

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 19 avril 2024

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

relatif à une demande d'autorisation d'extension d'emploi de la colophane en tant qu'auxiliaire technologique, comme agent de décontamination des produits d'origine végétale lors du traitement de betteraves en sucrerie

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 à 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 publiés sur son site internet.

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a été saisie le 14 avril 2023 par la Direction générale l'alimentation (DGAL) pour une demande d'avis relatif à une demande d'autorisation d'emploi de la colophane en tant qu'agent de décontamination des produits d'origine végétale, en sucrerie.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Les auxiliaires technologiques sont régis par le décret n° 2011-509 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. Le décret n° 2011-509 met en place deux procédures : une procédure de déclaration et une procédure d'autorisation préalable à la mise sur le marché, selon la nature ou les propriétés de l'auxiliaire technologique.

S'agissant de cette dernière procédure, le décret n° 2011-509 prévoit que l'autorisation de mise sur le marché soit délivrée sur la base d'une évaluation de l'Anses qui dispose d'un délai de quatre mois pour expertiser le dossier.

Le dossier porte sur une demande d'autorisation d'emploi de la colophane (acides résiniques et colophaniques, sels de potassium, N° CAS 61790-50-9) comme agent de décontamination en sucrerie : la colophane est utilisée dans le procédé d'obtention de sucre à partir de betteraves sucrières, à l'étape de diffusion pour améliorer la qualité microbiologique du jus sucré. Le présent dossier fait suite à un

précédent expertisé par l'Anses en 2020 (saisine n° 2020-SA-0061), pour lequel les expositions potentielles obtenues en appliquant la méthode du budget (AJMT1) et en considérant une teneur résiduelle théorique de 25 mg colophane/kg de sucre ne mettaient pas en évidence de préoccupation sanitaire pour le consommateur. Afin de permettre à l'Anses d'estimer de manière plus réaliste l'exposition des consommateurs aux résidus de colophane dans le sucre, le pétitionnaire annonçait qu'il prévoyait, au cours d'une prochaine campagne sucrière, d'ajuster les conditions d'emploi industrielles (doses de colophane réellement employées, fréquence d'injection des doses choc, etc.) et réaliserait des analyses de teneurs résiduelles de l'auxiliaire technologique dans le sucre (mi-)blanc. L'Anses recommandait également dans son avis de 2020 que cette étape inclue l'acquisition de données microbiologiques.

Dans ce cadre, des essais industriels ont été menés avec pour objectifs de répondre aux points suivants :

- « - définir précisément les conditions de mise en œuvre de l'auxiliaire,
- évaluer l'efficacité microbiologique par rapport aux autres auxiliaires déjà autorisés,
- quantifier les quantités résiduelles maximales issues d'un site industriel français ».

Les données acquises sont soumises à l'Anses pour expertise dans le cadre de la saisine 2023-SA-0097.

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 relève du domaine de compétences du groupe de travail « Évaluation des matériaux et auxiliaires technologiques dans le domaine de l'alimentation et de l'eau » (GT MATAE) et du Comité d'experts spécialisé « Évaluation des risques biologiques dans les aliments » (CES BIORISK). Les travaux ont été présentés au GT MATAE, tant sur les aspects technologiques que scientifiques. Les travaux d'expertise ont été discutés une première fois le 22 juillet 2023 sur la base d'un rapport initial rédigé par deux rapporteurs, et a abouti à une demande de compléments d'information de l'Anses le 25 juillet 2023. Le dossier complété a été reçu le 21 décembre 2023. Les travaux ont été discutés le 22 février 2024 et le 21 mars 2024 par le GT MATAE. Les conclusions finales ont été validées le 21 mars 2024.

Le CES BIORISK est chargé de l'évaluation des aspects relatifs à l'efficacité antimicrobienne de l'auxiliaire technologique. Les travaux d'expertise ont été discutés le 20 février 2024 sur la base d'un rapport initial rédigé par deux rapporteurs, et la synthèse et les conclusions ont été adoptées le 19 mars 2024.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise. Dans ce contexte, et au vu de l'analyse des liens déclarés, un expert du CES BIORISK et deux experts du GT MATAE n'ont pas pris part aux travaux et délibérations sur cette saisine.

Les déclarations d'intérêts des experts sont publiées sur le site internet : <https://dpi.sante.gouv.fr/>.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT MATAE ET DU CES BIORISK

Ne sont repris dans le présent avis que les aspects relatifs aux nouvelles informations fournies à l'Anses dans le cadre de la saisine 2023-SA-0097. Pour les autres éléments du dossier, il convient de se référer à l'avis de l'Anses du 25 novembre 2020 (saisine 2020-SA-0061).

3.1. Aspects chimiques et technologiques

L'auxiliaire technologique est une formulation commerciale composée d'acides résiniques et colophaniques, de sels de potassium, d'acides gras, d'huiles végétales et d'eau¹. La colophane (CAS No 8050-09-7 dans la saisine n° 2020-SA-0061 et CAS No 61790-50-9 dans la saisine n° 2023-SA-0097) est constituée en majorité de 7 acides résiniques représentant environ 96 % de sa composition. Les 4 % restant ayant été identifiés dans le dossier de demande comme d'autres acides résiniques. Le composant minoritaire parmi les 7 acides résiniques est l'acide sandaracopimarique (1,4 %), alors que le composant majoritaire est l'acide abiétique (36,1 %).

Les différentes étapes du procédé de fabrication du sucre sont décrites et présentées sous forme de schémas par le pétitionnaire. Elles peuvent se résumer à 4 étapes clés : la diffusion, l'épuration des jus, l'évaporation des jus et la cristallisation.

L'intérêt technologique est bien justifié pour l'utilisation de la colophane lors de l'étape de diffusion (saisine 2020-SA-0061). Cette étape consiste en l'extraction du sucre des cossettes de betteraves dans l'eau chaude dans un diffuseur horizontal composé de trois parties (tête, milieu, queue) et d'un échangeur thermique intégré (ETI). L'extraction est réalisée sur le principe de l'osmose par de l'eau chaude (72 °C) qui circule à contre-courant des cossettes. Le jus est ensuite réchauffé dans un échangeur thermique jusqu'à 85 °C puis refroidi à 35 °C pour passer à l'opération suivante d'épuration.

L'auxiliaire technologique, la colophane, objet de la demande, ou l'extrait de houblon, auxiliaire de référence de l'usine, est injecté lors de l'étape de diffusion : trois injections (doses choc) par jour réalisées dans l'ETI et deux par jour en tête de diffuseur, injections environ toutes les six heures. Pour le calcul sur la journée, le site prend en compte la consommation totale de l'auxiliaire technologique et le tonnage réel de betteraves traitées.

Pour l'extrait de houblon servant de référence, le dosage est de 15 g de produit par tonne horaire de cossettes dans l'ETI et 5 g de produit par tonne horaire de cossettes dans le diffuseur.

Concernant la colophane, deux essais ont été conduits. Le premier essai pour étudier la répartition de la colophane et ajuster les doses d'emploi selon l'évolution des différents indicateurs de production. Le second essai avec trois séquences, une de réglage du diffuseur, un surdosage et une utilisation normalisée. Dans cette dernière séquence, le dosage journalier est de trois ajouts ponctuels de 12 g de produit par tonne horaire de cossettes dans l'ETI et deux ajouts ponctuels de 20 g de produit/tonne horaire de cossettes dans le diffuseur.

Pour la modalité de référence où les extraits de houblon ont été utilisés, les modalités de maîtrise du procédé ont été réalisées par le suivi de la concentration d'acides alpha. Pour les essais en présence de colophane, les concentrations des acides myristique, déhydroabiétique et abiétique ont été suivies. Ces données ont permis d'établir une consommation moyenne indiquée par le pétitionnaire de houblon de 18 g (1,8 g d'acide alpha.t⁻¹) à 21 g par tonne de betteraves. Pour la colophane, des dosages variant de 4,7 à 5,7 g et une moyenne de 5,1 g par tonne de betteraves ont été fournis par le pétitionnaire lors du second essai. Par comparaison, dans les usines de sucrerie en Autriche, les concentrations des acides myristique et résinique utilisées sont comprises entre 10 et 15 g.t⁻¹, appliquées par chocs successifs avec un intervalle plus ou moins long de 3 à 5 h en fonction du pH, lequel est utilisé comme indicateur de contamination microbiologique (Hein *et al.*, 2006).

3.2. Analyse des résidus

Dans le dossier de demande, l'analyse des résidus dans le sucre est focalisée sur une journée ayant présenté un surdosage (55 g de colophane par tonne de cossettes). Le pic est atteint environ 12 h après l'injection, ce qui est cohérent avec le process. Le pic observé est cohérent avec les mesures effectuées

¹ La composition et description exacte a été fournie dans le dossier de demande

par l'étude autrichienne (0,07-0,1 mg.kg⁻¹ de sucre cristallisé pour une dose de 20 mg d'acide résinique.kg⁻¹ de cossettes) avec une dose nettement supérieure néanmoins.

Le dossier indique que la colophane est composée à environ 41,5 % d'acide abiétique et déhydroabiétique. Par extension, la teneur maximale résiduelle en colophane dans l'échantillon « worst case » est estimée par le pétitionnaire à 0,145 mg de colophane.kg⁻¹ de sucre. Le GT MATAE tient à préciser que sa demande de compléments d'information du 25 juillet 2023 mentionnait le besoin de disposer de résultats d'analyse des résidus entre 9 h (injection) et 13 h afin de s'assurer qu'il n'y avait pas de quantification à une concentration plus élevée que 0,145 mg de colophane.kg⁻¹ de sucre durant cette période, mais que le pétitionnaire n'a pas fourni ces analyses complémentaires. Il justifie ce choix par le fait que l'obtention du sucre cristallisé et sec est estimée à une durée d'environ 11 h, ce qui selon lui ne justifie pas d'analyses de résidus avant 13 h.

Le GT MATAE n'est donc pas en mesure de se prononcer sur la présence de résidus au cours de la période entre 9 h et 13 h (les 4 premières heures après l'injection) et ne peut pas écarter la possibilité d'un pic résiduel. En tenant compte des calculs de concentration instantanée de colophane dans le milieu, ce pic pourrait correspondre à une valeur jusqu'à 643 fois supérieure à celle indiquée par le pétitionnaire, ce qui correspondrait à 93,235 mg.kg⁻¹ de sucre.

3.3. Calculs d'exposition à l'auxiliaire technologique

La teneur maximale résiduelle en colophane dans l'échantillon « worst case » estimée par le pétitionnaire à 0,145 mg de colophane.kg⁻¹ de sucre a été utilisée pour les calculs d'exposition.

En l'absence de Dose Journalière Admissible (DJA) pour la colophane, la dose sans effet indésirable observé (DSEIO) de 174,1 mg de colophane.(kg de poids corporel (pc))⁻¹.j⁻¹ a été retenue. Ce choix est justifié dans l'avis précédent (Anses, 2020a).

L'estimation de l'exposition du consommateur est basée sur l'étude INCA 2², à partir du fichier Excel mis à disposition par l'Anses³. La catégorie « sucres et dérivés » a été retenue pour ce calcul pour pouvoir estimer l'exposition. Pour pouvoir renseigner la Valeur Toxicologique indicative (VTi), un facteur de 100 a été appliqué à la DSEIO, correspondant à une marge de sécurité de référence de 100.

Tableau 1 : Estimation de l'exposition des consommateurs aux résidus de colophane à partir des données INCA2 et du fichier Excel mis à disposition par l'Anses

Dose résiduelle : 0,145 mg.kg ⁻¹ de sucre		Apport théorique moyen mg.(kg .p.c.) ⁻¹ .j ⁻¹	VTi %	Apport théorique au P95 mg.(kg .p.c.) ⁻¹ .j ⁻¹	VTi %
Population	Adultes (18-79 ans)	0,000	0,00	0,000	0,01
	Enfants (3-17 ans)	0,000	0,00	0,000	0,01

D'après ces calculs, l'exposition des consommateurs est très faible par rapport à la valeur de référence. Néanmoins, la seule catégorie « Sucres et dérivés » n'est pas représentative de la consommation de sucre par un individu moyen, puisque les produits transformés apportent une part significative de sucre dans la ration alimentaire. La méthode paraît donc peu adaptée à ce type de produit.

De nouveaux calculs d'exposition ont été réalisés par le GT MATAE à partir des données INCA 3⁴ figurant dans l'*European Food Consumption Database* et en prenant le niveau hiérarchique L1 et la catégorie « *Sugar and similar, confectionery and waterbased sweet desserts* ». Les données des seuls consommateurs ont été retenues.

² Étude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2 (INCA 2). Afssa, septembre 2009. <https://www.anses.fr/fr/system/files/PASER-Ra-INCA2.pdf>

³ <http://www.anses.fr/system/files/ConsommationINCA2.xls>

⁴ Étude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 3 (INCA 3). Anses, juillet 2017. <https://www.anses.fr/sites/default/files/NUT2014SA0234Ra.pdf>

Tableau 2 : Estimation de l'exposition des consommateurs aux résidus de colophane à partir des données INCA3 et du fichier mis à disposition par l'EFSA

Dose résiduelle : 0,145 mg.kg ⁻¹ de sucre	Consommation moyenne (g.(kg p.c.) ⁻¹ .j ⁻¹)	Consommation au P95 (g.(kg p.c.) ⁻¹ .j ⁻¹)	Exposition moyenne (µg.(kg p.c.) ⁻¹ .j ⁻¹)	Exposition au P95 (µg.(kg p.c.) ⁻¹ .j ⁻¹)	MOS moyenne	MOS au P95
Adultes (18-79 ans)	0,31	0,93	0,04	0,13	4,29.10 ⁶	1,38.10 ⁶
Enfants (0-17 ans)	1,02	2,68	0,14	0,38	1,28.10 ⁶	4,57.10 ⁵

Les marges de sécurité (MOS) estimées à partir de la teneur maximale résiduelle de 0,145 mg.kg⁻¹ de sucre (tableau 2) ne mettent pas en évidence de préoccupation sanitaire pour les consommateurs.

Malgré l'amélioration de l'estimation de l'exposition par la prise en compte de catégories d'aliments plus large et des données de consommation plus récentes avec les résultats de l'étude INCA3, l'approche ne permet pas d'obtenir une estimation réaliste de la diversité des denrées alimentaires sucrées (sous-estimation), comme l'a montré le bilan de l'Anses sur les ingrédients sucrants dans les produits transformés publié en mars 2024⁵.

Pour cette raison, l'approche maximaliste par la méthode du budget a été réalisée.

Tableau 3 : Estimation de l'exposition des consommateurs aux résidus de colophane à partir de la méthode du budget

Etape de calcul	Aliments solides	Aliments liquides
Ration journalière de sucres consommée par un individu moyen	25 g .(kg p.c.) ⁻¹	100 mL .(kg p.c.) ⁻¹
Proportion de la ration en contact avec l'auxiliaire technologique	1/4	1/4
Quantité d'aliment en contact avec l'auxiliaire technologique	6,25 g .(kg p.c.) ⁻¹	25 g .(kg p.c.) ⁻¹
Dose résiduelle de colophane dans le sucre blanc	0,145 mg.(kg sucre)⁻¹	
Apport journalier maximal théorique de colophane (AJMT)	0,91 µg.(kg p.c.)⁻¹	3,63 µg.(kg p.c.)⁻¹

D'après la méthode maximaliste du budget, et en calculant les aliments solides et liquides ensemble, un individu moyen serait exposé à (0,91+3,63) soit 4,54 µg de colophane.(kg p.c.)⁻¹.j⁻¹.

Les adultes sont exposés à 4,5 µg de colophane.(kg p.c.)⁻¹.j⁻¹ et les enfants à 15,4 µg.(kg p.c.)⁻¹.j⁻¹, sur la base d'une teneur maximale résiduelle de 0,145 mg.kg⁻¹ de sucre. Les marges calculées sont de : 38 422 pour les adultes et de 11 301 pour les enfants. Ces MOS ne mettent pas en évidence de préoccupation sanitaire pour les consommateurs.

3.4. Aspects microbiologiques

L'utilisation de la solution aqueuse de colophane a pour finalité la maîtrise des populations bactériennes impliquées dans la dégradation des glucides dans les jus de procédé. En particulier, l'utilisation de la colophane dans les jus de procédé vise à limiter le développement de bactéries altérantes et notamment de bactéries productrices d'exopolysaccharides qui perturbent le fonctionnement des équipements en colmatant les filtres. Par ailleurs, une amélioration des rendements de production est également

⁵ Bilan et évolution de l'utilisation des ingrédients sucrants ou vecteurs de goût sucré dans les produits transformés, étude transversale. OQALI (observatoire des aliments), Anses, 2024.
<https://www.anses.fr/fr/system/files/OQALI2018SA0065Ra.pdf>

recherchée par la maîtrise de bactéries préjudiciables au procédé en raison de leur consommation des glucides issus de la betterave.

Les données bibliographiques relatives à l'efficacité antimicrobienne ont été analysées par l'Anses lors de deux saisines précédentes (Anses 2020b, 2020a). En résumé, il est apparu que l'activité biologique de la colophane est multiple (antifongique, antibactérienne, antivirale). Ses propriétés antimicrobiennes seraient attribuables à la présence des fonctions hydroxyle, aldéhyde et cétonique dans les molécules d'acides résiniques. Les mécanismes d'action ne sont pas bien connus : par analogie entre les structures des acides résiniques et celles des extraits de houblon, la réduction du potentiel membranaire, qui entraîne une réduction des capacités métaboliques, serait responsable de l'inhibition des microorganismes.

○ **Matrices alimentaires végétales**

La demande porte sur une seule matrice végétale, les cossettes de betteraves en filière sucrerie, avec leur contamination naturelle. Des betteraves dites « carencées » (abîmées ou mal conservées) ont également été traitées dans la sucrerie. Sans savoir si ce scénario peut être qualifié de « scénario du pire » et en l'absence de données de contamination habituellement rencontrée sur les végétaux concernés, le traitement de betteraves carencées reflète néanmoins une réalité industrielle.

○ **Cibles microbiennes**

Les cibles microbiennes visées par l'emploi de la colophane lors de l'étape de diffusion en sucrerie sont définies, il s'agit des populations de bactéries thermophiles, lactiques et mésophiles. Les principaux genres et espèces contaminant la filière sucrière identifiés dans la littérature sont rapportés par le pétitionnaire. Ces données sont en accord avec le choix du pétitionnaire de suivre les bactéries dites « thermophiles » en raison du traitement thermique dans l'étape de diffusion, dont certaines sporulent (*Bacillus*, *Clostridium*), les bactéries lactiques (par exemple : *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*) qui dégradent les glucides (substrat majoritaire dans les jus de diffusion) et dont certaines produisent des exopolysaccharides et enfin les bactéries mésophiles présentes dans les jus de diffusion. Le pétitionnaire rapporte des données bibliographiques montrant que les acides de la colophane ou du houblon inhibent les bactéries thermophiles et mésophiles (Anses 2020b, 2020a).

○ **Approche méthodologique**

L'approche suivie par le pétitionnaire consiste à comparer, en deux étapes, l'efficacité antimicrobienne de l'emploi de la solution aqueuse de colophane à celle d'extrait de houblon (condition test et auxiliaire technologique de référence respectivement). Ce dernier auxiliaire technologique est actuellement autorisé et habituellement utilisé par l'entreprise au sein de laquelle les essais ont été réalisés.

Deux essais industriels sont présentés. Le premier a permis de mettre en place le traitement avec la colophane dans l'installation. Il n'y a pas de données exploitables relatives à l'efficacité antimicrobienne. Le second essai, réalisé en continu, est documenté par des jeux de données analysées, sur 3 périodes :

- période 1 (40 jours) : utilisation de l'auxiliaire technologique de référence (extrait de houblon) ;
- période 2 (3 jours) : phase intermédiaire avec présence d'un mélange d'extrait de houblon et de colophane ;
- période 3 (41 jours) : utilisation de la colophane.

Les données extraites des périodes 1 et 3 sont celles qui devraient permettre de comparer l'efficacité antimicrobienne entre les deux auxiliaires technologiques.

○ **Analyses réalisées**

L'efficacité antimicrobienne a été évaluée à l'aide d'approches indirectes : mesure du pH, dosage d'acide lactique, d'acide acétique et de mannitol. Ces critères ont été définis par la profession sucrière (Institut de recherche de l'industrie sucrière, 1984), et sont pertinents au regard de l'objectif fixé qui est de maintenir à un niveau suffisamment bas les contaminations microbiennes susceptibles de générer des altérations pouvant nuire au bon fonctionnement du procédé.

Outre ces critères indirects, les microorganismes sont suivis directement par une méthode de comptage en microscopie après coloration au bleu de méthylène. Il est précisé que cette méthode permet de suivre les bacilles, et qu'elle s'utilise par approche comparative dans le but d'identifier une élévation éventuelle du nombre de bacilles, laquelle devant être interprétée comme résultant d'une croissance microbienne (Institut de recherche de l'industrie sucrière 1984). Le pétitionnaire présente cette analyse comme une analyse permettant de suivre les « thermophiles » : en réalité, c'est une estimation relative de l'évolution du nombre des cellules dans les échantillons prélevés dans les jus de diffusion à des températures avoisinant soit 40 °C soit 74 °C.

La nature de ces indicateurs et leur pertinence au regard de l'effet recherché sont justifiées par des résultats de la littérature révélant que les acides résiniques de la colophane tout comme les acides du houblon inhibent les bactéries lactiques et acétiques, réduisant de ce fait la production de ces derniers (lactique et acétique) dans le milieu.

Des essais industriels en Autriche ont préalablement montré que la réduction de la concentration en acide lactique était associée à la maîtrise du développement des bactéries lactiques (Hein *et al.*, 2006). La production de mannitol est quant à elle un marqueur des *Leuconostoc*. Les membres de ce genre produisent des exopolysaccharides susceptibles de colmater les filtres. En revanche, les indicateurs suivis par le pétitionnaire ne sont pas pertinents pour évaluer l'efficacité antimicrobienne de la colophane sur les cibles bactériennes sporulées telles que *Bacillus* et *Clostridium*.

Pour certains indicateurs, des bornes supérieures et inférieures d'un intervalle de fonctionnement industriel satisfaisant ont été explicitées dans un tableau et justifiées par le pétitionnaire en lien avec la complexité du procédé. Ainsi, la valeur cible du pH dans le diffuseur est un équilibre entre la solubilité des pectines (pH compris entre 4,0 et 6,0) qui peuvent impacter le pressage des pulpes, une hydrolyse du saccharose (en pH acide) et un maintien de l'état sanitaire. Les acides lactique et acétique vont aussi jouer un rôle sur le déroulé du procédé. La limite maximale de la concentration du mannitol identifiée par le pétitionnaire résulte quant à elle de mesures en site industriel.

Les indicateurs clefs considérés par le pétitionnaire sont le suivi du pH et de l'acide lactique. Pour ces deux indicateurs, ainsi que pour les dénombrements de bactéries, des mesures ont été effectuées sur toute la période dans les jus de l'ETI, les jus de diffusion (tête, milieu, queue) et dans les jus de diffusion provenant du bac de soutirage en fin de l'étape de diffusion. Ces mesures sont effectuées 1 à 2 fois par jour. Les dosages de l'acide acétique et du mannitol, ont été réalisés dans les jus de diffusion et les jus de l'ETI, à des fréquences moindres.

Le pétitionnaire a fourni des figures illustrant l'évolution de ces différents indicateurs dans les échantillons au cours de la campagne 2021-2022. Ces figures permettent de suivre la tendance de chaque indicateur et de visualiser si les valeurs restent dans l'intervalle prévu par le pétitionnaire.

Les nombres de réplicats techniques à chacun des points de prélèvement pour les analyses indirectes ou lors des comptages de cellules ne sont cependant pas précisés.

Les données brutes fournies par le pétitionnaire ne font apparaître qu'une seule valeur par point de prélèvement, et sont donc supposées uniques. Par ailleurs, les fichiers de données manquent d'annotations ce qui rend la compréhension ardue.

Le dossier du pétitionnaire présente une analyse statistique qui a été réalisée sur les données du second essai. Elle compare la période « extrait de houblon » (témoin) d'une durée de 40 jours à la période « colophane » d'une durée de 41 jours. L'analyse comporte une partie descriptive fouillée permettant de caractériser des distributions de données : moyennes, médianes, quartiles, valeurs minimales, maximales et histogrammes. Il n'y a donc qu'un seul suivi (réplicat biologique) opéré en continu sur plusieurs dizaines de jour, pour chacune des conditions testées lors des essais industriels.

○ **Examen des données sur l'efficacité antimicrobienne lors des essais industriels**

L'analyse des données ne révèle pas de différence de grande ampleur entre la modalité témoin (extrait de houblon) et la modalité test (colophane). Ces résultats semblent indiquer que la colophane et l'extrait de houblon présentent des niveaux d'efficacité de même ordre de grandeur. Par ailleurs, si la majeure

partie des valeurs mesurées est conforme au regard des limites de procédé fixées par le pétitionnaire, le rapport fait toutefois état de dépassements de ces limites, qui semblent être plus fréquents lorsque la colophane est utilisée, et en particulier pour deux indicateurs suivis que sont l'acide lactique et le pH. Pourtant, aucun test statistique n'a été réalisé pour déterminer si ce nombre de dépassements est significativement plus élevé qu'avec la modalité test. En cas de dérive de ces indicateurs, le pétitionnaire réalise des doses choc supplémentaires de l'auxiliaire technologique, voire une vidange de l'ETI. Ces actions ont été nécessaires lors des essais, et en particulier, lors du traitement de betteraves carencées. L'exploration des données brutes fournies par le pétitionnaire ne permet pas de consolider les conclusions sur l'efficacité antimicrobienne avec l'utilisation de tests statistiques, notamment au regard du faible nombre de données disponibles.

3.5. Conclusions du GT MATAE et du CES BIORISK

D'un point de vue technologique, il est vivement recommandé de délivrer l'auxiliaire technologique en continu dans un système de production tel que la transformation de la betterave en sucre qui est lui-même continu. Cela permettra d'avoir une présence de l'auxiliaire technologique à une concentration quasi stable tout au long de la journée de production, dans les limites proposées et vérifiées dans cette démarche.

Dans l'avenir, il est aussi fortement recommandé de mettre en place une méthodologie rigoureuse de prélèvements dans le temps pour mesurer la réelle absence de résidus dans le produit fini.

Dans les conditions telles que présentées, accompagnées des argumentations dans les réponses aux demandes de compléments d'information, l'utilisation de la colophane comme agent de décontamination pour emploi en sucrerie ne présente pas de préoccupation sanitaire pour les consommateurs à la dose maximale proposée (25 g de colophane par tonne de betteraves) et une concentration résiduelle maximale de 0,145 mg.kg⁻¹ de sucre.

Le CES BIORISK regrette l'absence d'analyse statistique inférentielle, ce qui ne permet pas d'émettre une conclusion robuste quant à l'efficacité du traitement avec la colophane pour la décontamination des cossettes de betteraves dans l'étape de diffusion.

Sur la base de l'analyse descriptive des résultats des essais industriels de la colophane et de ceux de l'extrait de houblon utilisé, auxiliaire de référence, l'utilisation de la colophane dans les jus de procédé apparaît répondre aux objectifs du pétitionnaire visant à limiter le développement de bactéries altérantes et préjudiciables au procédé. Toutefois, le nombre de dépassements des limites fixées par le pétitionnaire est légèrement plus élevé avec la colophane qu'avec la modalité test, suggérant un risque de perte de maîtrise. Le pétitionnaire est encouragé à réaliser une surveillance élevée de l'hygiène de son procédé lorsque la colophane est utilisée dans le but d'identifier des dérives potentielles et de mettre en place rapidement des mesures correctives. L'acquisition de ces nouvelles données permettrait de plus d'appuyer la démonstration de l'équivalence de l'efficacité antimicrobienne de la colophane au regard de l'extrait de houblon habituellement utilisé par le pétitionnaire.

Le CES BIORISK souligne que la méthodologie mise en œuvre lors des essais industriels menés ne permet pas d'évaluer l'efficacité antimicrobienne de la colophane sur les cibles bactériennes sporulées telles que *Bacillus* et *Clostridium*, potentiellement pathogènes, pouvant être alors présentes dans les étapes du procédé post diffusion, en particulier dans les co-produits pouvant être utilisés en alimentation animale.

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 du GT MATAE et du CES BIORISK.

La présente expertise complète celle précédemment réalisée par l'Anses en 2020 (saisine n° 2020-SA-0061) qui, en l'absence d'analyse de résidus de colophane dans le sucre, reposait sur une estimation théorique en retenant la dose maximale d'emploi de 25 mg de colophane par kilogramme de sucre comme dose maximale résiduelle. Ce scénario protecteur ne mettait pas en évidence de préoccupation sanitaire pour le consommateur.

Afin de procéder à une estimation plus réaliste de l'exposition des consommateurs, le pétitionnaire a réalisé une analyse de résidus de colophane dans le sucre dans les conditions industrielles d'emploi. Il a ainsi déterminé une teneur maximale résiduelle de 0,145 mg par kg de sucre, qui ne remet pas en cause la conclusion précédente d'absence de préoccupation sanitaire.

Aussi, l'Anses recommande que l'autorisation d'emploi de la colophane en sucrerie s'accompagne des conditions suivantes : condition d'emploi à la dose maximale de 25 g de colophane par tonne de betteraves et dose résiduelle maximale de 0,145 mg.kg⁻¹ de sucre.

L'Agence recommande également que le pétitionnaire mette en place une méthodologie de prélèvements pour suivre la teneur résiduelle dans le produit fini.

En ce qui concerne l'efficacité antimicrobienne de la colophane, le dossier complète le précédent par l'apport d'essais en conditions d'utilisation de la colophane à l'échelle industrielle, l'identification des cibles microbiennes, des indicateurs de suivi des populations microbiennes, ainsi que des données de comparaison avec un témoin autorisé dans la filière. En se basant sur ces résultats et ceux analysés dans les avis précédents (saisines 2014-SA-0236 et 2020-SA-0061), l'utilisation de la colophane apparaît comme répondant globalement aux objectifs d'efficacité du pétitionnaire sur la limitation du développement de bactéries préjudiciables au bon déroulement du procédé. S'agissant cependant de la catégorie des bactéries sporulantes à l'étape de diffusion, les résultats ne permettent pas encore de conclure.

L'Agence encourage les pétitionnaires à s'appuyer sur les lignes directrices qu'elle a élaborées (Anses, 2023⁶) pour préparer l'acquisition de données relatives à l'efficacité antimicrobienne des auxiliaires technologiques utilisés comme agents de décontamination des denrées d'origine végétale en vue de la constitution des dossiers qu'ils soumettent à l'autorité compétente.

Pr Benoit VALLET

MOTS-CLÉS

COLOPHANE, ACIDES RESINIQUES, ANTIMICROBIEN, AUXILIAIRE TECHNOLOGIQUE, SUCRE
ROSIN, RESINIC ACIDS, ANTIMICROBIAL, PROCESSING AID, SUGAR

⁶ Avis du 28 décembre 2023 (saisine n°2022-SA-0136).
<https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2022SA0136.pdf>

BIBLIOGRAPHIE

- Anses. 2020a. « Extrait de l'avis de l'Anses relatif à une demande d'autorisation d'extension d'emploi de colophane comme agent de décontamination des produits d'origine végétale, pour emploi en sucrerie (saisine n° 2020-SA-0061) ». Maisons-Alfort: Saisine n°2020-SA-0061.
- Anses. 2020b. « Rapport d'expertise collective "Études des alternatives potentielles au formaldéhyde en alimentation humaine dans le secteur sucrier" version pour consultation publique ». Saisine n°2014-SA-0236.
- Hein, Walter, Guenter Pollach, et Florian Emerstorfer. 2006. « 10 years' experience with natural antibacterials within Agrana ». Zuckerindustrie 131 (7). Verlag Dr Albert Bartens Luckhoffstrasse 16, D-14129 Berlin 38, Germany: 477-91.
- Institut de recherche de l'industrie sucrière. 1984. « Méthodes d'analyse I.R.I.S », Syndicat National des Fabricants de sucre de France édition.

CITATION SUGGÉRÉE

Anses (2024). Avis de l'Anses relatif à une demande d'autorisation d'extension d'emploi de la colophane en tant qu'auxiliaire technologique, comme agent de décontamination des produits d'origine végétale lors du traitement des betteraves en sucrerie (saisine 2023-SA-0097). Maisons-Alfort : Anses, 10 p.