

Maisons-Alfort, le 23 mars 2004

## AVIS

### de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'emploi d'un extrait de houblon en tant qu'auxiliaire technologique en sucrierie

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

Par courrier reçu le 7 mars 2003, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 6 mars 2003 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relatif à l'emploi d'un extrait de houblon en tant qu'auxiliaire technologique en sucrierie.

Un premier examen du dossier initial avait donné lieu à une demande de compléments d'information adressée au pétitionnaire le 23 juillet 2003. Les compléments d'information relatifs à cette demande sont arrivés le 25 septembre 2003.

Après consultation des Comités d'experts spécialisés « Additifs, arômes et auxiliaires technologiques », réuni le 6 janvier 2004, et « Microbiologie », réuni le 20 janvier 2004, l'Afssa rend l'avis suivant.

Considérant que la préparation commerciale de houblon est composée de trois molécules chimiquement bien définies et constituant le principe actif bactériostatique de l'extrait de houblon : le co-lupulone, substitué par un groupement iso-propyle (CAS No. 468-27-9) ; le  $\alpha$ -lupulone, substitué par un groupement iso-butyle (CAS No. 468-28-0) et le ad-lupulone, substitué par un groupement sec-butyle (CAS No. 28374-71-2), dénommées acides bêta ; considérant que la préparation commerciale est une solution aqueuse de sel de potassium d'acides bêta (lupulones), standardisés à 10 %, pouvant contenir d'autres composants inconnus de houblon à hauteur de 5 % de la préparation ;

Considérant qu'un premier examen du dossier original avait donné lieu à une demande de compléments d'informations concernant ;

- l'identification et l'évaluation des éventuels effets indésirables des autres composants de la solution d'acides bêta de houblon ;
- la documentation des éventuels effets physiologiques associés aux acides bêta ou à des substances structurellement similaires ;
- en l'absence des données toxicologiques disponibles sur les acides bêta de houblon, la présentation d'une analyse structure-activité et des données pharmacocinétiques sur l'absorption et le métabolisme de ces acides afin d'évaluer leur éventuel potentiel toxique ;
- les données sur la méthode d'analyse utilisée ;
- des données sur le contrôle des infections microbiologiques ;
- la démonstration de l'efficacité bactériostatique du produit en fonction des doses employées ;

Considérant qu'après examen des compléments d'information fournis par le pétitionnaire, l'Afssa a estimé, que bien que ceux-ci n'étaient pas suffisants pour réaliser une évaluation de risques sanitaires complète, l'objectif de substitution d'emploi de formol par les acides bêta de houblon dans la fabrication de sucre restait une alternative intéressante du point de vue de la sécurité sanitaire du consommateur ;

Considérant qu'en conséquence, l'Afssa a décidé d'évaluer les acides bêta de houblon qui constituent le principe actif de la préparation de l'extrait de houblon, par une démarche d'évaluation fondée sur la structure chimique de ces molécules, et qu'en adoptant cette décision l'Afssa a pris en considération :

- a) que la substitution du formol dans la fabrication de sucre est souhaitable ;
- b) que l'exposition attendue de la population aux acides bêta de houblon provenant de leur présence résiduelle dans le sucre, est faible ;
- c) qu'actuellement une partie de la population est exposée aux acides bêta de houblon en raison de leur présence dans la bière ;
- d) que les données toxicologiques spécifiques pour les acides bêta de houblon étaient peu documentées ;

#### **Considérant sur les aspects toxicologiques en rapport aux acides bêta :**

Que l'examen de la structure chimique des acides bêta permet de conclure, en résumé, qu'elle ne possède pas de fonctions hautement réactives ; que le cycle central ne peut pas provenir d'un terpène ; qu'elle ne présente pas de cycle benzénique ; qu'elle ne possède pas un cycle contraint qui pourrait être hautement réactif. Que de plus, les acides bêta disposent de fonctions OH conjuguées cycliques qui ne peuvent être oxydées en acide ; qu'ils ne peuvent pas être métabolisés en glucuronides ou en sulfates ; qu'ils ne possèdent pas de fonction aldéhyde ou acide ; et qu'en conséquence, ils ne possèdent pas de structures chimiques reconnues comme toxiques et peuvent présenter uniquement des métabolites non toxiques ;

Que la structure chimique des acides bêta de houblon est extrêmement stable et qu'une dégradation par voie chimique lors du procédé d'extraction du sucre est très peu probable. Que les substituants dans la molécule d'acides bêta rendent celle-ci très hydrophobe, ce qui peut expliquer sa très faible concentration dans le sucre cristallisé et sa présence majoritairement dans la mélasse ;

Que les résultats analytiques fournis par le pétitionnaire montrent qu'aux doses d'application envisagées, 10 à 50 mg/kg de betteraves, le niveau maximum des résidus d'acides bêta sera de 20 µg/kg de sucre, pour une moyenne de 10 µg/kg de sucre ;

Que l'Observatoire des consommations alimentaires (OCA) de l'Afssa a réalisé une simulation de la consommation théorique d'acides bêta de la population française, à partir des résultats analytiques présentés par le pétitionnaire<sup>1</sup> ; et que cette simulation permet d'estimer que pour le 95<sup>ème</sup> percentile de la population française<sup>2</sup>, l'exposition cumulée aux acides bêta provenant de la consommation simultanée de sucre, des produits contenant des sucres ajoutés ainsi que de bière serait d'environ 30 µg/jour pour les adultes et 1,2 µg/jour pour les enfants ;

#### **Considérant sur les aspects toxicologiques en rapport à la préparation de l'extrait de houblon :**

Que certaines fractions polaires des extraits de houblon, ont montré une activité œstrogénique dans des essais *in vitro* conduits avec des lignées cellulaires d'endomètre humain (Ishikawa Var 1)<sup>3</sup> ;

Qu'un composant de houblon différent des acides bêta, le 8prenylnarigenin, a montré une affinité importante pour les récepteurs à l'œstrogène  $\alpha$  et  $\beta$  (ER $\alpha$  et ER $\beta$ ) dans des essais *in vitro*<sup>4</sup> ;

<sup>1</sup> Note technique OCA/AT/2003-720

<sup>2</sup> Le 95<sup>ème</sup> percentile de la population signifie que 95 % des individus ont une consommation inférieure à cette valeur. Le 95<sup>ème</sup> percentile est considéré comme l'équivalent de la population de forts consommateurs.

<sup>3</sup> Milligan, S.R. et al. *J Clin Endocrinol Metab*. **83**: 2249-2252, 1999.

<sup>4</sup> Milligan, S.R. et al. *J Clin Endocrinol Metab* **85**: 4912-4915, 2000.

**Considérant sur les aspects microbiologiques:**

Que certaines populations bactériennes, essentiellement bactéries lactiques et *Leuconostoc mesenteroides*, peuvent se développer à différentes étapes du procédé de fabrication du sucre ; que ce développement bactérien est responsable d'une part d'une consommation de sucre et d'autre part de production de métabolites (dextranes) à l'origine de difficultés de filtration ; considérant que ce métabolisme bactérien entraîne une diminution des rendements de production du sucre ;

Que le développement bactérien est apprécié indirectement en suivant l'évolution de métabolites bactériens (acide lactique, nitrites, acide butyrique) ; considérant que ce suivi métabolique est un processus classique dans ce type d'industrie ;

Que l'auxiliaire technologique extrait de houblon est utilisé pour son activité bactériostatique dans le but de maîtriser le développement des bactéries au cours du procédé de fabrication du sucre ;

Qu'aucun risque microbiologique associé à l'utilisation d'extrait de houblon n'est reporté dans les conditions de fabrication du sucre ;

Que sur la base de résultats d'essais réalisés à l'échelle pilote ou industrielle, publiés dans des revues professionnelles, il peut être estimé que les résultats en termes d'efficacité bactériostatique sont :

- significatifs au cours de l'étape de diffusion (extraction à chaud du sucre de betterave),
- ne sont pas significatifs au cours de la stabilisation des jus sucrés (résultats variables selon les essais),
- ne sont pas démonstratifs pour ce qui concerne les mélasses et les pulpes (cet aspect est cependant peu documenté).

L'Afssa estime que l'emploi des acides bêta de houblon, dans la fabrication de sucre de betteraves sous les conditions décrites, et aux niveaux d'exposition calculés, ne présente pas de risque sanitaire pour le consommateur.

En revanche, concernant la préparation de l'extrait de houblon, considérant que le procédé de purification de cette préparation est décrit par le pétitionnaire comme une « séparation relativement grossière » et qu'elle peut donc contenir jusqu'à 5 % de substances non identifiées ni testées sous l'angle toxicologique,

L'Afssa estime que, bien que l'utilisation de la préparation de l'extrait de houblon soit jugée satisfaisante en ce qui concerne l'efficacité microbiologique et les risques microbiologiques potentiels associés, dans l'état actuel du dossier, l'innocuité pour le consommateur de l'emploi de la préparation de l'extrait de houblon contenant jusqu'à 5 % des substances inconnues en tant qu'auxiliaire technologique dans la fabrication de sucre de betteraves ne peut pas être complètement établie.

**Martin HIRSCH**