tion dans la peau, et de sa très faible concentration dans la pulpe, en tenant compte également de la quantité moyenne d'agrumes consommée et des modalités de leur consommation comportant le plus souvent le rejet de la partie externe, on peut fixer le maximum de concentration tolérable de diphényle. Le chiffre admis dans les pays de la Communauté Economique Européenne est de 70 mg/Kg de fruits entiers. Aux Etats-Unis et au Royaume-Uni, les chiffres admis sont un peu plus forts, respectivement de 110 et 100 mg/Kg.

ORTHO.PHENYLPHENOL

C'est un agent antimicrobien et fongicide utilisé pour le traitement en surface des fruits et légumes après la récolte. Il a fait l'objet, de la part de Hodge et collaborateurs ([154]), d'expérimentations à court terme chez le Chien et le Rat, ainsi que d'expérimentations à long terme chez ce dernier animal.

L'administration à des lots de 2 Chiens, par voie orale, de doses journalières allant de 20 à 500 mg/Kg de poids corporel, pendant une année, n'a provoqué aucun effet nocif, cependant qu'une dose de 1000 mg/Kg amena, en un mois, la mort des 2 animaux.

A des lots de 10 rats, par moitié mâles et femelles, furent administrées par voie orale, à la sonde, 5 jours par semaine, pendant une période de 6 mois, des doses allant de 50 à 500 mg/Kg. Sauf pour cette dernière dose qui provoqua une légère augmentation du poids du foie et du rein, aucun effet nocif ne fut mis en évidence. Il en fut de même dans une expérimentation où des lots de 24 rats, par moitié mâles et femelles, furent soumis, pendant 3 mois, à des régimes renfermant des concentrations d'o.phénylphénol allant de 0,1 à 1%. Tout au plus, à cette dernière concentration, les auteurs pouvaient-ils s'interroger sur une discrète augmentation de poids du foie, du rein et de la rate chez quelques animaux. En revanche, à la concentration de 2%, fut observé un léger retard de croissance.

Des lots de 50 rats, par moitié mâles et femelles, furent soumis, pendant 2 ans, à la consommation de régimes renfermant respectivement 0,02 et 0,2% d'o.phénylphénol. Aucun effet nocif ne fut observé. A la concentration de 2%, en revanche, ont été constatés un léger retard de croissance et des altérations histologiques au niveau du rein (dilatation tubulaire).

Au cours de ces expériences, il ne fut pas observé d'accumulation du produit, sauf à la concentration de 2% pour laquelle des taux de 22 mg pour 100 g de tissu furent trouvés au niveau du rein.

Sur le plan biochimique, l'étude du métabolisme de l'o.phénylphénol, chez le Lapin, a montré que ce composé subissait la conjugaison glucuronique. Il n'a pas été précisé si la sulfo-conjugaison entrait en jeu.

Sur la base de ces résultats, on peut évaluer à 0,2 p. 100 la concentration dans le régime du Rat ne produisant aucun effet nocif après consommation à long terme. Ceci correspond à une dose journalière de 100 mg/Kg de poids corporel. En appliquant le même facteur de sécurité que dans le cas du diphényle (500), ceci donne comme dose journalière tolérable pour l'homme 0,2 mg/Kg de poids corporel, soit sensiblement 15 mg pour un adulte d'environ 70 Kgs. Certains sont d'avis qu'il est possible d'élever ce chiffre jusqu'à 70 mg (facteur de sécurité 100), au moins dans certaines conditions.

Les données toxicologiques sont donc nettement plus favorables pour l'o.phénylphénol que pour le diphényle; par suite, les concentrations maximales tolérables que l'on peut en déduire, pour les fruits traités, sont plus élevées que dans le cas de ce dernier. Cependant les tolérances généralement admises sont seulement de 10 mg/Kg de fruit entier. Ceci tient à ce que, dans la pratique, l'efficacité des traitements avec ce produit est largement assurée par cette concentration.

ACIDE FORMIQUE ET FORMATES

Ils sont additionnés, comme antiseptiques, à diverses catégories de denrées alimentaires.

Dick ([77]) a pu administrer à des chiens, pendant plusieurs mois, 0,5 g d'acide formique par jour, sans observer d'effets nocifs. Par ailleurs, Rost ([278]) et Plate ([262]) ont indiqué que l'administration dans un but thérapeutique à l'homme de doses journalières de 2 à 4 g pendant plusieurs mois ne donnait pas lieu à des signes d'intolérance.

Sur le plan biochimique, on sait que l'acide formique constitue un intermédiaire important dans le métabolisme normal. A ce sujet, des différences sont à noter entre les espèces.

Après administration au Lapin par exemple, on n'observe pas d'élimination dans l'urine, alors que, chez le Chien, 50% environ de la dose absorbée est éliminée par cette voie, sans modification ([66bis]).

Bleyer et collaborateurs ([172]) ont souligné l'activité inhibitrice de l'acide formique vis à vis de certains systèmes enzymatiques; ultérieurement, Roe ([274]) a précisé que cette action était à considérer tout spécialement dans le cas des enzymes ferrugineux (cytochromoxydase par exemple), en raison du pouvoir complexant de l'acide formique vis à vis de Fe^{3+}.

A mon avis, tant que n'auront pas été publiées dans la littérature scientifique de données concernant la toxicité à long terme, il sera impossible de fixer une dose tolérable pour l'homme pour une absorption prolongée.

* * *

Je voudrais maintenant présenter les principales données toxicologiques concernant des antiseptiques alimentaires plus sympathiques:

— l'anhydride carbonique,

— l'acide propionique,

— l'acide sorbique,

— l'acide benzoïque,

et, bien qu'à un moindre degré,

— l'acide p.hydroxybenzoïque et ses esters.

1) *Anhydride carbonique*:

Mon propos sera bref à son sujet, car ce gaz est, dans les conditions de ses emplois comme antiseptique alimentaire, absolument dépourvu de nocivité pour les consommateurs. Aussi sa diffusion d'emploi est-elle souhaitable. Il faut également souligner l'intérêt de son éventuelle association avec certains autres antiseptiques alimentaires, tels que les sels des acides benzoïque et sorbique dont l'efficacité est maximale dans la zone acide des pH.

En relation avec l'anhydride carbonique, je voudrais toutefois dire quelques mots d'un composé récemment proposé comme antiseptique pour la conservation des boissons: le *pyrocarbonate d'éthyle*:

$$C_2H_5O - \underset{\underset{O}{\|}}{C} - O - \underset{\underset{O}{\|}}{C} - OC_2H_5$$

préparé pour la première fois par Boehm et Mehta ([41]). C'est un liquide incolore à odeur fruitée, très peu soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, dont les propriétés antiseptiques et les possibilités d'emploi ont été étudiées, entre autres, par Hennig ([149]), Mayer et Luthi ([215]), Kulhofer ([187]), Marthiensen ([212]).

Il exerce une action stérilisante sur les microbes et les levures et, à des concentrations plus élevées, sur les moisissures.

Il n'est pas stable, des traces d'eau suffisant à déclencher son hydrolyse, laquelle serait totale en 24 heures avec formation exclusive

d'alcool éthylique et de gaz carbonique, tous deux inoffensifs aux concentrations produites

$$C_2H_5.O - \underset{\underset{O}{\|}}{C} - O - \underset{\underset{O}{\|}}{C} - OC_2H_5 + H_2O \rightarrow 2\ C_2H_5OH + 2CO_2$$

Selon certains, la réaction serait reversible, en présence d'une certaine pression de CO_2. Il n'en demeure pas moins que le pyrocarbonate d'éthyle est un antiseptique tout-à-fait spécial puisqu'il ne demeure pas sous sa forme originelle dans le milieu où il est introduit. Son action ressemble donc plus à une stérilisation qu'à une préservation. Ses emplois ont été jusqu'ici surtout envisagés pour les vins, particulièrement les vins semi-doux et les jus de fruit ([240]).

Sur le plan toxicologique, il faut mentionner les études de Hecht ([147]) et de Bormann et Loeser ([47]).

D'après Hecht, la DL_{50} chez le Rat par voie orale (produit en solution huileuse administré à la sonde) est de l'ordre de 1,1 ml/Kg. En injection intra-péritonéale, toujours sous forme de solution huileuse, la toxicité est environ dix fois plus forte. Chez des animaux (lapin, cobaye, rat, souris) soumis à l'inhalation pendant une heure d'une atmosphère renfermant le produit à la concentration d'environ 0,01 ml par litre, Hecht a noté une forte irritation des muqueuses, spécialement des muqueuses oculaire et respiratoire. Ces symtômes disparaissent progressivement avec la cessation de l'exposition. Une nouvelle exposition le lendemain entraîne la mort de la plus grande partie des animaux avec, comme symptômes précédant la mort, des phénomènes dyspnéïques. Des observations dans le même sens furent faites avec une concentration de 0,001 ml/litre à laquelle furent exposés, une heure par jour, plusieurs jours de suite, des rats, des souris, un lapin et un chat. Ces deux derniers succombèrent le 3ème jour avec un syndrôme bronchopneumonique. Le produit s'est révélé très irritant pour la peau, aussi bien chez l'animal (Lapin, Rat) que chez l'homme.

Hecht a effectué des expérimentations à court terme chez le Rat; il a soumis 20 jeunes animaux mâles à l'administration par vois orale (intra-gastrique) une fois par semaine, pendant 4 mois, d'une dose de 0,25 ml/Kg de poids corporel (environ le 1/4 de la dose léthale) sous forme de solution huileuse à 10%. La consommation alimentaire et la croissance des animaux traités, dont un certain nombre succombèrent au cours du 1er mois, sans qu'on puisse incriminer de façon certaine le traitement subi, se sont révélées nettement inférieures à celles des témoins. En revanche, aucun effet nocif n'a été constaté chez un lot de 15

rats mâles en pleine phase de croissance, ayant reçu, pendant 2 mois, comme boisson, en remplacement de l'eau, du jus de raisin renfermant 0,5% de pyrocarbonate d'éthyle, c'est-à-dire à une concentration 100 fois supérieure à celle pratiquement utilisée aux fins de conservation.

Selon Bornmann et Loeser, d'après lesquels, la DL_{50} per os du pyrocarbonate d'éthyle, administré en suspension aqueuse à 10% préparée extemporanément, est comprise entre 1,39 et 1,57 g/Kg de poids corporel chez le Rat, la consommation par le même animal (28 animaux expérimentés) pendant 4 semaines d'un régime renfermant 2% de pyrocarbonate d'éthyle provoque une diminution de consommation alimentaire et un retard de croissance par rapport aux témoins. En revanche, chez des animaux de la même espèce, ayant reçu pendant 8 semaines comme boisson, à la place de l'eau, du jus de raisin, auquel avait été ajouté, dans diverses conditions (immédiatement et 2 jours avant la consommation, utilisation ou non d'alcool comme solvant) du pyrocarbonate d'éthyle, à la concentration de 0,5%, aucun effet nocif n'a été détecté.

Ces résultats sont certes encourageants, car ils tendent à démontrer que, dans les conditions courantes d'emploi comme antiseptique alimentaire, assurant sa décomposition rapide en alcool éthylique et gaz carbonique, le pyrocarbonate d'éthyle ne provoque pas d'effets nocifs. Mais, à mon avis, ces constatations ne sauraient dispenser d'une expérimentation à long terme dont les résultats sont nécessaires pour effectuer l'évaluation toxicologique d'un composé, qui, dans sa forme originelle, a été reconnu doué d'une grande réactivité chimique vis-à-vis des groupements NH_2, — COOH et phénoliques ([41], [326]) et pourrait, par suite, provoquer la formation de composés toxiques à partir des constituants des denrées alimentaires.

Evidemment, s'il est rigoureusement démontré que cet antiseptique remplit parfaitement son rôle dans les divers produits alimentaires auxquels son addition a été proposée sans laisser aucun résidu de matière active, l'exigence que je formule ici est trop sévère, puisque le consommateur n'ingérera finalement que les produits de décomposition.

2) *Acide propionique et ses sels*:

L'acide propionique, produit naturellement dans divers processus fermentatifs, est utilisé sous forme de sels de sodium, de potassium, d'ammonium ou de calcium, comme inhibiteur de la croissance des moisissures dans les denrées alimentaires, en particulier le pain. Ce composé est utilisé dans le métabolisme comme un acide gras normal, ainsi que l'ont montré des études poursuivies avec de l'acide propionique

marqué, en particulier avec ^{14}C. Chez le Rat, il est transformé en glucose stocké au niveau du foie ([201]), cependant que, chez la Souris, c'est un précurseur des lipides ([268]) ([160]). Le carbone marqué a été retrouvé dans CO_2, le glucose, les acides succiniques, malique et fumarique et les protéines ([263]). Flavin et Ochoa ([111]) ont montré que, comme l'acide acétique, il se combinait au coenzyme A et était transformé quantitativement, après carboxylation en méthylmalonylcoenzyme A, en acide succinique entrant dans le cycle de Krebs. Le seul élément défavorable est l'action inhibitrice qu'il manifeste dans certaines conditions sur le métabolisme *in vitro* des acétates par les homogénats de foie de Rat ([205]). Mais, par ailleurs, les résultats de l'expérimentation à long terme sont tout à fait rassurants; chez des rats soumis pendant un an à l'administration d'un régime renfermant 3,75% de propionate de sodium, il n'a été observé aucun effet nocif, et en particulier ni perturbation de croissance, ni modification du taux de mortalité, ni altérations histologiques au niveau des principaux organes ([127-128]).

La dose journalière acceptable sans risque pour une absorption très prolongée par l'homme adulte est de l'ordre du gramme.

3) *Acide sorbique et ses sels*:

L'acide sorbique ou acide trans trans hexadiène.2.4. oïque, existant à l'état naturel dans les fruits du Sorbier, *Sorbus aucuparia*,

$$CH_3 - CH = CH - CH = CH - COOH$$

est un antiseptique actif contre les moisissures et les levures, ainsi qu'à un moindre degré contre les bactéries. Il est utilisé comme source de calories par l'organisme animal ([75]) et métabolisé comme l'acide caproïque ([397-61]). Administré à des rats, à la concentration de 5% pendant des périodes allant de 450 à 1000 jours, avec observation de 2 générations supplémentaires, il ne provoque aucun effet nocif ([168-191]). Il faut noter que son sel de sodium est très instable et se transforme rapidement en produits de dégradation, tels que des peroxydes, sur la nature desquels nos connaissances sont très incomplètes. Il est par suite important de fixer les critères de pureté rigoureux pour le sorbate de sodium. La dose journalière d'acide sorbique acceptable sans risque pour une absorption très prolongée par l'homme adulte est, comme pour l'acide propionique, de l'ordre du gramme.

4) *Acide benzoïque et ses sels* :

L'acide benzoïque existe à l'état naturel dans de nombreux fruits (baies). Il a fait l'objet de diverses études toxicologiques, soit à court terme chez le Rat ([308-263]) et le Chien ([277]), soit à long terme chez le Rat ([192]), qui ont montré que, dans certaines limites de concentration, son emploi alimentaire pouvait être considéré comme sans danger pour la santé humaine. Lang ([192]) a ainsi administrè à des groupes de 78 à 80 rats, pendant toute leur vie, avec observation de 3 générations supplémentaires, des régimes renfermant 0,5 à 1 p. 100 d'acide benzoïque. Il n'a observé aucun effet sur la croissance, la fertilité et la durée de vie moyenne. L'examen histologique des principaux organes n'a mis en évidence aucune anomalie. Marquardt ([210]), expérimentant, chez la même espèce animale, a montré que la concentration, juste un peu supérieure, de 1,5%, provoquait une diminution de la consommation alimentaire et un léger retard de croissance. Il estime, dans ces conditions, que la concentration de 1% est la concentration maximale pour laquelle ne s'observent pas d'effets nocifs. On doit par ailleurs à Waldo et collaborateurs ([378]) des observations, malheureusement à très court terme, chez l'Homme. A 9 sujets ont été administrés 1200 mg par jour d'acide benzoïque fractionnés en 8 prises, ceci pendant 5 jours chez 8 sujets et pendant 14 jours chez un sujet. Aucun effet nocif n'a été observé, et en particulier aucun constituant anormal n'est apparu dans l'urine.

Sur le plan biochimique, il faut mentionner les recherches concernant l'influence de l'acide benzoïque sur les systèmes enzymatiques fondamentaux. Sans entrer dans les détails, nous rappellerons que l'effet le plus spécifique est l'action inhibitrice vis-à-vis de la d.aminoacidoxydase, mise en évidence par Bartlett ([22bis]), en précisant que, à la concentration relativement élevée de 10^{-4} M, l'inhibition atteint environ 50 p. 100.

En ce qui concerne le sort dans l'organisme, en suivant, chez le Rat, l'élimination de l'acide benzoïque marqué au $_{14}C$, Lang et Lang ([190]) ont montré que le produit ne s'accumulait pas. Les transformations métaboliques de l'acide benzoïque sont connues. Chez l'homme, le rat et le lapin, le produit est presque entièrement éliminé sous forme d'acide hippurique (amide benzoïque du glycocolle), cependant que, chez le Chien, le métabolite majeur est l'acide benzoylglucuronique ([393-336]). Il n'est pas sans intérêt de rappeler à ce sujet que la quantité journalière d'acide hippurique excrétée chez l'homme par voie urinaire est de 1 g à 2,5 g, chiffres correspondant à 0,7 et 1,7 g d'acide benzoïque ([312]).

Il faut souligner que, dans le cas de ce produit, les données, aussi bien toxicologiques que biochimiques, sont favorables, et on peut

admettre qu'une concentration de 1 p. 100 dans le régime administré au Rat pendant toute sa vie est parfaitement tolérée. Le calcul, tenant compte à la fois du poids moyen des animaux et de la quantité moyenne de nourriture consommée, montre qu'une telle concentration équivaut à une dose de 500 mg/Kg de poids corporel. En appliquant le facteur de sécurité 100, ceci donne 5 mg/Kg de poids corporel chez l'homme, soit, pour un adulte de 70 Kg, une dose journalière tolérable pour une absorption très prolongée de 350 mg. En appliquant le facteur de sécurité de 50, que certains préconisent en raison des données toxicologiques particulièrement favorables dont nous disposons, d'aucuns estiment légitime de doubler cette dose.

5) *Acide p.hydroxybenzoïque et ses esters méthylique, éthylique et propylique.*

L'activité antimicrobienne de l'ester éthylique de l'acide p.hydroxybenzoïque a été découverte par Sabalitschka ([280]) en collaboration avec d'autres chercheurs, et en particulier Boehm. Les possibilités d'application, dans divers domaines, de cette propriété, partagée par d'autres esters, et en particulier les esters méthylique, propylique et butylique, ont été soulignées entre autres par Puess ([264]), Braccesi ([49]), Sokol ([309]), Alto et collaborateurs ([3]), dans les articles desquels on trouvera les références des travaux concernant l'activité antiseptique et les emplois de ces composés. Je me bornerai à signaler que, d'après Banfield ([20]), l'acide p.hydroxybenzoïque possède une activité antiseptique beaucoup plus élevée que celle de l'acide benzoïque et que cette activité, considérablement augmentée par estérification avec les alcools à bas poids moléculaire, est proportionnelle à la longueur de la chaine carbonée de ces derniers jusqu'au terme en C_4 pour décroitre ensuite. J'ajouterai que l'activité de ces esters varie peu en fonction de la valeur du pH dans la zone comprise entre pH 4 et pH 8, ce qui constitue une grosse différence avec l'acide benzoïque dont l'efficacité diminue beaucoup lorsque le pH est supérieur à 6. A partir de pH 8, il en est de même pour les esters p.hydroxybenzoïques, en raison, sans doute, de leur saponification.

Sur le plan toxicologique, les 3 esters mentionnés ont fait l'objet d'études approfondies. Matthews et collaborateurs ([214]) ont ainsi administré à de jeunes chiens (3 par lot), 6 jours par semaine, pendant au moins un an, 1000 mg/Kg de poids corporel d'ester méthylique ou d'ester propylique de l'acide p.hydroxybenzoïque. Aucun effet nocif n'a été constaté, en particulier vis à vis de la croissance, de la formule sanguine et de l'aspect histologique des principaux organes. Ces essais de toxicité à court terme sur le Chien ont été complétés par des observations sur

d'autres espèces animales, en particulier le Rat et le Cobaye ([66-214]). Les données concernant la toxicité à long terme ont été obtenues sur le Rat ([214]). Deux lots de 24 rats, par moitié mâles et femelles, ont été soumis pendant 96 semaines à la consommation de régimes renfermant respectivement 2% et 8% d'ester méthylique ou d'éster propylique. Si, à la concentration de 8%, a été observée une diminution de la croissance, en revanche, aucun effet nocif n'a été noté à la concentration de 2%.

C'est sur la base de ces données expérimentales que les experts du symposium de l'Union Internationale contre le Cancer, tenu à Rome en Aout 1956 ([352]), avaient classé les esters méthylique et propylique de l'acide p.hydroxybenzoïque, aux côtés de l'acide benzoïque et de l'acide sorbique, dans le groupe des agents antimicrobiens pouvant être considérés comme acceptables pour l'alimentation humaine. Ils avaient estimé, en revanche, que, dans le cas des esters éthylique et butylique, les données expérimentales étaient insuffisantes pour permettre leur introduction dans ce groupe. Il pouvait sembler curieux de faire une telle différenciation entre l'ester éthylique et l'ester méthylique, puisque, du point de vue de la toxicité à long terme, l'alcool méthylique est classiquement reconnu comme plus dangereux que l'alcool éthylique. Mais, il ne faut pas oublier qu'un tel raisonnement, basé sur la considération séparée des propriétés toxicologiques des 2 parties d'une molécule, est loin d'être toujours valable. Pour ne citer qu'un exemple, dans la série des uréthanes, le carbamate d'éthyle a manifesté des propriétés cancérogènes chez certaines espèces animales, cependant que le carbamate de méthyle se révélait inactif de ce point de vue. Il convenait donc de soumettre l'ester éthylique à une expérimentation à long terme. Matthews et collaborateurs ([214]) n'avaient en effet prolongé l'administration au rat de régimes en contenant 2 ou 8% comme dans le cas des esters méthylique et propylique que pendant 12 semaines, notant à cette occasion un effet inhibiteur sur la croissance de la plus forte concentration et une absence d'effet de la plus faible. Il m'a été demandé de combler cette lacune. 65 rats Wistar (35 mâles et 30 femelles) ont été, immédiatement après le sevrage, soumis à un régime contenant 2% d'ester éthylique de l'acide p.hydroxybenzoïque dont l'administration a été continuée pendant toute la vie. Aucun effet nocif n'a été noté, et l'examen histologique minutieux des principaux organes n'a révélé aucune altération ([358]).

Une propriété pharmacodynamique de ces esters a retenu l'attention des toxicologues: leur effet anesthésique sur la muqueuse buccale de l'homme, après ingestion de solutions aqueuses à la concentration de 0,02% pour l'ester butylique, de 0,03% pour l'ester propylique, de 0,05% pour l'ester éthylique et de 0,1% pour l'ester méthylique ([52]). Cette action anesthésique a été, récemment encore, étudiée sur diverses

fibres nerveuses du Chat par Natham et Sears ([234]). Certains auteurs, et en particulier Eichholtz ([92]), ont estimé qu'une telle activité s'ajoutant à des effets convulsivants, d'ailleurs communs avec l'acide benzoïque, dans le cas de l'ester méthylique, et se manifestant à des concentrations de l'ordre de celles pouvant être rencontrées, au moins dans le cas de l'ester méthylique, dans les denrées alimentaires, devait être prise en sérieuse considération, parce que traduisant une activité pharmacodynamique dont la manifestation n'est pas souhaitable chez les consommateurs. D'autres font valoir qu'un tel effet risque de masquer d'autres agressivités. Cependant les experts FAO/OMS, tout en accordant la plus grande attention à ces remarques, ont estimé possible de fixer une dose journalière tolérable pour l'Homme pour des absorptions très prolongées. Se basant sur les résultats des expérimentations à court terme chez le Chien et à long terme chez le Rat et tenant compte du fait que les données relatives à la destinée métabolique de ces composés, mettant en évidence, chez le Chien, une hydrolyse de la fonction ester suivie de conjugaisons détoxicantes de la fonction phénol ([164]), ont besoin d'être confirmées de façon précise chez l'Homme, ils ont appliqué, pour l'extrapolation à ce dernier, un facteur de sécurité très élevé (500). Si l'on admet que, chez le Rat, la dose de 1000 mg/Kg de poids corporel, correspondant à une concentration de 2% dans le régime, est dépourvue de toxicité, ceci donne alors, pour l'Homme, une dose journalière acceptable de 2 mg/Kg, soit sensiblement 150 mg pour un adulte d'environ 70 Kgs; cette dose peut éventuellement être augmentée jusqu'à 500 mg, à condition d'avoir présentes à l'esprit les conséquences d'une éventuelle action anesthésique liée à l'emploi de concentrations trop élevées. A cet égard, les experts FAO/OMS ont recommandé des recherches en vue d'évaluer quantitativement l'activité anesthésique de solutions des esters dans différents véhicules. Il faut souligner également l'intérêt qui s'attache à la détermination du coefficient de partage entre différentes phases au sein des denrées alimentaires. Ces deux catégories de données devraient permettre d'évaluer le degré de probabilité de la manifestation d'effets anesthésiques des esters p.hydroxybenzoïques ajoutés comme antiseptiques aux aliments, effets anesthésiques qui me paraissent d'ailleurs devoir être pratiquement limités aux muqueuses du tractus digestif, en raison de l'hydrolyse, au moins partielle, des esters qui en sont responsables par les systèmes enzymatiques du foie.

En résumé, l'emploi comme antiseptiques alimentaires des esters méthylique, éthylique et propylique de l'acide p.hydroxybenzoïque peut, à mon avis, être autorisé, à la condition expresse de limiter non seulement la dose totale pouvant être absorbée journellement, mais encore la concentration au sein des denrées alimentaires.

B - ETUDE DES ANTI-OXYDANTS (ANTI-OXYGENE) ALIMENTAIRES

Les anti-oxydants ou anti-oxygène sont utilisés, soit pour empêcher le brunissement des fruits ou des légumes congelés ainsi que des jus de fruits, soit pour s'opposer au rancissement des graisses et huiles de consommation. Si l'addition de produits comme les lécithines, l'acide ascorbique, les tocophérols (particulièrement le d-tocophérol qui possède la plus haute activité vitaminique E) ou les acides synergiques, citrique ou tartrique, qui sont des constituants normaux des aliments, ne comporte pratiquement aucun danger aux doses utilisées, il n'en va pas forcément de même avec les divers composés synthétiques qui ont été proposés.

— *La Thiourée*:

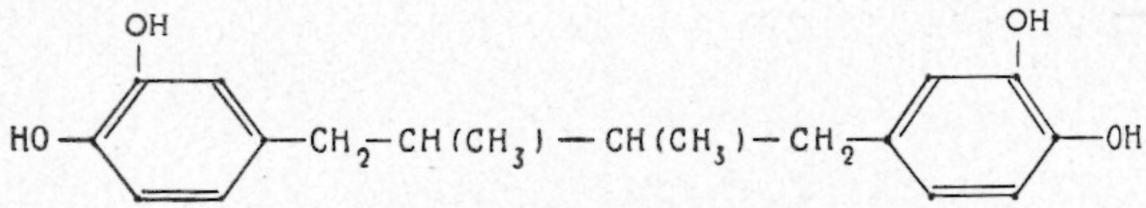
A cet égard, un bel exemple de risques de nocivité est fourni par la *thiourée*, préconisée, en raison de son pouvoir complexant du cuivre, pour empêcher le brunissement de certains fruits (pêches par exemple), lors de leur conservation, ou comme fongicide pour empêcher la pourriture des agrumes. En effet, l'administration de ce produit au Rat, à doses très faibles longtemps prolongées, a permis à Fitzhugh et Nelson ([106]) d'obtenir des cancers du foie. Avec la même substance, chez le même animal, Purves et Griesbach ([266]) avaient antérieurement obtenu des tumeurs de la thyroïde dont quelques-unes étaient malignes; cependant que Rosin et Rachmihlewitz ([276]) ont provoqué des cancers du museau. A la suite de ces constatations, l'usage comme conservateur de la thiourée a été interdit dans presque tous les pays.

Un autre exemple spectaculaire est celui de la *diphénylparaphénylène-diamine* (DPPD), employée, au moins à une certaine période, sur une large échelle dans l'alimentation des volailles comme moyen préventif de l'encéphalomalacie et préconisée comme anti-oxydant à usage alimentaire. Or, Oser et Oser ([252]) ont montré que l'administration prolongée au Rat d'un régime renfermant des concentrations de ce produit seulement un peu supérieures à celles des conditions d'emploi provoquait une prolongation de la durée de gestation et une haute mortalité aussi bien des parents que de la descendance.

— *Acide nordihydroguaiarétique (NDGA)*:

Même des anti-oxydants d'origine naturelle ne sont pas forcément sans danger. C'est ainsi que *l'acide nor-dihydroguaiarétique, ou diméthyl 1,2 bis (dihydroxy-1,2 phényl)-1,4 butane*, extrait de *Larrea divaricata*, plante de la famille des Zygophyllées, considéré comme inoffensif par Lundberg et collaborateurs ([206]) et par Cranston et collaborateurs ([65]),

n'offrirait pas, d'après LEHMAN ([196]) et REITH ([269]), une marge de sécurité suffisante.



Acide nordihydroguaiarétique (NDGA)

Je suis de cet avis, car, dans la très courte communication de CRANSTON et collaborateurs ([65]), où, manifestement, manquent des détails expérimentaux précis, est malgré tout notée l'apparition occasionnelle de nécroses du foie et plus fréquemment d'hémorragies de la région caecale chez les rats traités, lésions retrouvées par LEHMAN et ses collaborateurs ([196]) dans leur expérimentation sur un petit groupe de rats soumis à l'administration prolongée d'un régime renfermant le produit à la concentration de 0,5%. Par ailleurs, à concentrations à vrai dire relativement élevées ($2 + 10^{-4}$ M), l'acide nordihydroguaiarétique inhibe un certain nombre de systèmes enzymatiques, tels que la catalase, la peroxydase et l'alcooldeshydrogénase ([322bis]), et il n'est pas interdit de penser que le produit puisse s'accumuler au niveau des structures cellulaires qui constituent le support de ces activités enzymatiques et y atteindre des concentrations suffisantes pour les inhiber. Dans l'état actuel de nos connaissances, il me parait personnellement impossible de fixer une concentration inoffensive d'emploi. Il faut souligner, par ailleurs, les propriétés fortement allergisantes de l'acide nor-dihydroguaiarétique mises en évidence chez le Cobaye par GRIEPENTROP ([130]).

* * *

Parmi les produits utilisés actuellement dans la plupart des pays figurent les *gallates*, le *butylhydroxyanisol* et, à une échelle plus restreinte, le *butylhydroxytoluène ou dibutylparacrésol*. Je présenterai de façon sommaire les principales données toxicologiques les concernant.

Gallates :

Comme gallates sont utilisés les gallates de propyle, d'octyle, et de dodécyle. Le premier est un peu soluble dans l'eau, alors que les deux derniers y sont insolubles, mais sont, en revanche, plus solubles dans

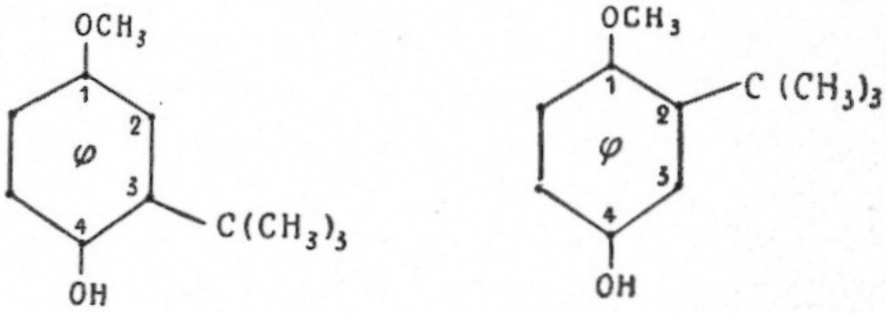
les graisses. Nous possédons à leur sujet des informations toxicologiques valables. Je me bornerai à exposer celles concernant la toxicité à long terme. Orten et ses collaborateurs ([251]) ont administré pendant deux années à des lots de 20 rats (par moitié mâles et femelles) des régimes renfermant du gallate de propyle à des concentrations de 0,0117%, 0,117%, 1,17% et 2,24%. A ces deux dernières concentrations, ils ont observé des retards de croissance et des phénomènes d'atteinte rénale. En revanche, aux concentrations inférieures, ils n'ont noté aucun effet nocif significatif et en particulier aucune perturbation de la formule sanguine et aucune altération histologique des principaux organes. Lehman et ses collaborateurs ([196]) ont soumis des rats et des souris à l'administration pendant 2 ans de régimes renfermant le gallate de propyle à diverses concentrations. Si, à la concentration de 5%, ils ont observé de l'hyperplasie de l'estomac antérieur de ces Rongeurs, en revanche, à la concentration de 1%, ils n'ont constaté aucune différence significative entre les animaux traités et les témoins Dans les expériences de Van Esch ([374]), des rats ont été soumis à des régimes renfermant les gallates de propyle, d'octyle ou de dodécyle aux concentrations de 0,035%, 0,2% ou 0,5%. C'est seulement à cette dernière concentration, dans le cas du gallate du dodécyle, que l'auteur a observé un retard significatif de croissance, en particulier dans la 2ème génération. Aucune anomalie histologique n'a été observée au niveau des principaux organes dans les diverses séries. Dans une expérimentation antérieure, Van Sluis ([375]) avait administré à des lots de 24 jeunes rats (par moitié mâles et femelles) des régimes renfermant 0,2% de gallate d'octyle ou de gallate de dodécyle. En prolongeant ses observations sur 3 générations, il n'avait constaté aucune différence significative entre les animaux traités et les témoins.

En supplément à ces études, des recherches ont été effectuées sur le métabolisme des 3 gallates ([45]) ([68]). Sans entrer dans les détails, j'indiquerai qu'elles ont démontré l'hydrolyse des esters et la formation subséquente d'acide 0-méthyl 4 gallique, s'éliminant dans l'urine sous forme de conjugué glucuronique.

Ces diverses données permettent de conclure que, dans certaines limites, l'addition des 3 gallates comme antioxydants aux aliments et tout spécialement aux graisses ne présente pas de risques pour la santé humaine. On admet en général que la dose journalière tolérable chez le Rat est de 100 mg/Kg de poids corporel. En extrapolant à l'homme avec application d'un facteur de sécurité 500, ceci donne 0,2 mg/Kg de poids corporel et légitime plus que largement l'autorisation d'emploi dans les graisses à la concentration de 0,01 pour 100.

Le butylhydroxyanisol (BHA).

Le butylhydroxyanisol commercial est un mélange d'environ 85% de tert. butyl 3 hydroxy.4.anisol et 15% de tert. butyl 2 hydroxy.4.anisol.



Isomère 3 **Butylhydroxyanisol** Isomère 2

Il est utilisé comme anti-oxydant des matières grasses par incorporation dans la denrée ou dans l'emballage la contenant. Des expérimentations de toxicité à long terme ont été effectuées sur ce produit par Wilder et Kraybill ([391]). Ces auteurs ont administré, pendant 22 mois, à des rats pris dès le sevrage des régimes renfermant de 0,0003 à 0,12% de butylhydroxyanisol. Ils n'ont observé aucun effet nocif significatif comparativement aux témoins et en particulier aucune altération histologique des principaux organes. Brown et ses collaborateurs ([50]) ont également soumis des rats à l'administration prolongée (2 ans) de régimes renfermant des concentrations de B H A allant jusqu'à 0,5%. Sauf à cette dernière concentration, pour laquelle ils ont seulement constaté une légère infériorité de poids des animaux adultes, ainsi qu'une augmentation de poids du foie par rapport aux témoins, ils n'ont observé aucune nocivité et n'ont pas noté d'influence du pourcentage des lipides dans la ration.

A doses relativement élevées, le butylhydroxyanisol se dépose dans les réserves adipeuses ([162]), mais aucune accumulation en d'autres points de l'organisme n'a été mise en évidence par les différents chercheurs qui ont étudié ce problème ([12]), ([53]), ([196]). Le métabolisme a été étudié par Astill et collaborateurs ([12]) et surtout par Dacre et collaborateurs ([68]) ([67]) (*). Ces auteurs ont montré que le produit était détoxiqué au niveau du foie par conjugaison glucuronique ou sulfurique, en précisant les différences en fonction des espèces utilisées (Lapin, Rat). On évalue

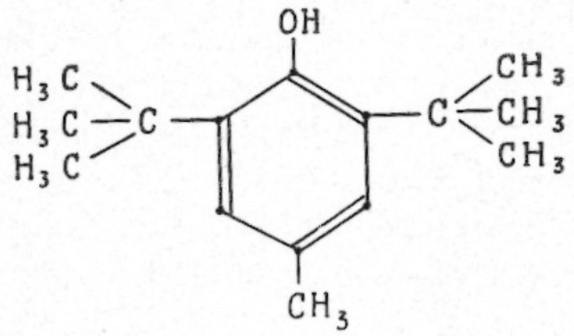
---

(*) Entre la rédaction de cet article et la correction des épreuves, j'ai pris connaissance d'un travail de Golder (W.S.), Ryan (A.J.) et Wright (S.E.): J. Pharm. Pharmacol.; 1962, 14: 268, dans lequel ces auteurs, expérimentant sur le Rat du butylhydroxanisol marqué au tritium, ont démontré l'excrétion urinaire rapide de ce composé et de ses produits de dégradation métabolique. Les résultats obtenus avec le butylhydroxytoluène sont beaucoup moins favorables.

en général à 250 mg/Kg de poids corporel la dose journalière chez le Rat pour une absorption prolongée. Même en appliquant un facteur de sécurité considérable (500), ceci permet de considérer les taux couramment utilisés dans l'alimentation (0,02% dans les graisses) comme ne présentant aucun risque pour la santé.

Butylhydroxytoluène (B H T).

La situation n'est pas aussi favorable pour le butylhydroxytoluène (BHT) ou du tert.butyl 2.6 p.crésol (D B P C), connu, également sous le nom d'Ionol.



Dibutyl-2,6 p. crésol

Si Deichmann et ses collaborateurs ([74]) n'ont observé aucun effet toxique chez des rats soumis pendant 2 années à des régimes renfermant de 0,2 à 0,8% du produit, s'il en a été de même dans les expériences à long terme poursuivies sur le même animal par Brown et ses collaborateurs ([50]), en revanche, dans des expériences à court terme (7 semaines), ces derniers auteurs ont observé, à la concentration de 0,1% associée à une concentration en graisses de 20%, un retard de croissance accompagné d'une augmentation de poids du foie, cependant que 10% des descendants présentaient de l'anophtalmie. Ces constatations, jointes à celles de Day et collaborateurs ([71]), d'après lesquelles le BHT administré au Rat pendant 5 à 8 semaines provoque, à une concentration aussi basse que 0,1%, une nette augmentation du taux de cholestérol et autres constituants lipidiques du sérum, et à celles de Johnson et Hegwill ([163]) qui les ont confirmées dans les grandes lignes en soulignant la sensibilité des mâles, ne permettent pas actuellement de fixer des limites de concentrations d'emploi du produit dont on puisse assurer qu'elles sont inoffensives pour la santé (*). Parmi les questions restant à éclaircir,

(*) Entre la rédaction de cet article et la correction des épreuves, j'ai pris connaissance d'un travail de Sporn (A) et Schobesch (O): Igiena; 1961, 9: 113, dans lequel ces auteurs exposent les résultats de leurs expérimentations avec le BHT chez le Rat. Chez des animaux soumis, pendant 8 semaines à un régime contenant

l'une des plus importantes est l'influence du taux de graisses du régime sur la toxicité. A cet égard, Brown et ses collaborateurs ([59]) ont souligné que le BHT, à la concentration de 0,1% dans un régime renfermant, non plus 20%, mais 10% de graisses, ne provoquait pas de retard de croissance du rat. Il faut, par ailleurs, souligner que les recherches concernant le métabolisme du BHT ([67]) ([68]) ont montré que la présence des 2 groupes tert. butyl de part et d'autre de la fonction phénol inhibait, au moins partiellement, les conjugaisons détoxicantes.

Acide thiodipropionique et ses esters dilaurylique et distéarylique:

L'acide thiodipropionique, que répond à la formule structurale suivante:

$$\begin{array}{l} CH_2 - CH_2 - COOH \\ | \\ S \\ | \\ CH_2 - CH_2 - COOH \end{array}$$

est utilisé dans divers pays comme antioxydant dans les matières grasses et d'autres aliments à la concentration de 0,02%. On emploie dans le même but ses esters dilaurylique et distéarylique. L'acide thiodipropionique a été expérimenté par Lehman et ses collaborateurs ([196]); administré à des cobayes pendant 4 mois, à la concentration de 0,5% dans l'eau de boisson, il n'a provoqué aucun effet nocif notable. Il en a été de même pour deux lots de chiens soumis pendant 100 jours à des régimes renfermant respectivement 0,1 et 3% d'un mélange d'acide dithiopropionique (1 partie en poids) et d'ester-dilaurylique (10 parties en poids).

Chez le Rat, a été effectuée une expérimentation à long terme. Des lots de 20 animaux ont été soumis, pendant 2 années, à des régimes contenant 0,5, 1 et 3% d'acide thiopropionique ou de ses esters; aucun effet nocif. et en particulier aucun effet sur la croissance, la mortalité et les caractères histologiques des principaux organes, n'a été observé. Ces données sont encourageantes, mais on peut regretter qu'elles aient été publiées seulement sous une forme résumée. Par ailleurs, je n'ai pu relever dans la littérature scientifique aucune information

---

0,2 p. 100 en poids de l'antioxydant, ils ont observé une diminution du taux d'azote protéique et une augmentation du taux des lipides du tissu hépatique, associées à une augmentation du poids et de la teneur en acide ascorbique de la surrénale. Selon eux, leurs constatations traduisent un « stress » métabolique et constituent un argument contre l'autorisation d'emploi du BHT comme additif aux aliments.

sur le métabolisme de ces 3 produits, non plus qu'aucune observation de leurs effets sur l'homme, de même que des résultats détaillés relatifs aux essais à long terme. De telles données sont cependant très désirables. C'est pourquoi les experts d'EUROTOX avaient estimé, lors de leur 4ème réunion tenue à Montecatini-Terme (Italie) en Octobre 1958, que l'acide dithiopropionique devait être classé dans le groupe des substances qui, bien qu'utilisées fréquemment et depuis longtemps, exigeaient des expérimentations complémentaires. Il s'impose, dans ces conditions, d'être très prudent dans la fixation d'une dose journalière tolérable pour l'homme pour une absorption prolongée. Les experts FAO/OMS (Genève Juin 1961) ont fort justement appliqué à l'acide dithiopropionique, un facteur de sécurité très élevé, soit 500. En partant du fait que, chez le Rat la concentration de 3% dans le régime correspondant à une dose journalière de 1.500 mg/Kg de poids corporel, n'a donné lieu à l'apparition d'aucun effet nocif dans l'expérimentation à long terme effectuée par Lehman et coll. ([196]), on peut en déduire une dose tolérable pour l'homme de 3 mg/Kg de poids corporel par jour, soit 200 mg pour un adulte de 70 kgs.

* * *

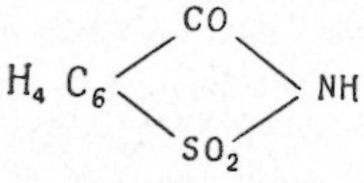
J'arrête là mes essais d'évaluation toxicologique des agents chimiques utilisés ou proposés comme antiseptiques ou antioxydants. La liste que j'en ai dressée est loin d'être exhaustive. Elle est plus complète dans le rapport que j'ai présenté au 4ème Symposium sur les substances étrangères dans les aliments organisé à Paris en Juillet 1958 par la Commission Internationale des Industries agricoles et alimentaires sur les risques pouvant résulter pour la santé humaine de l'addition de conservateurs aux aliments. Ce rapport paraitra ultérieurement. Il sera accompagné d'une classification des conservateurs alimentaires en fonction de leurs propriétés toxicologiques. Une telle classification, d'ailleurs provisoire, a été faite par les Experts du Comité EUROTOX, lors de leur 4ème réunion tenue à Montecatini Terme en Octobre 1958 (Voir Bibliographie générale). J'ai retardé la parution de ce rapport pour pouvoir y inclure les résolutions adoptées au niveau de la Communauté Economique Européenne.

C - ETUDE DES AGENTS AMELIORANTS DE LA SAVEUR ET DE L'ODEUR.

Edulcorants. Leur diffusion d'emploi, particulièrement dans les crèmes glacées, les sodas et les limonades, tient au souci de réduire l'apport calorique que représentent ces aliments ou boissons en rempla-

çant le saccharose par des produits synthétiques sans valeur nutritive, ayant à poids égal, un pouvoir sucrant considérablement plus élevé (407).

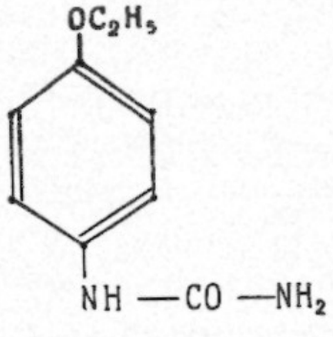
Saccharine :



Saccharine

La Saccharine, dont, depuis 1902, l'emploi en France est interdit en période normale, ne serait pas sans danger. A concentration suffisante dans le régime, elle provoque, d'après Fitzhugh et collaborateurs (108), une inhibition de la croissance chez le Rat, qui tolère bien, en revanche, la consommation d'un régime en renfermant 1% ; d'après une observation de Derobert (76), elle serait susceptible, à doses suffisamment importantes, de provoquer, chez l'Homme, de la néphrite hématurique.

Dulcine ou p.éthoxyphénylurée :

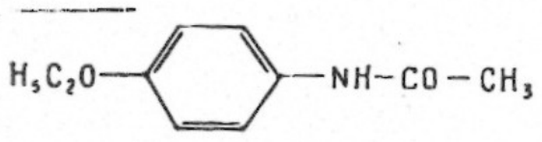


Dulcine

La Dulcine serait plus dangereuse. Fitzhugh et Nelson (107) ont obtenu des cirrhoses et des tumeurs hépatiques chez le Rat, après administration prolongée de régimes en renfermant de 0,1 à 1 p. 100. Aux plus fortes concentrations, (0,5 et 1 p. 100), ils ont observé parallèlement des retards de croissance, des lésions des organes hémopoïétiques (anémie), et une augmentation de la mortalité. A la suite de leurs constatations, l'emploi alimentaire de la dulcine a été interdit dans de nombreux pays. Toutefois, en répétant l'expérimentation, Lettre et Wrba (198), puis Bekemeier et collaborateurs (25) ont obtenu des résultats négatifs. Cependant, Schmahl (289) soumettant, pendant plus de 500 jours, de jeunes rats à l'absorption journalière d'une dose moyenne de 40 mg de phényl-

urée (dose totale par animal de l'ordre de 21 grammes) a obtenu, chez 4 animaux sur 12, des cancers, dont 1 cancer du foie avec métastases abdominales. Il en conclut que la phénylurée dont dérive la dulcine est un cancérogène faible.

Antérieurement, le même auteur, soumettant, en collaboration avec Reiter ([288]), des rats à l'administration prolongée de *phénacétine*

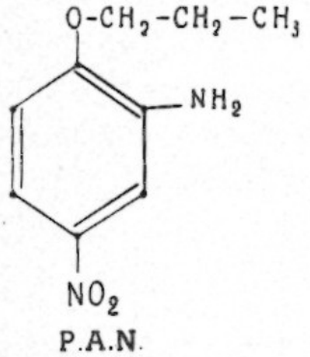


Phénacétine

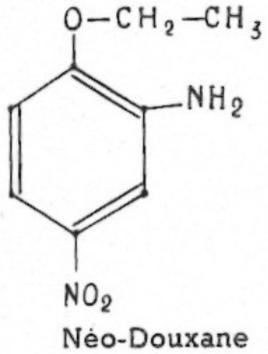
(40 à 50 mg par animal et par jour), dose totale par animal de l'ordre de 22 g., avait conclu à l'absence de propriétés cancérogènes de ce composé chez le Rat.

P.A.N. et Néodouxane :

Un autre édulcorant synthétique, le P.A.N. (éther n.propylique de l'amino.2.nitro.4.phénol), donné comme non toxique par Verkade et



P.A.N.

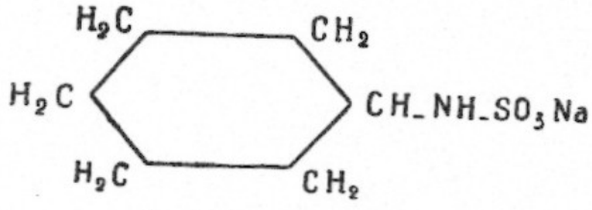


Néo-Douxane

collaborateurs, s'est révélé, dans les expériences de Fitzhugh et Nelson ([107]) sur le Rat soumis à des regimes en renfermant 0,1%, susceptible de faire apparaitre des troubles de croissance, des altérations histologiques au niveau de la thyroïde, une augmentation de poids du foie et du rein et même des lésions au niveau de ce dernier organe. Il est en outre doué d'un très haut pouvoir anesthésique. Son homologue éthylique, le *Néodouxane*, fait apparaitre, chez le Rat soumis à son administration prolongée, des corpuscules de Heinz dans les hématies et, au niveau du foie, des altérations nucléaires et de la dégénérescence graisseuse ([133]).

Cyclamate de Sodium:

Quant au *Cyclohexylsulfamate de sodium*, ou *Cyclamate de Sodium*, introduit en 1950, il serait, aux doses usuelles, dépourvu de toxicité, d'après Richards et collaborateurs ([271]) et Fitzhugh et collaborateurs ([108]).



Cyclamate de sodium

Cependant, Fitzhugh et collaborateurs ([108]) ont, avec des concentrations à vrai dire élevées dans le régime (5%), observé des retards de croissance chez le Rat dans des essais de toxicité à long terme, alors que, pour ces fortes concentrations, Richards et collaborateurs ([271]) ont vu apparaitre des diarrhées, observées également chez l'Homme, après absorption de plusieurs grammes du produit.

AGENTS D'AROMATISATION:

Ce groupe comporte de très nombreuses substances, au sujet desquelles, malgré leur emploi très largement diffusé, nous manquons d'informations toxicologiques. Cette carence est d'autant plus inquiétante que des risques de nocivité ont été, dans ces dernières années, mis en évidence pour certains de ses représentants.

Safrol:

C'est ainsi que les chercheurs de l'« U.S. Food and Drug Administration » ([197]) ont montré que le *Safrol* ou *Allyl.4.Méthylène dioxy.1.2. benzène*, principal constituant de l'essence de Sassafras (75 à 80%), extrait à partir de cette dernière ou produit synthétiquement, et utilisé pour communiquer un bouquet spécial à certaines boissons non ou peu alcoolisées, était susceptible, après administration prolongée au Rat de régimes en renfermant 500 mg/Kg, de diminuer très nettement la durée de vie moyenne des animaux. Par ailleurs, à la concentration de 5000 mg/Kg de régime, apparaissent des lésions et même des cancers au niveau du foie (19 animaux sur 50). Chez le Chien, le Safrol, à fortes concentrations dans le régime, provoque une atrophie des cellules hépatiques. Ces constatations, confirmées depuis dans les grandes lignes par

Homberger et collaborateurs ([156]), qui ont noté, en outre, chez le Rat soumis à un régime renfermant 1000 mg/Kg de safrol, une atrophie de la moelle osseuse, du testicule, de l'ovaire et de la muqueuse gastrique et une hypertrophie de l'hypophyse et de la surrénale, ont conduit à la suppression volontaire d'emploi aux Etats-Unis du Safrol et aussi de l'isosafrol et du dihydrosafrol. Les aromates à faible teneur en safrol. tels que la cannelle et la muscade, continuent à être utilisés.

Coumarine :

Il faut mentionner également le cas de la Coumarine qui, administrée au Rat et au Chien, à vrai dire à doses de toxicité subaiguë (100 mg/Kg de poids corporel par jour pendant 40 à 61 jours, chez le Chien), a provoqué l'apparition de lésions hépatiques ([141]). A mon avis, une expérimentation à long terme avec ce produit s'impose.

Citral :

Citons encore le cas du Citral qui, d'après Leach et Llyod ([195]), serait susceptible, à très faibles doses, de provoquer, chez l'animal, des lésions de l'endothélium des vaisseaux sanguins et du glaucome, ces effets étant supprimés par la vitamine A.

D - ETUDE DES AGENTS AMELIORANTS DE L'ASPECT DES ALIMENTS.

Je me bornerai à examiner, dans cette classe, les emulsifiants et les colorants, me réservant d'étudier, dans des articles ultérieurs, les représentants de divers autres groupes, tels que les gélifiants et épaisissants, les agents clarifiants, les agents de blanchiment et de maturation des farines, etc...

EMULSIFIANTS ET STABILISATEURS :

Les termes « émulsifiants » et « stabilisateurs » s'appliquent aux substances susceptibles de contribuer à la formation et au maintien d'une dispersion uniforme de deux ou plusieurs matières non miscibles.

Si l'emploi dans ce but de produits tels que les lécithines et les mono et diglycérides ([408]) à acides gras présents dans les glycérides alimentaires, dégradés dans l'organisme selon les processus du métabolisme normal, ne pose aucun problème toxicologique, il n'en va pas de même avec beaucoup d'autres composés. Je citerai à cet égard seulement quelques exemples, me réservant de consacrer un article

d'ensemble à l'évaluation toxicologique des émulsifiants et stabilisateurs pouvant être ajoutés aux aliments dont le nombre s'est accru considérablement en ces dernières années.

Spans et Tweens:

Dans ce groupe, les Spans (esters d'acides gras et de sorbitane ou anhydride de sorbitol) et les Tweens (dérivant des Spans par addition sur leurs OH libres de chaines polyoxyéthyléniques) occupent une place importante. Certains sont utilisés, entre autres, pour maintenir en suspension les essences aromatiques dans les boissons troubles sans alcool, très en faveur dans certains pays, pour empêcher le pain de rassir ou comme agents de dispersion dans divers aliments (crèmes glacées, sorbets), confiseries et pâtisseries.

Des expérimentations à long terme concernant les Spans ont été effectuées par Krantz ([184bis]), par Oser et Oser ([253]) et par Fitzhugh, Bourke, Nelson et Frawley ([109]) sur le rat. Elles ont montré que l'administration prolongée pendant 2 années d'un régime renfermant jusqu'à 5% de monostéarate de sorbitane avec observation de plusieurs générations, était parfaitement tolérée. Il en a été de même dans une expérimentation chez le chien, prolongée pendant 19 à 20 mois, au cours de laquelle la seule anomalie observée a été une discrète hémosidérose au niveau du foie ([109]). Par ailleurs, diverses observations sur l'homme ont montré que l'absorption d'une dose journalière de 6 grammes, répétée pendant plusieurs semaines, ne provoquait aucun effet nocif en particulier en ce qui concerne le fonctionnement du tube digestif et du foie, ainsi que la formule et la composition du sang ([311bis]) ([379bis]). Presan et coll. ([262bis]) administrant à 2 enfants pendant 32 à 37 jours 4 grammes par jour du produit, n'ont également noté aucune réaction d'intolérance.

En ce qui concerne les Tweens, Krantz et coll. ([184]) ont administré à des rats, pendant toute leur vie, un régime renfermant 0,5 à 2 p. 100 de monolaurate de polyoxyéthylène sorbitane (Tween 20), sans observer d'effets nocifs.

De même Oser et Oser ([253]) ont soumis à expérimentation à long terme chez le rat les produits suivants:

— tween 60: monostéarate de polyoxyéthylènesorbitane;

— tween 65: tristéarate de polyoxyéthylènesorbitane;

— tween 80: monoléate de polyoxyéthylènesorbitane.

Ces composés ont été incorporés au régime des rats à des concentrations allant de 5 à 20%. Les animaux ont été soumis à ces régimes pendant 2 ans, et 3 générations successives ont été étudiées.

Jusqu'à la concentration 10% incluse, aucun effet significatif sur

la croissance et les fonctions de reproduction non plus que sur les caractères histologiques des principaux organes, n'a été noté. Ce n'est que pour les concentrations supérieures à 5% que la fertilité, la gestation, la vitalité des petits et la lactation ont été affectées, à un degré d'ailleurs variable avec la nature des composés expérimentés.

Ces résultats favorables dans des conditions expérimentales rigoureuses ont un grand intérêt.

A mon avis, il convient cependant, même sans attacher trop d'importance à la mise en évidence des effets toxiques de ces substances sur les cultures de tissus ([230]), de garder une attitude extrèmement prudente vis-à-vis de ces composés et de ne prendre que des risques calculés, car, s'ils ne sont pas toxiques par eux-mêmes, sauf à de très fortes concentrations vraiment trop éloignées des conditions physiologiques ([109-110]), il n'est pas exclu qu'ils puissent permettre l'absorption de substances qui, en leur absence, ne seraient pas résorbées et dont les éventuelles potentialités toxiques risquent d'être ainsi révélées. Rappelons à cet égard la démonstration apportée par Ekwall et collaborateurs ([95]) de la pénétration du benzopyrène dans la paroi stomacale de la souris et du chat en présence des tweens. De même, Kellner et collaborateurs ([167bis]), puis Payne et Duff ([258bis]) ont montré que l'addition de tween 80 au régime augmentait la résorption gastro-intestinale du cholestérol chez le Lapin. Rappelons également que Wissler et collaborateurs ([396-229]) ont démontré l'augmentation de l'absorption intestinale du fer sous l'influence du tween 20 ajouté au régime. Enfin, Wong, Juras et Wissler ([398]) ont mis en évidence que l'association de tween 80 à du méthylcholanthrène, administré per os à la Souris C_{57} black, provoquait une nette augmentation des tumeurs induites par l'hydrocarbure, non seulement au niveau de l'estomac antérieur, mais encore au niveau de tissus autres que ceux du tractus digestif, en particulier au niveau du poumon.

Beaucoup d'auteurs considèrent cependant que le risque de toxicité indirecte, lié à la tensioactivité de ces composés est inexistant: Ils font valoir que divers composés biologiques, sels biliaires, phospholipides, mono et diglycérides, protéines et savons, abaissent également la tension superficielle et, selon eux, l'évaluation toxicologique des agents surfactifs pouvant être incorporée à l'alimentation, doit être effectuée pour chaque substance, sans s'occuper de la tensioactivité per se (cf. à cet égard; « The relation of surface activity to the safety of surfactants in foods ». A report by the Food Protection Committee of the Food and Nutrition Board, Publication 463. US-National Academy of Sciences - National Research Council, October 1956). Je pense personnellement que des recherches approfondies sont désirables de ce point de vue, notamment

en ce qui concerne l'absorption de certaines matières colorantes à usage alimentaire.

Par ailleurs, certains tweens peuvent manifester, dans certaines conditions, des propriétés cancérogènes faibles. C'est ainsi que le Tween 60, utilisé comme agent émulsifiant dans divers aliments et dans les pâtisseries, et aussi pour empêcher les phénomènes d'efflorescence dans le chocolat, provoque, chez la Souris, des papillomes ([297]) et un petit nombre de cancers après badigeonnages répétés de la peau ([305]) et, chez le Rat, des lympho-sacromes intra-abdominaux après injections sous-cutanées répétées ([207]). De plus, ce composé est un agent dit « promoteur », qui, appliqué sur la peau de la Souris, préalablement traitée avec une seule dose d'hydrocarbure polycyclique cancérogène trop faible pour provoquer la cancérisation, fait apparaître des tumeurs malignes ([297]). Mais, comme des résultats semblables ont été obtenus avec le stéarate de sodium ([155]), il est nécessaire, pour avoir une plus claire compréhension de la signification d'une telle propriété promotrice, d'effectuer des expérimentations avec d'autres surfactifs (cf. à cet égard; le rapport de la 5ème session du Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs aux aliments. Genève, décembre 1960).

Il faut aussi citer dans ce groupe le stéarate de polyoxyéthylène 8 (Myrj 45). Cet agent, dont l'addition au pain a été préconisée pour l'empêcher de rassir, a été administré au Rat à la concentration de 25 p. 100. Il a provoqué, chez les mâles, l'apparition de calculs urinaires, associé, dans certains cas, à des tumeurs vésicales bénignes ou malignes ([409]). Mais on peut, avec Frazer ([115]), remarquer qu'un effet obtenu avec une concentration s'écartant tellement des limites physiologiques n'est guère significatif.

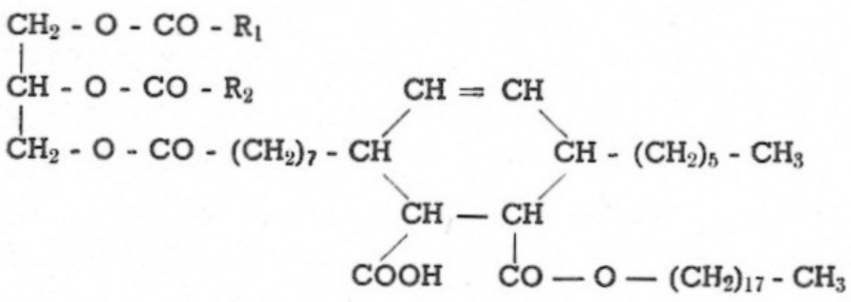
Huiles polymérisées et oxydées :

Dans le groupe des émulsifiants, il faut également signaler les dangers des *huiles polymérisées hautement oxydées* (huile de soja chauffée à 180° en même temps qu'on injecte de l'oxygène dans la masse), que l'on additionne aux margarines pour leur conférer une bonne tenue à la cuisson, et en particulier éviter le phénomène dit de l'éclaboussement (ou giclage) par séparation des phases aqueuse et lipidique sous l'influence du chauffage. Il faut souligner que ces produits qui, à l'examen chromatographique, n'ont pas révélé la présence d'époxydes, ont provoqué un pourcentage important de tumeurs (20 à 55% dans certaines séries expérimentales), après injections sous-cutanées répétées chez le Rat, mais ont, en revanche, fourni des résultats négatifs après administration par voie orale ([372-327]). En relation avec l'évaluation toxi-

cologique des huiles oxydées proposées comme émulsifiants pour usages alimentaires, il nous parait intéressant de mentionner les recherches de Andrews, Mead et Griffith ([8]) dans lesquelles l'administration au rat per os d'un échantillon d'huile de soja oxydée préparée dans certaines conditions définies ou d'hydroperoxyde de butyle tertiaire a provoqué des retards de croissance.

Emulsifiant M E 18.

La fâcheuse histoire de l'émulsifiant ME 18 de la margarine PLANTA, ajouté à cette dernière dans le même but que les huiles polymérisées et oxydées, a donné lieu à une suffisante publicité pour qu'il me soit permis d'y faire allusion, tout en soulignant ma connaissance incomplète des faits. D'après ce que j'ai pu savoir, l'émulsifiant ME 18 était obtenu par condensation de l'anhydride maléique avec de l'huile de soja raffinée, isomérisée par chauffage en présence de nickel à 1800°. Il se produit, dans ces conditions, un transfert des doubles liaisons des acides linoléique et linolénique en positions conjugués, ce qui rend possible la réaction classique de condensation de Diels et Adler. Il se forme alors un anneau hydro-aromatique porteur de deux carboxyles, dont l'un est estérifié par l'alcool stéarique. L'émulsifiant, qui se présente sous forme d'une huile visqueuse, serait constitué en majeure partie par un dérivé de l'acide linoléïque qui est l'acide gras principal de l'huile de soja. Ce composé répondrait à la formule suivante:



Emulsifiant ME 18

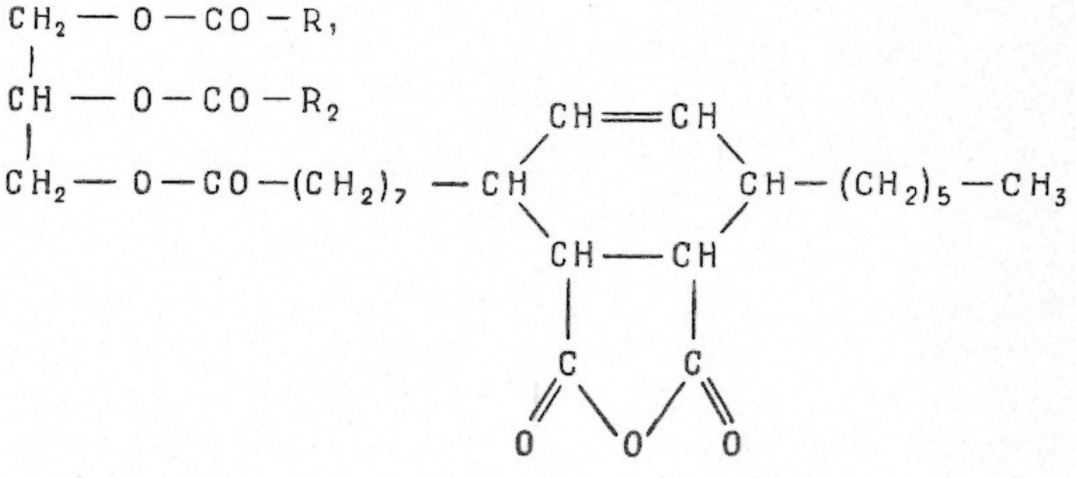
Mais, étant donné que l'huile de soja est un produit constitué par des glycérides provenant de divers acides gras et accompagné d'une faible proportion de divers principes, il doit se former un certain nombre d'autres composés lors de la condensation avec l'anhydride maléïque. En outre, chaque étape de la préparation peut donner naissance à d'autres produits que ceux contribuant à la formation du composé dont la formule structurale a été donnée plus haut. Il en résulte que l'émulsifiant, en tant que produit technique, est un mélange très complexe

de composés dont certains ont une structure inconnue (*). Il a été utilisé dans la margarine à une concentration de 0,2%, associé à des mono et diglycérides et à de la lécithine.

On se souviendra que son utilisation a été, en août 1960, aux Pays-Bas, à l'origine d'une intoxication collective à allure épidémique ayant frappé des milliers de sujets en majorité du sexe féminin. Les symptômes principaux, apparus après une période de latence, consistaient en hyperthermie marquée, céphalée, asthénie, hypotension et surtout en manifestations éruptives: plaques cutanées rouges prenant la forme d'eczémas suintants à tendance ulcéreuse ([150-270]). Ces manifestations éruptives avaient un caractère très prurigineux. Elles débutaient en général aux mains, aux pieds ou au visage et s'étendaient ensuite au tronc ou aux membres, frappant surtout les régions découvertes. Sur les muqueuses buccales survenaient parfois un gonflement, des pseudo-aphtes et des hémorragies. Les quelques cas mortels signalés concernent des femmes déjà atteintes d'autres affections (sauf une femme de 37 ans, jusqu'alors bien portante). Les épreuves fonctionnelles n'ont pas révélé d'anomalies dans le fonctionnement du foie ou du rein, non plus que des perturbations de la coagulation sanguine. La formule sanguine accusait en général une leucocytose croissante dans les premiers jours avec une relative lymphocytose et une éosinophilie pouvant atteindre 20%. Histologiquement, une infiltration périvasculaire, un oedéme de l'épi-

---

(*) Entre la rédaction de cet article et la correction des épreuves j'ai pris connaissance d'un article de Mali (J.W.H.), Malten (K.E.) et Van Neer (F.C.J.) - Hautarzt, 1962, 4, 13, dans lequel ces auteurs signalent la présence dans l'émulsifiant ME 18 sous sa forme commerciale, d'une impureté répondant à la structure suivante:



Ce composé réagit rapidement avec les groupements, aminés libres des protéïnes et peut jouer le rôle d'haptène. D'après les résultats d'expérimentations sur de jeunes porcs, dont on trouvera les détails dans la publication mentionnée, sa combinaison avec la sérumalbumine serait à l'origine de la formation d'anticorps sensibilisants. Il faut toutefois souligner que les résultats de Mali et collaborateurs n'ont pas été confirmés par d'autres chercheurs.

derme, à la fois intra et intercellulaire, des vésicules sous épidermiques éparpillées résument les constatations.

Les cas hollandais présentaient une singulière analogie avec la maladie vésiculaire observée en Allemagne de juillet à Novembre 1958, analogie clinique objectivée par les mêmes lésions histologiques. L'enquête a révélé que l'apparition de cette maladie avait coïncidé avec la mise sur le marché, à l'époque, de margarine contenant le même émulsifiant à la dose de 0,1% et tout d'abord consommé à Kiel, ville où se manifestèrent les premiers cas.

De là l'épidémie s'étendit, comme le marché lui-même, en Allemagne de l'Ouest, en août en Schleswig Holstein, en Septembre en Basse-Saxe, fin Octobre à Francfort, en Octobre à Berlin. Lorsque l'émulsifiant fut retiré de la fabrication, les cas disparurent.

Le caractère rapidement extensif de cette épidémie accrédita, à l'époque, l'opinion d'une infection virale. On parla, cependant, d'intoxication alimentaire, surtout parce que les cantines d'usine étaient souvent atteintes, mais on ne fit pas alors la corrélation avec l'usage de margarine traitée par le nouvel émulsifiant. Il est intéressant de souligner que, d'après l'enquête d'Hermans ([150]), tous les consommateurs ne furent pas atteints et que, aussi bien aux Pays-Bas qu'en Allemagne, les sujets de sexe féminin furent plus spécialement frappés.

Il est évident que des incidents aussi regrettables ne peuvent qu'inciter les industriels à être prudents et les hygiénistes à ne pas atténuer leur sévérité.

Les effets biologiques de l'émulsifiant ME 18 sur les animaux d'expérience sont encore à l'étude. On a pu faire absorber à diverses espèces d'animaux (souris, rat, porc...) de grandes quantités de ce produit, avec et sans margarine, sans que des effets nocifs se soient manifestés. L'observation selon laquelle l'émulsifiant a des effets sensibilisateurs lors qu'il est absorbé dans certaines conditions est peut-être significative, mais il n'a pas encore été démontré que ce soit cette propriété qui ait provoqué les symptômes d'intoxication chez l'homme. Peut être a-t-on affaire avec ce composé à une sensibilité spéciale de l'espèce humaine; s'il en est ainsi, ce serait un malheureux, mais magnifique exemple de l'incertitude que comporte toujours l'extrapolation de l'animal à l'homme.

Composés divers:

Un grand nombre ont été proposés en ces dernières années parmi lesquels nous citerons:

— les huiles végétales comestibles bromurées;

— les acétoglycérides (acétostéarides et acétooléïdes);

— le stéarate de propylèneglycol;
— le mono et le distéarate de pentaérythrol;
— l'alginate de propylèneglycol;
— le tartrate de stéaryle;
— les esters diacétyltartriques des monoglycérides et diglycérides;
— les esters du saccharose avec des acides gras (sucro-esters).

Il m'est impossible de les étudier en détail, car, le plus souvent, les informations toxicologiques les concernant n'ont pas été publiées.

Je voudrais cependant présenter une remarque générale à leur sujet. On pourrait considérer, a priori, que l'emploi comme additifs aux aliments d'esters résultant de la combinaison d'acides gras et d'alcools en quelque sorte physiologiques ne posent pas de problèmes toxicologiques.

A mon avis, il ne faut pas oublier que parfois la combinaison de 2 molécules pratiquement atoxiques conduit à une substance dont la toxicité est loin d'être négligeable. L'exemple le plus spectaculaire à cet égard est celui de l'acétylcholine dont on connait la haute activité pharmacodynamique et toxique, alors que ses 2 constituants, acide acétique et choline, sont tolérées à des doses relativement considérables. De même, 2 composés proposés justement comme émulsifiants, les acides palmitoylglutaminique et stéaroylglutaminique, possèdent des toxicités aiguës très supérieures à celles de leurs constituants respectifs: DL_{50} per os chez le Rat de l'ordre de 2 g/Kg de poids corporel pour le premier et de 3 g/Kg de poids corporel pour le second ([373]). Mais il s'agit là de toxicités aiguës. Qu'en est-il pour les toxicités à court terme et à long terme beaucoup plus intéressantes à considérer dans le cas des additifs aux aliments? Nous sommes là dans une incertitude totale et c'est pourquoi il convient, à mon avis, de se méfier des idées a priori et de soumettre toute substance proposée à une expérimentation toxicologique, aussi bien à court terme qu'à long terme.

Souvent, on a ainsi des surprises. C'est ainsi que, en procédant à l'expérimentation à long terme chez le Rat des acétoglycérides ([102]) résultant de l'acétylation des graisses superglycérinées ou des monoglycérides purs des acides oléique ou stéarique, avec lesquels on pouvait s'attendre à une métabolisation similaire à celle des graisses naturelles, Ambrose et collaborateurs ([5]) ont vu apparaitre, même à la concentration la plus basse de 5% dans le cas de certains échantillons d'acétostéarides, une diminution du volume des testicules et une inhibition des fonctions de reproduction chez le Rat, cependant que Cox et De Eds ([64]) ont observé, chez le même animal soumis à l'acétylmonostéaride, des foyers de granulomatose au niveau du tissu adipeux.

C'est ainsi également que, après administration au Chien en perfusion, d'un émulsifiant constitué par des esters diacétyltartriques de mono et diglycérides, à des doses journalières de 30 à 50 ml/Kg, 5 jours par semaine, pendant 6 semaines, Hartwig et collaborateurs ([138]) ont vu apparaître, chez presque tous les animaux (11 sur 13), une diminution du taux d'hémoglobine et, chez 50% environ d'entre eux, des effusions pleurales et péricardiques. Ces manifestations toxiques, qui rappellent celles du syndrome provoqué chez le Poulet par le facteur oedematiant ([36]), sont provoquées aussi bien par le produit technique que par le produit purifié. Mais, dans ce cas, il convient de ne pas oublier qu'après absorption per os, ces esters sont hydrolysés par les enzymes intestinaux. C'est donc par la voie orale que doit être effectuée leur évaluation toxicologique. A cet égard, Koppanyi et Dardin ([180bis]) ont administré à 3 groupes de 2 chiens pendant 2 ans des doses journalières respectives de 1,5, 3 et 6 grs par Kg de poids corporel. Ils n'ont observé aucun effet nocif. En outre, ils ont soumis des groupes de 8 rats à l'administration pendant toute leur vie de régimes contenant l'émulsifiant à des concentrations respectives de 5,10 et 20%. Ils n'ont noté aucune anomalie en ce qui concerne le comportement des animaux, leur croissance, leur longévité, leurs facultés de reproduction et les caractères histologiques des principaux organes.

Les données concernant les produits dits sucroglycérides ou sucro-esters, qui sont des esters du saccharose avec les acides gras physiologiques (mono et diesters des acides gras saturés de C_{12} à C_{18}, mono et dioléates, mono et diesters des acides gras de coprah ou de palmiste), sont également favorables. Ce sont des surfactifs non ioniques dans lesquels la partie hydrophile est représentée par le saccharose ([255]).

On pouvait a priori penser que, résultant de la combinaison de principes typiquement alimentaires, ils seraient métabolisés comme ces derniers. Effectivement, Berry et Turner ([34]) ont montré qu'ils étaient hydrolysés aussi bien par la lipase de suc pancréatique que par l'α amylase et l'invertase également présentes dans ce suc et surtout par les homogénats de foie, en libérant le saccharose et les acides gras. Par ailleurs, ils peuvent servir à la respiration des homogénats de foie. Ce sont les esters des acides gras non saturés qui se sont révélés les plus facilement hydrolysables et les plus sensibles à la dégradation oxydative.

Sur le plan toxicologique, la plupart des données expérimentales n'ont, à ma connaissance, malheureusement pas été publiées de façon détaillée et ont été seulement présentées dans leurs grandes lignes lors d'une Journée technique sur les sucro-esters et les sucro-glycérides, tenue à Paris à la Maison de la Chimie, en Mai 1961 ([244-257-279]). Ospow et collaborateurs ([255]) ont toutefois indiqué que des doses de 5 g/Kg de poids

corporel administrées per os n'exercent aucun effet nocif sur le Rat. D'autre part, six rats soumis pendant un mois à un régime renfermant 10% de ce même ester n'ont montré aucune anomalie dans leur comportement.

D'autres essais de toxicité à court terme ont été effectués chez le même animal par Oshima et Kajiwara ([254]). Des lots d'animaux ont été soumis pendant 6 mois à des régimes renfermant respectivement 2, 5, 10 et 20% de monooléate de saccharose. Jusqu'à la concentration de 10% incluse, il n'a pas été constaté d'effets nocifs. Ce n'est qu'au dessus de la concentration de 10% que furent observés des retards de croissance et des phénomènes diarrhéiques.

Si les résultats d'expérimentation à long terme sont, comme on peut s'y attendre, aussi favorables, il n'y aura que des avantages à autoriser l'emploi de ces émulsifiants susceptibles de recevoir des applications pour deux utilisations principales:

1) comme émulsifiants des graisses, agents de dispersion des arômes, stabilisateurs des boissons et des sauces;

2) comme détergents pour le nettoyage des matériels et récipients utilisés dans les industries alimentaires.

Pour cette dernière utilisation, ils présentent l'avantage de pouvoir être dégradés par les microorganismes des rivières, apportant peut être ainsi une réponse, au moins partielle, au grave problème de la persistances des surfactifs dans les eaux résiduaires ([159]).

COLORANTS

Pour donner aux denrées alimentaires un aspect engageant, on fait souvent appel à des matières colorantes. Parmi les denrées alimentaires additionnées de façon courante de colorants, nous citerons, en dehors des divers produits de confiserie (bonbons, dragées, pâtes de fruits...) et des liqueurs, les pâtisseries fraiches ou sèches (gaufrettes, biscuits...), les sirops, les limonades, les sodas et les boissons diverses non alcoolisées, les vins, et éventuellement le cidre et la bière, les pâtes alimentaires, les crêmes glacées, certaines confitures, les produits de charcuterie (saucisses de Strasbourg et de Francfort...), les langues écarlates, les croûtes de fromages (coloration en jaune pour la pâte, colorations diverses pour la croûte), les assaisonnements pour salades, et même, au moins dans certains pays, le beurre et les margarines.

Rappelons également la coloration des crevettes provenant de certaines régions; c'est ainsi que les crevettes roses de Chalut (*Para-*

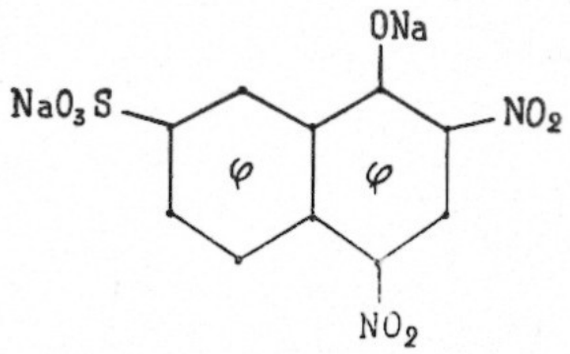
poenus membranaceus Risso) pêchées sur les côtes tunisiennes, algériennes et marocaines, se décolorant à la cuisson, sont le plus souvent recolorées en rose pour la vente.

Il s'agit là, d'ailleurs, d'une pratique interdite, mais que les circonstances ont conduit à tolérer. Dans d'autres cas, comme par exemple la coloration en rose des conserves de colin, vendues ensuite comme saumon, ou la transformation en vin rouge d'un vin blanc de qualité médiocre, par addition d'un mélange de Bordeaux S et de tanin, il s'agit de véritables fraudes.

Quoi qu'il en soit, nous consommons ainsi chaque jour, à notre insu, des quantités non négligeables de colorants dont l'innocuité n'a pas toujours été démontrée de façon suffisamment rigoureuse. Cela est d'autant plus inquiétant que certains colorants préconisés à une certaine époque pour les usages alimentaires, ont été indubitablement reconnus nocifs.

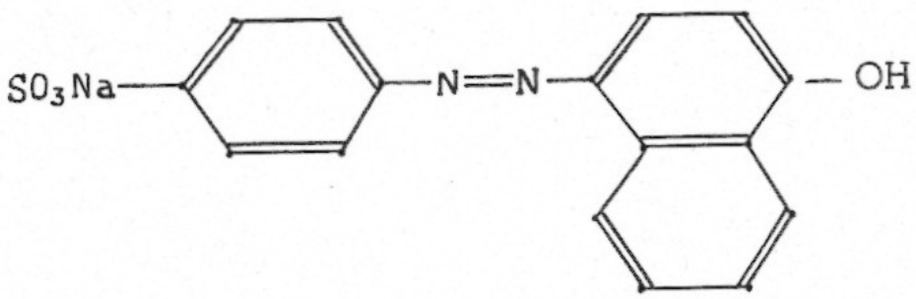
Nous citerons tout d'abord, à cet égard, quelques exemples d'effets de *toxicité générale*, provoqués par l'absorption prolongée de certains colorants.

C'est ainsi que le *Jaune Naphtol S* (n. 19 de Schultz, n. 10 du Colour Index 1924 et n. 10.136 du Colour Index 1956), provoque chez le Rat,



Jaune Naphtol S

après administration prolongée *per os* (concentration dans le régime: 0,25 à 2 p. 100), à côté d'une réduction marquée de la durée moyenne

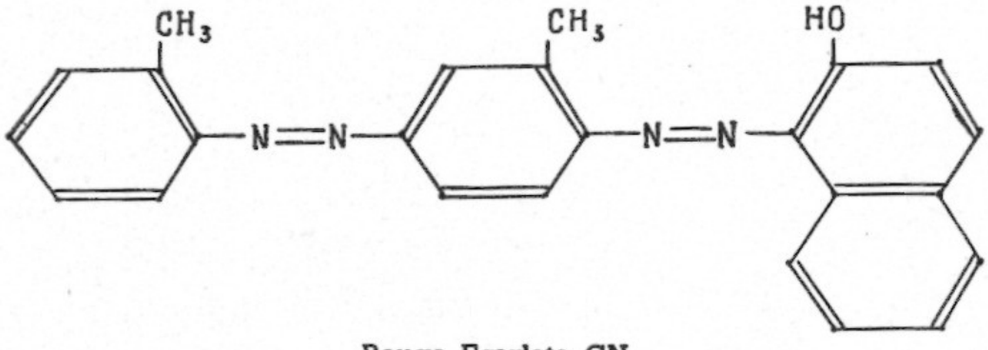


Orangé I

de vie l'apparition d'ulcères étendus du tube digestif au niveau du caecum et du colon terminal ([286]).

— que l'*Orangé I* (n. 185 de Schultz, n. 150 du Colour Index 1924 et n. 14.600 du Colour Index 1956) entraine, chez le même animal, une reduction considérable de la durée moyenne de vie ([392-48]) et, par ailleurs, provoque chez le Chien et chez l'Homme, des phénomènes diarrhéiques à doses relativement modérées (0,80 à 0,20 g.) ([377]).

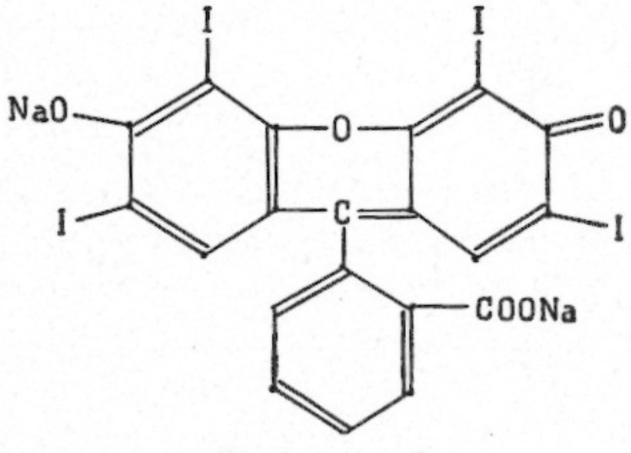
— que le *Soudan IV* ou *Rouge Ecarlate GN*, dit encore *Rouge Organol IV* (n. 541 de Schultz, n. 258 du Colour Index 1924 et n. 26105 du Coulour Index 1956), autorisé jusqu'à ces temps derniers pour colorer



Rouge Ecarlate GN

la paraffine enrobant certaines variétés de fromages, provoque l'apparition de lésions hépatiques chez la Souris ([291]) et chez le Rat ([392]), même à des concentrations relativement faibles (0,1 p. 100) ([134]).

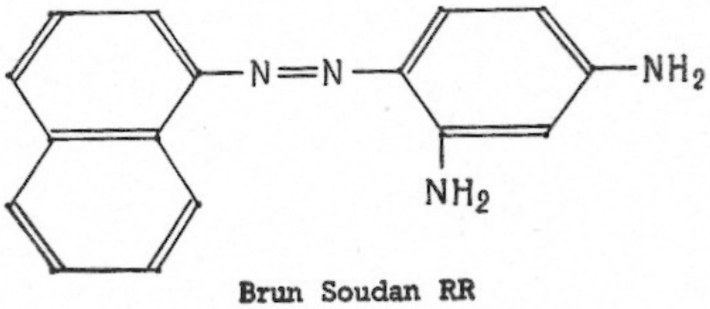
— que l'*Erythrosine J* (n. 887 de Schultz, n. 773 du Colour Index 1924 et n. 45430 du Colour Index de 1956) à dose suffisante provoque



Erythrosine J

des vomissements et de l'albuminurie chez le Chien ([281-59]) et exerce chez la Souris ([381]) une action hémolytique *in vitro* et *in vivo*, cependant que, d'après Krauze ([185]), des phénomènes de paralysie abdominale, accompagnés de perturbations de la formule sanguine (diminution des hématies, augmentation des leucocytes) se manifestent chez le même animal sous l'influence de doses convenables du colorant.

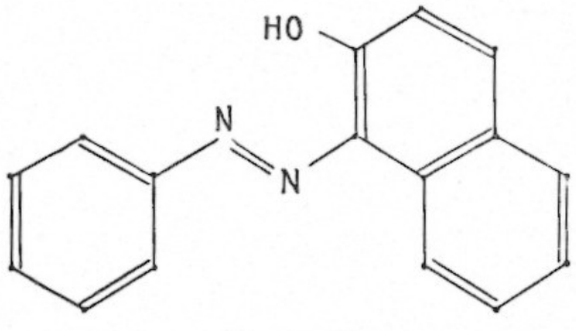
— que le *Brun Soudan RR*, administré per os au Rat à faible con-



Brun Soudan RR

centration dans le régime (0,01 p. 100), fait apparaitre des perturbations intestinales, provoquant une mort rapide ([134]).

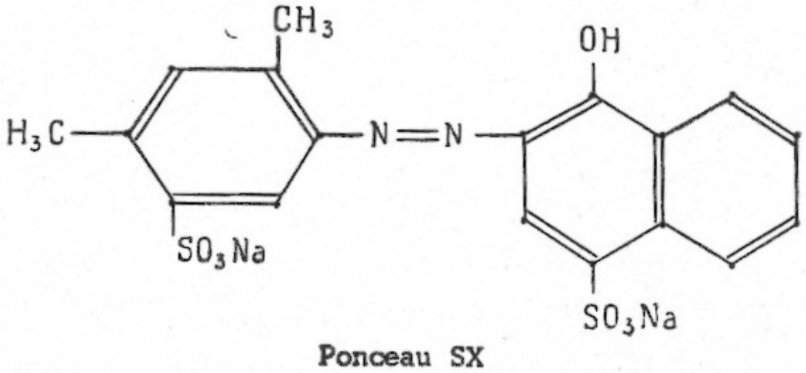
— que le *Soudan I* ou *Orangé gras E* (n. 33 du Schultz, n. 24 du Colour Index 1924 et n. 12055 du Colour Index 1956).



Soudan I

— et le *Soudan II* ou *Orangé gras XX* (n. 92 du Schultz, n. 73 du Colour Index 1924 et n. 40265 du Colour Index 1956), administrés *per os*, par mélange, au régime à une très faible concentration (0,02 à 0,04 p. 100), provoquent, chez le Rat, des altérations rénales ([213]), cependant que des doses plus fortes, dans le cas du Soudan II, réduisent considérablement la durée moyenne de vie ([219-2]).

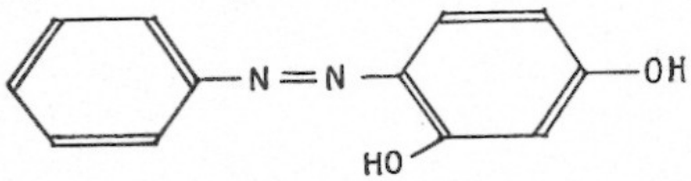
— que le *Ponceau SX* fait apparaitre, chez le Chien soumis à un



Ponceau SX

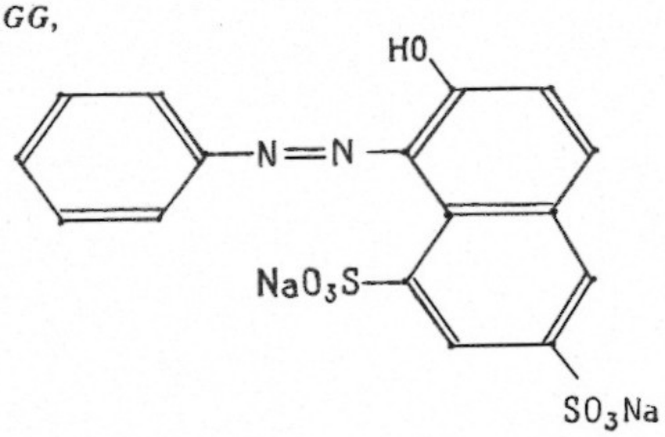
régime en renfermant 2 p. 100, des lésions sévères de la cortico-surrénale et de la vessie ([237]),

— que l'*Orangé Cérès GN (Soudan G)*



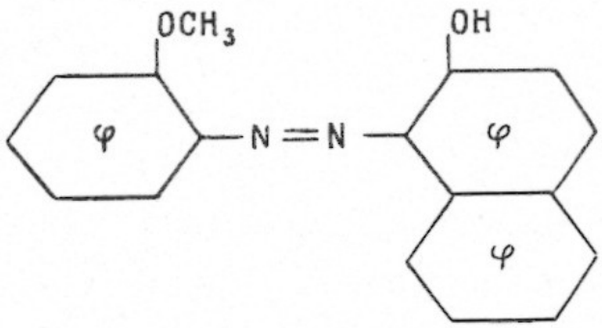
Orangé Cérès GN

— l'*Orangé GG*,



Orangé GG

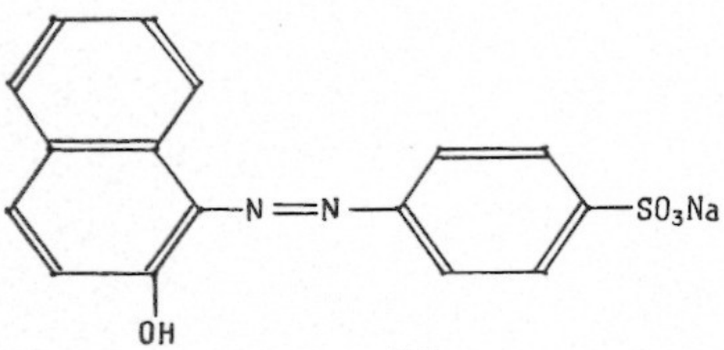
— et le *Rouge Cérès G*,



Rouge Cérès G

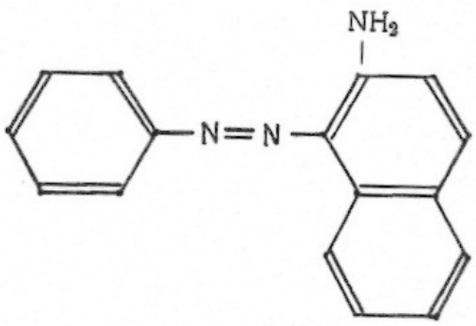
font apparaitre, chez le Chat, après administration répétée per os (0,1 g/Kg pendant 7 jours ou 0,002 g/Kg pendant 33 jours), des granulations de Heinz ([146]) dans les hématies.

— que l'*Orangé GG*, le *Jaune AB*, et surtout l'*Orangé II* font apparaître, chez le Rat, les mêmes granulations ([275]).

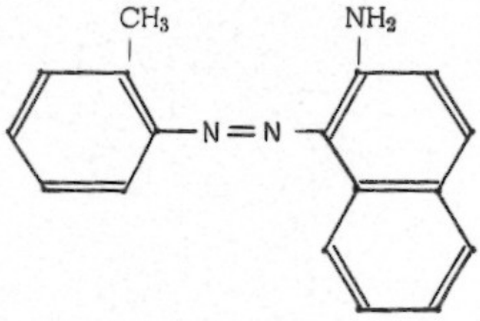


Orangé II

— que le *Jaune AB* et le *Jaune OB* provoquent, chez le Rat, d'après



Jaune A.B.



Jaune O.B.

les résultats successifs de Vos et collaborateurs ([377]), de Willheim et Ivy ([392]), de Allmark et collaborateurs ([2]), de Druckrey ([90]) et de Nelson ([235]), divers effets nocifs graves, et en particulier, en dehors d'effets cathartiques importants, une réduction marquée de la croissance et de la durée moyenne de vie, une diminution des facultés de reproduction et une augmentation de la mortalité de la descendance et, dans les expériences de Allmark et collaborateurs ([2]), à une concentration dans le régime aussi basse que 0,3 p. 100 dans le cas du Jaune AB, une diminution du poids des testicules et une augmentation du poids du foie et des reins. Ces symptomes s'accompagnent d'une nette atrophie et d'une dégénérescence marquée des testicules, de faibles modifications inflammatoires du rein et de légères modifications hypertrophiques de la rate. A doses plus fortes, les auteurs ont observé des modifications cellulaires au niveau du foie, du thymus, de la surrénale, du pancréas, de la rate et du rein, et aussi une diminution marquée de l'hémoglobinémie, ainsi que du nombre des érythrocytes totaux et des réticulocytes.

— que, d'après Mitchell et Struck ([221]), l'administration prolongée de Bleu de Méthylène provoque une anémie, d'ailleurs réversible, avec hypoplasie de la moelle osseuse.

— que, enfin, d'après Krauze ([186]), chez les ouvriers affectés en Pologne (à Borouta près de Lodz) à la fabrication des *colorants dérivant du triphénylméthane*, ont été constatés, en dehors des eczémas, des troubles gastriques (diarrhée) et des symptomes pneumoniques.

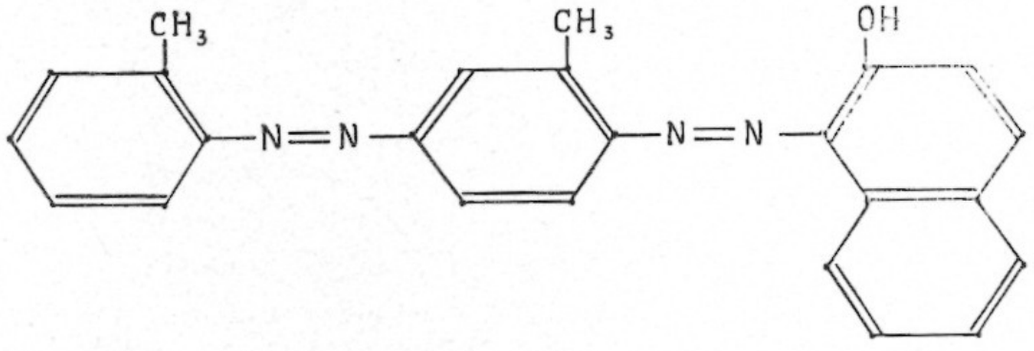
* * *

Mais un risque de nocivité beaucoup plus redoutable est la manifestation d'effets cancérogènes auxquels j'ai consacré plusieurs articles ([338-340-348]). Aussi me bornerai je à rappeler les faits les plus essentiels.

On peut diviser les colorants cancérogènes en deux classes, suivant qu'ils se rattachent ou non à la série des azoïques.

Série des Azoïques:

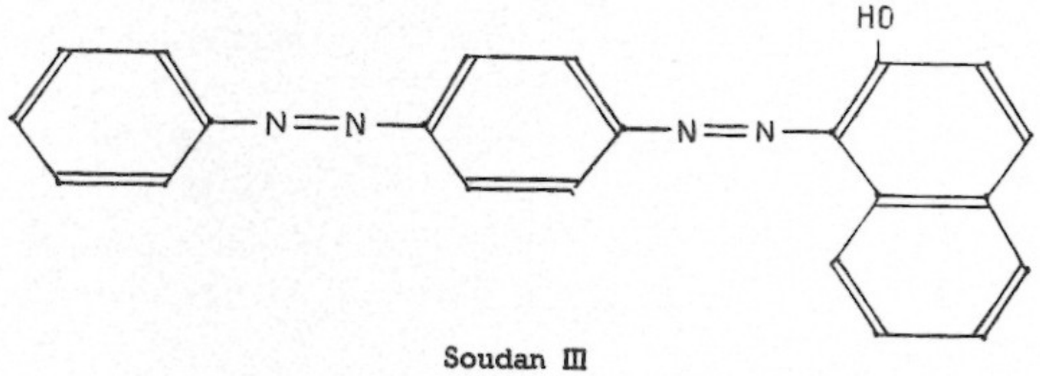
Les découvertes, dans cette série, ont eu comme point de départ la constatation, par FISCHER ([103]), en 1906, de l'apparition de proliférations épithéliales atypiques, bien que non malignes, après injection sous la peau de l'oreille chez le Lapin, de *Rouge écarlate* en solution huileuse.



Rouge Ecarlate

Ce résultat de FISCHER fut confirmé par de nombreux expérimentateurs, et en particulier par YAMAGIWA et OHNO ([400]) chez la Poule; puis SCHMIDT ([292]) signala, en 1924, que l'administration per-os à la Souris de ce colorant pouvait provoquer la formation d'adénomes hépatiques ayant, par endroits, une structure sarcomateuse, c'est-à-dire maligne.

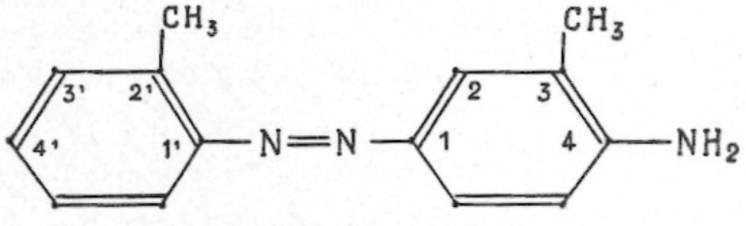
Avec un autre colorant voisin du *Rouge Ecarlate*, le *Soudan III*



Soudan III

(n. 352 du Schultz, n. 248 du Colour Index 1924 et n. 26100 du Colour Index 1956), FISCHER ([103]), puis HELMHOTZ ([148]) et BENTHIN ([26]) observèrent des proliférations épithéliales plus ou moins atypiques surtout chez le Lapin.

En considérant la formule du Rouge Ecarlate, on fut tout naturellement amené à penser que l'*o.aminoazotoluène* ou *amino.4.diméthyl.*



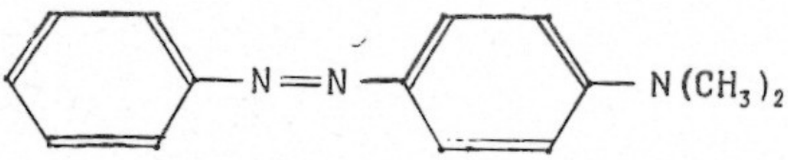
O. aminoazotoluène

3.2'.*azobenzène*, dénommé aussi *Jaune Soudan RR*, représentait la partie active de la molécule.

Effectivement, Stoeber ([314]) et Hayward ([139]) constatèrent en 1909 que ce composé provoquait des proliférations épithéliales identiques à celles produites par le Rouge Ecarlate. Vingt-trois ans plus tard, Yoshida ([403]), soumettant des rats à son administration prolongée par voie buccale, observa la production d'hépatomes transplantables, démontrant ainsi pour la première fois, de façon indiscutable, l'activité cancérogène d'un azoïque.

L'activité cancérogène de l'*o.aminoazotoluène* vis à vis du tissu hépatique fut retrouvée chez la Souris, après implantation sous-cutanée, par Shear ([299]), qui, comme d'ailleurs Yoshida chez le Rat, observa en outre quelques tumeurs de la vessie. Toute une série de travaux suivirent, entre autres ceux de Kinosita ([171]), Law ([194]), Andervont ([7]) et Kirby ([172]), qui confirmèrent les constatations précédentes, en particulier l'action cancérogène élective sur le foie et aussi l'absence d'activité cancérogène en badigeonnages.

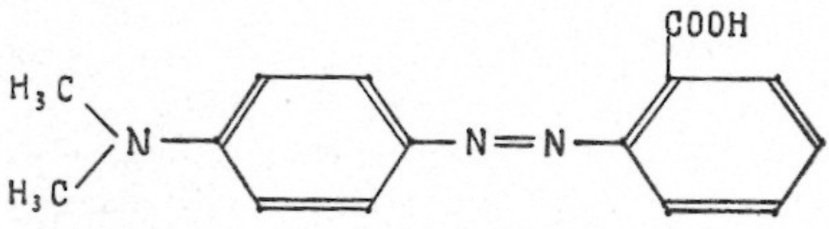
Expérimentant une série de dérivés de l'*azobenzène*, obtenus par substitution de groupes CH_3 ou NH_2, Kinosita ([169]) découvrit, en 1937, l'activité cancérogène d'un autre azoïque, le *p.diméthyl-amino-azobenzène* (n. 28 de Schultz, n. 19 du Colour Index 1924 et n. 11020 du Colour Index 1956), d'ailleurs isomère de l'*o.amino.azotoluène*, comme ce dernier, actif per os et localisant ses effets au niveau du foie :



p.diméthyl amino-azobenzène

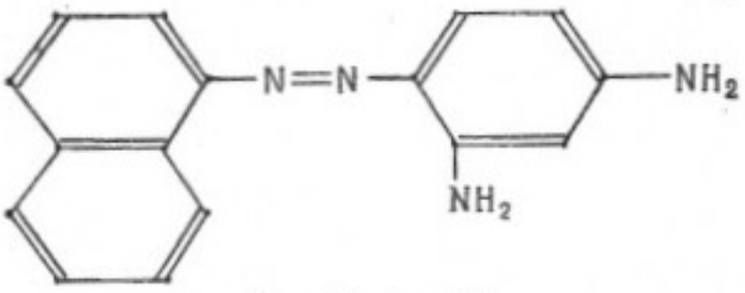
La découverte de l'action cancérogène du p.diméthyl-amino-azobenzène avait une importance considérable sur le plan alimentaire, car ce composé servait, dans certains pays, à colorer les margarines et avait reçu, pour cette raison, le nom de « Jaune de Beurre ». Aussi, les hygiénistes commencèrent-ils à s'émouvoir des dangers que pouvait présenter l'introduction dans les aliments de colorants synthétiques, d'autant que, par la suite, d'autres azoïques, comme par exemple :

— le *Rouge de méthyle* ([170]) (n. 250 de Schultz, n. 211 du Colour Index 1924 et n. 13020 du Colour Index 1956).



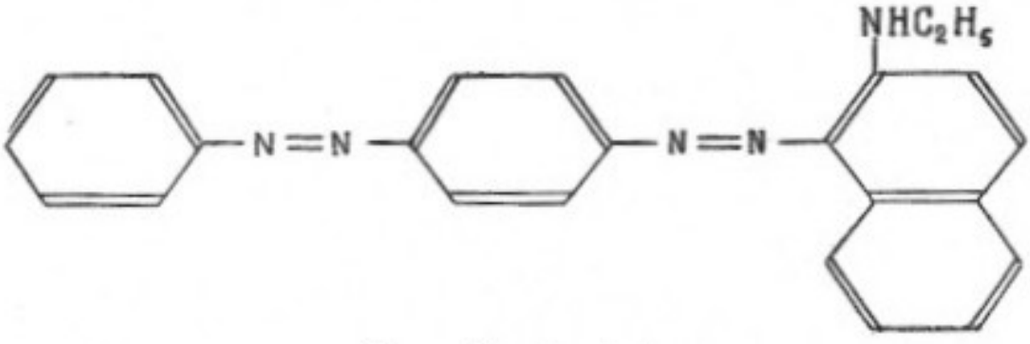
Rouge de méthyle

— le *Brun Soudan RR* (134).



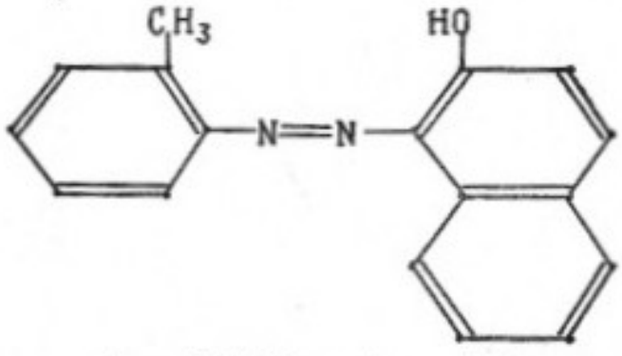
Brun Soudan RR

— le *Rouge Soudan 7 B* (177).



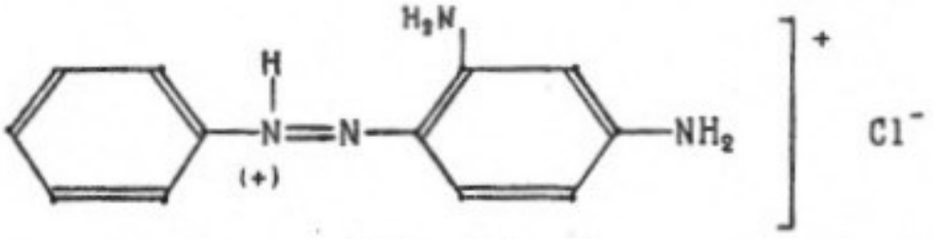
Rouge Soudan 7 B

et, plus récemment, l'*Orangé SS* (*Orangé gras TX*) (42)



Orangé SS (Orangé gras TX)

et la *Chrysoïdine* (1)



Chrysoïdine

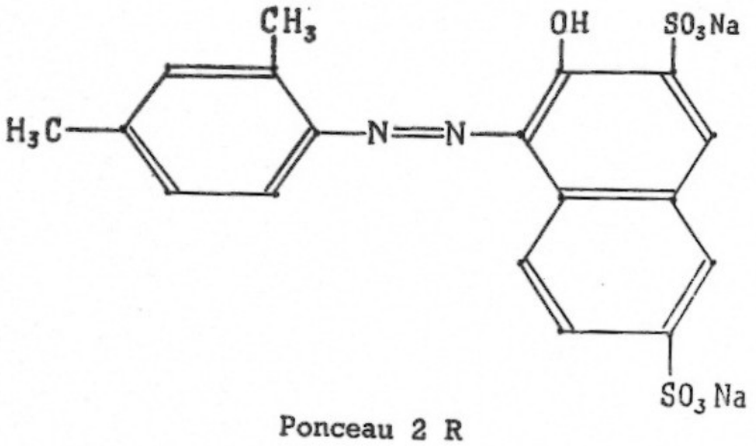
se révélèrent cancérogènes.

Cherchant à établir des relations entre la structure chimique et l'activité cancérogène, on admit, au début, que la présence de groupements basiques, en l'espèce les groupements fonctionnels NH_2, qui sont

effectivement, selon la terminologie courante, carcinophores, était nécessaire à cette activité. On pensa alors pouvoir supprimer les propriétés cancérogènes des colorants aminés en introduisant dans leurs molécules des groupes acides, et en particulier des groupes COOH et SO_3H, leur communiquant, par ailleurs, avec l'hydrosolubilité par formation de sels alcalins, la propriété de s'éliminer rapidement, contrairement aux molécules génératrices retenues longtemps dans l'organisme grâce à leur solubilité très préférentielle dans les lipides.

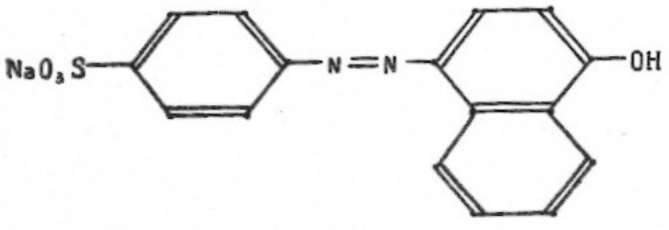
Effectivement, Cook et collaborateurs ([63]), expérimentant chez la Souris un certain nombre de matières colorantes azoïques sulfonées:

— *Ponceau 2 R*:



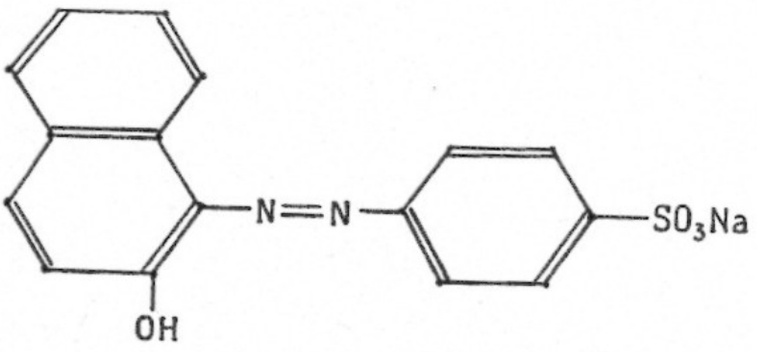
Ponceau 2 R

— *Orangé I* (Orangé SXX)



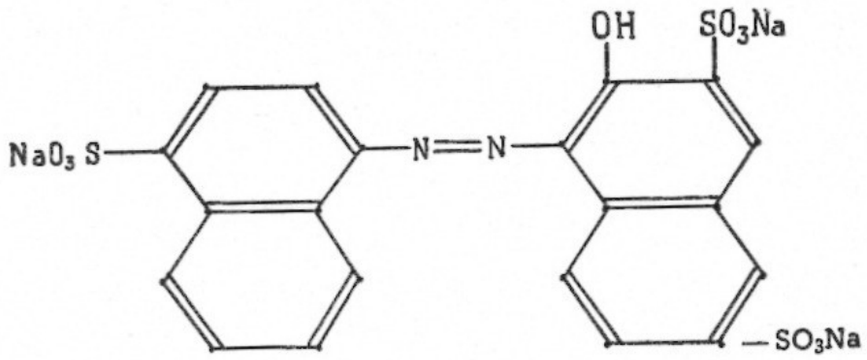
Orangé I

— *Orangé II*



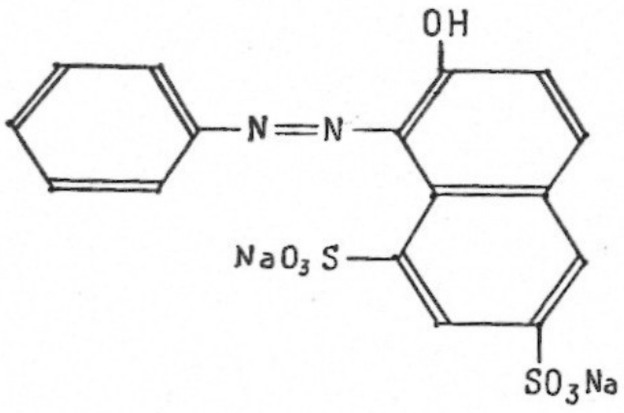
Orangé II

— *Amarante* ou *Bordeaux S*



Amaranthe

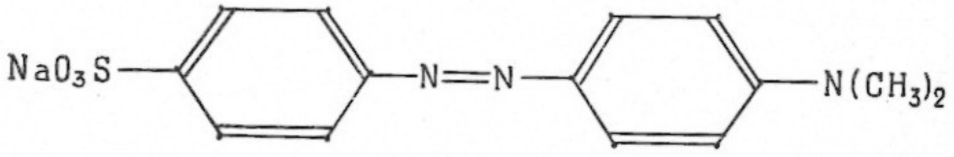
— *Orangé GG*



Orangé GG

administrées pendant de longues périodes, à la dose moyenne de 30 mg par semaine, n'ont pas constaté d'effets cancérogènes.

Ajoutons que le *Méthylorange* ou *Hélianthine*, qui dérive du p.di-



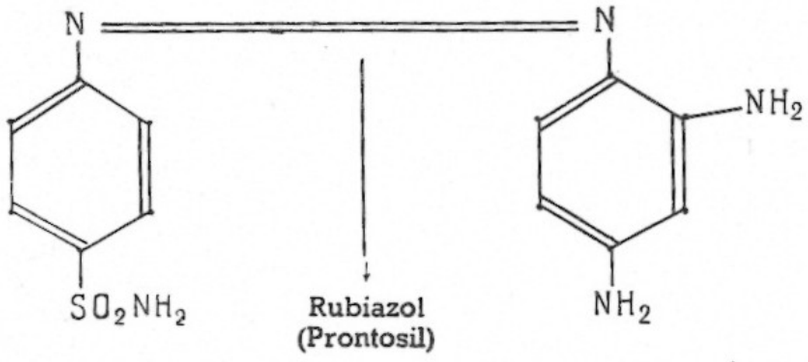
Méthylorange

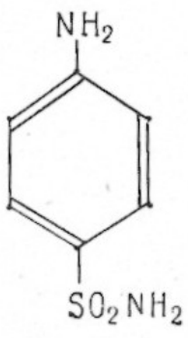
méthyl-amino-azobenzène par introduction d'un groupe sulfonique en p', s'est révélé inactif chez le Rat dans les expériences de Kinosita [169] et de Korosteleva [181].

Mais il faut penser à la possibilité de transformations métaboliques consistant en particulier en réduction du groupe — N = N —, avec formation de composés aminés.

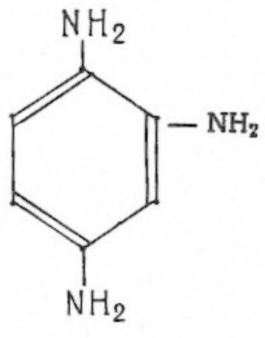
Ce mode de transformation métabolique a été prouvé pour divers azoïques, en particulier par Sisley et Porcher [307] pour l'*Orangé I* ou *p.sulfo.benzène.azo.I.naphtol* transformé en *acide p.sulfanilique*, par

Fuller ([120]) pour le *Rubiazol (Prontosil)* ou *p.sulfonamide.2'.4'.diamino-azobenzène*, transformé en *p.amino-phényl-sulfonamide*, par Stevenson,





P aminophényl sulfonamide



Triamino 1.2.4. benzène

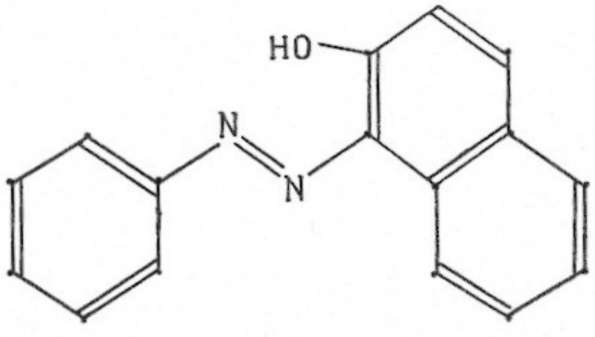
Dobriner et Rhoads ([313]) pour le *p.diméthyl-amino-azobenzène* transformé en *aniline* et *N-diméthyl-p.phénylène-diamine*, par Elson et Warren ([96]) pour l'*azobenzène*, par Daniel ([70]) pour le *Soudan I* ou *benzène-azo-naphtol.2.* et, plus récemment, par Radomski ([267]) pour le *Rouge Citrus* n. 2 ou diméthoxy.2.5.phénylazo.1.naphtol.2. (*).

Or, les composés aminés sont toxiques, et en particulier possèdent, en dehors de leur action sur le système nerveux central et le parenchyme hépatique, des propriétés méthémoglobinisantes dont le reflet morphologique est l'apparition de granulations de Heinz dans les hématies. Certains d'entre eux ont, par ailleurs, été reconnus indubitablement cancérogènes. C'est ainsi que la β-naphtylamine et la benzidine, dont le squelette se retrouve dans de nombreux colorants, provoquent, chez les sujets exposés à leur absorption prolongée, des cancers de la vessie ([338]). C'est d'ailleurs en raison de la présence dans leurs molécules d'un reste

(*) Il faut également citer, de ce point de vue, les résultats obtenus par action des levures ou des bactéries de la fermentation lactique sur divers azoïques par Riedel ([273]), Klammerth ([175]), Eisenbrand et Klauck ([93]), Eisenbrand et Pfeil ([94]), Lohrscheid ([200]) et Mecke et Schmahl ([216]). A cet égard, un grand intérêt s'attache à la connaissance des produits de dégradation métabolique des colorants ajoutés aux aliments prenant naissance sous l'influence des bactéries intestinales, car ils peuvent être résorbés, alors que leurs précurseurs ne le sont pas (voir à ce sujet, Radomski (J.L.) et Mellinger (T.J.); J. Pharmacol., 1962, 136 : 259).

de β-naphtylamine que, malgré les résultats négatifs de Badger et collaborateurs ([18]), chez la Souris, et de Sugiura ([317]), chez le Rat, nous avons combattu pour faire interdire en France l'emploi alimentaire des Jaunes AB et OB, aminazoïques qui avaient été autorisés pendant un certain temps (avril 1947 à octobre 1949) pour la coloration des margarines. Cette prudence était justifiée, car, depuis, ont été mis en évidence les effets de toxicité générale que nous avons rappelés plus haut et, par ailleurs, Druckrey et collaborateurs ([90]) ont ultérieurement observé un faible pourcentage (3 p. 100 environ) de tumeurs de localisations diverses (utérus, pancréas...), après administration très prolongée au Rat aussi bien de Jaune AB que de Jaune OB (*).

Pour prendre un autre exemple, la transformation métabolique en composé aminé explique peut-être que le *Soudan I* ou *phényl.azo.β.naphtol*,

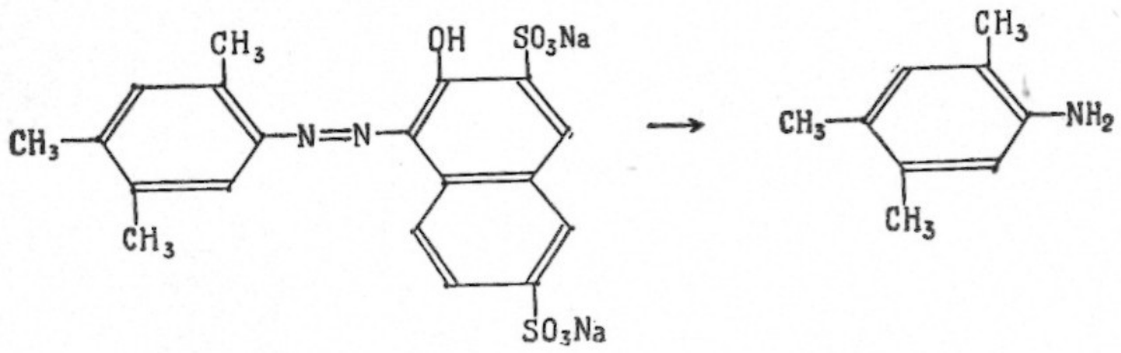


Soudan I

utilisé dans certains pays pour colorer les croûtes de fromages, ait été trouvé cancérogène par Kirby et Peacock ([173]), bien que ne possédant pas de fonction amine. On peut, en effet, penser ici à la production métabolique d'une ortho-hydroxynaphtylamine (amino.1.hydroxy.2. naphtalène), dont la structure est, comme l'a justement souligné Clayson ([60]), éminemment favorable à la manifestation de propriétés cancérogènes. De même, la production de granulations de Heinz, que nous avons observées dans les hématies du Rat ou du Chat soumis au *Ponceau 3 R* ou *Ponceau de Cumidine* (n. 213 de Schultz, n. 185 du Colour Index 1924 et n. 16.255 du Colour Index 1956), nous paraît pouvoir s'expliquer

(*) Hueper ([157]) a également obtenu chez le Rat un faible pourcentage de cancers, en l'espèce des cancers du foie, par administration de régimes renfermant 2,5 p. 100 de Jaune AB ou de Jaune OB. Il a, de plus, caractérisé par spectrographie, dans l'urine de chiens et aussi de sujets humains ayant ingéré l'un ou l'autre de ces deux colorants, une substance identique, ou tout au moins très proche de l'amino. 2.naphtol.1, produit de transformation métabolique de la β.naphtylamine reconnu cancérogène chez l'animal. (Bonser et coll.; Brit. J. Cancer, 1956, 10: 539 - Troll et coll.; Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1959, 100: 121).

par la transformation métabolique de ce colorant dans l'organisme animal avec production d'une Cumidine ou triméthyl.2.4.5.aniline.



Ponceau de Cumidine ou Ponceau 3 R — Cumidine (triméthyl 2.4.5.aniline)

Récemment, Grice et collaborateurs ([129]), soumettant des rats à l'administration prolongée pendant 65 semaines de régimes renfermant le colorant à des concentrations allant de 0,3 à 3 p. 100, ont observé, en dehors d'une diminution de poids chez les animaux femelles, l'apparition de lésions hépatiques à toutes les concentrations, et de cancers du foie aux concentrations de 1 et surtout de 3 p. 100 (7 animaux sur 30 porteurs de telles tumeurs). Le métabolisme du colorant, dont la composition sous sa forme commerciale est complexe, a été étudié, chez le Rat, par Lindstrom et Hansen ([198bis]) qui ont montré que les différentes Xylidines produites (isomères 2.4; 2.5 et 2.6) étaient oxydées, la première en acide aminobenzoïque, les deux autres en aminophénols. Du point de vue de la toxicité subaiguë, c'est la 2.4.xylidine qui est la plus nocive, au moins chez le Rat.

* * *

Tenant compte de l'éventualité de telles transformations métaboliques, les spécialistes de ces questions ont proposé de ne retenir pour des usages alimentaires que des colorants azoïques porteurs de groupes acides (groupes —SO_3H et COOH, ou même oxhydryles phénoliques) sur chacune des deux moitiés de la molécule, de façon que ne puissent être libérées, par réduction metabolique de la liaison azoïque N = N, que des amines sulfonées, carboxylées ou oxhydrylées.

Malheureusement, le respect de cette règle n'est pas suffisant pour être assuré d'une sécurité totale.

C'est ainsi que le *Bleu Trypan* a été reconnu cancérogène chez le Rat, par Gillman et collaborateurs ([121]) (76 sarcomes du foie sur 196 animaux soumis toutes les semaines à l'injection sous-cutanée de 0,5 ml d'une solution à 1 p. 100 du colorant), dont les constatations ont été