

## **AVIS**

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

#### **relatif à un projet de règlement modifiant les annexes de la directives 2002/32/CE modifiée sur les substances indésirables en alimentation animale**

---

*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'Anses a été saisie par la DGCCRF le 20 mars 2013 pour la réalisation de l'expertise suivante : demande d'avis relatif à un projet de règlement modifiant les annexes de la directives 2002/32/CE modifiée sur les substances indésirables en alimentation animale.

#### **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

Les espèces végétales du genre *Brassica* et *Camelina* possèdent des teneurs élevées en glucosinolates, qui présentent à forte dose des effets toxiques pour les animaux. Plusieurs types de glucosinolates ont été identifiés. Afin de tenir compte de ce risque toxique pour les animaux, la question s'est posée d'introduire une spécification appropriée dans la directive 2002/32/CE. Il pouvait s'agir, soit de limiter les teneurs en glucosinolates de ces végétaux, soit de considérer ces derniers comme des impuretés botaniques.

- En 2003, le Comité Scientifique sur la Nutrition Animale (SCAN) concluait, dans son avis relatif aux substances indésirables<sup>1</sup>, à la possibilité d'autoriser les graines de moutarde dès lors qu'une teneur maximale en allyl-isothiocyanate (un glucosinolate correspondant à l'huile volatile de moutarde) était fixée pour ces aliments ;
- Le panel scientifique sur les contaminants de la chaîne alimentaire de l'AESA<sup>2</sup> a pour sa part émis un avis sur les « *Glucosinolates comme substances indésirables dans l'alimentation animale* » en 2008<sup>3</sup>. Ses conclusions indiquaient que les effets adverses chez les animaux étaient généralement corrélés à la teneur totale en glucosinolates (et pas seulement l'allyl-isothiocyanate) et que la mesure de l'ensemble des glucosinolates permettrait la détection des impuretés provenant de la présence de *Brassica juncea*, *Brassica nigra*, *Brassica carinata* ;

---

<sup>1</sup> [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scan/out126\\_bis\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scan/out126_bis_en.pdf)

<sup>2</sup> Agence Européenne de Sécurité sanitaire des aliments

- A la suite de cet avis, le CP CASA section Nutrition Animale avait décidé lors de la réunion des 11-12 mars 2008<sup>4</sup> de favoriser la validation d'une méthode d'analyse sur la teneur totale en glucosinolates en alimentation animale et de conserver, dans l'attente de cette validation, les différentes espèces de moutarde comme impuretés botaniques dans la directive 2002/32/CE. La mise au point de cette méthode d'analyse est toujours en cours et des données relatives aux teneurs en glucosinolates totaux sont en cours de collecte pour identifier le rapport entre teneur en glucosinolates totaux et huile volatile de moutarde.

Cependant, ces espèces végétales se trouvent aujourd'hui citées dans le catalogue des matières premières pour l'alimentation animale. Aussi, la Commission Européenne souhaite-t-elle prendre en compte le souhait de certains fabricants d'utiliser ce type de matière première et désire corriger les incohérences entre la réglementation relative aux matières premières et celle relative aux substances indésirables. Ainsi, elle propose de supprimer dès à présent les espèces de moutarde concernées, des impuretés botaniques listées dans la directive 2002/32/CE, en fixant en parallèle pour ces espèces une teneur maximale en huile volatile de moutarde (exprimée en allyl-isothiocyanate), dans l'attente d'une teneur maximale en glucosinolates totaux.

L'avis de l'Anses est sollicité sur la sécurité pour l'homme, l'animal et l'environnement d'une telle modification de la directive 2002/32/CE, au regard des pratiques connues dans la filière française.

Par ailleurs, l'avis de l'Anses est également sollicité sur la sécurité pour l'homme, l'animal et l'environnement au regard des pratiques connues dans la filière française sur un projet de règlement alternatif, qui :

- ✓ modifierait comme indiqué précédemment les teneurs maximales en huile volatile de moutarde pour les sous-produits de *Camelina* et de *Brassica* ;
- ✓ supprimerait l'exigence d'absence de sous-produits de *Brassica juncea*, *Brassica nigra* et *Brassica carinata* comme dans la proposition de modification précédente ;
- ✓ conserverait l'obligation d'absence de graines de *Brassica juncea*, *Brassica nigra* et *Brassica carinata* dans la directive 2002/32/CE (à la différence du projet actuellement proposé par la Commission).

## **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 le comité d'experts spécialisé (CES) « Alimentation animale » sur la base d'un rapport initial rédigé par quatre rapporteurs.

L'expertise s'est basée sur les documents mentionnés dans le contexte, ainsi que d'autres données bibliographiques pertinentes. Elle a eu pour objectif l'examen critique des mesures proposées au niveau de la sécurité sanitaire des aliments pour animaux.

Le comité d'experts spécialisé « Alimentation animale » a adopté les travaux d'expertise collective ainsi que ses conclusions et recommandations lors de sa séance du 16 avril 2013 et a fait part de cette adoption à la direction générale de l'Anses.

---

<sup>4</sup> *Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on glucosinolates as undesirable substances in animal feed, The EFSA Journal (2008) 590, 1-76 - <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/590.pdf>*

### 3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES

Les glucosinolates sont des molécules présentes dans les crucifères, en particulier dans le colza, la moutarde et la cameline. Il en existe de nombreux types qui diffèrent par la nature du radical (aliphatique, aromatique,...). Toutes ont en commun le même groupement qui renferme deux atomes de soufre, un d'azote. Chaque plante a une teneur et un profil spécifique en glucosinolates. Ainsi, la moutarde brune est riche en sinigrine, la blanche en sinalbine, et le colza renferme entre autres de la gluconapine, de la glucobrassicapine, etc.

Les glucosinolates ne sont pas toxiques en eux-mêmes mais ce sont les molécules dérivées qui le sont. L'hydrolyse des glucosinolates se produit soit en usine de trituration grâce à l'action d'une enzyme contenue dans les graines (myrosinase), soit dans le tube digestif des animaux grâce à l'action de la flore digestive. Ce sont les produits de dégradation (isothiocyanates ou ITC, vinyloxazolidinethione ou VOT, nitriles) qui sont toxiques : réduction de l'ingéré, de la croissance, hypertrophie thyroïdienne et hépatique, en fonction de la dose ingérée. Dans les usines de trituration, les conditions de fabrication des aliments (température, humidité, durée, etc.) orientent les réactions d'hydrolyse conduisant ainsi à des productions variables de composés et à la volatilisation de certains. Dans les procédés de fabrication où le chauffage de l'aliment est faible voire inexistant, les teneurs en glucosinolates sont souvent plus élevées car ils sont moins dégradés.

Les ITC sont volatils et présentent une composition qui est fonction du glucosinolate initial. Ce sont ces ITC qui sont dosés et qui sont actuellement utilisés de façon parfois inappropriée (*cf* ci-dessous) pour estimer la teneur en glucosinolates totaux d'une graine ou d'un tourteau. Ils ne reflètent cependant pas la toxicité potentielle des glucosinolates, car, étant volatils, leur dosage peut conduire à une sous-estimation des composés néfastes.

La proposition de remplacer le dosage des allyls-ITC par celui des glucosinolates totaux est recevable car ce dernier dosage permet de quantifier l'ensemble des composés néfastes quelle que soit leur origine. Pour cela il est nécessaire de disposer d'une méthode fiable de dosage. Le CP CASA, section Nutrition Animale (mars 2008), préconise qu'une méthode de dosage soit mise au point. Dans l'attente, il préconise de maintenir comme impuretés botaniques les différentes espèces de moutarde.

Ainsi, le CES souligne que :

- une méthode officielle de dosage des glucosinolates totaux, présentée par l'EFSA comme un préalable à une évolution de la réglementation, n'existe toujours pas ;
- l'essence volatile de moutarde comprend uniquement la teneur en allyl-isothiocyanate (directive 2002/32/CE), alors que le rapport EFSA 2008 redéfinit l'essence volatile de moutarde comme : « Volatile mustard oils including allyl isothiocyanate and goitrin (5-vinyloxazolidine-2-thione or 5- VOT) » ;
- que le projet présenté conduit à ne prendre en compte parmi les glucosinolates, hormis le cas des volailles, que l'essence de moutarde, alors que le rapport de l'EFSA précise que les thiocyanates, l'oxazolidinethione et les nitriles sont responsables de la toxicité des glucosinolates : il en résulte que le risque lié aux matières premières contenant d'autres glucosinolates que la sinigrine est mal pris en compte. Ce point était déjà souligné dans le compte rendu de la réunion des 11 et 12 mars 2008 du CPCASA ("legal measures should be in future related to total glucosinolates instead of the current provisions for volatile mustard all (expressed as allyl isothiocyanates)").

Concernant les graines de moutarde (*Brassica juncea*, *Brassica nigra*, *Brassica carinata*), le rapport de l'EFSA indique que leurs principaux glucosinolates sont la sinalbine et la sinigrine. Cependant, la référence citée à l'appui de cette affirmation ne mentionne pas cette information ; par contre, un article du même premier auteur (Van Etten et Wolff, 1973) précise que la sinigrine est le glucosinolate dominant des graines de ces trois espèces. La sinigrine est le précurseur de l'isothiocyanate d'allyle = essence volatile de moutarde (C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>NS). La prise en compte de ce composé dans la directive 2002/32/CE sur les substances indésirables dans l'alimentation des animaux permet donc bien de prendre en compte le risque lié à l'incorporation de graines de moutarde ou de leurs dérivés dans l'alimentation des animaux.

Concernant la graine de *Camelina* et ses dérivés, *Camelina sativa* a été supprimée des impuretés botaniques par la directive du 25 juillet 2008, mesure approuvée par l'Afssa dans son avis du 10 février 2009. Cette graine et ses dérivés ne font donc actuellement l'objet d'aucune mesure spécifique quant à leur introduction dans les aliments pour animaux, et relèvent donc du cadre général des matières premières pour aliments des animaux, avec une teneur maximale autorisée de 100 mg d'essence volatile de moutarde par kg. Le projet de règlement propose de classer la graine de cameline, le tourteau de pression de cameline et le tourteau d'extraction de cameline parmi les exceptions, avec une teneur en isothiocyanate d'allyle pouvant atteindre 4000 mg/kg, soit 40 fois la teneur actuellement admise. Le document « Supporting document for the discussion on the maximum level of volatile mustard oil in *Camelina sativa* and derived products » de la commission indique, sur la base de 7 mesures faites en Estonie sur des graines de cameline, la présence de glucosinolates à raison de 10,2 à 31,2 mmoles/kg, et sur 3 mesures, 2600 à 4000 mg/kg d'essence volatile de moutarde. Sur la base de ces 3 données, la commission estime que 4000 mg/kg d'essence volatile de moutarde correspondent à environ 30 mmoles de glucosinolates totaux par kg, teneur proche de celle des graines de colza 00 (concentration maximale en glucosinolates de 25 mmoles/kg de matière sèche déshuilée). Cependant, cette relation entre la teneur en isothiocyanate d'allyle et la teneur en glucosinolates totaux dans la cameline n'a été établie que sur la base de 3 échantillons, et ne reflète donc probablement pas :

- la diversité des situations en Europe, liée aux variétés et conditions de culture ;
- la variabilité du ratio entre les glucosinolates totaux et l'isothiocyanate d'allyle : ce dernier est volatil, et peut avoir disparu de coproduits broyés et/ou chauffés comme les tourteaux, donc peut ne pas être un marqueur fiable des glucosinolates totaux.

Par ailleurs, la masse moléculaire de l'isothiocyanate d'allyle étant de 99, 4000 mg/kg devraient représenter 40 mmoles de sinigrine, soit plus que la teneur annoncée en glucosinolates totaux ; le CES s'interroge donc sur la cohérence entre les méthodes d'analyse utilisées pour les dosages en glucosinolates totaux et en essence volatile de moutarde dans les données utilisées par la commission.

En outre, on ne connaît pas le métabolisme ni la toxicité des glucosinolates principaux de la Cameline, le (R)-9-méthylsulfinyl-nonylglucosinolate (glucoarabine) et le (R)-10-méthylsulfinyl-decylglucosinolate (glucocaméléine). Les essais alimentaires avec du tourteau expeller de Caméline ne mentionnent pas les teneurs en glucosinolates ou/et en leurs métabolites (Ryhänen *et al.*, 2007).

Le projet de modification des annexes de la directive 2002/32/CE représente donc un accroissement du risque et n'est pas basé sur des données suffisantes en quantité et fiabilité.

Par ailleurs, le CES remarque que :

- la sinigrine n'étant pas le glucosinolate majeur du colza, le contrôle de cette matière première par sa teneur en isothiocyanate d'allyle n'est pas parfaitement appropriée ;
- l'isothiocyanate d'allyle est peu soluble dans l'eau mais soluble dans l'éther (EFSA, Safety of allyl isothiocyanate as a food additive, 2010, <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1943.htm>). L'isothiocyanate d'allyle n'est donc pas un bon marqueur des glucosinolates totaux dans les tourteaux, et appliquer la même concentration maximale autorisée dans les tourteaux que dans les graines n'est pas adapté ;
- la dénomination des noms des sous-espèces de moutardes (indienne, de Sarepte et chinoise) (6,7 et 8 de la section VI) n'est pas claire. De quelle nomenclature botanique s'agit-il, et où sont-elles recensées ?

Enfin, le CES s'étonne que des matières premières interdites par la directive 2002/32/CE en tant qu'impuretés botaniques puissent figurer au catalogue des matières premières.

### **Conclusions de l'expertise collective**

Considérant que l'isothiocyanate d'allyle est le résultat de l'hydrolyse du glucosinolate majeur des espèces *Brassica juncea*, *Brassica nigra* et *Brassica carinata*, le CES donne un avis favorable au retrait de ces espèces de la liste des impuretés botaniques.

Considérant que les connaissances actuelles ne permettent pas de considérer que l'isothiocyanate d'allyle est représentatif de la teneur en glucosinolates ou des effets négatifs des glucosinolates de la cameline et ses dérivés, le CES donne un avis défavorable à l'élévation de 100 à 4000 mg/kg de la teneur maximale autorisée en isothiocyanate d'allyle dans ces matières premières.

Enfin, le CES suggère que soit réévaluée la pertinence de l'isothiocyanate d'allyle comme critère d'évaluation du risque dans les graines et les tourteaux de colza.

## **4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE**

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du CES « Alimentation animale ».

**Le directeur général**

Marc Mortureux

## **MOTS-CLES**

Alimentation animale, substances indésirables, directives 2002/32/CE, glucosinolates, *Camelina* et *Brassica*.

## **BIBLIOGRAPHIE**

Afssa, 2009. Avis de l'Afssa du 10 février 2009 relatif à un règlement modifiant les annexes de la directives 2002/32/CE modifiée sur les substances indésirables en alimentation animale (saisine 2008-SA-0325).

EFSA, 2008. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on glucosinolates as undesirable substances in animal feed, *The EFSA Journal* (2008) 590, 1-76, <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/590.pdf>

EFSA, 2010, Safety of allyl isothiocyanate as a food additive, <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1943.htm>

Ryhänen E.L, Perttilä S., Tupasela T, Valaja J, Eriksson C et Larkka K., 2007. Effect of *Camelina sativa* expeller cake on performance and meat quality of broilers. *Journal of the science of Food and Agriculture*, 87:1489-1497.

Van Etten C.H., Wolff I.A., 1973. Natural sulfur compounds In: Toxicants occurring naturally in foods, *National Academy of Science*, pp210-234