



## Substances néoformées et alimentation

# Evaluation du risque

Les matériaux d'emballages à contact alimentaire (MAC) jouent un rôle incontournable en matière de conservation et de protection des denrées. L'aptitude des MAC est menée sur les constituants de départ introduits dans la formulation. Les produits néoformés, apparaissant au cours du procédé de fabrication de l'emballage ou lors de son utilisation, sont des substances non intentionnelles et ne sont donc pas pris en compte. Ces composés, présents même en très faibles quantités, peuvent induire des modifications organoleptiques inacceptables, être toxiques par eux-mêmes ou par les produits générés. L'évaluation de la toxicité du « migrat » en complément de l'analytique permet d'évaluer un danger lié au process et à la combinaison des composés entre eux.

**Isabelle SEVERIN,  
Laurence DAHBI,  
Catherine BERGES,  
Anne-Marie RIQUET,  
Marie-Christine  
CHAGNON\***

Agrosupdijon,  
Dertech « Packtox »,  
Université de Bourgogne,  
1 esplanade Erasme,  
21000 Dijon  
Tel : 03 80 77 40 19  
Fax : 03 80 77 40 41  
e-mail : marie-christine.  
chagnon@u-bourgogne.fr

### Introduction

L'évaluation des risques représente la première étape d'un processus plus global qui s'appelle l'analyse des risques. Celle-ci inclut de surcroît, la gestion et la communication sur les risques. Cette démarche est définie par le règlement 178/2002/CE comme un outil essentiel pour atteindre un haut niveau de protection pour la santé et la vie des personnes. Au cours de cet article, seule l'évaluation des risques sera présentée. Cette partie est basée sur les connaissances et les données scientifiques relatives au risque étudié. Elle est divisée en 4 étapes :

- L'identification du danger
- La caractérisation du danger
- L'évaluation de l'exposition
- La caractérisation du risque

### Mots clés

- Emballage à contact alimentaire
- Evaluation du risque
- Biotests
- Effet mélange
- Néoformés
- Migration

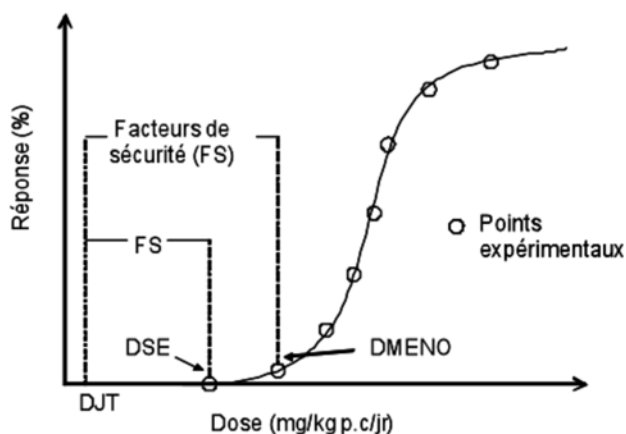


Figure 1 : Courbe dose réponse d'un effet toxique d'un contaminant alimentaire (DMENO = dose minimale avec un effet néfaste observé, DSE = dose sans effet, FS = facteurs de sécurité)

En premier lieu, il est utile de rappeler la différence entre le danger et le risque. Un danger, dans le cas de cet article, va être représenté par tout agent ou mélange chimique pouvant se retrouver dans l'aliment et pouvant causer des effets néfastes pour la santé. Le risque, lui, est la probabilité pour qu'un effet indésirable sur la santé survienne à la suite de l'absorption d'une denrée alimentaire présentant un danger. Le risque a donc deux composantes essentielles, le danger d'une part, et l'exposition du consommateur d'autre part. Pour identifier le danger, des études en laboratoire *in vivo* (aiguë, subaiguë et chronique, des effets sur la reproduction et de l'effet cancérogène) et *in vitro* (études de mutagénicité) voire *in silico* (SAR, QSAR) et/ou les observations (études épidémiologiques) peuvent être menées. Quand le danger a été identifié, il est caractérisé en réalisant une évaluation qualitative de la nature du danger et une description quantitative de la relation dose-réponse à partir le plus souvent des études *in vivo* sur les animaux de laboratoire. Ces données recueillies *in vivo* vont permettre de déterminer la dose sans effet (DSE) et de fixer des valeurs toxicologiques de référence (VTRs). Ensuite, les experts caractérisent le risque en comparant les données d'exposition (l'exposition réelle ou poten-

tielle de la population) avec VTR comme la Dose Journalière Admissible (DJA, en mg de substance/kg de poids corporel/jour) pour les additifs alimentaires ou la Dose Journalière Tolérable (DJT) pour les contaminants potentiels de l'aliment. Pour cela, des facteurs de sécurité sont appliqués à la DSE. La combinaison de ces facteurs est le plus souvent égale à 100 mais peut varier jusqu'à 5000 en fonction des variabilités inter- et intra-espèces principalement, de l'effet toxique lui-même mais aussi de la qualité des études qui ont permis de déterminer la DSE. La DJA/DJT représente la quantité de substance que peut absorber un individu quotidiennement pendant toute sa vie sans aucun effet secondaire sur sa santé, en l'état des connaissances actuelles (Figure 1).

Pour arriver à un aliment transformé tel que consommé par l'homme, la chaîne alimentaire peut être schématisée très simplement de la façon suivante :

- En premier lieu, il y a des étapes de production de matières premières pour lesquelles de nombreux contaminants sont connus, aussi bien naturels, comme les phycotoxines et les mycotoxines, qu'issus de l'environnement, dioxines, polychlorobiphényles (PCB) ou autres polluants organiques persistants ou les métaux lourds. Se retrouvent également à cette étape, les résidus des produits phytosanitaires utilisés sur les plantes aux champs.
- La seconde étape, réalisée la plupart du temps par les industries agroalimentaires est celle de la transformation de ces matières premières en aliments prêts à être consommés. Cette étape fait appel à de nombreux process (stérilisation, pasteurisation, séchage, etc.) qui peuvent entraîner parfois la formation de composés indésirables, qui ne se trouvaient pas au départ dans l'aliment et qui vont apparaître au cours d'une ou plusieurs étapes de la préparation de l'aliment, c'est ce qu'on appelle des substances néoformées ou by-products en anglais.

## Exemple de néoforme issu de la transformation des aliments

**L'acrylamide** est une molécule présente en proportion importante dans certaines matrices alimentaires comme les chips, le café, les frites, le pain ou les céréales, etc. En avril 2002, des chercheurs suédois de l'université de Stockholm et de l'Administration nationale Suédoise de l'Alimentation (Swedish National Food Administration) ont montré pour la première fois que la cuisson à haute température de certains aliments pouvait entraîner la formation d'acrylamide dans des quantités relativement élevées et inattendues (Tareke et al., 2002). Or, ce composé, utilisé depuis les années 50 dans différentes applications industrielles, est classé Cancérogène 1B et Mutagène 1B par l'Union Européenne, c'est-à-dire que le potentiel cancérogène et mutagène pour l'être humain est supposé au vu des résultats des études chez les animaux.

La même année, l'AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) a demandé l'ouverture d'une enquête sur l'acrylamide présent dans les aliments comme risque sanitaire. En 2005, l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) et l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (Food and Agriculture Organization) ont lancé une vaste campagne d'études sur cette molécule afin d'appréhender le risque pour la santé publique. En 10 ans, de nombreuses études ont été menées pour comprendre le mécanisme de formation de l'acrylamide dans les aliments et évaluer l'exposition des consommateurs (EFSA, 2011, ANSES, 2011).

L'acrylamide est une substance qui se forme naturellement dans certains aliments cuisinés à haute température (cuisson au four, friture). Au delà de 120°C et dans un environnement pauvre en eau, un acide aminé, l'asparagine, réagit avec les sucres réducteurs naturellement présents dans l'aliment, comme le glucose

Sélection des matières premières	Recette	Transformation	Caractéristiques du produit fini *
<p>Choisir uniquement des variétés de pommes de terre dédiées à la fabrication de produits frits (faible teneur en sucre)</p> <p>Entreposer les pommes de terre à plus de 6°C.</p> <p>Contrôler la température et l'humidité pendant le stockage</p> <p>Empêcher la germination pendant le stockage en utilisant des anti-germinatifs type CIPC</p> <p>Contrôler la teneur en sucre des lots de pommes de terre à réception ou les frire à titre d'essai</p> <p>Éliminer les tubercules non matures</p>	<p>Couper des frites plus épaisses, les frites plus épaisses contiennent moins d'acrylamide que les frites plus fines (influence du rapport surface/volume)</p>	<p>Blanchir les morceaux de pommes de terre dans l'eau chaude est le meilleur outil de maîtrise de la teneur en sucres réducteurs avant le passage en friteuse</p> <p>L'ajout de pyrophosphate d'acide de sodium au dernier stade du blanchiment peut réduire la teneur en acrylamide du produit du fait d'un effet du pH</p>	<p>Présenter des instructions de cuisson précises sur l'emballage : Cuire à 175° maximum, jusqu'à l'obtention d'une couleur jaune dorée, ne pas cuire à outrance. Pour des quantités plus petites, réduire le temps de cuisson</p> <p>Contrôler la couleur finale du produit en fonction de la spécification et des conseils de cuisson</p>

**Tableau 1 : Méthodes de réduction pour les frites prêtes à la consommation**  
 (« boîte à outils » acrylamide, FoodDrinkEurope)  
 \*Ceci concerne la cuisson avant consommation

ou le fructose. L'asparagine va être décarboxylée pour former l'acrylamide. Cette réaction se passe au cours d'un processus plus global, appelé la réaction de Maillard, réaction dite de « brunissement non enzymatique » qui est à l'origine de la formation de composés néoformés dans les aliments dont certains sont à l'origine de nombreux arômes.

Bien que l'homme soit sans doute exposé à l'acrylamide depuis qu'il fait cuire ses aliments, les préoccupations de santé publique suscitées par cette substance ont incité les experts du Scientific Committee for Food (SCF) à recommander d'en réduire la quantité dans la nourriture à un niveau aussi bas que raisonnablement possible (concept ALARA pour « as low as reasonably achievable »). Ainsi, chaque exploitant agro-alimentaire se doit de prendre les mesures appropriées pour réduire la

présence de l'acrylamide à un niveau minimum dans le produit fini. Pour cela, plusieurs méthodes peuvent être appliquées en fonction du produit, au niveau de la sélection des matières premières, de la recette, des procédés de transformation et enfin des conseils de cuisson/réchauffage chez le consommateur (**Tableau 1**).

Il existe d'autres substances qui se forment dans les aliments au cours de leur fabrication mais l'objectif de cet article est de se focaliser sur ceux issus de la dernière étape de la chaîne alimentaire, essentielle à l'heure du « tout emballé », qui est celle du conditionnement du produit alimentaire dans son emballage primaire (celui qui est en contact direct avec l'aliment).

### Les emballages à contact alimentaire

Les emballages avec une production de 17,3 milliards d'euros en 2007 et plus de 20 milliards d'euros de chiffre d'affaires (Sessi, 2008) ont pour débouché essentiel le secteur agro-alimentaire. Majoritairement représentés par les plastiques et les papiers-cartons, ils se caractérisent par une innovation de plus en plus importante notamment avec le développement de matériaux actifs, qui contribuent

à améliorer la préservation du produit conditionné et les emballages intelligents qui eux contrôlent les conditions de transport et de stockage. Ces nouveaux emballages ont désormais leur propre réglementation européenne (Règlement 450/2009).

Les matériaux d'emballage à contact alimentaire jouent un rôle incontournable de protection de l'aliment (lumière, microorganismes, etc.) mais aussi de conservation des qualités nutritionnelles et organoleptiques. Ils doivent aussi être fonctionnels, faciliter l'usage, le transport d'un produit, permettre un étiquetage, ils doivent être attractifs, novateurs, recyclables, biosourcés, biodégradables ; c'est aussi un outil « marketing » très important. Dans le cadre de cet article, seront traités plus particulièrement les matériaux plastiques qui possèdent une réglementation européenne harmonisée.

### Réglementation

Malgré les avantages indéniables que présentent les emballages à contact alimentaire, ils peuvent cependant représenter une source d'exposition à des substances chimiques pour le consommateur. En effet, un emballage est rarement inerte et il existe toujours des interactions entre le contenant et le contenu. La composition d'un emballage plastique fini est complexe. Outre les monomères et les adjuvants, qui servent de base pour fabriquer un emballage, des impuretés des produits de base, des résidus de synthèse, des produits de dégradation, ou des néoformés vont se retrouver au contact de l'aliment. Tous ces éléments peuvent migrer vers l'aliment et entraîner des effets organoleptiques et/ou toxiques.

La migration concerne tous les emballages et des milliers de substances.

Deux grandes catégories de substances vont pouvoir migrer : les substances dites intentionnelles et les substances non intentionnelles.

Polymères	Monomères et additifs
Polyoléfines	Alcanes, alcènes, aldéhydes, 2,4-di-tert-butylphénol, Irganox1010, 1076, Irgafox, érucamide, glycérolmonostéarate...
Polychlorures de vinyle	Stéaroylbenzoylméthane, dilaurylthiodipropionate, acrylonitrile, Organo-Sn, Irganox 245, DEHA
Polystyrène	Styrène, dimère, trimère, BHT, érucamide
Polyéthylène téréphtalate	Monomères, dimères, trimères, acétaldéhyde, Sb
Polycarbonate	Bisphénol A, Iragfos 168, diphenylcarbonate
Vernis des boîtes de conserve	BADGE et les dérivés correspondants
Encres	Solvants résiduels, ITX, amines aromatiques, 4-méthylbenzophénone

**Tableau 2 : Principaux migrants issus de Vitrac et al., 2007 ; Sendon-Garcia et al., 2006 ; Dionisi et Oldring, 2002 ; Colerangle et Roy, 1997 ; EFSA, 2005 ; EFSA 2009**

## Les substances dites intentionnelles ou IAS

Les composés servant à la formulation de base de l'emballage, les monomères résiduels et les adjuvants font partis de cette première catégorie. Le plus souvent, les adjuvants sont la classe principale de migrants potentiels car ils ne sont pas liés à la maille du polymère (**Tableau 2**). On estime que les migrants potentiellement dangereux ont une masse molaire <1000 g/mole car, au-delà, ils ne sont pratiquement plus absorbés par le tractus-gastro-intestinal.

Du fait de cette migration plus ou moins importante, les emballages à contact alimentaire sont très bien réglementés en Europe. En effet, la réglementation européenne impose aux industriels, à travers le règlement cadre n°1935/2004/CE et son article 3, le principe d'inertie des emballages destinés au contact alimentaire c'est-à-dire, notamment, que l'emballage ne doit pas céder à l'aliment de substances susceptibles de présenter un danger. Elle concerne 17 groupes de matériaux et il existe des directives ou des règlements spécifiques en fonctions des matériaux. Elle fixe les objectifs mais ne donne pas les moyens pour y parvenir.

Aussi, il existe depuis 2002, une harmonisation européenne dans le cas des matériaux plastiques et des multicouches. La directive 2002/72 puis le règlement 10/2011 imposent que tous les constituants entrant dans la composition des emballages soient évalués au regard de leur migration et de leurs dangers. L'estimation de la migration va mimer l'exposition des consommateurs. Elle peut se faire soit à l'aide de logiciels de modélisation, soit grâce à des approches expérimentales, faisant appel à des liquides simulant les aliments. La réglementation distingue deux types de migration :

- **la migration globale**, qui donne des informations sur la masse de l'ensemble des substances qui migrent quelle que

Migration globale	Dossier toxicologique
< 0,05 mg/kg (dossier réduit)	3 tests de mutagenèse in vitro : - 1 test de mutations géniques sur bactéries - 1 test de mutations géniques sur cellules de mammifères - 1 test d'aberrations chromosomiques sur cellules de mammifères
0,05 < migration < 5 mg/kg (dossier intermédiaire)	3 tests de mutagenèse in vitro (comme précédemment) Etude de toxicité orale à 90 jours chez deux espèces Données démontrant l'absence de potentiel d'accumulation chez l'homme
5 < migration < 60 mg/kg (dossier complet)	3 tests de mutagenèse in vitro (comme précédemment) Etude de toxicité orale à 90 jours chez deux espèces Etudes sur l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination Etude de reprotoxicité (1 espèce) et sur le développement (2 espèces) Etudes de toxicité à long terme/ cancérogenèse (2 espèces)

**Tableau 3 : Informations toxicologiques demandées par l'EFSA pour l'évaluation de substances utilisées dans les matériaux à contact alimentaire.**

soit leur nature, on parle alors de migrat. Cette mesure représente un critère d'inertie et est indépendante de la toxicité du migrat, elle doit être inférieure à 10 mg/dm<sup>2</sup>, sachant qu'un kilo d'aliment est emballé dans 6 dm<sup>2</sup> d'emballage (postulat européen)

- **la migration spécifique** qui est la quantité d'un constituant connu et bien identifié qui migre de l'emballage vers l'aliment et qui représente une restriction en fonction de la toxicité de la substance, elle s'exprime en mg/kg d'aliment avec un maximum à 60 mg/kg d'aliment. Dans ce cas, on parle de migrat.

En plus des études de migration, des études toxicologiques sont requises pour chaque substance de départ. La nature des tests toxicologiques dépend du niveau de migration, par exemple, pour de faibles migrations inférieures à 0,05 mg/kg d'aliment, seuls des tests de génotoxicité in vitro sont demandés (**Tableau 3**).

Ainsi, pour chaque substance de départ, il est possible de fixer si besoin, une Limite de Migration Spécifique (LMS), exprimée

### Définition...

**Multicouches :** emballages à plusieurs couches et qui ont au moins une couche de plastique (type brique alimentaire = complexe papier carton/PE/Alu/PE/PE) ou uniquement des couches plastiques (pour augmenter l'effet barrière), par exemple : bouteille d'eau gazeuse = PET/nylon/PET).

en mg/kg d'aliment, en multipliant la DJT exprimée en mg/kg p.c./j par un facteur 60, représentant le poids moyen d'un européen et en considérant que cet individu mange un kg de nourriture emballé/j (postulats européens).

En prenant pour exemple l'adipate de bis (2-ethyl-hexyle) ou DEHA, un plastifiant utilisé dans les films en chlorure de polyvinyle, la LMS se calcule à partir d'une DJT fixée à 0,3 mg/kg p.c./j en la multipliant par 60, ce qui donne une LMS à 18 mg de DEHA/kg d'aliment.

### Les substances non intentionnelles ou NIAS (non intentionally added substances)

Se retrouvent dans cette catégorie les produits de dégradation des polymères, des monomères et des adjuvants, mais aussi les résidus d'encre d'impression, les impuretés, des contaminants issus du recyclage des matières et enfin les composés néoformés.

Or, ces dernières années, les pays européens ont connu des alertes sanitaires majeures liées à des contaminations chimiques des aliments par des substances venant des emballages : vernis internes de boîtes de conserve, joint de pots en verres, encres, colles, etc. En réalité, les emballages incriminés lors des alertes récentes étaient fabriqués exclusivement à partir de substances de départ/additifs autorisés ; ces alertes étaient en fait dues à des substances non intentionnelles. Ces substances non prévisibles, et/ou inconnues représentent une contribution non caractérisée à l'exposition du consommateur à des contaminants d'emballage, faisant des emballages la première source de contamination la moins maîtrisée (Grob et al., 2006). De façon plus générale, ces NIAS, quand ils ne sont pas connus et maîtrisés peuvent affecter la qualité et la sécurité des emballages à contact alimentaire.

Désormais depuis 2011 suite à la parution du règlement CE/10/2011, ces substances doivent être prises en compte : « La notion de risque engendré par une substance porte sur la substance elle-même, sur les impuretés de la substance et sur les produits de réaction ou de dégradation prévisibles dans le cadre de l'utilisation envisagée ».

Parmi les différents NIAS, se retrouvent des composés néoformés, formés au cours de réactions chimiques entre des molécules issues de l'emballage, mais aussi suite à une réaction avec l'aliment emballé. En effet, des réactions peuvent aussi avoir lieu dans la matrice alimentaire après migration des substances de l'emballage. L'origine de ces composés est diverse, les néoformés peuvent être issus des polymères, des adjuvants, de post-traitements comme la cuisson au four à fortes températures, le réchauffage au four à micro-ondes ou la stérilisation.

#### 1. Les polymères

La plupart des polymères courants ne sont pas stables, notamment à la chaleur et aux traitements ionisants :

Le polyéthylène téréphtalate (PET) génère des traces d'acétaldéhyde s'il reste de l'humidité lors de sa transformation vers 280°C. Cet acétaldéhyde peut avoir des conséquences sur les propriétés organoleptiques de l'eau minérale. Monteiro et al. (1996) ont identifié des oligomères, Begley et Hollifield (1989) de l'acide phtalique, un trimère cyclique mais aussi du téréphtalate du bis hydroxyéthyle (BHET). Komolprasert et al. (2001) ont mis en évidence des composés néoformés volatils comme les acides formiques et acétiques, le 1,3 dioxolane, le 2-méthyl 1,3-dioxolane, l'acétaldéhyde, mais aussi plusieurs oligomères, en particulier des trimères.

Les polyoléfinés (PE, PP) se dégradent au moment de leur mise en forme à haute température, en formant des aldéhydes, des cétones, des alcools et des acides qui

peuvent influencer ensuite la qualité des denrées emballées.

## 2. Les additifs

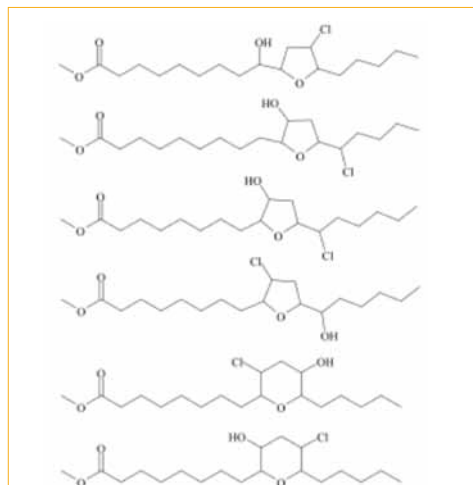
Deux alertes ayant eu lieu en 2003 étaient dues à l'apparition de composés néoformés issus d'additifs utilisés dans la fabrication des joints en chlorure de polyvinyle qui assurent l'étanchéité des couvercles en métal des pots en verre contenant des aliments emballés destinés aux enfants en bas âge et aux adultes (**Tableau 4**).

Le semicarbazide (SEM) a été détecté dans des aliments dans le cadre de contrôle régulier de la présence de nitrofurazone dans les aliments. Le SEM est le métabolite de ce composé et est utilisé comme traceur. La nitrofurazone est en effet un produit interdit en Europe (d'où les campagnes de surveillance) mais qui peut parfois être trouvé du fait de son utilisation en tant qu'antiseptique antibiotique pour des usages vétérinaires. Le SEM retrouvé dans les aliments est en fait un produit de dégradation de l'azodicarbonamide, utilisé comme agent gonflant à la dose de 0,2 à 0,5% en masse de joints des couvercles de type « pop ». Cette dégradation n'était pas connue lors de l'évaluation de l'azodicarbonamide. Le SEM migre des joints vers les aliments emballés, la condensation de gouttelettes d'eau sur le couvercle lors de l'étape de stérilisation ou de la pasteurisation favorisant cette migration. L'interdiction de l'usage de l'azodicarbonamide, précurseur du SEM, à partir du 2 août 2005 a été décidée par la directive 2004/1/CE. Depuis, des études ont confirmé que la toxicité du SEM était limitée, seule une réponse génotoxique faible a été détectée in vitro (AFFSA, 2005).

L'huile époxydée de graines de soja (ESBO pour epoxydised soya bean oil) est un mélange de triglycérides (dont l'acide oléique, linoléique et linoléinique) sur lesquels ont été greffés des ponts époxydes séparés par un groupement CH<sub>2</sub>.

Résine en PVC	40-60%
Plastifiant (huile époxydée de graines de soja)	30-40%
Erucamide, cire d'oléamide	2-4%
Huile de silicone	1-2%
Dioxyde de titane	0,5-1%
Stéarate de Ca/Zn	0,5-1%
Azodicarbonamide (agent gonflant)	0,2-0,5%

**Tableau 4 : Composition des joints en PVC**



**Figure 2 : Exemples de composés néoformés cycliques détectés à partir de diépoxydes séparés par un groupement CH<sub>2</sub> (par exemple l'huile de soja époxydée).**

Elle est utilisée comme plastifiant et stabilisant à la dose de 40% en masse dans ces mêmes joints pour couvercle. En effet, elle a pour but de piéger l'acide chlorhydrique qui peut se dégager du matériau PVC quand il est chauffé à forte température (**Figure 2**). Cependant, l'ESBO peut, elle-même, migrer vers les aliments, surtout s'ils sont gras, mais aussi se dégrader en composés néoformés cycliques chlorés. Dans la directive 2005/79/CE, la limite de migration spécifique de l'ESBO a été fixée à 60 mg/kg d'aliment et abaissée à 30 mg/kg d'aliment pour les préparations pour enfants en bas âge.

### 3. Les post-traitements

Si on prend l'exemple très simple de l'utilisation de plus en plus répandue des moules à gâteaux et des ustensiles de cuisine en polydiméthylsiloxane, c'est-à-dire en silicone, ces produits sont susceptibles d'être portés à très haute température (> 250°C). Or, dès 200°C, des études (Olsen, 1985 ; Willoughby et al., 2005) ont montré que trois classes de migrants néoformés apparaissent :

- des produits d'oxydation comme le formaldéhyde et l'acide formique,
- des oligomères générés par des coupures de chaîne, ce qui entraîne la formation de polydiméthylsiloxanes cycliques ou des oligomères linéaires avec des terminaisons mixtes triméthylsiloxy ou silanol,
- certains composés sont issus de peroxydes utilisés lors de la synthèse de ces matériaux par polymérisation/réticulation.

Or, à l'heure actuelle, ces matériaux ne doivent répondre qu'au règlement cadre 1935/2004/CE. Aucun texte spécifique ne leur est dédié, seul un arrêté français du 25 novembre 1992 mentionnent la composition et les limites de migration des emballages en silicone, sans tenir compte bien sûr, à l'époque, des composés néoformés éventuels.

### 4. Réactivité avec l'aliment

En 1996, le Bisphénol A diglycidyl ether (BADGE) a fait l'objet d'une alerte sanitaire. Cette molécule, symétrique possédant deux cycles et deux ponts époxy (**Figure 3**) est utilisée dans les vernis de type organosols vinyliques ou dans les résines époxy-phénoliques en tant que stabilisant et piègeur de chlore au moment de la cuisson des vernis protecteurs des boîtes de conserve. Ainsi, après cuisson, différents composés se retrouvent dans le vernis, comme le BADGE lui-même, le BADGE hydroxylé sur l'une ou les deux fonctions époxy, mais également des

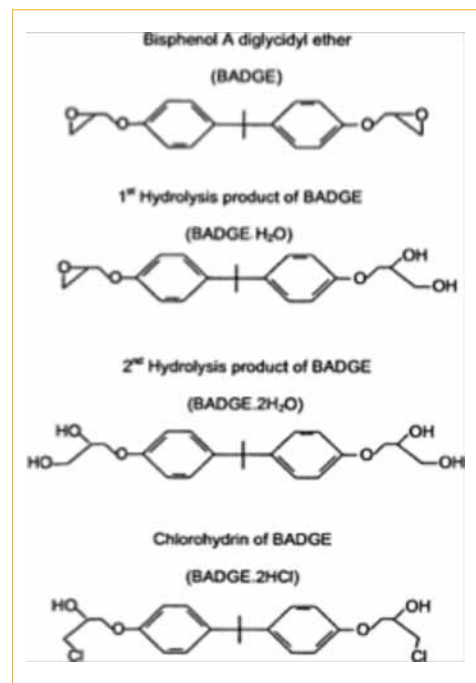


Figure 3 : Le BADGE et ses dérivés les plus simples (REF)

composés, appelés chlorohydrines, qui sont des molécules de BADGE, ayant piégé une ou deux molécules de chlore, relarguées par le PVC au moment de la cuisson, au niveau des ponts époxy. Toutes ces substances vont ensuite migrer vers l'aliment, et, en fonction des conditions physicochimiques présentes dans l'aliment, plusieurs cas peuvent se présenter. En milieu aqueux, le BADGE va être hydrolysé alors qu'en milieu gras, le BADGE reste sous sa forme native avec ses deux ponts époxy, reconnu comme alerte structurelle dangereuse. Les chlorohydrines, elles, restent identiques après migration mais de nouvelles peuvent apparaître sur un groupement epoxy libre en présence de chlorure de sodium dans l'aliment, par exemple.

Malgré le fait que le BADGE et ses dérivés ne semblent pas être toxiques *in vivo* (EFSA, 2004), la commission européenne a fixé une LMS à 9 mg/kg d'aliment pour le BADGE et ses dérivés hydroxylés et une LMS à 1 mg/kg d'aliment pour les chlorohydrines du BADGE (règlement 1895/2005 CE).



## Difficultés d'évaluation des néoformés

L'évaluation du risque sanitaire associé aux produits néoformés est un enjeu pour demain. Cependant, le rapport de l'Afssa qui s'est autosaisie du sujet lors de son mandat 2004-2006 montre que cette évaluation est particulièrement difficile car leur nature chimique, leur toxicité, leurs mécanismes de formation (qui dépendent des étapes du cycle de vie du matériau) ainsi que les méthodes d'identification et d'évaluation de leur migration ne sont pas ou peu connus. En 2009, le Comité d'Experts Spécialisé MCDA (matériaux au contact des aliments) de l'AFSSA a rédigé un rapport sur la présence de néoformés dans les emballages. Il ressort de ce rapport qu'un grand nombre de molécules se forment sous l'influence des procédés physiques et sont susceptibles d'être retrouvées dans les aliments.

Aussi, les NIAS peuvent induire des difficultés d'évaluation du risque du fait d'un nombre important de substances (Forest of peaks) pouvant être détectés par des techniques analytiques.

La détermination chimique est rarement exhaustive et pas suffisante pour plusieurs raisons :

1. L'approche purement analytique peut être très difficile sur le plan expérimental du fait de cette nature inconnue des néoformés.
2. Les toxicités seront éventuellement différentes et du fait des structures non connues, il ne peut être appliqué une approche structure-activité, aucun type d'effet toxique ne peut être reconnu, et donc aucun « end-point » toxicologique précis recherché.

Le TTC (threshold of toxicological concern) ou seuil de préoccupation toxicologique (1,5 µg/personne/jour), qui garantit l'absence d'effet toxique des composés présents en faible concentration dans la nourriture (arômes, composés d'emballages) et pour lesquels il n'existe pas

d'alerte structurale génotoxique, sera difficile à appliquer si on ne peut caractériser la structure chimique et quantifier le néoformé.

3. D'autre part, cette contamination une fois mesurée qualitativement et quantitativement ne signifie pas obligatoirement un risque pour la santé humaine. Il sera de plus impossible d'aborder le profil toxicologique de chacun des contaminants selon les arbres de décision actuellement utilisés au niveau réglementaire pour des raisons de temps et de coût.
4. Enfin, des interactions toxicologiques (potentialisation, synergie, antagonisme, etc.) sont possibles entre néoformés, elles sont connues dans le domaine des pesticides, importantes et additives dans le cas de molécules structurellement proches, mais peu prévisibles dans le cas de molécules structurellement différentes.

## Evaluation globale du risque

Aussi, en complément de l'analytique, la toxicité de l'ensemble des molécules susceptibles de migrer (migrat) de l'emballage vers l'aliment peut être testée. Une approche globale, à savoir une évaluation de la toxicité du produit fini et du mélange des composés qui migrent permet d'évaluer indirectement le risque lié au process. En matière de toxicité, les contaminations potentielles des matériaux à contact alimentaire ne peuvent être que faibles. A ce jour, la perturbation endocrinienne et la génotoxicité sont les seuls effets toxiques répondant à cette notion de faible exposition. Les effets génotoxiques sont importants à détecter car ils conduisent à des lésions de l'ADN cellulaire. Cette première phase, si la lésion n'est pas réparée et/ou si la cellule ne meurt pas, est primordiale car elle correspond à l'amorce de phénomènes qui conduiront à un processus cancéreux. Par ailleurs, ces molécules, auxquelles l'homme peut être exposé à faibles

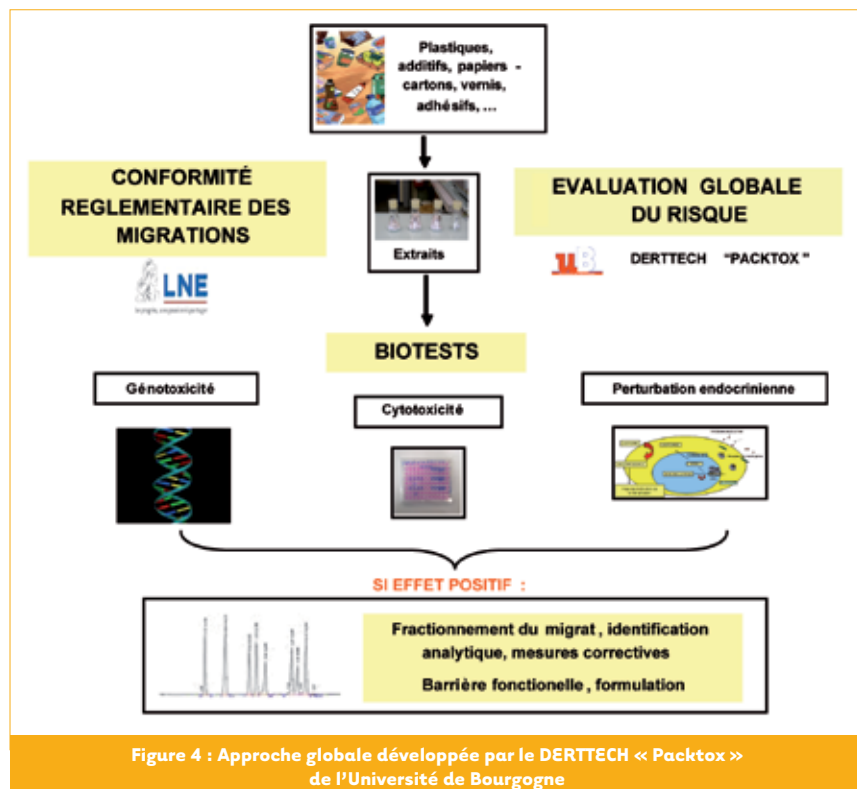


Figure 4 : Approche globale développée par le DERTTECH « Packtox » de l'Université de Bourgogne

concentrations, peuvent aussi perturber le système endocrinien, en particulier mimer les œstrogènes et/ou les androgènes, voire les hormones thyroïdiennes. Ainsi, la modification de l'équilibre hormonal peut être à l'origine de diverses pathologies : malformation du tractus génital chez le mâle, diminution de la concentration spermatique, cancers hormonaux dépendants, syndrome métabolique, etc. Les effets toxiques potentiels des migrants d'emballage peuvent donc être testés d'un point de vue toxicologique en utilisant des tests de screening in vitro ou « biotests », dont certains font déjà partie de la batterie réglementaire de tests (**Figure 4**). Ce travail constitue l'activité de transfert du Département de Recherche, et de Transferts Technologiques (Derttech) « Packtox » en collaboration avec Welience, la filiale de l'Université de Bourgogne pour la valorisation. Packtox travaille également avec le Laboratoire National d'Essais, centre Énergie, Matériaux et Emballages (LNE) pour les étapes de migration et fait partie

du Réseau Mixte Technologique « ProPack-Food ».

Packtox a déjà participé à deux programmes européens (Biosafepaper, 2001-2005 et Migresives, 2006-2009) dans lesquels cette approche globale était utilisée (Bradley et al., 2008, 2010, Honkalampi-Hamalainen et al., 2010). Certains de ces biotests ont fait l'objet d'une phase d'inter-calibration (pré-validation) au niveau européen afin de proposer une nouvelle approche de l'évaluation du risque basée sur l'utilisation de tests in vitro pour des matériaux d'emballages à contact alimentaire qui ne possèdent pas encore de réglementation européenne spécifique, comme les papiers-cartons ou les colles et adhésifs. Une norme standardisée du CEN a été récemment publiée (NF EN 15845) pour évaluer la cytotoxicité potentielle d'extrait aqueux de ces emballages papiers-cartons.

En 2006, s'interrogeant sur les moyens de garantir la sécurité des emballages malgré l'existence de ces composés néoformés, l'AFSSA a rendu un avis sur l'évaluation de la toxicité des migrants (AFSSA 2006) en complément de leur caractérisation chimique. L'agence a conclu que des projets de recherche devaient être initiés sur la mise au point de micro-méthodes d'évaluation de la toxicité (tels que des essais sur plaque de microtitration) et le développement de méthodes d'extraction et de préparation d'échantillons adaptées à l'évaluation des migrants issus de matériaux au contact des denrées alimentaires.

En parallèle, les résultats issus des tests toxicologiques peuvent être corrélés aux données analytiques afin d'identifier si l'effet toxique observé est dû à une substance identifiée et possédant une alerte toxicologique dans le mélange. Si les données analytiques n'expliquent pas l'effet toxique observé, l'effet toxique pourra être dû soit à une substance inconnue et non identifiée dans le mélange, soit à un effet mélange. Les approches « Biotests » et « Analytique » seront considérées comme complé-

mentaires pour évaluer le risque lié aux néoformés des matériaux à contact alimentaire », a-t-il été conclu lors du 4<sup>ème</sup> symposium international de la branche Europe de l'ILSI (International Life Sciences Institute) qui a eu lieu à Prague en Novembre 2008. Des études sont en cours pour développer des outils encore plus sensibles et spécifiques afin de proposer des biotests validés et fiables pour évaluer un danger potentiel du à la présence de composés indésirables dans le migrant d'emballage à contact alimentaire et pour aider à être en conformité avec le règlement PIM.

## Bibliographie

1. AFSSA. Semicarbazide dans les denrées alimentaires. Bilan réalisé par l'Afssa. Avis du 20 mai 2005.
2. AFSSA. Rapport sur l'état des connaissances sur une approche globale de l'appréciation de l'innocuité appliquée à des migrants issus de matériaux au contact des aliments. 2006.
3. ANSES Second French Total Diet Study. Report 2. Pesticide residues, additives, acrylamide and polycyclic aromatic hydrocarbons. Anses Opinion, Expert Report Scientific publication, 2011.
4. Begley T H et Hollifield HC. Liquid chromatographic determination of residual reactants and reaction by products in polyethylene terephthalate. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1989 ; 72:468-470.
5. Bradley EL, Honkalampi-Hämäläinen U, Weber A, Andersson MA, Bertaud F, Castle L, et al. The biosafepaper project for in vitro toxicity assessments: Detailed chemical characterisation and testing of extracts from paper and board samples. *Food Chem. Tox.* 2008; 46:2498-2509.
6. Bradley EL, Stammati A, Salkinoja-Salonen M, Andersson MA, Bertaud F, Hoornstra D, et al. Test procedures for obtaining representative extracts suitable for reliable in vitro toxicity assessment of paper and board intended for food contact. *Food Addit. Contam.* 2010 ; 27:262-271.
7. Castle L. Conclusion. 4th ILSI Symposium on « Food Packaging, Scientific Developments supporting Safety and Quality », Prague, 19-21 novembre 2008.
8. Colerangle JB et Roy D. Profound effects of the weak environment estrogen-like chemical bisphenol A on the growth of the mammary gland of Noble rats. *Ster. Biochem Mol Biol.* 1997 ; 60:153-60.
9. Dionisi G et Oldring, P. Estimates of per capita exposure to substances migrating from canned foods and beverages. *Food Addit. Contam.* 2002 ; 19:891-903.
10. Directive 2002/72 concernant les matériaux et objets en matière plastique destinés à entrer en contact avec les denrées alimentaires et de la directive 85/572/CEE du Conseil, fixant la liste des monomères et des additifs pouvant être utilisés dans la fabrication des matériaux et objets en matière plastique destinés à entrer en contact avec les denrées alimentaires.
11. Directive 2005/79 portant modification de la directive 2002/72/CE concernant les matériaux et objets destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires.
12. Directive 2004/1 portant modification de la directive 2002/72/CE en ce qui concerne la suspension de l'usage de l'azodicarbonamide comme agent gonflant.
13. EFSA. Scientific report of EFSA: results on acrylamide levels in food from monitoring years 2007-2009 and exposure assessment. *EFSA Journal* 2011 ; 9:2133
14. Grob K, Biedermann M, Scherbaum E, Roth M, et Rieger K. Food contamination with organic materials in perspective: packaging materials are the largest and least controlled source? A view focusing on the European situation. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2006 ; 46:529-535.
15. Honkalampi-Hämäläinen U, Bradley EL, Castle L, Severin I, Dahbi L, Dahlman O, et al. Safety evaluation of paper and board using chemical tests and in vitro assays. The role of known and unknown substances. *Food Addit. Contam.* 2010 ; 27:406-415.
16. Komolprasert V, McNeal TP, Agrawal A, Adhikari C, et Thayer DW. Volatile and non-volatile compounds in irradiated semi-rigid crystalline poly(ethylene terephthalate) polymers. *Food Addit. Contam.* 2001 ; 18 : 89-101.
17. Monteiro M, Nerin C, et Reyes FG. Determination of UV stabilizers in PET bottles by high performance-size exclusion chromatography. *Food Addit. Contam.* 1996 ; 13:575-586.
18. Olsen H. Gaseous emission from dicumyl peroxide curing of silicone and EPDM rubber, presented at the 8th Scandinavian rubber conference, SRC 85, 10-12 juin 1985.

19. Règlement (CE) n°178/2002 du parlement européen et du conseil du 28 janvier 2002 établissant les principes généraux et les prescriptions générales de la législation alimentaire, instituant l'Autorité européenne de sécurité des aliments et fixant des procédures relatives à la sécurité des denrées alimentaires.
20. Règlement (CE) n°1935/2004 du parlement européen et du conseil du 27 octobre 2004 concernant les matériaux et objets destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires.
21. Règlement 1895/2005 concernant la limitation de l'utilisation de certains dérivés époxydiques dans les matériaux et objets destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires.
22. Règlement (CE) n°450/2009 du parlement européen et du conseil du 29 mai 2009 concernant les matériaux et objets actifs et intelligents destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires.
23. Règlement (CE) n°10/2011 du parlement européen et du conseil du 21 janvier 2011 concernant les matériaux et objets destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires.
24. Sendon-Garcia R, Sanchez Silva A, Cooper I, Franz R, et Paseiro Losada P. Revision of analytical strategies to evaluate different migrants from food packaging materials. *Trends Food Sci. Techn.* 2006 ; 17:354-366.
25. Sessi, L'industrie française de l'emballage en chiffres. Min. de l'économie, de l'industrie et de l'emploi, 2008. ISSN 1625-1555, N°PI047. p.23
26. Skejevrak I, Bede C, Steffensen IL, Mikalsen A, Alexander J, Fjedal P, et al. Non targeted multi-component analytical surveillance of plastic food contact materials: identification of substances not included in EU positive lists and their risk assessment. *Food Addit. Contam.* 2005 ; 22:1012-1022.
27. Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S et Törnqvist M. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J. Agric. Food Chem.* 2002. 50 ; 4998-5006.
28. Vitrac O, Mougharbel A, et Feigenbaum A. Interfacial mass transport properties which control the migration of packaging constituents into foodstuffs. *J. Food Engin.* 2007 ; 79:1048-1064.
29. Wal JM et Pascal G. Novel foods and novel hazards in the food chain. In : P.J. Aggett and H.A. Kuiper, editors, *Risk assessment in the food chain of children*, Nestec LTD, Vevey; 2000, p. 235-259.
30. Willoughby BG, Holding SR, Howells D, Forrest MJ, Sidwell JA. Chemical migration from silicone used in connection with food contact materials and articles, Final report. UK-Food standard agency, 2005. project K0451, 351 p.

Liens utiles « matériaux à contact alimentaire »

<http://www.contactalimentaire.com>

[http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/foodcontact/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/foodcontact/index_en.htm)

<http://www.efsa.europa.eu/en/panels/fip.htm>

[http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our\\_labs/eurl\\_food\\_c\\_m/](http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/eurl_food_c_m/)

<http://www.packtox.fr>