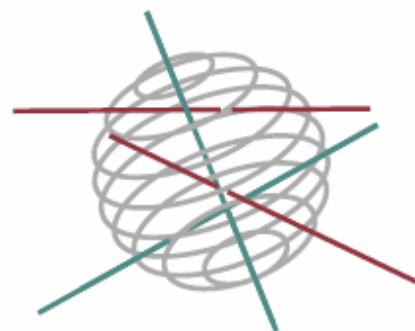


# SSD

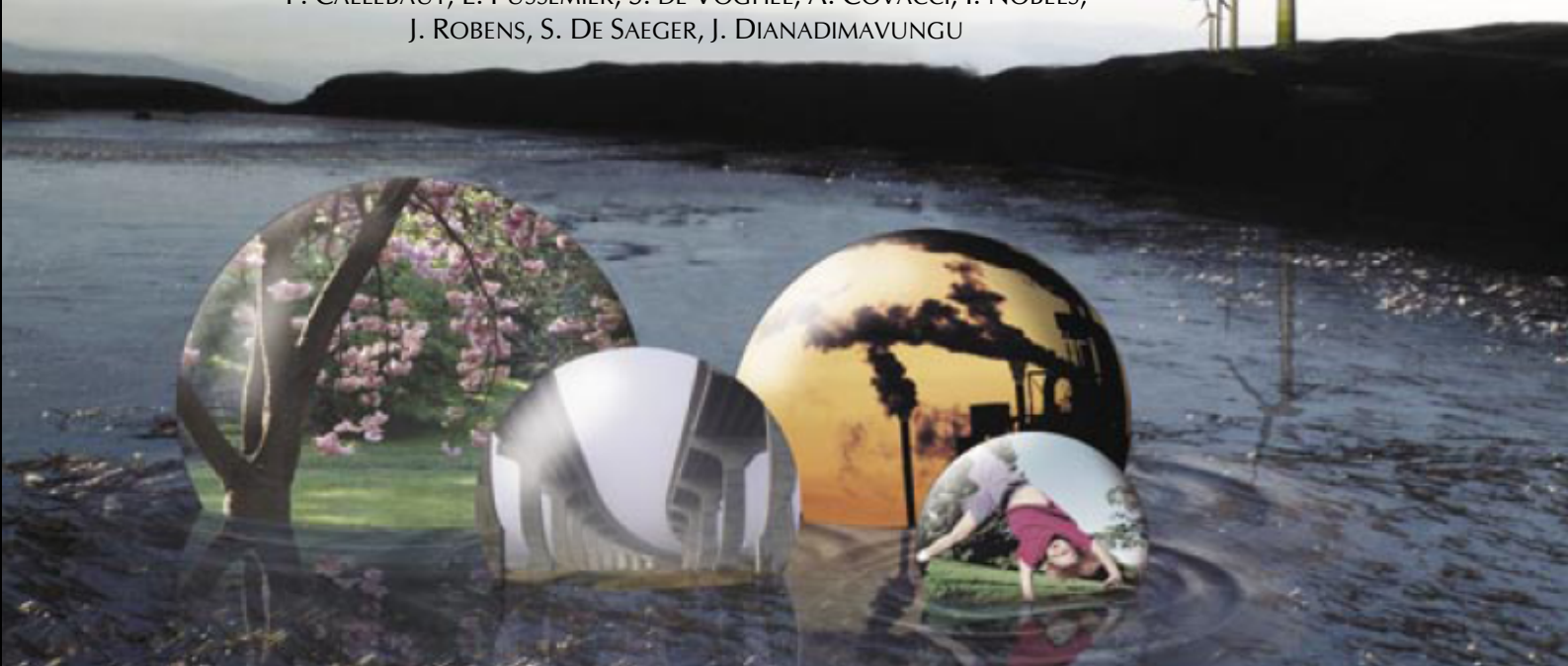
SCIENCE FOR A SUSTAINABLE DEVELOPMENT



**INTERACTIONS ALIMENTAIRES: EFFETS SUR LA SANTÉ,  
LA PERCEPTION DU CONSOMMATEUR ET  
L'IMPACT SUR LES INDUSTRIES AGROALIMENTAIRES**

**"FOODINTER"**

M. MORMONT, M. MULLER, G. MAGHUIN-ROGISTER, M.-L. SCIPPO,  
E. VAN DER HEIDEN, L. RIBONNET, Y. LARONDELLE, Y.-J. SCHNEIDER,  
F. CALLEBAUT, L. PUSSEMIER, S. DE VOGHEL, A. COVACCI, I. NOBELS,  
J. ROBENS, S. DE SAEGER, J. DIANADIMAVUNGU



ENERGY

TRANSPORT AND MOBILITY

AGRO-FOOD

HEALTH AND ENVIRONMENT

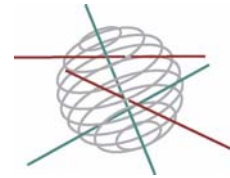
CLIMATE

BIODIVERSITY

ATMOSPHERE AND TERRESTRIAL AND MARINE ECOSYSTEMS

TRANSVERSAL ACTIONS

SCIENCE FOR A SUSTAINABLE DEVELOPMENT  
(SSD)



**Agroalimentaire**



RAPPORT FINAL PHASE 1  
RESUME

**INTERACTIONS ALIMENTAIRES: EFFETS SUR LA SANTÉ,  
LA PERCEPTION DU CONSOMMATEUR ET  
L'IMPACT SUR LES INDUSTRIES AGROALIMENTAIRES**

**"FOODINTER"**

**SD/AF/04A**

**Marie-Louise Scippo, Guy Maghuin-Rogister, Marc Muller  
Marc Mormont**

Université de Liège (ULg)  
Faculté de médecine vétérinaire  
Département des sciences des denrées alimentaires  
Bd de Colonster, 20, bat b43b, Sart Tilman, B-4000 Liège.  
TEL : + 32 4 366 40 40  
FAX : + 32 4 366 40 54  
MLScippo@ulg.ac.be

**Yves-Jacques Schneider, Yvan Larondelle**  
Université catholique de Louvain (UCL)

**Luc Pussemier**  
Centre d'Etudes et de recherches vétérinaires  
et agrochimiques (CERVA/CODA)

**Ronny Blust, Wim De Coen, Johan Robbens**  
Universiteit Antwerpen (UA)

**Sarah De Saeger, Carlos Van Peteghem**  
Universiteit Gent (UGent)

*Janvier 2009*



BELGIAN SCIENCE POLICY





Rue de la Science 8  
Wetenschapsstraat 8  
B-1000 Brussels  
Belgium  
Tel: +32 (0)2 238 34 11 – Fax: +32 (0)2 230 59 12  
<http://www.belspo.be>  
project website : <http://www.adaoa.ulg.ac.be/foodinter.htm>

Contact person: Christine Mathieu  
+32 (0)2 238 34 93

Neither the Belgian Science Policy nor any person acting on behalf of the Belgian Science Policy is responsible for the use which might be made of the following information. The authors are responsible for the content.

No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without indicating the reference :

Marc Mormont, Marc Muller, Guy Maghuin-Rogister, Marie-Louise Scippo, Edwige Van der Heiden, Laurence Ribonnet, Yvan Larondelle, Yves-Jacques Schneider, Fons Callebaut, Luc Pussemier, Simon de Voghel, Adrian Covacci, Ingrid Nobels, Johan Robens Sarah De Saeger, José Dianadimavungu. ***Interactions alimentaires: effets sur la santé, la perception du consommateur et l'impact sur les industries agroalimentaires "Foodinter"***  
Résumé Phase 1 – Bruxelles : Politique scientifique fédérale 2009 – 8 p. (Programme de recherche « La science pour un Développement Durable »)

## RESUME

Les compléments alimentaires ainsi que les aliments fonctionnels occupent une place de plus en plus importante dans l’alimentation occidentale. Ces compléments alimentaires (comme par exemple les vitamines, les antioxydants, les hormones, les acides aminés, les nutriments), ainsi que les aliments fonctionnels (comme par exemple les phytostérols, les aliments enrichis en acides gras oméga 3) sont à la frontière de l’aliment et du médicament (on parle parfois d’« alicament »). Les préparations à base de plantes représentent une part importante de ce type d’aliments (ex : isoflavones de soja).

Dans beaucoup de cas, il reste énormément d’inconnues en ce qui concerne ces produits, comme par exemple l’identification des ingrédients actifs, la présence d’impuretés ou de composés toxiques, les effets du processus de production, ainsi que leur absorption et leur métabolisation au niveau du corps humain.

Dans le passé, la toxicologie en général (et des denrées alimentaires en particulier) était focalisée sur l’étude de la toxicité d’une substance à la fois. La toxicité due à l’interaction de plusieurs substances (la toxicologie des mélanges) n’en est qu’à ses balbutiements. Or, il est connu que certaines interactions peuvent conduire à des effets additifs ou synergiques en ce qui concerne leur toxicité, et c’est ce qui est étudié dans le projet FOODINTER.

De plus, ce projet a pour but de promouvoir la communication entre les scientifiques et les parties prenantes (autorités, producteurs et consommateurs) du monde des compléments alimentaires. Dans le domaine de l’alimentation, il s’agit d’un aspect important car la sécurité alimentaire ne dépend pas seulement du mode de production et des contrôles, mais aussi des habitudes de consommation. Il est donc capital de communiquer des informations adéquates aux consommateurs. L’objectif du projet est de promouvoir la communication dans les deux sens, c’est-à-dire également des consommateurs vers les scientifiques, de manière de permettre aux scientifiques d’identifier les préoccupations des consommateurs et les besoins en terme de recherche.

L’objectif de ce projet est donc de contribuer à l’évaluation des risques liés aux substances chimiques, composants naturels et contaminants environnementaux présents dans les suppléments alimentaires, et qui pourraient interagir entre eux ou avec des composants du régime alimentaire normal.

Les interactions sont étudiées dans ce projet au moyen de modèles *in vitro* (bases sur la culture de plusieurs types cellulaires, procaryotes ou eucaryotes), avec des mélanges de substances se trouvant à des concentrations qui n’ont pas encore été étudiés jusqu’à présent, c’est-à-dire proches de la situation réelle en nutrition humaine. Nous tenterons d’extrapoler les résultats obtenus *in vitro* à des risques réels pour la santé humaine.

Dans la phase I du projet FOODINTER, nous avons réalisé 3 étapes :

1. Collecte d’informations
2. Collecte d’échantillons de compléments alimentaires, analyse des contaminants chimiques, identification et analyse des ingrédients actifs, et réalisation d’une banque de données
3. Tests biologiques *in vitro*

## **1. Collecte d'informations**

Plusieurs sources d'information furent consultées de manière à collecter des informations sur les compléments alimentaires et à préparer la collecte des échantillons nécessaires pour les analyses.

La directive européenne 2002/46/EC définit le complément alimentaire comme *“les denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés, commercialisés sous forme de doses, à savoir les formes de présentation telles que les gélules, les pastilles, les comprimés, les pilules et autres formes similaires, ainsi que les sachets de poudre, les ampoules de liquide les flacons munis d'un compte-gouttes et les autres formes analogues de préparations liquides ou en poudre destinées à être prises en unités mesurées de faible quantité”*. Quelques exemples de compléments alimentaires : ampoules d' « oméga-3 », comprimés de vitamine A, comprimés multi-vitamines et multi-minéraux, gélules d'extraits de plante comme la valériane, l'ail,...

Ce projet s'intéresse aux préparations à base de plantes commercialisées en tant que suppléments alimentaires.

En Belgique, la réglementation concernant les compléments alimentaires repose sur deux arrêtés royaux. Le premier s'intéresse aux nutriments et à leur utilisation dans des compléments alimentaires (AR 3/03/92). Les compléments alimentaires y sont définis comme *“ les denrées alimentaires prédosées dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui sont constituées d'un ou plusieurs nutriments, plantes, préparations de plantes ou autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique”*, tandis que les nutriments sont définis comme *“les substances nutritives dont l'organisme humain a besoin et qu'il ne peut pas produire normalement lui-même et dont une quantité suffisante doit être apportée à l'organisme par les denrées alimentaires”*.

Cet arrêté royal indique que, pour être commercialisé en Belgique, un complément alimentaire doit faire l'objet d'une notification auprès des autorités compétentes. Des concentrations minimales et maximales en terme de % de l'apport journalier recommandé y sont fixées pour différents nutriments utilisés dans les compléments alimentaires.

Le second arrêté royal concerne les plantes et préparations de plantes (AR 29/08/1997). Il indique une liste de plantes dangereuses strictement interdites, ainsi qu'une liste de plantes autorisées pour la consommation directe ou comme ingrédients de préparations.

L'étude de consommation alimentaire réalisée par l'Institut Scientifique de la Santé Publique en 2004 nous fournit des indications sur la consommation des compléments alimentaires en Belgique (De Vriese et al, 2006). L'étude a montré que 12% de la population a introduit la consommation de compléments alimentaires dans son régime alimentaire.

L'opinion des consommateurs a été recueillie par l'intermédiaire d'enquêtes sur le terrain ou l'organisation de « focus groups ».

Une première analyse des résultats indique que :

- 1) les consommateurs ne savent pas exactement quels types de produits peuvent être réellement appelés compléments alimentaires

- 2) les femmes consomment plus de compléments alimentaires que les hommes
- 3) 37% des personnes interrogées consomment des compléments alimentaires de leur propre initiative, sans avis médical
- 4) Renforcer le système immunitaire et lutter contre la fatigue ressortent comme les principales raisons qui poussent le consommateur à prendre des compléments alimentaires
- 5) Les consommateurs de compléments alimentaires sont des consommateurs réguliers mais dépensent moins de 50 euros par mois
- 6) La plupart des consommateurs lisent les étiquettes des compléments alimentaires et croient ce qui y est indiqué (en termes de bénéfices pour la santé)
- 7) La majorité des consommateurs pensent que les compléments alimentaires sont des produits « naturels », mais semblent conscients que la prise simultanée de médicaments pourrait être dangereuse.

## **2. Collecte d'échantillons de compléments alimentaires, analyse des contaminants chimiques, identification et analyse des ingrédients actifs, et réalisation d'une banque de données**

Nous avons finalement choisi 6 catégories de suppléments alimentaires, à base de plantes.

- **Ail ou Garlic (G):** Diminue la tension artérielle
- **Ginkgo biloba (B):** Améliore la circulation sanguine et l'oxygénation du cerveau;
- **Millepertuis ou Sint-John's Wort (W):** contre la dépression
- **Isoflavones de soja (I):** Réduit les effets de la ménopause
- **Maca (M):** Stimule la libido et limite les désordres sexuels
- **Radis noir ou Black radish (R):** Stimule la sécrétion de la bile et l'activité intestinale

Au total, nous avons acheté 61 échantillons, dont 37 via internet, 18 en pharmacie et 7 en boutique spécialisées. Vingt cinq étaient notifiés en Belgique tandis que 36 ne l'étaient pas ( la plupart provenaient d'internet). Ces échantillons ont été utilisés pour l'analyse de contaminants chimiques, des ingrédients actifs et pour les analyses biologiques *in vitro*.

Une base de données est progressivement compilée, reprenant toutes les informations pertinentes concernant les compléments alimentaires sélectionnés : les contaminants chimiques détectés, les ingrédients actifs, l'apport recommandé, les résultats des tests *in vitro*.

## **Analyse des contaminants chimiques**

### **Analyse des éléments minéraux**

Dix-sept éléments métallique ne trace (As, Ba, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, Ti, Tl, Zn) ont été quantifiés par ICP-MS (inductively coupled plasma with mass spectrometer). Le mercure (Hg) a été quantifié par AMA (Advanced Mercury Analyzer).

Nous avons détecté 10 échantillons non conformes avec la législation belge pour les teneurs maximales en métaux (7 échantillons présentaient des teneurs trop élevées en plomb et 3 autres échantillons, des teneurs trop élevées en plomb et en cadmium).

### **Analyse des mycotoxines**

Les mycotoxines analysées sont : nivalenol (NIV), deoxynivalenol (DON), neosolaniol (NEO), fusarenon-X (F-X), 3-acetyldeoxynivalenol (3-ADON), 15-acetyldeoxynivalenol (15-ADON), diacetoxyscirpenol (DAS), HT-2 toxin (HT-2), T-2 toxin (T-2), aflatoxin B1 (AFB1), aflatoxin B2 (AFB2), aflatoxin G1 (AFG1), aflatoxin G2 (AFG2), ochratoxin A (OTA), altenuen (ALT), alternariol (AOH), alternariol methylether (AME), fumonisin B1 (FB1), fumonisin B2 (FB2), fumonisin B3 (FB3), zearalenon (ZEA), beauvericin (BEAU), sterigmatocystin (STERIG). L'analyse a été réalisée par RP-LC-ESI-MS-MS (reversed-phase liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry).

Les mycotoxines FB1, FB2, FB3 and OTA ont été détectées dans quelques échantillons. Dans 2 cas (un échantillon de Gingko Biloba et un autre de Maca), OTA se trouvait à un niveau supérieur à 2 µg/kg (la limite européenne pour le vin et le raisin de vinification, Règlement 1881/2006/EC). Les concentrations de FB1, FB2 and FB3 étaient bien inférieures à 800 µg/kg (la limite européenne pour FB1 et FB2 dans les céréales, Règlement 1881/2006/EC) dans tous les échantillons.

### **Analyse des hydrocarbures aromatiques polycycliques**

Une méthode HPLC/UV-FLD (High performance liquid chromatography coupled to an ultraviolet, diode array or fluorescence detector) a été utilisée pour la détection d'une liste de 16 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs).

Les résultats ont montré que les échantillons de millepertuis et ginkgo biloba présentaient les contaminations les plus élevées.

Une analyse de risque rapide indique que 5 échantillons sur les 61 analysés, pourraient présenter un risque pour la santé publique (dépassement d'une limite acceptable d'ingestion). Il s'agit d'un échantillon de raids noir, 2 échantillons de millepertuis, un de ginkgo biloba et un d'ail. Ils sont tous non notifiés

### **Analyse de pesticides organochlorés, de polychlorobiphényles (PCBs), de polybromodiphényléthers (PBDE) et de dioxines dans les préparations huileuses**

Seuls 6 échantillons (les préparations huileuses) ont été soumis à ces analyses. De très faibles quantités de p,p'-DDE ou p,p'-DDD (< 10 µg/Kg) ont été dans 3 échantillons d'ail, mais bien

en dessous de la limite légale de 50 µg/Kg pour la somme des DDT. Les dioxines, PCBs et les PBDEs étaient en quantités inférieures à la limite de quantification de la méthode.

### **Identification analyse des ingrédients actifs**

Les ingrédients actifs des compléments alimentaires sélectionnés dans ce projet ont été identifiés grâce à la littérature scientifique.

Ils sont listés dans le tableau ci-dessous.

St. John's wort	Ginkgo biloba	Soy isoflavones	Black Radish	Garlic	Maca	
Hypericin	Ginkgolide A	Genistein	L-sulforaphane	Garlic oil	lepidilin A	
Hyperforin	Ginkgolide B	Daidzein	DL-sulforaphane	S-allyl cysteine	Lepidlin B	
	Ginkgolide C	Glycetein	Glucoraphanin	Allicin	Macaridin	
	Ginkgolide J				MTCA	
	bilobalide					
	Isorhamnetin					
	kaempferol					
	Quercetin					

Ces ingrédients actifs sont analysés au moyen de méthodes physico-chimiques (HPLC ou LC-MS) de manière à déterminer leur teneur réelle dans les compléments alimentaires sélectionnés dans ce projet. Les ingrédients actifs du radis et noirs ont été analysés jusqu’à présent, les autres étant en cours d’analyse.

Le but de ce projet est de déterminer les effets de ces ingrédients actifs sur certaines fonctions physiologiques, au moyen de tests *in vitro*.

De manière à réaliser ces tests *in vitro* à des concentrations plausibles en ingrédients actifs, nous avons calculé ce que nous appelons des concentrations de travail, ce qui correspond à des concentrations plausibles en ingrédients actifs au niveau de la lumière intestinale, en tenant compte de la concentration en ingrédient actif dans le complément alimentaire et de l’ingestion quotidienne recommandée.

Jusqu’à présent, des concentrations de travail ont été calculées pour les ingrédients actifs du millepertuis, du ginkgo biloba et des isoflavones de soja.

### **3. Analyses biologiques *in vitro***

Les ingrédients actifs ont été analysés *in vitro* au moyen d’un panel de tests, qui permettent d’étudier :

- la toxicité générale de l’ingrédient actif, sur bactéries et cellules eucaryotes (HepG2 et Caco2),



- l'effet de l'ingrédient actif sur des gènes cibles impliqués dans le stress oxydant, le stress cellulaire, des délétions membranaires ou au niveau de l'ADN,
- l'effet hormonal ou de type dioxine, au moyen de tests de type « gène rapporteur »
- l'effet sur l'activité des CYP1A1 et CYP3A4 humains au niveau intestinal

Ces analyses sont en cours et continuerons dans la phase 2 du projet. Les résultats détaillés obtenus jusqu'à présent sont présentés dans le texte.

Par exemple, nous avons montré que certains ingrédients actifs du ginkgo biloba (des flavonoïdes comme l'isorhamnétine, le kaempferol et la quercétine) sont capables d'inhiber l'activation, par la dioxine, du récepteur des hydrocarbures aromatiques, et ce dans des cellules d'hépatome humain (HepG2). Ces mêmes substances sont capables d'inhiber l'activité du CYP1A induite par le BaP, dans des cellules intestinales humaines (Caco2).

Ce type d'activité pourrait être considéré comme bénéfique pour la santé, en inhibant la transformation des HAPs en métabolites toxiques (mutagènes).

Il est bien trop tôt cependant pour tirer des conclusions.

Cela ne pourra être fait que lorsque nous disposerons (en fin de phase 2) d'un tableau complet des effets des ingrédients actifs sur les fonctions physiologiques ciblées par nos tests *in vitro*, ainsi que des effets de mélanges d'ingrédients actifs et de contaminants (tous deux à des concentrations plausibles), et enfin des échantillons de compléments alimentaires eux-mêmes.