



## **AVIS**

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

**relatif à « une demande d'autorisation d'essais industriels pour l'extension  
d'autorisation d'emploi d'une solution à base d'acide peracétique après  
blanchiment des épinards destinés à la surgélation »**

---

*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 4 avril 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'essais industriels pour l'extension d'autorisation d'emploi d'une solution à base d'acide peracétique après blanchiment des épinards destinés à la surgélation.

#### **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<sup>1</sup>, l'Anses dispose de quatre mois à compter de la réception du dossier pour donner un avis.

L'auxiliaire technologique est proposé comme un agent de décontamination dans le procédé de fabrication d'épinards destinés à la surgélation. L'usage technologique revendiqué n'est pas clair et semble être double : a) la réduction de la charge microbologique à la surface des épinards (flores végétatives pathogènes et d'altération) et b) le maintien d'un état sanitaire satisfaisant des eaux de refroidissement dans le procédé.

La demande d'essais industriels concerne l'utilisation d'une solution d'acide peracétique (APA) à une concentration de 75 mg par litre (L) dans de l'eau de refroidissement pour des épinards après blanchiment et avant surgélation. La solution d'APA est un mélange en équilibre d'acide péracétique, de peroxyde d'hydrogène et d'acide acétique dans l'eau, en présence de stabilisants, dont la nature et la concentration sont décrites dans le dossier mais restent confidentielles.

---

<sup>1</sup> Décret n° 2011-509 du 10 mai 2011. JO de la République française. 12 mai 2011, texte 27 sur 172

## **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 12 juin et 12 juillet 2012, sur la base d'un rapport initial rédigé par des rapporteurs appartenant à ce comité et un rapporteur en microbiologie.

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 microbiologiques**

Les essais d'efficacité de décontamination ont consisté en 3 volets : 1) essais en laboratoire visant à déterminer *in vitro* la concentration efficace sur des bactéries cibles représentatives de la contamination, 2) essais en atelier pilote après contamination artificielle de la matrice (« challenge test » procédé) et sous contamination naturelle et 3) soumission d'un protocole type pour la campagne d'essais industriels avec l'objectif de réalisation pour l'automne 2012.

Concernant les essais en laboratoire, le dossier de demande rapporte une décontamination entre 4 et 5 réductions décimales pour les microorganismes testés en suspension dans l'eau, après 5 minutes de contact avec 32.5 mg d'APA/L d'eau.

Concernant les essais en phase pilote, deux concentrations de solution APA ont été testées, 50 mg/L et 75 mg/L, sur une contamination microbienne naturelle et sur une contamination microbienne artificielle. En termes généraux, le CES observe que l'interprétation de ces résultats est difficile car ils ne représentent qu'un seul échantillon testé et il n'est donc pas possible d'estimer la variabilité des résultats d'efficacité du traitement.

Concernant les résultats obtenus sur le traitement des eaux de refroidissement, ils sont tous inférieurs à 1 unité formant colonies (UFC)/ml pour des populations initiales comprises entre  $10^2$  et  $10^7$  UFC/ml pour *Listeria monocytogenes* et  $10^5$  à  $10^8$  UFC/ml pour les entérobactéries. Le CES observe à nouveau que ces résultats sont difficiles à interpréter car un seul résultat a été rapporté.

Toutefois, en conclusion le CES considère que sur la base des connaissances cumulées sur divers dossiers traités au cours des années, il est possible d'estimer que l'APA puisse maintenir une bonne qualité microbiologique des eaux de refroidissement. L'efficacité de décontamination de la surface des épinards reste à démontrer. Les essais industriels à venir devront permettre de quantifier ces effets de façon robuste et reproductible.

### **3.2. Sur les aspects analytiques**

Le CES remarque qu'en termes généraux les méthodes d'analyse proposées ont été validées avec des solutions aqueuses de produits étalon et leur application à des matrices végétales nécessiterait une validation spécifique.

Le dosage de l'acide peracétique est réalisé par chromatographie liquide haute performance (CLHP) avec détection UV à 230 nm. La réponse est linéaire dans le domaine étudié (0 et 50 mg/L). La limite de détection est de 5,5 mg/L et la limite de quantification de 16,1 mg/L. La validation de la méthode a été réalisée en interne.

Le dosage du peroxyde d'hydrogène est fait par spectrophotométrie à 505 nm. La validation de la méthode a été réalisée en interne. La réponse est linéaire dans le domaine étudié (0 et 25 mg/L). La limite de détection est de 0,55 mg/L et la limite de quantification de 0,99 mg/L.

Tous les dosages de l'acide peracétique et du peroxyde d'hydrogène réalisés dans les essais en phase pilote, après les étapes de rinçage, rapportent des valeurs inférieures aux limites de quantification des méthodes analytiques suscitées. De l'avis du pétitionnaire, le bon dimensionnement du rinçage des légumes après contact avec l'APA permet d'assurer l'absence de résidus ou leur présence uniquement à l'état de traces techniquement inévitables.

Le dosage de la vitamine C est fait par chromatographie liquide haute performance (CLHP) avec détection par fluorescence (couple de longueur d'onde : 350-430 nm). La méthode d'analyse a été validée en interne. Elle est linéaire dans le domaine étudié (0 et 50 mg/L). La limite de détection est de 0,08 mg/L et la limite de quantification de 0,40 mg/L.

Des mesures des composés phénoliques, dont le dosage est fait par spectrophotométrie à 760 nm et exprimé en équivalent d'acide gallique, ont été faites également. La méthode d'analyse a été validée en interne. Elle est linéaire dans le domaine étudié (0 et 800 mg/L). La limite de détection est de 15 mg/L et la limite de quantification de 19 mg/L.

Les résultats de ces deux mesures montrent que le traitement des épinards avec la solution d'APA n'affecte pas particulièrement les niveaux en vitamine C ou en composés phénoliques. Le blanchiment des épinards en absence de solution d'APA fait perdre environ 50 % des niveaux initiaux en vitamine C et en composés phénoliques, alors que le blanchiment des épinards en présence d'APA fait perdre respectivement environ 38 et 40 % de ces niveaux. Les teneurs en vitamine C mesurées étaient proches de celles rapportées dans la table CIQUAL<sup>2</sup> : en moyenne 22 mg/100g pour les épinards surgelés avec une étendue de 10,4 à 38 mg/100g.

Le CES considère que le dossier de validation fournit des données acceptables relatives à la linéarité et la sensibilité des méthodes analytiques pour des solutions étalons. Le CES remarque que les limites de détection et de quantification présentées dans le dossier paraissent élevées par rapport aux niveaux de traitement prévus avec l'APA, mais le CES reconnaît que ces limites sont comparables à celles obtenues dans le passé pour le traitement d'autres légumes avec la même solution d'APA.

Le CES remarque qu'il n'y a pas eu de répétitions des essais et que les données de fidélité des différentes mesures analytiques n'ont pas été présentées dans le dossier, La présentation de ces éléments dans un retour d'expérience permettrait de juger si l'effet du traitement avec l'APA en conditions industrielles peut-être significatif sur les caractéristiques nutritionnelles des épinards.

Tous les dosages de l'acide peracétique et du peroxyde d'hydrogène réalisés dans les essais en phase pilote, après les étapes de rinçage, rapportent des valeurs inférieures aux limites de quantification des méthodes analytiques suscitées. De l'avis du pétitionnaire, le bon dimensionnement du rinçage des légumes après contact avec l'APA permet d'assurer l'absence de résidus ou leur présence uniquement à l'état de traces techniquement inévitables.

### **3.3. Sur les aspects à la consommation des produits**

Le dossier présente un calcul d'exposition basée sur l'étude INCA 2<sup>3</sup>, appliquée chez l'adulte et chez l'enfant pour la catégorie *Légumes hors pommes de terre*, précisée quant à la part épinards surgelés, par des données de consommation apparente émanant de la profession<sup>4</sup>. Ces calculs permettent au pétitionnaire de proposer une consommation journalière d'épinards surgelés moyenne et au 95<sup>ème</sup> percentile, respectivement de 2,587 et de 5,478 g/personne pour l'adulte et de 1,450 et de 3,435 g/personne pour l'enfant.

### **3.4. Sur les aspects toxicologiques**

Concernant la recherche de produits de dégradation, le pétitionnaire argumente que leur recherche n'a pas été entreprise dans les épinards eu égard aux faibles taux en lipides (environ 0,16 % selon

<sup>2</sup> <http://www.afssa.fr/TableCIQUAL/>

<sup>3</sup> Anses, 2009. Etude individuelle nationale des consommations alimentaires. Coordinateur Lionel Lafay.

<sup>4</sup> Surgelés : 16,9% de la production légumière consommée, dont 10,99% en épinards (sources : FIAC et UNILET, 2009. In dossier du pétitionnaire).

CIQUAL), en protéines (environ 2,6 % selon CIQUAL) et en glucides (environ 1,5 % selon CIQUAL) de la matrice.

Le CES considère qu'effectivement ce raisonnement est acceptable prenant en compte les faibles taux en composés sensibles à l'oxydation dans les épinards et le fait que selon les résultats fournis, la solution d'APA ne semble pas particulièrement affecter les taux en vitamine C ou en composés phénoliques des produits au-delà de ce qui est observé après le traitement de blanchiment en l'absence de l'auxiliaire technologique.

Le dossier de demande présente des résumés parcellaires sur la toxicologie des composants de l'auxiliaire technologique, néanmoins, le CES estime que la présentation exhaustive de la toxicologie n'était pas indispensable dans le cas présent compte tenu des connaissances cumulées depuis un certain nombre d'années sur l'acide peracétique et du fait de la rapide disparition de l'APA après les étapes de rinçage, rendant peu probable en théorie la rémanence de résidus.

Une dose sans effet indésirable observé (DSEIO) de 0,75 mg/kg poids corporel/jour, provenant d'une étude de 90 jours chez le Rat, a été retenue par le pétitionnaire. Les résultats détaillés de cette étude ne sont pas présentés dans le dossier mais il est indiqué dans le résumé que l'étude a été conduite selon les bonnes pratiques de laboratoire<sup>5</sup>.

Prenant en compte les estimations de consommation réalisées par le pétitionnaire et assumant que toute l'APA utilisé dans les bains de lavage reste dans les épinards à hauteur donc de 75 mg APA/kg d'épinards, sans prendre en compte les étapes de rinçages, des expositions moyenne et au 95<sup>ème</sup> percentile, respectivement de 0,2 mg APA/jour et de 0,4 mg APA/jour pour les adultes et 0,1 mg APA/jour et 0,3 mg APA/jour pour les enfants, peuvent être estimées.

Sur la base de la DSEIO de 0,75 mg/kg pc/jour (équivalente à 45 mg/jour pour une personne de 60 kg) et considérant les scénarii d'exposition « pire cas » proposés plus haut, des marges de sécurité d'environ 112 et 450 peuvent être estimées. Le CES estime ces marges de sécurité suffisantes du point de vue de la sécurité sanitaire des produits compte tenu des estimations très conservatrices retenues dans ces calculs.

Par ailleurs, le CES appuie la proposition du pétitionnaire qui propose que les épinards surgelés faisant l'objet des essais industriels pourront être commercialisés seulement après vérification que :

- a) les résidus d'APA dans les produits finis restent en-dessous des limites de quantification des méthodes analytiques employées, b) l'absence de substances indésirables, c) l'absence d'effets organoleptiques défavorables, d) de perte jugée inacceptable de leur valeur nutritionnelle.

Le CES recommande de réaliser des mesures analytiques sur un nombre représentatif d'échantillons (minimum 3 par point de prélèvement) pour chaque jour d'essai prévu dans le protocole des essais industriels.

### **3.1. Remarques générales**

Dans le dossier de demande, il est revendiqué que l'emploi de la solution d'APA comme auxiliaire technologique vise la décontamination de l'eau de refroidissement et la décontamination de la surface des épinards. Pour l'eau de refroidissement, il convient de préciser lors des essais industriels, si cette eau circule en circuit fermé ou si elle est perdue ou remplacée et avec quelle fréquence. Le CES remarque qu'un système en circuit fermé permettrait en théorie un contact plus prolongé avec la matière organique augmentant ainsi la potentialité de produire de produits néoformés. Le CES estime que cette précision sur la procédure devra être apportée lors d'un retour d'expérience des essais industriels.

Le CES AAAT observe que le dossier de demande ne fournit pas de données microbiologiques d'autocontrôle sur l'eau de refroidissement et sur le produit surgelé démontrant qu'un procédé de décontamination est nécessaire après l'étape de blanchiment des épinards (90 °C pendant plus d'une minute), cette étape ayant en elle-même un effet bactéricide reconnu. La présentation des

<sup>5</sup> SIDS Initial Assessment Profile. Peracetic acid. Summary conclusions of the SIAR. SIAM 26, 16-18 April 2008.

données historiques relatives aux contaminations identifiées en milieu industriel sur le produit fini surgelé devrait pouvoir éclaircir ce point.

Le CES observe aussi que la température de l'eau de refroidissement contenant de l'APA (13 °C) devrait monter, selon le dossier, aux environs de 55 °C après contact avec des épinards sortant de l'étape de blanchiment. Cette augmentation de température pourrait, d'une part, accélérer la réactivité de l'APA avec la matière organique dans l'eau (épinards intacts, déchets d'épinard, charge bactérienne, etc) mais pourrait également accélérer la dégradation de l'APA et de ses formes actives (acide acétique, peroxyde d'hydrogène) rendant la solution moins efficace et réduisant aussi sa réactivité avec la matière organique. La température de décomposition de la solution d'APA étant  $\geq$  à 60 °C selon la fiche de données de sécurité fournie dans le dossier de demande.

Ces éléments doivent donc être pris en considération lors des essais industriels, notamment, par rapport à l'échantillonnage et les analyses conduits qui doivent représenter les conditions de la mise en œuvre industrielle.

### **3.2. Conclusion**

Le CES AAAT estime que, sur la base des données présentées dans le dossier de demande sur les essais en phase pilote, les produits issus des essais industriels ayant subi un traitement d'APA à hauteur de 75 mg/L dans les conditions décrites, ne devraient pas présenter de risque pour les consommateurs. En conséquence, le CES AAAT émet un avis favorable à la mise en pratique des essais industriels.

Le CES AAAT appuie la suggestion du pétitionnaire proposant que les épinards surgelés faisant l'objet des essais industriels puissent être commercialisés seulement après vérification que les résidus d'APA dans les produits finis restent en-dessous des limites de quantification des méthodes analytiques employées, de l'absence de substances indésirables, de l'absence d'effets organoleptiques défavorables ou de perte jugée inacceptable de leur valeur nutritionnelle.

Le CES considère nécessaire qu'un retour d'expérience soit fait sur l'efficacité antimicrobienne du procédé et que ce retour d'expérience inclue des réponses aux diverses recommandations précisées dans le corps du texte du présent avis.

## **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 ».

**Le directeur général**

**Marc Mortureux**

**MOTS-CLES**

AUXILIAIRE TECHNOLOGIQUE, D'ACIDE PERACETIQUE, PEROXYDE D'HYDROGENE,  
AGENT DE DECONTAMINATION, EPINARDS, SURGELATION