

Le directeur général

EXTRAIT DE L'AVIS du 06 janvier 2021
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 concernant l'emploi de
l'arginate d'éthyle laurique, en tant qu'auxiliaire technologique, comme désinfectant
dans la production d'éthanol

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.

Le présent document est un extrait de l'avis du 06 janvier 2021, après suppression des parties portant sur des informations identifiées comme étant couvertes par le secret des affaires.

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a été saisie le 26 juillet 2019 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis sur l'autorisation d'essais dans des conditions industrielles de deux produits contenant l'arginate d'éthyle laurique en tant qu'auxiliaires technologiques.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

En application du décret du 10 mai 2011¹ 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.

La présente demande vise à obtenir l'autorisation pour réaliser des essais industriels avec l'ester éthylique d'arginate laurique-HCl ou N-lauroyl-L-arginate d'éthyle (LAE) (CAS No. 60372-77-2). Cet auxiliaire technologique sera utilisé au cours du procédé de fermentation alcoolique dans l'opération unitaire (OU) de propagation dans le germe, comme expliqué plus loin dans cet avis.

Le LAE est un additif alimentaire autorisé dans la Communauté européenne (E 243). Son usage est autorisé dans la catégorie alimentaire 08.3.2 – Produits à base de viande soumis à un traitement thermique, à une quantité maximale jusqu'à 160 mg/kg (hormis les saucisses émulsionnées, les saucisses fumées et le pâté

¹ 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. JORF du 12 mai 2011.

de foie)². Aux États-Unis, le LAE est autorisé comme auxiliaire technologique, pour le traitement en surface de viandes fraîches, entières ou en morceaux (incluant la volaille) (USDA, 2007)³. Le LAE est inclus dans les normes Codex pour les additifs alimentaires et comme auxiliaire technologique dans la catégorie 15 "Agent de contrôle des micro-organismes" du répertoire des auxiliaires technologiques (IPA) (CCFA, 2016)⁴.

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 « Evaluation des substances et procédés soumis à autorisation en alimentation humaine (GT ESPA) ». Les travaux d'évaluation initiaux ont été présentés au GT ESPA, tant sur les aspects technologiques que scientifiques, le 12 décembre 2019. Après examen de la demande initiale, il s'est avéré que certaines informations d'ordre analytique nécessaires à l'évaluation de l'autorisation d'emploi de ce désinfectant dans la fabrication d'éthanol, manquaient dans le dossier initial. Une demande de compléments d'information (DCI) précisant les informations manquantes a été envoyée le 23 janvier 2020.

Des éléments de réponse à cette DCI ont été reçus par l'Anses le 22 juin 2020. Les éléments de réponse ont été présentés au GT ESPA le 15 octobre 2020. Les conclusions finales du GT ESPA ont été validées le 19 novembre 2020.

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).

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU GT ESPA

3.1. Concernant les aspects chimiques et technologiques

Le nom chimique du N-lauroyl-L-arginate d'éthyle (LAE) est le chlorhydrate d'éthyl-N- α -dodécanoyl-L-arginate (CAS N° 60372-77-2). L'ester éthylique d'arginate laurique déshydraté contient 85–95 % de son principe actif le LAE, alors que l'ester éthylique d'arginate laurique non déshydraté contient 71–81 % du principe actif⁵.

La formulation commerciale de l'auxiliaire technologique se présente sous deux formes, l'une contenant 100% de LAE et une autre contenant 19–21% de LAE. Pour cette dernière, les coformulants sont le propylène glycol et le polysorbate 20. Selon le dossier de demande, les formulations commerciales sont stables au stockage pendant au moins deux ans.

Les impuretés identifiées dans l'auxiliaire technologique sont le N- α -lauroyl-L-arginine, l'acide laurique, le dodécanoate d'éthyle, la L-arginine HCl et l'arginate d'éthyle, à des concentrations inférieures à 5% pour les

² Règlement (CE) N° 1333/2008 du Parlement européen et du conseil du 16 décembre 2008 sur les additifs alimentaires. JO L 354 du 31.12.2008, p. 16

³ https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/ce40e7ae-3d55-419e-9c68-a1b6fefcd4de/7120.1_Table_2.pdf?MOD=AJPERES

⁴ Codex Committee on Food Additives. Inventory of Processing Aids Database. https://ipa.cfsa.net.cn/login?task=index_pro

⁵ Toutes les références à l'ester éthylique d'arginate laurique dans le dossier de demande, se réfèrent à la forme déshydratée, qui diffère de la forme non-déshydratée uniquement dans la mesure où la majorité de l'eau a été supprimée par séchage.

plus élevées. Ces impuretés présentes dans la deuxième formulation de l'auxiliaire technologique, constituent environ 13% (w/w) et sont les résidus des substrats de réaction. Le GT ESPA note que l'acide laurique, la L-arginine et l'éthyl arginate sont des substances présentes dans l'alimentation ou formées par le métabolisme endogène des acides aminés.

Les critères de pureté du LAE sont conformes à ceux définis pour l'additif alimentaire autorisé au niveau européen⁶. La stabilité du LAE en tant qu'additif alimentaire a fait l'objet d'une évaluation précédente par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) (EFSA, 2007). Dans cet examen, l'EFSA a vérifié que le LAE était stable à température ambiante pendant plus de deux ans dans un conteneur fermé. Les recommandations de stockage pour l'auxiliaire technologique sont donc similaires à celles de l'additif alimentaire.

En général, l'éthanol utilisé dans les boissons alcoolisées est produit par le procédé de fermentation alcoolique. Le procédé de fermentation comprend deux opérations unitaires (OU) principales : la propagation et la fermentation. Au cours de la première phase, la levure, les matières végétales à fermenter (soit des matières végétales de betterave, soit des matières végétales de blé non transformées) et d'autres ingrédients nécessaires (moût, enzymes, nutriments) sont ajoutés au germe et sont incubés pendant des périodes définies.

Pendant cette étape, la levure croît et se multiplie de façon exponentielle. Selon le dossier de demande, l'utilisation de l'auxiliaire technologique maximiserait la population active des levures et permettrait une fermentation rapide au cours de la seconde phase. Les bactéries ne sont pas désirables dans le processus de fermentation car elles rivalisent avec la levure et le rendement d'éthanol se réduit en conséquence (les sucres libérés sont utilisés plus efficacement par les bactéries que par la levure et le produit fermenté qui en découle n'est pas de l'éthanol). Il est donc important de contrôler en amont la croissance bactérienne au cours de l'étape de propagation.

Lors de l'OU de fermentation, le mélange provenant du germe est ajouté au fermenteur avec de l'eau et des ingrédients supplémentaires (du moût et des régulateurs de pH) pour la fermentation. Après cette étape l'éthanol est séparé du mélange de fermentation par distillation.

Les doses d'emploi proposées sont de 5–50 mg de LAE/L pour la formulation commerciale contenant 100% du principe actif. Pour la formulation commerciale contenant 19–21% du principe actif ces doses équivalent à 25–250 mg/L.

Les denrées susceptibles d'être préparées en utilisant l'alcool obtenu avec l'auxiliaire technologique (alcool de bouche) sont celles appartenant à la catégorie des boissons alcoolisées dans leur ensemble (cidres, vins, bières, etc) et les boissons considérées comme des alcools forts (spiritueux et liqueurs).

Bien que la réactivité dans les matrices intermédiaires générées par le procédé de fabrication (jus de diffusion, mélasse, vinasse) et dans le produit fini (alcool de bouche) n'ait pas été considérée dans le dossier de demande, du point de vue chimique, s'il y a une dégradation de l'auxiliaire technologique, le produit majoritaire de dégradation sera N- α -lauroyl-L-arginine (LAS).

Du point de vue analytique, deux méthodes ont été testées dans des essais industriels de production d'alcool conduits à l'étranger. La première méthode est la chromatographie liquide à haute performance avec détecteur à photodiodes (HPLC-PDA). La deuxième méthode est basée sur la chromatographie liquide à ultra haute performance, couplée à la spectrométrie de masse à quadripôle (UHPLC-MS).

La DCI mentionnée plus haut demandait les détails de la validation de ces méthodes, en y incluant les incertitudes associées. Dans les réponses à cette DCI, le pétitionnaire précise que la méthode analytique

⁶ Règlement (UE) N° 231/2012 de la Commission du 9 mars 2012 établissant les spécifications des additifs alimentaires énumérés aux annexes II et III du règlement (CE) n° 1333/2008 du Parlement européen et du Conseil. JO UE L83/1, 23.3.2012

employée pour mesurer les résidus de LAE et les impuretés issues de l'hydrolyse du LAE est l'UHPLC-MS. Selon les documents fournis dans la réponse, cette méthode a été validée en interne par le laboratoire et a été adaptée à partir de la publication de Aznar *et al* (2013).

Concernant la performance de la méthode, la réponse aux DCI rapporte des récupérations acceptables à partir d'échantillons dopés de LAE ou LAS⁷ aux OU de fermentation et de propagation.

Concernant la limite de quantification (LOQ), le dossier initial faisait état des LOQ pour le LAE et pour le LAS⁷. Or, dans le document de validation fourni en réponse à la DCI, la LOQ a été définie sur la base d'un rapport signal/bruit ≥ 10 . Des rapports signal/bruit pour le LAE et pour le LAS ont été rapportés dans le document de validation, à une concentration de 80 $\mu\text{g/L}$ ⁷.

Le GT ESPA estime que sur le fondement des informations fournies en réponse à la DCI, la LOQ de la méthode analytique appliquée dans ce procédé peut être établie à 80 $\mu\text{g/L}$.

Dans la DCI mentionnée plus haut, le GT ESPA avait aussi remarqué que le chlorure de thionyle (SOCl_2) était utilisé comme agent d'estérification au cours de la production du LAE et qu'il serait indispensable de vérifier que cette molécule ne soit pas présente dans le produit final.

La réponse à la DCI précise que lors de la cette étape d'estérification, le chlorure de thionyle réagit avec l'un des composants pour former le chlorure d'acyle correspondant. Le produit brut de cette réaction est distillé et cette distillation élimine le chlorure de thionyle, ce dernier ayant un point d'ébullition plus élevé. Par ailleurs, lorsque cette distillation est achevée, de l'eau est ajoutée au distillat. L'eau réagit avec les résidus de chlorure de thionyle et une distillation supplémentaire permettrait d'éliminer les traces restantes de chlorure de thionyle. Les détails sur la fabrication de l'auxiliaire ont été fournis dans le dossier de demande mais ne sont pas publiés dans cet avis puisque le procédé de fabrication du LAE a été identifié par le pétitionnaire comme relevant du secret des affaires.

Le GT ESPA confirme la grande réactivité du chlorure de thionyle et compte tenu de son point d'ébullition et des étapes de distillation successives, il peut être accepté qu'il n'y aura pas de traces de chlorure de thionyle dans le LAE ainsi synthétisé.

3.2. Concernant les aspects toxicologiques

En résumé, le JECFA a évalué le profil toxicologique de l'ester éthylique d'arginate laurique (LAE) en 2008 et a établi une dose journalière admissible (DJA) de 0 à 4 mg/kg poids corporel (p.c.)/jour (JECFA, 2009). Le JECFA a conclu que la majorité des effets rapportés liés à son action irritante, l'ont été à des concentrations alimentaires élevées et ces effets ont donc été considérés comme non-pertinents pour l'évaluation de risque suite aux doses d'utilisation prévues comme conservateur alimentaire. Dans une étude de toxicité sur la reproduction chez le rat femelle Sprague-Dawley (n=22 par dose/19 jours), l'administration de LAE par voie orale à une concentration de 15 000 mg/kg de nourriture, a entraîné un retard de l'ouverture vaginale chez la progéniture femelle. Bien que cet effet n'ait pas été accompagné de changements fonctionnels, le JECFA le jugea comme un effet adverse et a conclu que la dose sans effet indésirable observé (DSEIO) pour cet effet était de 6000 mg/kg de nourriture, correspondant à 442 mg/kg p.c./jour, exprimé en chlorhydrate de N-lauroyl-L-arginate d'éthyle.

Ces effets ont été confirmés dans une deuxième étude sur la reproduction chez les lapins femelles New Zealand White (n=22 par dose/19 jours) (JECFA, 2009).

⁷ les conditions analytiques exactes ont été fournies dans le dossier de demande, or, elles ont été considérées par le pétitionnaire comme étant couvertes par le secret des affaires et ne sont pas publiées dans cet extrait de l'avis.

La DSEIO de 442 mg/kg p.c./jour a été utilisée par le JECFA pour établir une DJA de 0 à 4 mg/kg p.c./jour pour le LAE, exprimée en chlorhydrate de N-lauroyl-L-arginate d'éthyle, en introduisant un facteur de sécurité de 100.

L'EFSA a aussi évalué le LAE en 2007 (EFSA, 2007) et plus récemment en 2019 (EFSA, 2019) (Annexe 1). Lors de sa dernière révision, l'EFSA a maintenu la DJA de 0,5 mg LAE/kg p.c./jour qui avait été établie en 2007 à partir de deux études de 4 et 13 semaines chez des rats Sprague-Dawley (EFSA, 2019). Dans l'étude de 13 semaines, évaluée en 2007, des rats (n=10 par dose/mâles et femelles) ont été traités avec une formulation commerciale contenant 19,5% du principe actif LAE dans du propylène glycol à des doses de 0, 220, 904 et 3324 mg/kg p.c./jour pour les mâles et de 0, 262, 1067 et 3927 mg/kg p.c./jour pour les femelles. Par rapport aux animaux témoins, le nombre total de globules blancs était légèrement inférieur chez les mâles et les femelles recevant les deux plus fortes doses testées. Chez les mâles, le nombre de globules blancs représentait 92,9% du témoin (changement non significatif) et 86,8% du témoin (changement non significatif) pour ces groupes. Or, pour les femelles, ces valeurs étaient respectivement de 77,6% du contrôle (p <0,05) et 72,3% du contrôle (p <0,01) aux deux plus fortes doses testées. Cet effet n'était pas corrélé avec un type spécifique de cellule sanguine contribuant à la diminution du nombre total de cellules.

La DSEIO moyenne retenue par l'EFSA était de 241 mg/kg p.c./jour pour la formulation commerciale contenant 19,5% de LAE, ce qui est équivalent à 46,9 mg/kg p.c./jour pour le LAE 100%. Un facteur de sécurité de 100 a été appliqué à cette DSEIO, résultant en une DJA de 0,5 mg LAE/kg p.c./jour.

Des effets similaires sur les globules blancs ont été observés, après la semaine 26, dans une étude supplémentaire de toxicité chronique chez des rats Sprague-Dawley (n=20 par dose/mâles, femelles/52 semaines) à partir d'une dose de 2000 mg/kg de nourriture de LAE avec une pureté de 88,2% (équivalente à 106 mg/kg p.c./jour) (EFSA, 2007).

Les résumés des études de genotoxicité et de mutagenicité menés avec le LAE, le LAS ou des formulations commerciales ne mettent pas en évidence de résultats positifs dans les tests *in vitro* et dans un test *in vivo* (Annexe 1). Bien que l'EFSA ait estimé que l'étude de mutation génique sur bactéries ne pouvait pas être utilisée pour évaluer la mutagenicité en raison de la forte toxicité du LAE vis-à-vis des cellules bactériennes, sur la base des résultats du test de mutation cellulaire du lymphome de souris L5178Y et du test des aberrations chromosomiques *in vitro* dans les lymphocytes humains, l'EFSA a conclu que le LAE n'était pas génotoxique pour les cellules de mammifères (EFSA, 2007).

Aucune étude de cancérogenèse n'a pu être évaluée mais sur le fondement du métabolisme rapide du LAE dans le tractus gastro-intestinal, des résultats négatifs obtenus dans les tests de génotoxicité *in vitro* et *in vivo*, dans les études de toxicité chronique disponibles sur deux ans chez le rat, de toxicité sur la reproduction et le développement chez le rat et le lapin, l'EFSA a conclu que le LAE ne présentait pas de risque cancérogène (EFSA, 2007).

En effet, les études conduites avec du ¹⁴C-LAE administré à des rats montrent que le LAE est éliminé par voie urinaire, les matières fécales et l'air expiré qui constitue la voie principale (Dean et Thomas, 1998). Le LAE est rapidement métabolisé en N- α -lauroyl-L-arginine (LAS), puis en arginine, qui est assimilée plus lentement en ornithine. L'ornithine est transformée en produits endogènes de la dégradation des acides-aminés par les cycles de l'urée et de l'acide citrique (Dean et Blows, 2001).

De l'avis du GT ESPA, le profil toxicologique de LAE étudié à plusieurs reprises par le JECFA et par l'EFSA est complet. Par conséquent, s'agissant d'un additif alimentaire autorisé au niveau européen (E 243) la DJA de 0,5 mg/kg p.c./jour établie par l'EFSA en 2019 peut être retenue et utilisée pour l'évaluation de l'auxiliaire technologique.

3.3. Calculs d'exposition à l'auxiliaire technologique

Concernant les calculs d'exposition du consommateur aux résidus de LAE et de son principal produit de dégradation le LAS, le dossier de demande avance que ces calculs ne pourront être faits qu'après avoir réalisé en France les essais industriels objet de la demande. Le GT ESPA est d'accord avec cette remarque du pétitionnaire.

Néanmoins, le pétitionnaire a fourni des résultats d'analyses de résidus de LAE et de son principal produit de dégradation le LAS, à partir d'essais industriels de production d'éthanol menés à l'étranger. Le GT ESPA remarque que l'essai industriel réalisé à l'étranger a consisté à tester un ajout de 19,5 mg/L du LAE, ce qui peut être inférieur aux plus fortes doses objet de la demande actuelle (5 – 50 mg/L).

Les résultats obtenus dans cet essai à partir des échantillons prélevés au niveau du propagateur, du fermenteur, de l'opération unitaire de liquéfaction, des vinasses et de l'éthanol final sont tous inférieurs aux limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) de la méthode analytique appliquée dans l'essai, la méthode HPLC-PDA. Dans le dossier initial, les limites analytiques étaient rapportées pour les échantillons provenant du propagateur, du fermenteur, de l'opération unitaire de liquéfaction et des vinasses. Dans le cas des échantillons d'éthanol, ces limites étaient, LOD et LOQ, légèrement plus basses⁷. Or, compte tenu que dans la réponse aux DCI, le pétitionnaire a présenté seulement la validation de la méthode de l'UHPLC-MS, le GT ESPA estime que cette méthode sera celle appliquée dans les essais industriels prévus.

3.3.1. Exposition par rapport à la DJA

Pour estimer le taux théorique des résidus de l'auxiliaire technologique, le GT ESPA a considéré que l'éthanol produit par ce procédé contiendrait des résidus de LAE au niveau de la LOQ de la méthode analytique UHPLC-MS (80 µg/L). Aussi, les données de consommation des denrées visées par la demande, issues de l'enquête INCA2 du groupe « 33. Boissons alcoolisées », ont été utilisées pour estimer l'exposition potentielle des consommateurs aux résidus de LAE.

Sur ces fondements, les calculs d'exposition potentielle au LAE seraient, pour les plus forts consommateurs, de 0,001 mg/kg p.c./jour pour les adultes et d'environ 0,0004 mg/kg p.c./jour pour les enfants. Ces expositions correspondraient, respectivement, à 0,19% et 0,08% de la DJA du LAE (0,5 mg/kg p.c./jour).

Le GT ESPA note que la dernière réévaluation de l'EFSA sur le LAE montre que les expositions provenant de son emploi comme additif alimentaire autorisé (E 243), sont dans quelques catégories de la population très proches voire supérieures à la DJA établie. A ce propos, l'issu des essais industriels et des mesures analytiques de LAE qui seront réalisées dans l'éthanol produit permettront d'établir si les résidus de l'auxiliaire technologique ne contribuent pas significativement à l'exposition totale au LAE, comme le laissent supposer les calculs d'exposition réalisés dans cet avis.

3.4. Conclusions du GT ESPA

Sur le fondement des éléments fournis par le pétitionnaire dans le dossier initial et dans les réponses à la DCI mentionnée plus haut, ainsi que de l'exposition potentielle calculée par rapport à la DJA du LAE (E 243), le GT ESPA est favorable à la mise en place d'essais industriels avec l'arginate d'éthyle laurique, en tant qu'auxiliaire technologique, comme désinfectant dans la production d'éthanol dans les conditions d'emploi et aux doses envisagées par le pétitionnaire.

Le GT ESPA précise que les essais industriels devront apporter, une fois réalisés, des précisions sur les conditions exactes d'utilisation de l'auxiliaire technologique au cours des essais, ainsi que les données analytiques de LAE et de LAS avec la méthode UHPLC-MS évoquée dans le dossier de demande.

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 ESPA.

L'Anses souhaite attirer l'attention sur le fait que le dossier expertisé, concernant une demande d'autorisation d'essais dans des conditions industrielles, ne comporte pas de données relatives à l'efficacité antibactérienne revendiquée en tant que rôle technologique. Ces éléments seront requis lors de la consultation de l'Anses en vue de l'autorisation d'emploi au titre de l'arrêté du 19 octobre 2006.

Aussi, l'Anses souhaite rappeler que des recommandations ont été émises concernant la présentation des données permettant d'évaluer l'efficacité des auxiliaires technologiques antimicrobiens appliqués sur ou incorporés dans les aliments⁸. En particulier, les cibles microbiennes et les conditions d'utilisation de l'auxiliaire technologique doivent être bien précisées, accompagnées de résultats d'essais permettant d'évaluer l'impact de l'auxiliaire sur la concentration de la population microbienne cible. Des données témoins, permettant d'établir un abattement ou une équivalence d'efficacité, devront être également fournies. Les résultats des essais devront être exploités de manière statistiquement satisfaisante afin de pouvoir démontrer une efficacité de l'auxiliaire technologique sur les microorganismes ciblés.

⁸ Consultable en ligne : <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2003sa0363.pdf>

MOTS CLES

ARGINATE D'ETHYLE LAURIQUE, LAE, E243, ANTIMICROBIEN, AUXILIAIRE TECHNOLOGIQUE, ETHANOL DE BOUCHE
ETHYL LAUROYL ARGINATE, LAE, E243, ANTIMICROBIAL, PROCESSING AID, ETHANOL

REFERENCES

Aznar M, Gómez-Estaca J, Vélez D, Devesa V, Nerín C. 2013. Migrants determination and bioaccessibility study of ethyl lauroyl arginate (LAE) from a LAE based antimicrobial food packaging material. *Food and Chem Toxicol* 56: 363-370.

Dean GM, Blows M. 2001. *Na-lauroyl-L-arginine ethyl ester monohydrochloride. In vivo and in vitro metabolism in the rat*. Huntingdon Life Science, LMA 033/012117. Huntingdon Life Science, Wooley Road, Alconbury, Huntingdon, Cambridgeshire PE28 4HS, UK. Référencé dans le dossier de demande.

Dean GM, Thomas JL. 1998. *Na-lauroyl-L-arginine ethyl ester monohydrochloride. Metabolism in the rat*. Huntingdon Life Science, LMA 017/983416. Huntingdon Life Science, Wooley Road, Alconbury, Huntingdon, Cambridgeshire PE28 4HS, UK. Référencé dans le dossier de demande.

EFSA, 2007. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to an application on the use of ethyl lauroyl arginate as food additive. *The EFSA Journal* (2007) 511, 1-27.

EFSA, 2019. Safety of ethyl lauroyl arginate (E 243) as a food additive in the light of the new information provided and the proposed extension of use. *EFSA Journal* 2019;17(3):5621.

JECFA, 2009. Safety evaluation of certain food additives. WHO Food Additives Series: 60. Prepared by the Sixty-ninth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). World Health Organization, Geneva.

Annexe1.

Résumé des données toxicologiques présentées dans le dossier de demande et résultats des évaluations par l'EFSA (2007) considérés dans cet avis*.

Etude toxicologique/voie d'administration	Espèce/sexes/nombre d'animaux par dose/souche	Dose(s) administrée(s)	Dose critique
Toxicité in vivo			
Toxicité aiguë / gavage	Rat	LAE : 2000 mg/kg p.c.	LD ₅₀ > 2000 mg/kg p.c.
		Formulation commerciale 100% : 2000 mg/kg p.c.	
		LAS : 2000 mg/kg p.c.	
Toxicité sub-chronique (13 semaines) / orale	Rat / ♂ ♀ / 20 par dose/Han Wistar	LAE 100% : 0, 5000, 15 000, 50 000 ppm	DSEIO : 5000 ppm (♂ 384 mg/kg p.c./jour ; ♀ 445 mg/kg p.c./jour)
	Rat / ♂ ♀ / 10 par dose/ Sprague-Dawley	Formulation commerciale 19,5%: 0, 3200, 12 800, 50 000 ppm	DSEIO : 3200 ppm (♂ 43 mg LAE/kg p.c./jour ; ♀ 47 mg LAE/kg p.c./jour)
Toxicité chronique (52 semaines)/orale	Rat / ♂ ♀ / 10 par dose/ Sprague-Dawley	LAE : 0, 2500, 5000, 7500 mg/kg nourriture	DSEIO : 18 000 ppm (♂ 907 mg/kg p.c./jour ; ♀ 2000 mg/kg p.c./jour)
Toxicité sur la reproduction et le développement (14 jours)/ orale	Rat / ♀ / 22 par dose / Sprague-Dawley	LAE 69,1%: 200, 600, 2000 mg/kg p.c./jour	DSEIO : ♀ 138 mg LAE/kg p.c./jour ; fœtus 1382 LAE mg/kg p.c./jour
	Lapin / ♀ / 22 par dose / New Zealand White	LAE 69,1% : 100, 300, 1000 mg/kg p.c./jour	DSEIO : ♀ 207 mg LAE/kg p.c./jour ; fœtus 691 mg

			LAE/kg p.c./jour
Toxicité sur la reproduction et le développement sur deux générations	Rat / ♂♀ / 28 par dose/Sprague-Dawley	LAE 88,2% : 2500, 6000, 15 000 ppm	DSEIO : ♂♀ 6000 ppm (♂ 434 mg LAE/kg p.c./jour ; ♀ 502 mg LAE/kg p.c./jour)
Toxicité génique			
Test de mutation génique sur bactéries (Test d'Ames)		LAE : 1,5 à 150 µg/boîte pétri	Non mutagène
		Formulation commerciale 100% : 5 à 5000 µg/boîte pétri	
		LAS : 156,3 à 5000 µg/boîte	
Test de mutation génique <i>in vitro</i> sur cellules de lymphome de souris L51178Y		LAE : 1 à 50 µg/ml	Non mutagène
		Formulation commerciale 100% : 100 à 300 µg/ml	
Test d'aberrations chromosomiques <i>in vitro</i> sur lymphocyte humains		LAE : 50 à 200 µg/ml	Non clastogène
		Formulation commerciale 100% : 125 à 1000 µg/ml	
Test <i>in vivo</i> du micronoyau sur moelle osseuse	Souris	LAS : 2000 mg/kg p.c.	Non mutagène

* le GT ESPA n'a pas eu accès aux études sources