



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

Maisons-Alfort, le 26 février 2009

AVIS

**de l'Agence de sécurité sanitaire des aliments
relatif à l'emploi dans des essais à l'échelle industrielle en grands volumes
de chitosane extrait d'*Aspergillus niger* et d'*Aspergillus bisporus*, en tant
qu'auxiliaire technologique sur moût de raisin et/ou vins.**

LA DIRECTRICE GENERALE

Par courrier reçu le 15 mai 2008, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 14 mai 2008 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 dans des essais à l'échelle industrielle en grands volumes de chitosane extrait d'*Aspergillus niger* et d'*Aspergillus bisporus*, en tant qu'auxiliaire technologique sur moût de raisin et/ou vins.

A l'issue d'un premier examen, il s'est avéré nécessaire de clarifier plusieurs points du dossier original et une demande de compléments d'information a été formulée. Des compléments d'information ont été reçus le 1^{er} décembre 2008.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Additifs, arômes et auxiliaires technologiques », réuni les 8 janvier et 12 février 2009, l'Afssa émet l'avis suivant.

Description du procédé technologique

La principale caractéristique qui distingue le chitosane des autres auxiliaires technologiques employés en œnologie (la bentonite, le kaolin, la gélatine alimentaire, la caséine, la lactalbumine, etc) est sa provenance fongique. L'usage technologique revendiqué pour l'utilisation de chitosane se limite à l'élimination dans les vins des levures de type *Brettanomyces*, avec une dose d'emploi maximale de 2 g/hl pour un temps de contact de 7 jours.

Spécifications chimiques de l'auxiliaire technologique

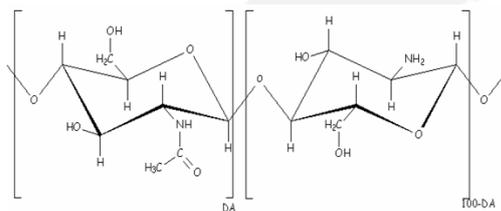
Le chitosane est un polysaccharide composé de la distribution aléatoire de D-glucosamine liée en β -(1-4) (unité désacétylée) et de N-acétyl-D-glucosamine (unité acétylée). Il est produit par désacétylation chimique en milieu alcalin ou enzymatique de la chitine, le composant de l'exosquelette des arthropodes (crustacés) ou de l'endosquelette des céphalopodes (calamars...) ou encore de la paroi des champignons tels que *Aspergillus niger* et *Aspergillus bisporus*.

Cette matière première est déminéralisée par traitement à l'acide chlorhydrique, puis déprotéinée en présence de soude ou de potasse et enfin décolorée grâce à un agent oxydant. Par rapport à la chitine-glucane, sur laquelle l'Afssa a rendu un avis favorable le 28 juin 2007, la distinction entre les deux correspond à un degré d'acétylation de 50 % : en-deçà le composé est nommé chitosane, au-delà, chitine. Le degré d'acétylation (DA) est le pourcentage d'unités acétylées par rapport au nombre d'unités totales.

Le chitosane objet du présent avis a été identifié chimiquement comme poly(N-acétyl-D-glucosamine)-poly(D-glucose), Numéro CAS : [9012-76-4]. Le chitosane possède une masse molaire de 10 kiloDaltons (kDa), une formule brute : $[C_6H_{11}NO_4]_n$, et une formule développée comme suit :

27-31, avenue
du Général Leclerc
BP 19, 94701
Maisons-Alfort cedex
Tel 01 49 77 13 50
Fax 01 49 77 26 13
www.afssa.fr

R E P U B L I Q U E
F R A N Ç A I S E



Le chitosane se présente comme une poudre inodore, de couleur blanche. Les données de pureté sont les suivantes : chitosane + β -glucane ≥ 95 % (m/m) dont chitosane ≥ 84 % (m/m), β -glucane ≤ 10 % (m/m) avec un degré d'acétylation 0-30 % mol. Les impuretés identifiées sont : cendres < 3 % (m/m), lipides $< 0,2$ % (m/m), protéines < 2 % (m/m) et métaux lourds < 20 mg/kg.

Le chitosane est relativement soluble dans les milieux acides (pH < 6) et dans la mesure où les vins sont des solutions hydro-alcooliques et acides ($3,2 < \text{pH} < 3,8$), une partie du chitosane devrait être solubilisée dans les vins après le temps de contact prévu (7 jours).

Le pétitionnaire précise que les critères microbiologiques sont en accord avec la législation en vigueur. L'auxiliaire technologique se présente sous la forme d'une poudre dont la masse sèche est ≥ 95 % (m/m) et l'activité en eau (A_w) est $< 0,144$, ce qui exclut un développement microbologique. Cet argument conforte la notion de stabilité microbologique de l'auxiliaire technologique avant utilisation.

Données toxicologiques

Le chitosane est considéré comme très peu bio-disponible par voie orale. Par ailleurs, dans le cas où une certaine hydrolyse du chitosane aurait lieu au niveau gastro-intestinal, notamment par la flore intestinale, cette hydrolyse produirait des métabolites que l'on retrouve régulièrement dans un régime alimentaire normal (polymères, oligomères et/ou des monomères de glucosamine, d'acétyl-D glucosamine et de glucose).

Par analogie structurale avec la chitine-glucane, les résultats des études menées avec cette dernière permettent de considérer que le chitosane ne présente pas de propriétés génotoxiques.

Les recherches bibliographiques menées par le pétitionnaire sur le chitosane ou ses oligomères montrent une absence de toxicité aiguë et sub-chronique lorsqu'il est ingéré par voie orale chez l'animal. La LD_{50} et les doses sans effet indésirable observé (DSEIO) du chitosane, de ses oligomères et de ses métabolites comme la N-acétyl-D-glucosamine se situent entre 2 g/kg poids corporel (p.c.)/ jour et 10 g/kg p.c./jour (Kim *et al.* 2001, Oin *et al.* 2006, Lee *et al.* 2004). A partir de ces études il est possible de conclure que le chitosane ne présente pas de toxicité à ces doses.

Chez l'homme plusieurs études menées avec du chitosane ou avec de la glucosamine (métabolite du chitosane) administrés respectivement à des doses de 6,75 g/jour pendant 8 jours, 0,5 g/jour pendant 2 mois et 1,5 g/jour pendant 6 mois n'ont pas rapporté d'effets indésirables (Kaats *et al.* 2006, Tapola *et al.* 2008, Clegg *et al.* 2006).

Exposition

Un scénario maximaliste d'exposition a été considéré dans lequel l'auxiliaire technologique se dissoudrait entièrement et se trouverait dans le vin consommé. Le chitosane est utilisé à une concentration de 2 g/hl. Considérant une consommation élevée d'un litre de vin par jour l'exposition au chitosane serait d'environ 20 mg par jour. Pour une personne de 60 kg, cette exposition représenterait environ 0,33 mg/kg p.c./jour. Par rapport aux DSEIO identifiées dans la littérature scientifique pour le chitosane, l'exposition resterait très basse, de l'ordre de 6 000 fois inférieure.

Conclusion

L'Afssa estime que les données présentées pour cette demande permettent de conclure à la sécurité sanitaire du chitosane, extrait d'*Aspergillus niger* et d'*Aspergillus bisporus*, employé en tant qu'auxiliaire technologique dans des essais à l'échelle industrielle en grands volumes sur moût de raisin et/ou vin. L'Afssa est donc d'avis que des essais industriels en grands volumes peuvent avoir lieu.

L'Afssa demande qu'un retour d'expérience soit fait à l'issue des essais tels que décrits précédemment sous la forme d'un rapport précisant les points suivants:

- Les résultats des prélèvements et des analyses d'efficacité, effectués systématiquement en nombre suffisant (ex. triplicats). Les essais industriels seront au moins dupliqués et/ou pratiqués sur plusieurs lots de vins traités, en précisant la dose d'auxiliaire technologique employée.
- La démonstration que l'auxiliaire technologique utilisé dans ces essais répond aux spécifications proposées par le pétitionnaire.
- La précision des emplois cumulés de l'auxiliaire technologique au cours du procédé de traitement des vins.

Pascale BRIAND

Références :

Kim SK, Park PJ, Yang YP, Han SS. Subacute toxicity of chitosan oligosaccharide in sprague-Dawley rats. *Arsneimittelforschung*. 2001, 51 : 769-774.

Qin C, Gao J, Zeng L, Liu Y. Safety evaluation of short-term exposure to chitooligomers from enzyme preparation. *Food Chem. Toxicol.* 2006, 44:855-861.

Lee KY, Shibutani M, Takagi H, Arimura T, Takigami S, Uneyama C, Kato N, Hirose M. Subchronic toxicity study of dietary N-acetylglucosamine in F344 rats. *Food Chem. Tox.* 2004, 42:687

Kaats GR, Michalek JE, Pruss HG. Evaluating efficacy of a chitosan product using a double-blinded, placebo-controlled protocol. 2006. *J. Am. Coll. Nutr.* 25 (5): 389-394.

Tapola NS, Lyyra ML, Kolehmainen RM, Sarkkinen ES, Shauss AG. Safety aspects and cholesterol-lowering efficacy of chitosan tablets. *J. Am. Coll. Nutr.* 2008. 27 (1): 22-30.

Clegg DO *et al.* Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis. *N. Eng. J. Med.* 2006, 354: 795-808.

Mots clés : chitosane, Aspergillus niger, Aspergillus bisporus, auxiliaire technologique, moûts de raisin, vins