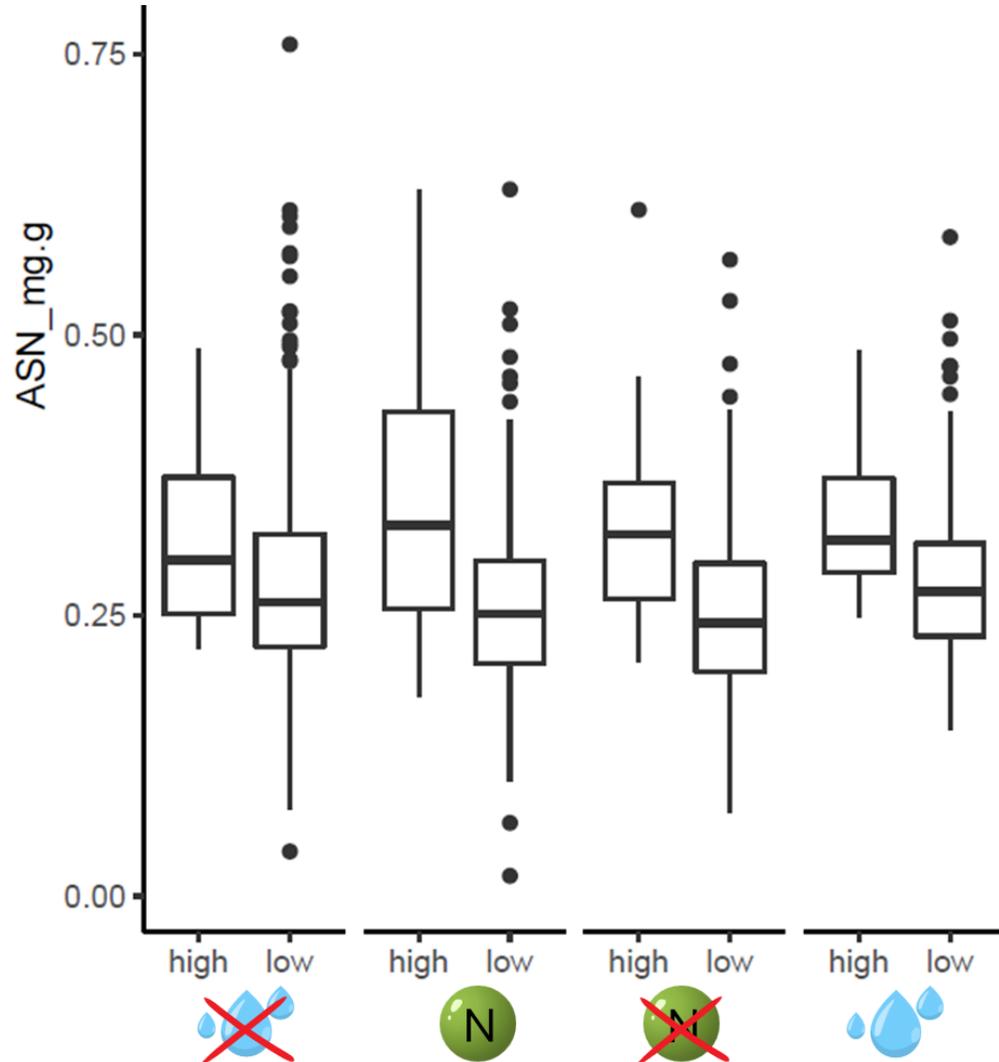
Raffan et al. (2021)

Effet de régions chromosomiques



Effet de la variété

Effet de régions chromosomiques



Effet combiné de 3 régions génétiques sur la concentration en asparagine

Réduction de 15 à 26 % de la concentration en asparagine libre avec les 3 allèles favorables

Lavoignat et al. 2024



Conclusions

Conclusions

Intérêt de la filière pour des variétés à faible teneur en asparagine libre

Analyses génétiques principalement sur la teneur en asparagine libre comme marqueur du risque acrylamide

Complémentaire des autres leviers **agronomiques et technologiques**

Standardisation des méthodes faciliterait les comparaisons

Existence d'interactions génotype × environnement

Déterminisme génétique en cours d'analyse

Existence d'une diversité génétique,

- variation d'environ 1 à 3 entre les génotypes extrêmes

Possibilité de sélection génétique

Remerciements

UMR INRAE UCA GDEC, Clermont-Ferrand

Equipe QualiGrain

J. Le Gouis, C. Ravel, S. Mouzeyar, J. Boudet,
J. Roche, E. Bancel, M. Merlino, S. Perrochon,
D. Alvarez, C. Léon, A. Faye, S. Rougeol, C.
Dupuis, M. Dupont, A. Borjas

Equipe Diversité et Génomique

J. Blancon, S. Bouchet

Plateforme BioInformatique

H. Rimbart, P. Lasserre

Centre de Ressources Biologiques

C. Debiton

UMR GQE, Le Moulon-Saclay

R. Rincant

UMR BFP, Bordeaux Métabolome

C. Cassan, P. Pétriacq, Y. Gibon

UE INRAE PHACC

F. Serre, B. Adam

UE INRAE GCIE

E. Heumez



F. Le Couviour
C. Duque



P. Momont
P. Senellart



B. Méléard



Merci de votre attention !