

## **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'un antimousse à base d'extraits de houblon comme auxiliaire technologique pour la brasserie.**

---

*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.*

---

#### **1. RAPPEL DE LA SAISINE**

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a été saisie le 7 avril 2015 d'une demande d'avis relatif à une demande d'extension d'autorisation d'emploi d'un antimousse à base d'extraits de houblon comme auxiliaire technologique pour la brasserie.

#### **2. 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.

La demande porte sur l'emploi d'un extrait de houblon contenant de la lécithine de tournesol comme auxiliaire technologique en tant qu'antimousse pendant la fermentation (brassage) de la bière et le cidre. La lécithine de tournesol est un additif alimentaire (E 322) possédant une dose journalière admissible (DJA) non-spécifiée et les autorisations d'emploi sont faites selon le principe *quantum satis*.

---

<sup>1</sup> 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. JO RF 12 mai 2011, Texte 27 sur 172.

L'utilisation d'extraits de houblon a fait l'objet dans le passé de plusieurs évaluations par l'Anses<sup>2</sup> mais ces évaluations ont concerné des extraits de houblon différents de ceux faisant objet de la présente demande. En conséquence, cette demande ne peut pas être assimilée à une extension d'emploi c'est la raison pour laquelle l'intitulé de cet avis ne mentionne pas le terme « extension » qui se trouvait dans la saisine originelle.

### **3. 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 « Evaluation des substances et procédés soumis à autorisation en alimentation humaine (GT ESPA) ». Les travaux ont été présentés au GT ESPA, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques, le 18 juin 2015. Ils ont été adoptés par le GT ESPA réuni le 16 juillet 2015.

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.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses ([www.anses.fr](http://www.anses.fr)).

### **4. ANALYSE ET CONCLUSION DU GT ESPA**

#### **4.1. Concernant les aspects technologiques et les caractéristiques chimiques de l'auxiliaire technologique**

La demande porte sur une étape « clé » du procédé (fermentation) de cette filière agro-alimentaire (brasserie) et l'utilisation de l'auxiliaire technologique est justifiée car le phénomène de moussage est un problème récurrent dans de nombreux procédés industriels, dont la brasserie. L'excès de mousse lors de la fermentation a plusieurs conséquences qui réduisent l'efficacité du procédé industriel (rétention de la biomasse catalytique et des acides alphas du houblon, réduction du volume utile des cuves de fermentation). L'ajout de l'auxiliaire technologique est restreint à l'opération unitaire (OU) de fermentation primaire et devra se faire par des pompes doseuses asservies.

La dose d'emploi maximale revendiquée est inférieure à 100 g de formulation commerciale/hL (soit < 8 g d'extraits du houblon/hL et < 2 g de lécithine/hL). Les doses préconisées de la formulation commerciale de l'auxiliaire technologique sont comprises entre 5 à 50 g/hL.

---

<sup>2</sup> Avis de l'Afssa relative à l'emploi d'un extrait de houblon en tant qu'auxiliaire technologique en sucrerie. 23 mars 2004 ; Avis de l'Afssa relatif à l'autorisation d'emploi d'un extrait de houblon en tant qu'auxiliaire technologique en sucrerie. 2 février 2005 ; Avis de l'Afssa relatif à l'autorisation d'emploi d'un extrait de houblon en tant qu'auxiliaire technologique dans la production d'éthanol par fermentation. 28 avril 2008 ; Avis de l'Afssa relatif à l'autorisation d'emploi d'un extrait de houblon en tant qu'auxiliaire technologique dans la production d'éthanol par fermentation. 13 décembre 2007 ; Avis de l'Anses relatif à la demande d'extension d'autorisation d'emploi d'un extrait de houblon en tant qu'auxiliaire technologique pour la production de levure. 15 décembre 2011.

L'auxiliaire technologique a été identifié avec les numéros CAS 8060-28-4, EINECS 232-504-3, et FEMA 2578. La composition de l'extrait de houblon a été définie dans le dossier de demande comme étant constituée majoritairement de cires de houblon (« hard » résines), de résines de houblon (« soft » résines sans les acides- $\alpha$  et - $\beta$ ), de lipides neutres et d'une faible concentration en d'acides- $\beta$  (lupulones). Le procédé d'obtention de l'extrait est sommairement décrit dans le dossier de demande mais il a fait l'objet d'un brevet déposé au niveau européen<sup>3</sup>. La nature chimique des composés constituant les cires et résines de houblon n'est pas précisée dans le dossier de demande mais des publications scientifiques disponibles répertorient dans les cires de houblon la présence d'alcane et d'alcools à longue chaîne et d'acides gras<sup>4,5</sup>.

Dans les résines de houblon la présence de « soft » résines constituées de humulinones et de hulupones, de « hard » résines constituées essentiellement de 4-hydroxyallohumulinones et dans une moindre mesure de tricycloxyisohumulones, de lupulones, de colupulone, de xanthohumole, a été répertoriée également<sup>6,7</sup>. L'une des publications fait état des variations dans la composition des cires dépendant des variétés de houblon et une autre publication fait état des modifications de 4-hydroxyallohumulinones en 4-hydroxyallo-cis-humulones, ayant lieu pendant l'étape de chauffage lors du procédé de brassage de la bière<sup>4</sup>. Les méthodes de dosage spécifiques y sont également rapportées.

Le GT ESPA estime que la ou les variétés de houblon et la procédure d'extraction devraient être précisées aux gestionnaires de risque afin de maintenir la stabilité de la composition de l'auxiliaire technologique qui a fait l'objet d'évaluation dans le présent avis.

L'efficacité de l'auxiliaire technologique en tant qu'antimousse n'a pas été démontrée dans le dossier de demande, mais la littérature disponible rapporte des effets sur la hauteur et la stabilité des mousses lors d'essais au sein d'une installation pilote de brasserie qui confirme le potentiel antimoissant des extraits de houblon objet de la présente demande<sup>8</sup>.

L'élimination de l'auxiliaire technologique s'effectue au niveau de l'étape de décantation en fin de fermentation primaire (fond de tank de fermentation) mais devrait également avoir lieu lors des étapes de maturation (fond de tank de maturation), de clarification (filtration), potentiellement de filtration stérilisante et en ultime cas lors d'une dilution (coupe des brassins concentrés – dilution des résidus d'auxiliaire technologique).

#### **4.2. Recherche de résidus et aspects toxicologiques**

Le dossier de demande présente une recherche de résidus de l'auxiliaire technologique ainsi que les méthodes de dosage employés. Etant donné que les extraits de houblon, composant l'auxiliaire technologique, se trouvent naturellement dans les produits issus de la brasserie de par l'utilisation de houblon dans leur fabrication, la recherche de résidus a utilisé la lécithine comme traceur de présence de l'auxiliaire technologique.

<sup>3</sup> European Patent Specification EP 1 987 126 B1. 2007

<sup>4</sup> Gülz P G et al., 1993. Epicuticular leaf waxes of the hop (*Humulus lupulus*). Chemical composition and surface structures. *Z Naturforsch.* 48c: 689-696

<sup>5</sup> Delanghe L et al., 1969. On the composition of hop wax. *J I Brewing* 75 (5) :445-449;

<sup>6</sup> Stevens R. 1967. The chemistry of hop constituents. *Chem Rev.* 67(1): 19-71.

<sup>7</sup> Taniguchi Y et al., 2014. Analysis of the components of hard resin in hops (*Humulus lupulus* L.) and structural elucidation of their transformation products formed during the brewing process. *J Agric Food Chem.* 62(47): 11602-11612.

<sup>8</sup> Ford Y-Y et al., 2012. Antifoam performance of hop extracts emulsions in pilot brewing trials. *MBAA* 49(1) :3-10

Les analyses de lécithine ont été faites avec une méthode analytique basée sur la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-MS) via dosage du phospholipide majoritaire à savoir la phosphatidylcholine estérifiée par deux acides linoléiques.

Ce traceur a été mesuré en solution organique pour trois concentrations (7,82, 1,44 et 0,14 mg/L). Ces mêmes concentrations ont été ajoutées dans la bière (contrôle après ajout du produit commercial à une concentration de 10 g formulation commerciale/hL). Sur la base de ces analyses le pétitionnaire propose une LOD de 0,14 mg/L pour la méthodologie d'analyse appliquée.

Le GT ESPA considère qu'au regard du dossier analytique présenté et des interférences dues aux matrices, la LOD de 0,14 mg/L ne peut être retenue. En absence de point de dosage intermédiaire entre 0,14 mg/L et 1,44 mg/L, la LOD de 1,44 mg/L devra être retenue par défaut. Le fait que la lécithine soit un marqueur unique des résidus de l'auxiliaire technologique reste une hypothèse car les coefficients de partage sont probablement différents entre résines, cires et lécithine. De plus, le GT ESPA souligne que le dosage de résidu a été conduit à 10 g de formulation commerciale/hL au lieu de 100 g de formulation commerciale/hL (dose d'emploi maximale revendiquée).

En supposant que le niveau résiduel en lécithine provenant des extraits de houblon dans la bière se trouve à la LOD de la méthode analytique utilisée (1,44 mg/L), cette valeur représenterait au maximum environ 6 mg des extraits de houblon/L (0,6 g extraits de houblon/hL). Dans ces conditions, l'apport théorique calculé d'extrait de houblon au 95ème percentile de la consommation par les seuls consommateurs des boissons alcoolisées rapportées par l'étude INCA 2 serait ainsi d'environ 0,07 mg d'extraits de houblon/kg poids corporel/jour pour les adultes.

Les concentrations en « soft et hard » résines du houblon, issues de l'ajout de houblon lors de l'étape d'ébullition de la fabrication de la bière (10 g houblon/hL), correspondent à environ 2 - 7 g de « soft » résine/100 g de houblon et à environ 3 - 5 g de « hard » résine/100 g de houblon. Les concentrations en « soft et hard » résines, issues de l'ajout de l'auxiliaire technologiques lors de l'étape de fermentation (100 g de formulation commerciale/hL), correspondent à environ 25 - 50 g de soft résine/100 g d'extraits de houblon et à environ 30 - 40 g de hard résine/100 g d'extraits de houblon. Compte tenu de ces éléments, les concentrations en « soft et hard » résines de la bière fabriquée avec l'extrait de houblon serait de 4,4 - 7,2 g/hL par comparaison à une bière non traitée qui serait de 0,5 - 1,2 g/hL.

Dans un scénario pire cas dans lequel on supposerait que l'auxiliaire technologique n'est pas éliminé au cours du procédé de fabrication de la bière, l'apport théorique calculé de « soft et hard » résines au 95ème percentile de la consommation par les seuls consommateurs des boissons alcoolisées serait au maximum de 0,9 mg de « soft et hard » résines/kg poids corporel/jour pour les adultes. Dans ce scénario, l'apport théorique calculé de « soft et hard » résines au 95ème percentile de la consommation par les seuls consommateurs de boissons alcoolisées provenant de la consommation de bière non traitée avec l'auxiliaire technologique serait au maximum de 0,15 mg de « soft et hard » résines/kg poids corporel/jour pour les adultes.

Le GT ESPA observe que l'apport théorique d'exposition calculé est très maximaliste : a) en supposant que la consommation de bière est similaire à la consommation des autres boissons alcoolisées en général, dont le vin, b) en supposant que toutes les bières consommées ont été produites en utilisant l'extrait de houblon comme auxiliaire technologique, c) en supposant que le niveau résiduel de l'auxiliaire technologique est celui de la LOD de la méthode analytique utilisée et d) en établissant un bilan matière qui suppose que l'auxiliaire technologique n'est pas éliminé au cours du procédé de fabrication de la bière.

Sous l'angle toxicologique, la composition chimique majoritaire des cires et des résines de houblon montrent la présence d'alcane, d'ester et d'alcools linéaires. Ces composés sont métabolisés par l'organisme dans des composants que l'on retrouve dans l'alimentation. Par ailleurs, les composants des extraits de houblon sont présents naturellement dans le houblon utilisé pour la fabrication de la bière.

Le GT ESPA estime ainsi que les résidus de cires, de résines de houblon et de lécithine de tournesol dans la bière résultant de l'emploi de l'auxiliaire technologique ne représentent pas un risque sanitaire, compte tenu des niveaux résiduels mesurés dans la bière, des calculs d'exposition maximalistes appliqués et du fait que ces composants sont historiquement constitutifs du houblon employé dans la filière brassicole.

#### **4.3. Conclusion**

Compte tenu de ces éléments, le GT ESPA estime que l'emploi d'un antimousse à base d'extraits de houblon comme auxiliaire technologique pour la brasserie, à une dose maximale de 100 g de formulation commerciale/hL (soit < 8 g d'extraits de houblon/hL), ne présente pas de risque sanitaire pour le consommateur.

Le GT ESPA remarque qu'aucune donnée analytique n'ayant été fournie pour la filière cidricole, il n'a pas été possible d'évaluer l'emploi de l'auxiliaire technologique dans cette filière.

### **5. CONCLUSION 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 ESPA.

**Le directeur général**

**Marc MORTUREUX**

#### **MOTS-CLES**

AUXILIAIRE TECHNOLOGIQUE, EXTRAITS DE HOUBLON, PRODUCTION DE BIÈRE ET CIDRE, CIRES ET RESINES DE HOUBLON, LECITHINE