

Maisons-Alfort, le 21 juin 2010

## AVIS

### de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché d'un nouvel ingrédient alimentaire : phospholipides de soja riches en phosphatidylsérine

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

#### RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 26 avril 2010 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes d'une demande d'avis relatif à la demande d'autorisation de mise sur le marché d'un nouvel ingrédient (NI) alimentaire : phospholipides de soja riches en phosphatidylsérine. Le rapport d'évaluation initial a été rédigé par l'autorité finlandaise de sécurité alimentaire.

#### 1. CONTEXTE

Cet avis s'inscrit dans le cadre du règlement 258/97/CE relatif aux nouveaux aliments et nouveaux ingrédients alimentaires. L'objet de cette demande appartient à la classe des nouveaux aliments et ingrédients alimentaires présentant une structure moléculaire nouvelle ou délibérément modifiée.

#### 2. METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisé (CES) « Additifs, arômes et auxiliaires technologiques » le 20 mai 2010 et par le CES « Nutrition Humaine » par correspondance.

#### 3. ARGUMENTAIRE

L'argumentaire de l'Afssa est fondé sur l'avis des CES « Nutrition Humaine » et « Additifs, arômes et auxiliaires technologiques », dont les éléments sont présentés ci-dessous :

##### Spécifications du NI

###### *Description du NI*

Le NI est obtenu à partir de phospholipides de soja (*Glycine max*) ayant subi une transphosphatidylolation avec de la sérine. La source du NI est une lécithine de soja, additif alimentaire (E 322) autorisé selon le principe *quantum satis*. Les phosphatidylétholamines, phosphatidylcholines et phosphatidylinositols de la lécithine de soja sont, dans le NI, convertis en phosphatidylsérine. Le pétitionnaire envisage une utilisation du NI dans les produits de chocolaterie, les yaourts à boire, les laits en poudre, les yaourts, les barres nutritives et certains aliments diététiques à des fins médicales spéciales.

Le NI se présente sous forme de poudre et sous forme liquide. Le pétitionnaire propose la dénomination d'étiquetage « phospholipides de soja enrichis en phosphatidylsérine ».

###### *Spécifications chimiques du NI*

Le pétitionnaire précise les spécifications des 2 formes du NI et leur composition moyenne. Le profil en acides gras de la forme poudre correspond à celui de la lécithine de soja utilisée

comme source. Dans la forme liquide, les phospholipides sont associés à des triglycérides à chaînes courtes et moyennes issus d'huile de palme et/ou d'huile de noix de coco, utilisés comme vecteur.

Le pétitionnaire présente les certificats d'analyses pour plusieurs contaminants et métaux lourds. Dans la lécithine de soja utilisée comme source du NI, aucun isomère de dioxines n'a été détecté à la limite de 1 à 5 trillions, les analyses de pesticides réalisées indiquent des valeurs sous les seuils de détection et la présence de 2 mycotoxines a été contrôlée. Dans le produit fini, les métaux lourds analysés présentent des valeurs en deçà des limites réglementaires, tout comme la somme des taux de dioxines, furanes et PCBs.

Le pétitionnaire présente les résultats de tests de stabilité après 7 mois de conservation pour la forme liquide et 36 mois pour la poudre. Dans la forme liquide, le contenu en phosphatidylsérine a diminué de 6,5 % durant les 7 mois de stockage. Le taux de peroxyde n'a pas varié ni pour l'une ni pour l'autre des 2 formes durant le stockage. La stabilité du NI dans 3 applications envisagées (yaourt, chocolat et poudre de lait pour nourrissons) a également été mesurée. Le contenu en phosphatidylsérine et les qualités organoleptiques ne variaient pas après 6 mois.

*L'autorité finlandaise estime que les données de composition fournies par le pétitionnaire sont suffisantes et qu'elles ont été obtenues par des méthodes analytiques standards.*

*L'AFSSA relève que les compositions de la poudre et de la forme liquide sont incomplètes. En effet, la somme des composants n'atteint pas 100 % dans le cas de la poudre. Par ailleurs, le pétitionnaire indique une teneur du NI en « lipides neutres » sans préciser la signification de ce terme. De même, 13 à 18 % des composants de la poudre et 21 à 27 % des composants de la forme liquide sont regroupés sous le terme « autres » sans précision sur la nature de ces composants. Le pétitionnaire indique également la présence de phytostérols, sans précisions sur leur nature et leurs teneurs. Enfin, aucun résultat de mesure des taux de 3-monochloropropane 1,2-diol et de ses esters n'est précisé.*

### **Effets du procédé de production appliqué au NI**

L'autorité finlandaise rappelle les différentes étapes du procédé de production qui sont en majeure partie identiques pour la poudre et pour la forme liquide. Le procédé consiste en une transphosphatidylase enzymatique de la lécithine de soja avec de la L-sérine dans un mélange biphasique en utilisant de la phospholipase D comme catalyseur. Le pétitionnaire indique que la phospholipase D, provenant d'un organisme non OGM présente un historique d'utilisation de plus de 5 ans dans l'industrie agroalimentaire.

La poudre est isolée du milieu réactionnel et lavée. Pour obtenir la forme liquide, des triacylglycérides sont ajoutés au milieu réactionnel, puis le NI est isolé, lavé, purifié et filtré. Selon le pétitionnaire, le procédé permet de minimiser les impuretés et de respecter les bonnes pratiques de fabrication. Des contrôles sont mis en place pour respecter les spécifications et garantir l'absence de contaminants et de microorganismes.

Le pétitionnaire précise que la forme poudre peut par la suite être standardisée par ajout de lécithine de soja et d'un agent fluidifiant, afin d'obtenir différentes proportions de phosphatidylsérine dans le produit fini (60, 40 ou 20 % m/m). Elle peut être aussi mélangée avec de la lécithine de soja et des triacylglycérides à chaîne moyenne pour donner une dispersion.

*L'autorité finlandaise estime que le procédé de fabrication est décrit de façon satisfaisante et qu'il fait appel à des procédés classiquement utilisés dans l'industrie agroalimentaire. Elle note que l'activité de la phospholipase D est bien contrôlée dans l'étape de purification de la poudre et que les faibles taux de protéines résiduelles dans les produits finis prouvent que l'activité de la phospholipase D dans les produits finis est insignifiante.*

*L'Afssa remarque que la description du procédé d'obtention du NI est très succincte et ne permet pas d'identifier les étapes de fabrication du produit fini ainsi que les conditions de température, pression, durée et l'identité des produits mis en œuvre et les méthodes d'isolement.*

#### **Utilisation antérieure de l'organisme utilisé comme source du NI**

Le pétitionnaire rappelle que la lécithine de soja est largement utilisée dans l'industrie agroalimentaire. Elle est composée des phospholipides de la graine de soja, séparés de l'huile par un procédé d'extraction par précipitation.

La lécithine utilisée pour produire le NI est conforme à la réglementation européenne<sup>1</sup> qui autorise l'utilisation de la lécithine de soja (E322) dans les aliments en tant qu'émulsifiant selon le principe du *quantum satis*.

*L'autorité finlandaise juge les informations fournies par le pétitionnaire sur ce point satisfaisantes.*

*Ce point n'appelle pas de remarque de l'Afssa.*

#### **Consommation/niveau d'utilisation prévus du NI**

Le pétitionnaire envisage d'utiliser le NI dans des aliments de consommation courante tels que des produits de chocolaterie, des yaourts à boire, des laits en poudre, des produits de type barre céréalière et des produits diététiques destinés à des fins médicales spéciales. Il propose un niveau d'utilisation du NI de 100 mg par portion et indique que l'intérêt du NI est lié à ses effets sur les fonctions cognitives.

Le pétitionnaire présente une estimation de l'exposition au NI dans les vecteurs envisagés, à partir des données de consommation britannique de l'enquête NDNS (National Diet and Nutrition Survey) conduite en 1992-93, 1997 et 2000-2001. L'apport moyen le plus élevé (75 mg/j ou 1 mg/kg p.c./j) et le 97,5<sup>ème</sup> percentile le plus élevé (297 mg/j ou 4 mg/kg p.c./j) sont observés chez l'homme adulte. L'apport par kg de poids corporel le plus élevé est observé chez les enfants âgés de 1,5 à 4,5 ans (3 mg/kg p.c./j en moyenne et 11 mg/kg p.c./j au 97,5<sup>ème</sup> percentile).

Le pétitionnaire a également estimé l'exposition au NI dans la situation où la totalité de l'apport en phosphatidylsérine proviendrait du NI. L'exposition au NI sous la forme de poudre serait, chez les hommes adultes, de 123 mg/j en moyenne et de 487 mg/j pour le 97,5<sup>ème</sup> percentile. Cet apport serait de 6 mg/j en moyenne et 18 mg/j pour le 97,5<sup>ème</sup> percentile les enfants âgés de 1,5 à 4,5 ans. L'exposition au NI sous la forme liquide serait, chez les hommes adultes, de 374 mg/j en moyenne et de 1485 mg/j pour le 97,5<sup>ème</sup> percentile. L'apport en NI serait de 17 mg/j en moyenne et 55 mg/j pour le 97,5<sup>ème</sup> percentile les enfants âgés de 1,5 à 4,5 ans.

La forme liquide du NI contient 52 g/100 g d'acides gras saturés. Considérant l'ensemble des applications envisagées du NI, l'apport maximal d'acides gras saturés lié à l'utilisation du NI serait de 775 mg/j. Le pétitionnaire compare cet apport à l'apport total quotidien d'acides gras saturés qui varie en Grande-Bretagne entre 31 et 62 g/j chez les enfants.

*L'autorité finlandaise juge ces simulations satisfaisantes et estime que les apports d'acides gras saturés liés à l'utilisation de la forme liquide du NI sont faibles en comparaison avec l'apport alimentaire total d'acides gras saturés.*

*Ce point n'appelle pas de remarque de l'Afssa.*

<sup>1</sup> Directive 95/2/CE du Parlement européen et du Conseil, du 20 février 1995, concernant les additifs alimentaires autres que les colorants et les édulcorants

### Informations fournies par une exposition humaine antérieure au NI ou à sa source

Le pétitionnaire rappelle que la phosphatidylsérine est présente dans presque toutes les membranes cellulaires animales et végétales. Les teneurs varient, dans les viandes entre 50 mg/100 g (foie de porc) et 134 mg/100 g (poulet), dans les poissons entre 28 mg/100 g (cabillaud) et 480 mg/100 g (maquereau). Parmi les végétaux, la principale source de phosphatidylsérine est le haricot (107 mg/100 g).

Selon la littérature présentée par le pétitionnaire, l'apport quotidien de phosphatidylsérine est estimé aux Etats-Unis à 130 mg, et à 50 mg chez les végétariens. La phosphatidylsérine serait par ailleurs commercialisée, notamment en Europe, dans des compléments alimentaires dont la consommation apporte entre 60 et 300 mg/j de phosphatidylsérine. Le pétitionnaire indique que la Food and Drug Administration a reconnu la sécurité d'emploi de la phosphatidylsérine dans les compléments alimentaires en 2003.

*L'autorité finlandaise remarque que peu de publications portent sur les apports de phosphatidylsérine et souligne que l'utilisation du NI contribuera à augmenter ces apports.*

*Ce point n'appelle pas de remarque de l'Afssa.*

### Informations d'ordre nutritionnel sur le NI

Le pétitionnaire rappelle la structure biochimique de la phosphatidylsérine et sa localisation dans les tissus animaux et végétaux. Il indique que le métabolisme de la phosphatidylsérine est identique à celui des autres phospholipides. Il présente les résultats d'études cliniques sur les effets d'une supplémentation en phosphatidylsérine sur les fonctions cognitives chez les personnes âgées.

*L'autorité finlandaise estime que le métabolisme de la phosphatidylsérine est identique à celui des autres phospholipides alimentaires et souligne qu'il ne s'agit pas d'un nutriment indispensable. Elle ajoute qu'elle ne prend pas position sur l'intérêt nutritionnel du NI et que les allégations revendiquées devront être évaluées dans le cadre du règlement européen 1924/2006 sur les allégations nutritionnelles et de santé.*

*Ce point n'appelle pas de remarque de l'Afssa.*

### Informations d'ordre microbiologique sur le NI

Le pétitionnaire indique que les bonnes pratiques de production sont appliquées. Des étapes répétées de lavage et l'utilisation d'hexane garantissent l'absence de risque microbiologique dans la forme poudre et dans la forme liquide.

*L'autorité finlandaise considère que le NI ne présente pas de risque microbiologique.*

*Ce point n'appelle pas de remarque de l'Afssa.*

### Informations d'ordre toxicologique sur le NI

*Etudes de cancérogénèse, génotoxicité et sur la reproduction*

L'autorité finlandaise indique qu'aucun effet toxique cancérogène, mutagène ou sur la reproduction n'a été rapporté pour le NI.

*Etudes cliniques*

Le pétitionnaire estime que la sécurité sanitaire du NI repose sur le fait que la phosphatidylsérine est présente naturellement dans l'alimentation à des taux correspondant aux quantités susceptibles d'être ajoutées dans l'aliment et sur les informations connues du métabolisme de la phosphatidylsérine.

Une étude de 12 semaines chez 30 sujets âgés de 50 à 90 ans consommant 300 mg/j de NI (sans groupe placebo), a montré l'absence d'effets cliniquement significatifs. D'autres études présentées par le pétitionnaire montreraient l'absence d'effets indésirables significatifs pour des apports jusqu'à 600 mg/j.

Des essais de 26 semaines sur des rats ou des chiens avec de la phosphatidylsérine isolée de soja ou de cerveau bovin ont fourni une DSEIO (dose sans effet indésirable observé) de 1 000 mg/kg pc/j, soit 60 g/j pour un adulte de 60 kg et 200 fois une consommation quotidienne de 300 mg.

Deux autres études menées chez des enfants hyperactifs (âgés de 8 à 13 ans), l'une avec 300 mg/j de phosphatidylsérine enrichie avec des acides gras oméga-3 d'origine marine pendant 3 mois, l'autre avec 300 mg/j de phosphatidylsérine d'origine marine pendant 15 semaines, n'ont pas détecté de modifications des paramètres biochimiques et hématologiques. Les abandons de protocole et le nombre d'épisodes d'effets indésirables (notamment de troubles gastro-intestinaux) étaient comparables dans les groupes traités et les groupes sous placebo.

Le pétitionnaire estime que la phosphatidylsérine dans le NI ne présente pas de risque chez la femme enceinte et allaitante. En effet, la consommation de 2 portions de poisson par semaine apporterait de 10 à 219 mg/j de phosphatidylsérine, alors que l'apport de phosphatidylsérine à partir de produits contenant le NI serait de 63 à 190 mg/j au 97,5<sup>ème</sup> percentile.

Le potentiel allergisant des produits n'a pas été spécifiquement étudié, mais il est estimé par le pétitionnaire qu'il sera équivalent à celui de la lécithine de soja. Le pétitionnaire précise que l'étiquetage des produits contenant le NI satisfera aux exigences de la directive 2000/13/EC<sup>2</sup>.

*L'autorité finlandaise note qu'une seule étude clinique existe sur la sécurité du NI et qu'aucune étude préclinique n'a été conduite. Néanmoins, elle estime que les études cliniques et précliniques réalisées avec phosphatidylsérine montrent la sécurité toxicologique de la phosphatidylsérine. Concernant le potentiel allergisant du NI, l'autorité finlandaise conclut que la mention de la présence du soja comme matériel de départ sur l'étiquetage est suffisante.*

*L'Afssa relève qu'il existe de nombreuses études cliniques sur les effets de la phosphatidylsérine non citées dans le rapport. Des essais cliniques portant sur un nombre important des sujets avec des doses allant de 200 à 800 mg/j ont été répertoriés<sup>3</sup>. Ces essais rapportent une bonne tolérance générale à la phosphatidylsérine. Toutefois, à haute dose ( $\geq 600$  mg/j) des cas sporadiques des troubles gastro-intestinaux ont été relevés. L'Afssa note que les calculs d'exposition les plus élevés faits par le pétitionnaire chez les adultes mâles à partir des données britanniques seraient de 1485 mg/jour pour la forme liquide du NI et dépasseraient en termes de phosphatidylsérine la valeur de 600 mg/jour. Par ailleurs, des contre-indications à la consommation de la phosphatidylsérine répertoriées concernent l'allergie connue au soja, l'intolérance aux préparations de lécithine, et plus rare la présence d'un syndrome d'autoimmunité aux phospholipides (appelé parfois syndrome de Hughes).*

*Bien que l'évaluation toxicologique du NI montre que la source est un additif alimentaire (E 322) autorisé selon le principe quantum satis et que la phosphatidylsérine est consommée depuis longtemps du fait de sa présence dans presque toutes les membranes biologiques végétales ou animales, l'Afssa estime que les applications envisagées et les quantités maximales proposées pour la forme liquide du NI devraient être révisées afin de ne pas dépasser des doses ayant montré des troubles gastro-intestinaux (600 mg phosphatidylsérine/jour). Par ailleurs, l'étiquetage prévu devrait aussi rendre attentives les personnes souffrant d'un syndrome d'autoimmunité aux phospholipides (appelé parfois Syndrome de Hughes) de la présence des phospholipides dans le NI.*

<sup>2</sup> Directive 2000/13/CE du Parlement Européen et du Conseil du 20 mars 2000 relative au rapprochement des législations des Etats membres concernant l'étiquetage et la présentation des denrées alimentaires ainsi que la publicité faite à leur égard. L 109/29 6.5.2000

<sup>3</sup> Par exemple: Cennachi B. Et al. Cognitive decline in the elderly: a double-blind, placebo-controlled multicenter study on efficacy of phosphatidylserine administration. Aging (Clin. Exp. Res.) 5, 123-133. 1993.

**CONCLUSION**

L'Afssa estime, bien que l'évaluation toxicologique du NI montre que la source est un additif alimentaire (E 322) autorisé selon le principe quantum satis et que la phosphatidylsérine est consommée depuis longtemps du fait de sa présence dans presque toutes les membranes biologiques végétales ou animales, que les applications envisagées et les quantités maximales proposées pour la forme liquide du NI devraient être révisées afin de ne pas dépasser des doses ayant montré des troubles gastrointestinaux (600 mg phosphatidylsérine/jour). Par ailleurs, l'étiquetage prévu devrait aussi rendre attentifs de la présence des phospholipides dans le NI les éventuelles personnes souffrant d'un syndrome d'autoimmunité aux phospholipides.

Egalement il est nécessaire que la composition et les spécifications chimiques du NI soient mieux précisées, notamment les pourcentages importants des composants dénommés « autres ». De même, il conviendrait de préciser les types de phytostérols présents dans le NI et leurs teneurs. Il conviendrait également que des niveaux tolérables en 3-MCPD soient définis pour le NI.

**Le Directeur général**

**Marc MORTUREUX**

**MOTS-CLES**

NOUVEL INGREDIENT ; SOJA ; PHOSPHOLIPIDE ; SERINE ; EVALUATION SECONDAIRE