

AVIS
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

relatif à « une demande d'autorisation d'emploi d'une solution stabilisée de chlorite de sodium en tant qu'auxiliaire technologique pour la fabrication d'alcool de bouche »

VERSION POUR PUBLICATION

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.
L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.
Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a été saisie le 16 janvier 2012 par Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (Dgcrf) d'une demande d'avis relatif à une autorisation d'emploi d'une solution stabilisée de chlorite de sodium en tant qu'auxiliaire technologique pour la fabrication d'alcool de bouche.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

En application du décret du 10 mai 2011 fixant les conditions d'autorisation et d'utilisation des auxiliaires technologiques pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine, l'Anses dispose de quatre mois à compter de la réception du dossier pour donner un avis.

L'auxiliaire technologique est destiné à contrôler le développement des populations bactériennes durant la fermentation de l'alcool de bouche sans altérer les populations de levures. Selon le pétitionnaire, en France la production d'éthanol est d'environ 865 millions de litres et les pertes qui peuvent être associées à ces déviations fermentaires sont élevées (pouvant aller jusqu'à 74 millions de litres) et ne dépendent pas de l'espèce de lactobacilles considérée. Le pétitionnaire indique que cette formulation est une alternative à l'emploi d'antibiotiques.

L'alcool ainsi produit peut également être utilisé comme solvant d'extraction et plus rarement dans les produits pharmaceutiques et cosmétiques.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par les Comités d'experts spécialisés (CES) « Additifs, arômes et auxiliaires technologiques (AAAT) », réuni les 15 mars et 12 avril 2012, et « Microbiologie », réuni le 10 avril 2012, sur la base des rapports initiaux rédigés par des rapporteurs appartenant à ces comités.

L'expertise scientifique a été conduite sur la base des documents fournis par le pétitionnaire constitués d'un dossier principal et d'annexes.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

3.1 Sur les aspects technologiques et toxicologiques

La formulation est une solution aqueuse, avec au maximum, 22,6 % masse/masse de chlorite de sodium, aboutissant à 15,9 % masse/volume équivalent dioxyde de chlore (ClO₂). Selon le pétitionnaire cette formulation est la solution la plus concentrée et si d'autres solutions de grades différents sont prévues, ce sera toujours à une concentration inférieure.

Dans des conditions acides, le chlorite de sodium se décompose en dioxyde de chlore selon la réaction :



Les matières premières utilisées sont variables (céréales, betteraves principalement). Sur le plan technologique, les étapes sont les suivantes :

- céréales : broyage → chauffage et liquéfaction enzymatique via une amylase → refroidissement → fermentation avec ensemencement levures → distillation
- betterave : la fermentation se fait directement après extraction des sucres (pas de dégradation enzymatique de l'amidon).

L'ajout de chlorite de sodium se fait durant la fermentation pour éviter les fermentations lactiques qui obèrent les rendements de transformation du sucre en éthanol malgré une acidification.

Le CES AAAT observe que des données sur les critères de pureté de la formulation, tels que les taux de plomb, arsenic, mercure ou cadmium, n'ont pas été fournies et considère nécessaire que les critères de pureté de l'auxiliaire technologique soient complétés.

La quantité recommandée de la formulation varie entre 100 et 500 ppm volume/volume, en volume utile du fermenteur (soit 27 à 135,5 mg/ L de chlorite de sodium). La quantité maximale préconisée est de 1000 ppm en volume utile du fermenteur (soit 271 mg/ L de chlorite de sodium). Le pétitionnaire précise que les quantités utilisées à l'intérieur de cette fourchette, dépendent des niveaux de contamination par les lactobacilles dans le fermenteur.

Le CES AAAT observe que les essais sur sites industriels ont bien été conduits avec les doses de 500 ppm comme dose préventive et 1000 ppm comme dose curative, le traitement choisi dépendant de l'état de contamination du fermenteur.

3.1.1 Etudes de résidus

A l'issue de la fermentation, l'alcool est purifié par distillation, suivi d'une étape de tamisage moléculaire (chromatographie d'exclusion). Le CES AAAT considère que ces étapes permettent d'éliminer le chlorite de sodium ainsi que d'autres résidus chlorés, tel que cela a été démontré par des études analytiques portant sur la recherche de résidus dans les conditions industrielles.

Les résultats de ces études montrent que seul du chlorite est détectable dans les échantillons d'alcool produit dans les deux sites industriels en utilisant la formulation proposée comme auxiliaire technologique. Ces valeurs sont proches de la limite de quantification de la méthode analytique employée (LOQ = 0,01 mg/L).

Les teneurs résiduelles pour les nombreux autres produits chlorés analysés dans les échantillons d'alcool produits restent toutes inférieures aux limites de quantification des méthodes employées. Par ailleurs, le CES AAAT considère les résultats des analyses acceptables. Les méthodes d'analyse appliquées sont normalisées et les dosages ont été réalisés dans le produit fini par un laboratoire accrédité à la recherche de résidus dans les eaux de boisson traitées avec des dérivés du chlore. Le semi-carbazide n'a pas été recherché compte tenu de l'absence, ou des très faibles quantités, de composés azotés restant dans l'alcool de bouche après distillation et tamisage moléculaire.

3.1.2 Evaluation de risque pour le consommateur

Le rapport contient une analyse de risque complète sur les résidus et les produits néoformés qui pourraient être potentiellement présents dans l'alcool produit selon ce procédé. Les niveaux de résidus et produits néoformés mesurés dans l'alcool sont très inférieurs aux limites fixées pour la qualité des eaux destinées à l'alimentation humaine¹, y compris pour les chlorites pour lesquels une limite de qualité de 0,7 mg/L a été définie^{2,3}.

Bien que les niveaux résiduels en chlorite et en produits néoformés analysés aient tous été inférieurs aux limites de quantification des méthodes analytiques, le pétitionnaire a conduit une analyse de l'exposition en appliquant un scénario théorique « du pire cas ». Par exemple, il a été considéré que toutes les boissons alcoolisées consommées en France ont été traitées avec la formulation et que les niveaux de résidus et de sous-produits qui pourraient se trouver dans l'alcool étaient égaux aux limites de quantification (LOQ) des méthodes analytiques.

Dans ces conditions, les expositions aux divers résidus et sous-produits éventuels des plus forts consommateurs des boissons alcoolisées ou spiritueuses (97.5^{ème} percentile) sont toutes inférieures aux valeurs toxicologiques de référence établies par divers instances d'évaluation pour chacun de ces composés. Ces marges d'exposition oscillent entre 58 (la plus réduite) pour le formaldéhyde^{1,4} et 1 093 (la plus élevée) pour l'acide trichloroacétique^{1,5}.

Le CES AAAT considère que les marges d'exposition sont suffisantes compte tenu du scénario « du pire cas » pris en considération.

3.2 Sur les aspects microbiologiques

3.2.1 Examen des données sur l'efficacité antimicrobienne

Trois études sont présentées :

1. Des essais d'efficacité en laboratoire avec différentes espèces de bactéries lactiques (*L. plantarum*, *L. brevis*, *L. fermentum* à 10⁷ / 10⁸ UFC/ml) avec ou sans présence de levures (*S. cerevisiae* à 10⁶ UFC/ml).

Ces essais montrent pour des concentrations de la solution stabilisée de chlorite de sodium comprises entre 100 et 1000 ppm (1000 ppm donnent 271 mg /L de chlorite de sodium) :

- plusieurs réductions décimales de la population de bactéries lactiques en quelques heures,
- l'absence de réduction de la vitesse de croissance des levures pour 100 et 200 ppm.

¹ Guidelines for drinking-water quality. Incorporating first and second addenda to third edition. Volume 1. Recommendations. World Health Organisation. Geneva, 2008.

² Evaluation des risques sanitaires liés aux situations de dépassement des limites et références de qualité des eaux destinées à la consommation humaine. Afssa juin 2004 à avril 2007. Tome I.

³ Appui scientifique et technique de l'Afssa pour la révision de la directive européenne 98/83/CE relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine. 24 décembre 2008.

⁴ sur la base d'un calcul d'exposition de 1,486 µg/kg poids corporel/jour et une concentration tolérable d'environ 87 µg/kg poids corporel/jour calculée à partir d'une concentration tolérable de 2,6 mg formaldéhyde/L dans les eaux destinés à l'alimentation humaine et d'une consommation de 2 litres d'eau par jour, pour une personne de 60 kg.

⁵ sur la base d'un calcul d'exposition de 0,03 µg/kg poids corporel/jour et une valeur toxicologique de référence (TDI) de 32,5 µg/kg poids corporel/jour.

2. Des essais en fermentations pilotes consistant en l'inoculation de bactéries lactiques (10^7 UFC/ml espèces non précisées) et de la solution stabilisée de chlorite de sodium (0 à 500 ppm) pour vérifier l'incidence sur la production d'éthanol à partir de blé.

Une concentration de 500 ppm de la solution stabilisée de chlorite de sodium permet d'augmenter la production d'éthanol même en présence d'une population initiale de bactéries lactiques de 10^7 UFC/g.

3. Des essais de la solution stabilisée de chlorite de sodium (0 à 2000 ppm) sur les levures fraîches (inoculum $\cong 10^7$ à 10^8 levures/ml) et recyclées (inoculum $\cong 10^9$ levures/ml).

En milieu industriel, les levures peuvent être récupérées en fin de production et réintroduites, après centrifugation, pour une prochaine fermentation (levures recyclées). Des fermentations peuvent aussi être réalisées avec un nouvel inoculum (levures fraîches).

Le pétitionnaire conclut que les levures fraîches sont plus sensibles que les levures recyclées et qu'il ne faut pas dépasser 500 ppm sur levures fraîches contre 1000 ppm sur levures recyclées.

Cette étude appelle le commentaire suivant : la manipulation n'est réalisée qu'une seule fois et l'interprétation pour les levures fraîches est erronée car même à 2000 ppm, la population en levures vivantes reste élevée (réduction décimale inférieure à 0.5 entre le témoin qui est à 7.75 log levures/ml contre 7.55 log levures/ml avec 2000 ppm de produit).

3.2.2 Examen des données sur l'acquisition de résistance des microorganismes

Les bactéries lactiques sont des bactéries anaérobies aéro-tolérantes et sont moins bien protégées que les micro-organismes anaérobies facultatifs comme *S. cerevisiae* contre l'oxygène actif. De plus, le recyclage des levures va sélectionner les plus résistantes au stress oxydatif généré par le dioxyde de chlore. Si ce recyclage conduit à un recyclage des bactéries lactiques, comme il existe une variabilité importante dans la résistance au stress oxydatif des bactéries lactiques en général et des lactobacilles en particulier (Guilbaud et al. 2012), une sélection des souches de bactéries les plus résistantes aura lieu, pouvant entraîner une diminution éventuelle de l'avantage de croissance des levures. Le recyclage doit prendre en compte cette donnée pour garder l'efficacité du traitement et éviter des dérives vers une augmentation des concentrations efficaces en chlorite.

3.3 Conclusions

Sur les aspects toxicologiques

Le CES AAAT considère que l'emploi de chlorite de sodium, à une dose maximale de 271 mg/L dans les conditions spécifiées par le pétitionnaire pour le procédé de fabrication d'alcool de bouche par fermentation, ne présente pas de risque pour le consommateur. Le CES AAAT considère nécessaire de préciser que cet avis ne concerne pas les risques sanitaires qui pourraient être associés à la consommation d'alcool en général.

Le CES AAAT estime en outre que les critères de pureté de la formulation doivent être complétés en précisant les taux de plomb, arsenic, mercure ou cadmium revendiqués.

Sur les aspects microbiologiques

L'utilisation de la solution stabilisée de chlorite de sodium dans cette filière apparaît comme un levier technologique utile pour une bonne maîtrise de la fermentation et des rendements de production d'éthanol. Il est regrettable que les essais réalisés sur site industriel et visant à déterminer la nature des résidus chimiques à rechercher ne fournissent pas de résultats microbiologiques.

Les essais réalisés en laboratoire sur des souches pures ou sur substrat inoculé montrent que le chlorite de sodium (271 mg/l) via sa substance active le dioxyde de chlore permet de réduire la flore lactique en cas de contamination élevée tout en préservant les levures qui sont responsables de la fermentation alcoolique. Cette efficacité doit être toutefois confirmée par la réalisation d'essais à l'échelle industrielle.

Afin de statuer définitivement sur l'efficacité antimicrobienne du produit objet de la demande, le CES « Microbiologie » souhaiterait donc disposer des résultats microbiologiques démontrant l'efficacité du chlorite de sodium lors d'essais industriels.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail adopte les conclusions des CES « Additifs, arômes et auxiliaires technologiques » et « Microbiologie », et émet un avis favorable concernant l'emploi d'une solution stabilisée de chlorite de sodium en tant qu'auxiliaire technologique pour la fabrication d'alcool de bouche, sous réserve de définition des critères de pureté chimique (plomb, arsenic, mercure, cadmium) et de la validation de l'efficacité antimicrobienne du produit lors d'essais industriels.

Le directeur général

Marc MORTUREUX

5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Guilbaud Morgan; Zagorec Monique; Chaillou Stephane; *et al.* (2012). Intraspecies diversity of *Lactobacillus sakei* response to oxidative stress and variability of strain performance in mixed strains challenges. *Food Microbiology* 29, 2: 197-204

6. MOTS-CLÉS

AUXILIAIRE TECHNOLOGIQUE, CHLORITE DE SODIUM, ALCOOL DE BOUCHE