

**Migrats d’emballages à contact alimentaire.**  
**Les biotests : une stratégie pertinente, un screening**  
**complémentaire des outils analytiques pour l’évaluation des**  
**risques des NIAS**

Isabelle SEVERIN, Laurence DAHBI, Coralie DUMONT, Catherine BERGES,  
Catherine SAUVAGEOT, Marie-Christine CHAGNON.

Agrosupdijon, Derttech « Packtox », Université de Bourgogne, 1 esplanade Erasme,  
21000 Dijon

**RESUME**

L’aptitude des matériaux à entrer en contact avec les aliments est habituellement menée sur les constituants de départ introduits dans la formulation (règlement européen n° 1935/2004). Or, ce règlement ne tient pas ou très peu compte des produits néoformés apparaissant au cours du procédé de fabrication de l’emballage ou de son utilisation (NIAS, non intentionally added substances), ni les effets de mélanges (interactions toxicologiques possibles entre les composés) ce qui est tout à fait préjudiciable dans la mesure où ils peuvent représenter la majorité des substances inconnues qui contaminent un aliment. Présents même en très faibles quantités, ces produits néoformés peuvent induire des modifications organoleptiques inacceptables, être eux mêmes toxiques ou générer des produits toxiques. L’évaluation de la toxicité du **migrat d’emballage** et donc du mélange de ses composés susceptibles de migrer permet d’évaluer le risque lié au process et à la combinaison de ces molécules. Cette approche globale s’avère complémentaire des outils analytiques actuellement utilisés.

## L'EMBALLAGE

Les emballages avec une production de X milliards de tonnes en 2008 et plus de 18,8 milliards d'euros de chiffre d'affaires ont pour débouché essentiel le secteur agro-alimentaire. Dans le but de mieux protéger et conserver les aliments, mais aussi d'optimiser le contrôle de leurs conditions de transport et de stockage, les industriels ne cessent d'innover en matière d'emballages dits « à contact alimentaire ». Pour autant, un emballage s'avère rarement inerte, c'est-à-dire qu'il existe toujours des échanges entre l'emballage et l'aliment, en particulier un phénomène de migration, c'est-à-dire un transfert vers l'aliment de constituants des matériaux d'emballage (additifs, monomères, composés néoformés). Ainsi, le consommateur peut être exposé par le biais de l'alimentation à certains additifs intentionnels mais aussi non intentionnels (résidus de synthèse, impuretés de produits de base, produits de dégradation...). Une évaluation du risque apparaît donc nécessaire pour tous ces composés.

La réglementation européenne impose aux industriels, à travers le règlement cadre n°1935/2004 [10] 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 pour certains, des directives ou des règlements spécifiques en fonctions des types de matériaux.

Ainsi, une harmonisation européenne a été récemment mise en place pour le cas des matériaux contenant au moins une couche de plastiques : le règlement PIM (Plastic Implementing Measures) n°10/201 abrogera, à terme (2016) la directive 2002/72 et ses amendements. Ce nouveau règlement impose que tous les constituants entrant dans la composition des emballages soient évalués au regard de leur migration et de leurs dangers. La législation sur les matériaux plastiques prévoit deux types de restriction pour les substances autorisées :

- **la migration globale**, qui donne des informations sur la masse de l'ensemble des substances qui migrent, on parle alors de **migrat**. Cette mesure représente un critère d'inertie du matériau, c'est la mesure du transfert massique de tout composé vers l'aliment, elle est limitée à 60 mg/kg d'aliment (ou 10 mg /dm<sup>2</sup>).
- **la migration spécifique** qui est la quantité d'un constituant connu et bien identifié qui migre de l'emballage vers l'aliment, on parlera alors de **migrant**.

La migration concerne tous les emballages et des milliers de substances. Le plus souvent, les adjuvants sont la classe principale de migrants potentiels car ils ne sont pas liés à la maille du polymère et sont source probable de substances néoformées. On estime que les migrants potentiellement dangereux ont une masse molaire <1000 g/mole car au-delà ils ne sont plus absorbés par le tractus-gastro-intestinal.

La nature des tests toxicologiques à réaliser dépend du niveau de migration. Pour de faibles migrations inférieures à 0,05 mg/kg d'aliment, trois tests de génotoxicité *in vitro* sont demandés, pour de plus fortes migrations, le dossier toxicologique est plus étoffé (Tableau 1).

Tableau 1 : informations toxicologiques demandées par l'EFSA pour l'évaluation de substances utilisées dans les matériaux à contact alimentaire.

Migration globale	Dossier toxicologique
< 0,05 mg/kg (dossier réduit)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3 tests de mutagenèse <i>in vitro</i> :</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 1 test de mutations géniques sur bactéries</li> <li>- 1 test de mutations géniques sur cellules de mammifères</li> <li>- 1 test d'aberrations chromosomiques sur cellules de mammifères</li> </ul>
0,05 < migration < 5 mg/kg (dossier intermédiaire)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3 tests de mutagenèse <i>in vitro</i> (comme précédemment)</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Etude de toxicité orale à 90 jours chez deux espèces</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Données démontrant l'absence de potentiel d'accumulation chez l'homme</li> </ul>
5 < migration < 60 mg/kg (dossier complet)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3 tests de mutagenèse <i>in vitro</i> (comme précédemment)</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Etude de toxicité orale à 90 jours chez deux espèces</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Etudes sur l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Etude de reprotoxicité (1 espèce) et sur le développement (2 espèces)</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Etudes de toxicité à long terme/cancérogenèse (2 espèces)</li> </ul>

### Conséquences de cette migration ?

L'évaluation du risque consiste à évaluer la probabilité pour qu'un effet indésirable survienne dans une population après exposition au danger, et à évaluer sa sévérité. Au cours de l'évaluation du risque, si un danger est identifié, une valeur toxicologique de référence (VTR) sera fixée, en l'occurrence une DJA (Dose Journalière Admissible) pour les additifs ou une DJT (Dose Journalière Tolérée) pour les contaminants alimentaires, ce qui représente la quantité à laquelle un individu peut être exposé tous les jours de sa vie durant sans courir de risque pour sa santé. Ces valeurs toxicologiques de référence sont calculées à partir d'une dose sans effet (DSE) (figure 2) déterminée dans les études *in vivo* avec l'espèce la plus sensible. Cette DSE est divisée par des facteurs de sécurité (FS) due aux variations inter-espèces et/ou aux variations intra-espèces. En effet, de nombreux paramètres vont moduler l'effet toxique dans l'organisme, la toxicocinétique et la toxicodynamique. En matière d'exposition, est considéré le cas théorique d'un adulte qui pèse 60 kilos et qui consomme un kilo d'aliment chaque jour (emballé dans 6 dm<sup>2</sup>) qui a été au contact avec l'emballage contenant la substance particulière. Dans le cas des

matières plastiques, une Limite de Migration Spécifique est fixée en mg/Kg ou mg/dm<sup>2</sup>. Il s'agit d'une restriction d'emploi, issue de la caractérisation du danger. La LMS (mg/Kg aliment) = 60 x DJT (mg /Kg poids corporel/jour)

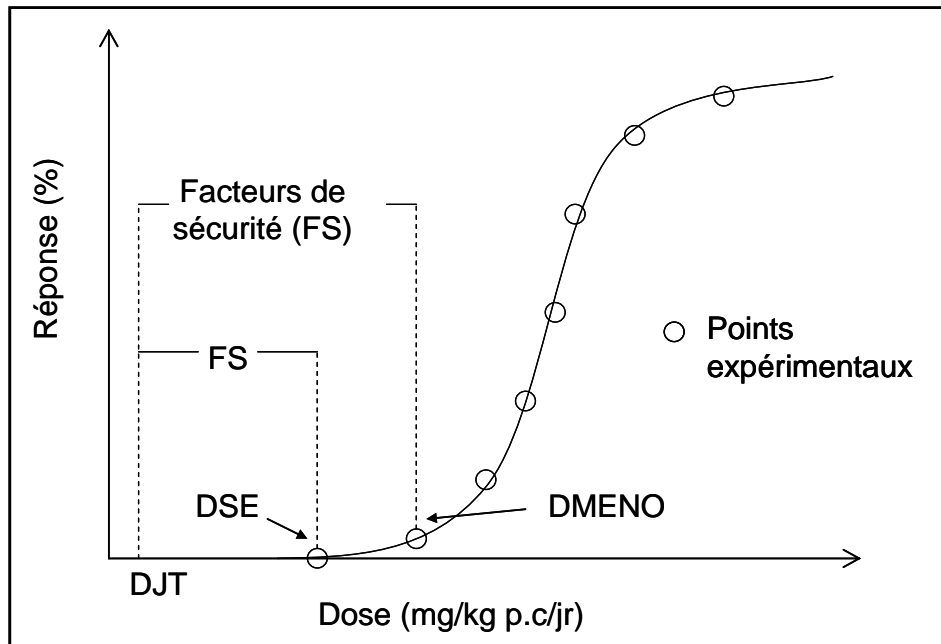


Figure 1 : Courbe dose réponse d'un effet toxique d'un contaminant alimentaire (DMENO = dose minimale avec un effet néfaste observé, DSE = dose sans effet, FS = facteurs de sécurité)

## Les limites de cette réglementation

Ces dernières années, les pays européens ont connu des crises 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..., faisant des emballages la première source de contamination la moins maîtrisée.

L'Europe s'est dotée d'une réglementation détaillée et rigoureuse, avec des listes positives qui fixent les substances autorisées pour la formulation des matériaux. En réalité, les emballages incriminés lors des crises récentes étaient fabriqués exclusivement à partir de substances autorisées ; ces crises étaient dues à des outsiders, des substances ne figurant pas sur les listes positives, des « néoformés » c'est-à-dire le produit d'une réaction chimique subie par un constituant d'emballages dans le matériau ou dans l'aliment. Ces substances non identifiées et non détectées représentent une contribution non caractérisée à l'exposition du consommateur à des contaminants d'emballage.

## Difficultés liées à l'évaluation toxicologique des composés néoformés

Le rapport de l'Afssa qui s'est autosaisie du sujet lors de son mandat 2004-2006 montre que l'évaluation du risque sanitaire lié aux composés néoformés 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 sont peu ou pas 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.

Les produits néoformés dans le cas des matériaux vierges et les polluants inconnus dans le cas des matériaux recyclés peuvent induire des difficultés d'évaluation du risque d'un nombre important de substances (Forest of peaks).

La détermination chimique exhaustive est peu réaliste 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 appliquée une approche structure-activité, aucun type d'effet toxique ne peut être reconnu, et donc aucun « end-point » 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 (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...) 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, paraît-il pertinent de tester la toxicité de **l'ensemble des molécules susceptibles de migrer (migrat)** de l'emballage vers l'aliment. 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 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... Les effets toxiques potentiels des migrats 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 partis de la batterie réglementaire de tests. Ce travail constitue l'activité de transfert du Département d'Études, de Recherche, et de Transferts Technologiques (Derttech) « Packtox » de l'Université de Bourgogne dirigé par le Professeur Marie-Christine Chagnon. Ce laboratoire travaille avec le Laboratoire National d'Essais, centre Energie, Matériaux et Emballages (LNE) pour les étapes de migration.

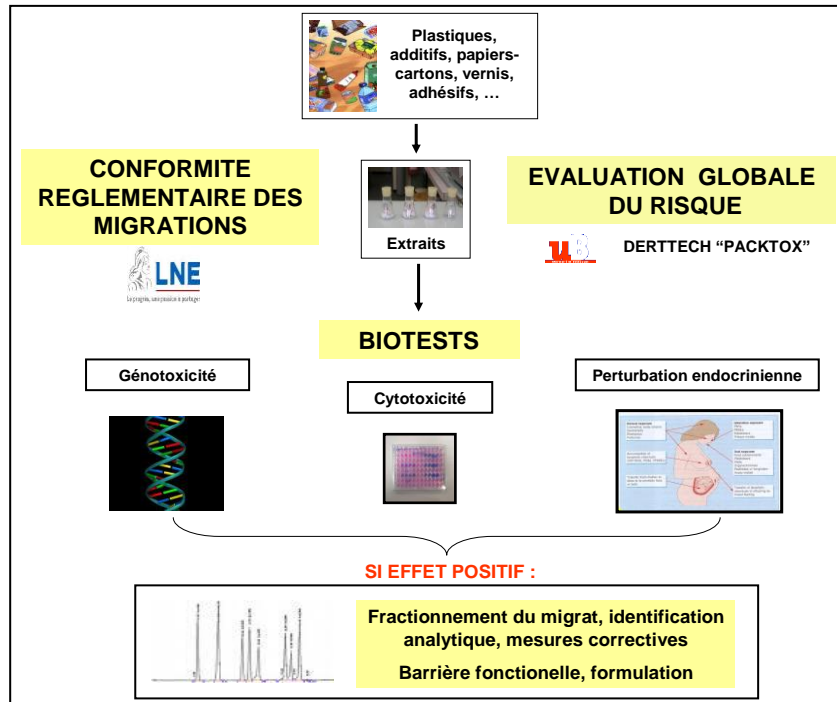


Figure 2 : Approche globale développée par le DERTTECH « Packtox » de l'Université de Bourgogne, en collaboration avec le LNE

Packtox a déjà participé à deux programmes européens (Biosafepaper, 2001-2005 et Migresives, 2006-2009) dans lesquels cette approche globale était utilisée. 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 complémentaires 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 (InternationalLife Sciences Institute) qui a eu lieu à Prague en Novembre 2008.