

L'acrylamide, contaminant alimentaire cancérogène méconnu ?

Céline Klein

▶ **To cite this version:**

Céline Klein. L'acrylamide, contaminant alimentaire cancérogène méconnu ?. Sciences pharmaceutiques. 2007. hal-01731696

HAL Id: hal-01731696
https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01731696

Submitted on 14 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

T/PH/N/2007/90

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ – NANCY I

2007

FACULTÉ DE PHARMACIE

L'ACRYLAMIDE, CONTAMINANT ALIMENTAIRE CANCÉROGÈNE MÉCONNU ?

BIBLIOTHÈQUE PHARMACIE ODONTOLOGIE NANCY

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement

Le 17 décembre 2007

Pour obtenir

Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Par Céline KLEIN

née le 26 mai 1979 à Strasbourg (67)

Membres du jury

Président : M. Bertrand RIHN, Professeur, Faculté de Pharmacie, Nancy

Juges : M. Luc MEJEAN, Professeur, ENSAIA-INPL, Vandoeuvre-lès-Nancy

M. Luc FERRARI, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie, Nancy

BU PHARMA-ODONTOL
D 104 078035 3

PPN 121106136
BIU 190805

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ – NANCY I

2007

FACULTÉ DE PHARMACIE

L'ACRYLAMIDE, CONTAMINANT ALIMENTAIRE CANCÉROGÈNE MÉCONNU ?

BIBLIOTHÈQUE PHARMACIE MYCOLOGIE NANCY

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement

Le 17 décembre 2007

Pour obtenir

Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Par Céline KLEIN

née le 26 mai 1979 à Strasbourg (67)

Membres du jury

Président : M. Bertrand RIHN, Professeur, Faculté de Pharmacie, Nancy

Juges : M. Luc MEJEAN, Professeur, ENSAIA-INPL, Vandoeuvre-lès-Nancy

M. Luc FERRARI, Maître de Conférences, Faculté de Pharmacie, Nancy

UNIVERSITE Henri Poincaré - Nancy 1
FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN
Chantal FINANCE
Vice-Doyen
Francine PAULUS

Président du Conseil de la Pédagogie
Pierre LABRUDE
Responsable de la Commission de la Recherche
Jean-Claude BLOCK
Directeur des Etudes
Gérald CATAU

Responsable de la Commission des Relations Internationales
Janine SCHWARTZBROD
Responsable de la Communication
Francine KEDZIEREWICZ
Responsable de la Commission Hygiène Sécurité
Laurent DIEZ

Responsable de la filière Officine : Gérald CATAU

Responsables de la filière Industrie : Isabelle LARTAUD
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Responsable du CEPH : Jean-Michel SIMON
(Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier)

Doyen Honoraire : Claude VIGNERON

Professeur Emérite : Gérard SIEST

Professeurs Honoraires
Honoraires

Roger BONALY
Thérèse GIRARD
Maurice HOFFMAN
Michel JACQUE
Lucien LALLOZ
Pierre LECTARD
Vincent LOPPINET
Marcel MIRJOLET
François MORTIER
Maurice PIERFITTE
Louis SCHWARTZBROD

Maîtres de Conférences

Marie-Claude FUZELLIER
Marie-Andrée IMBS
Marie-Hélène LIVERTOUX
Jean-Louis MONAL
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

Assistante Honoraire
Madame BERTHE

ENSEIGNANTS

PROFESSEURS

Alain ASTIER (en disponibilité) ..... Pharmacie clinique
Jeffrey ATKINSON ..... Pharmacologie
Gilles AULAGNER ..... Pharmacie clinique
Alain BAGREL ..... Biochimie
Jean-Claude BLOCK ..... Santé publique
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON ..... Pharmacologie cardiovasculaire
Chantal FINANCE ..... Virologie, Immunologie
Pascale FRIANT-MICHEL ..... Mathématiques, Physique, Audioprothèse
Marie-Madeleine GALTEAU..... Biochimie clinique
Christophe GANTZER ..... Microbiologie environnementale
Max HENRY ..... Botanique, Mycologie
Jean-Yves JOUZEAU ..... Bioanalyse du médicament
Pierre LABRUDE ..... Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile
Dominique LAURAIN-MATTAR..... Pharmacognosie
Isabelle LARTAUD..... Pharmacologie
Pierre LEROY..... Chimie physique générale
Philippe MAINCENT..... Pharmacie galénique
Alain MARSURA..... Chimie thérapeutique
Jean-Louis MERLIN..... Biologie cellulaire oncologique
Alain NICOLAS..... Chimie analytique
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS..... Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN..... Biochimie, Biologie moléculaire
Janine SCHWARTZBROD ..... Bactériologie, Parasitologie
Jean-Michel SIMON..... Economie de la santé, Législation pharmaceutique
Claude VIGNERON..... Hématologie, Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES

Monique ALBERT..... Bactériologie, Virologie
Sandrine BANAS..... Parasitologie
Mariette BEAUD..... Biologie cellulaire
Emmanuelle BENOIT..... Communication et Santé
Michel BOISBRUN..... Chimie thérapeutique
Catherine BOITEUX..... Biophysique, Audioprothèse
François BONNEAUX..... Chimie thérapeutique
Cédric BOURA..... Physiologie
Gérald CATAU..... Pharmacologie
Jean-Claude CHEVIN..... Chimie générale et minérale
Igor CLAROT..... Chimie analytique
Jocelyne COLLOMB..... Parasitologie, Organisation animale
Joël COULON..... Biochimie
Sébastien DADE..... Bio-informatique
Bernard DANGIEN..... Botanique, Mycologie
Dominique DECOLIN..... Chimie analytique
Béatrice DEMORE..... Pharmacie clinique
Joël DUCOURNEAU..... Biophysique, Audioprothèse, Acoustique
Florence DUMARCAY..... Chimie thérapeutique
François DUPUIS..... Pharmacologie
Raphaël DUVAL..... Microbiologie clinique

Béatrice FAIVRE.....Hématologie
Luc FERRARI..... Toxicologie
Stéphane GIBAUD..... Pharmacie clinique
Françoise HINZELIN..... Mycologie, Botanique
Thierry HUMBERT.....Chimie organique
Frédéric JORAND..... Santé et Environnement
Francine KEDZIEREWICZ.....Pharmacie galénique
Alexandrine LAMBERT.....Informatique, Biostatistiques
Brigitte LEININGER-MULLER..... Biochimie
Stéphanie MARCHAND..... Chimie physique
Faten MEHRI-SOUSSI.....Hématologie biologique
Patrick MENU..... Physiologie
Christophe MERLIN.....Microbiologie environnementale et moléculaire
Blandine MOREAU.....Pharmacognosie
Dominique NOTTER.....Biologie cellulaire
Francine PAULUS.....Informatique
Christine PERDICAKIS..... Chimie organique
Caroline PERRIN-SARRADO..... Pharmacologie
Virginie PICHON..... Biophysique
Anne SAPIN..... Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER.....Mycologie, Botanique
Nathalie THILLY.....Santé publique
Gabriel TROCKLE.....Pharmacologie
Mohamed ZAIOU.....Biochimie et Biologie moléculaire
Colette ZINUTTI..... Pharmacie galénique

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER..... Sémiologie

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD..... Anglais

ASSISTANT

Annie PAVIS.....Bactériologie

SERVICE COMMUN DE DOCUMENTATION DE L'UNIVERSITE (SCD)

Anne-Pascale PARRET..... Directeur
Frédérique FERON.....Responsable de la section Pharmacie-Odontologie

SERMENT DES APOTHICAIRES

je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

Ð' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

Ð'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

Ðe ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

In memoriam

Professeur Anne-Marie BATT

Vous vous êtes intéressée à mon travail et vous m'avez encouragé dès son commencement. Je vous remercie pour vos encouragements et votre soutien sincère. Vous m'avez aussi transmis votre intérêt pour la toxicologie à travers vos enseignements à la faculté. J'ai essayé de rendre ce travail aussi intéressant que vous savez le faire. Je n'oublie pas non plus vos grandes qualités humaines comme votre générosité, votre gentillesse et votre écoute des autres.

Ce travail est pour vous, il vous est dédié.

Ma plus profonde gratitude s'adresse à Monsieur Bertrand RIHN, Professeur à la faculté de Pharmacie de Nancy.
Vous m'avez fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse. Merci pour votre disponibilité et pour avoir pris tout le temps nécessaire pour suivre et soutenir mon travail. Je vous remercie pour vos précieux conseils dans la rédaction de ce mémoire ainsi que pour votre confiance et votre enthousiasme. Veuillez trouver ici le témoignage de mon plus profond respect et de ma plus vive reconnaissance.

En acceptant d'être membres du jury de cette thèse, Monsieur Luc MEJEAN, Professeur à l'ENSAIA à Nancy, et Monsieur Luc FERRARI, Maître de Conférences à la faculté de Pharmacie de Nancy, m'ont fait un grand honneur. Merci de l'intérêt que vous portez à ce travail. Veuillez trouver ici mes sincères remerciements.

Je profite également de ces remerciements pour exprimer toute ma gratitude à tous les enseignants de la faculté de Pharmacie de Nancy et de l'ENSAIA pour m'avoir transmis leurs connaissances et pour avoir toujours été disponibles. Je remercie aussi les différentes équipes des laboratoires de la faculté ou d'ailleurs m'ayant accueillies pendant divers stages, avec une pensée toute particulière à l'équipe du laboratoire de toxicologie génétique des contaminants alimentaires de l'AFSSA de Fougères (35). Je pense en particulier à Monsieur Jean-Michel POUL, chef de cette unité, et à Mademoiselle Isabelle MANIERE, thésarde. Une grande partie de cette thèse repose sur les connaissances que vous m'avez transmises et ce mémoire n'aurait pas vu le jour sans votre aide.

A tous mes amis,

Valérie, mon amie de toujours, tous les souvenirs passés et à venir sont chers à mon cœur. Merci pour ta présence fidèle et ton écoute. Merci aussi pour ta générosité et ton altruisme.

Cendrine, pour tous les souvenirs et « expérimentations artistiques » passés ensemble. Pour toutes les rigolades et les moments d'insouciance sur les bancs du lycée.

A l'équipe de la faculté,
Delphine, ton amitié sans faille et pour m'avoir toujours tendu la main. Je te renvoie un merci pour ton soutien et tes encouragements. Pour ton enthousiasme constant, ton dynamisme et ta grandeur d'âme.
Agathe, Carole, Audrey, Julie.
Pour tous nos moments partagés et tout ce que vous m'avez apporté lors de nos années étudiantes. Vous avez rendu ces six années inoubliables.

A l'équipe de l'ENSAIA,
Katia, Laurence, Racha.
Katia pour ta force de caractère, ta constante bonne humeur et ta soif de découvertes.
Les deux ans passés ensemble m'ont permis de poursuivre et finir les études en beauté !

Mes pensées vont souvent vers vous, même si je ne vous vois pas souvent…

Je finirai par ma famille qui a une valeur inestimable à mes yeux.
A mes parents,
A mes grands parents,
A ma sœur.
A tous ceux qui ne sont pas là aujourd'hui pour partager ce moment avec nous.

Pour le soutien et le dévouement dont vous avez fait preuve toutes ces années.
Un éternel merci à ceux sans qui rien n'aurait été possible, mes parents bien sûr ! L'amour qu'ils me portent a toujours été sans faille.

Recevez ce mémoire en guise de remerciement et de témoignage de mon amour.

J'adresse aussi un clin d'œil tout particulier à Yvette et Léo. Merci pour votre aide très précieuse et enthousiaste lors de la rédaction de ce mémoire ainsi que pour votre accueil toujours chaleureux et agréable.

Merci par dessus tout à Loïc d'exister si pleinement.

MERCI à toutes et à tous !

TABLE DES MATIÈRES



INTRODUCTION 1

1. L'acrylamide : chimie et utilisation 3

1.1. Propriétés physiques et chimiques 3
Formules chimiques 3
Propriétés physiques 3
Propriétés chimiques 4
Formation d'adduits avec les protéines 5
Formation d'adduits avec l'ADN 6
Autres réactions de l'acrylamide 6

1.2. Production et utilisation 7
Production 7
Utilisation 7

2. Formation de l'acrylamide dans les aliments 9

2.1. La réaction de Maillard 9
Louis-Camille Maillard 9
La réaction de Maillard et ses conséquences sur les caractères organoleptiques des aliments et de la santé humaine 10
Les différentes étapes de la réaction 12

2.2. Formation de l'acrylamide dans les aliments par la réaction de Maillard 16
Mécanisme détaillé de la formation d'acrylamide par la réaction de Maillard 17
Acides aminés et glucides réducteurs nécessaires 19
Acides aminés
Glucides réducteurs
Paramètres jouant un rôle dans la formation de l'acrylamide 20
Autres mécanismes 23

3. Dosage de l'acrylamide dans les aliments 24

3.1. Méthodes de dosage 24
Groupes de travail internationaux 24
Schéma général pour l'analyse de l'acrylamide dans les aliments 25
Chromatographie en phase gazeuse 26
Chromatographie liquide haute performance 26

3.2. Taux en acrylamide de différents groupes d'aliments 27

4. Métabolisme de l'acrylamide 31

5. Etude de toxicité de l'acrylamide 35

5.1. Principe de l'évaluation des risques liés aux contaminants alimentaires 35

5.2. Quels sont les risques de toxicité due à l'acrylamide ? 36
5.2.1. Toxicité aiguë 36
5.2.2. Toxicité nerveuse 37
5.2.3. Toxicité sur la reproduction et le développement 38
5.2.4. Génotoxicité 39
5.2.4.1. Généralités sur la génotoxicité 39
Relation entre mutations et cancer 42
Prévention 43
La toxicité génétique et l'identification du risque : les tests de génotoxicité 44
5.2.4.2. Génotoxicité de l'acrylamide 45
Potentiel génotoxique de l'acrylamide et du glycidamide 45
Acrylamide
Glycidamide
Conclusion
Adduits de l'acrylamide et du glycidamide à l'ADN 47
Conclusion sur la génotoxicité de l'acrylamide 50

5.2.5. Cancérogénicité 51
5.2.5.1. Etudes chez l'animal 51
5.2.5.2. Etudes chez l'homme 52
Exposition professionnelle 52
Exposition par les aliments 53

6. Données d'exposition 55

6.1. Méthodes de détermination de l'exposition à l'acrylamide 55

6.2. Taux d'exposition 56
Exposition par les aliments 58
Exposition professionnelle 60
Exposition par le tabac 60
Autres sources d'exposition 60

7. Quel est le risque pour le consommateur ? 61

Identification du danger et évaluation de la relation dose-réponse 61
Neurotoxicité 61
Toxicité sur la reproduction et le développement 62
Génotoxicité et cancérogénicité 62
Caractérisation du risque 63
Gestion du risque : recommandations des experts 64

8. Comment réduire les quantités d'acrylamide dans les aliments ?..... 66

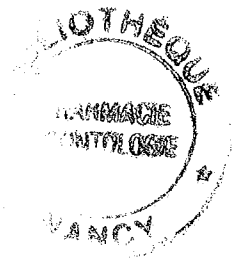
CONCLUSION..... 68
LISTE DES FIGURES..... 70
LISTE DES TABLEAUX..... 72
LISTE DES ANNEXES..... 73
RÉFÉRENCES..... 74
ANNEXES..... 83

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Adduit	Les adduits sont des produits d'addition c'est-à-dire des espèces chimiques dont chaque entité moléculaire est formée par combinaison directe entre deux entités moléculaires distinctes. « Adduit » est la contraction de « addition » et de « produit », par analogie à l'anglais « *adduct* », contraction de « *addition* » et de « *product* ».
AFSSA	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
CIRC	Centre International de Recherche sur le Cancer
CLHP	Chromatographie Liquide Haute Performance
DJA	Dose Journalière Admissible
DL_{50}	Dose Létale 50
DSB	*Double-Stranded Break*
EC	*European Commission*
EH	Epoxyde Hydrolase
EPA	*U. S. Environmental Protection Agency*
FAO	*Food and Agriculture Organization of the united nations*
FDA	*Food and Drug Administration*
GSH	Glutathion
GST	Glutathion-S-Transférase
HDC	*Highly Damaged Cells*
HEATOX	*Heat-generated Food Toxicants*
IARC	*International Agency for Research on Cancer*
INRS	Institut National de Recherche et de Sécurité
JECFA	*Joint Expert Committee on Food Additives*
JIFSAN	*Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition*
JRC	*Joint Research Centre*
LERQAP	Laboratoire d'Etudes et Recherches sur la Qualité des Aliments et les Procédés agroalimentaires
MM	Masse Molaire (g/mol)

MMS	Méthylméthanesulfonate
NCFST	*National Center for Food Safety and Technology*
NOAEL	*No Observed Adverse Effect Level*
NRC	*National Research Council*
OMS	Organisation Mondiale de la Santé (en anglais *WHO*)
OTM	*Olive Tail Moment*
P450	Monooxygénase cytochrome P450 dépendante
SCGE	*Single Cell Gel Electrophoresis*
SFT	Société Française de Toxicologie
SNFA	*Swedish National Food Administration*
SSB	*Single-Stranded Break*
WHO	*World Health Organization* (en français OMS)

INTRODUCTION



L'acrylamide est une substance chimique utilisée depuis les années 50 dans différentes applications industrielles surtout sous forme de polymère, le polyacrylamide, comme floculant pour le traitement des eaux notamment. Chez l'homme, les effets toxiques de l'acrylamide sur le système nerveux faisant suite à une importante exposition professionnelle ou accidentelle sont bien connus. Des travaux ont aussi montré que l'acrylamide est génotoxique, perturbe la reproduction et le développement et entraîne des cancers chez les animaux de laboratoire. Ce composé a en effet été classé comme cancérogène probable (groupe 2A) par le CIRC (ou *IARC*, respectivement Centre International de Recherche sur le Cancer et *International Agency for Research on Cancer*) en 1994 et comme cancérogène de catégorie 2 et mutagène de catégorie 2 par l'union européenne. Le *JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives ; FAO, Food and Agriculture Organization ; WHO, World Health Organization* ou OMS, Organisation Mondiale de la Santé) considère qu'il existe un risque préoccupant pour la santé humaine lié à la cancérogénicité de l'acrylamide.

En avril 2002, des chercheurs suédois (de l'université de Stockholm et de l'Administration nationale suédoise de l'alimentation ou *Swedish National Food Administration, SNFA*) ont montré pour la première fois que la cuisson à haute température de certains aliments, en particulier les aliments d'origine végétale riches en glucides tels que les frites, les chips, le café, la pâtisserie, le pain et les céréales, pouvait entraîner la formation d'acrylamide dans des quantités relativement élevées et inattendues. C'est le composé alimentaire néoformé lors de la cuisson des aliments découvert le plus récemment.

Peu après la découverte d'acrylamide dans certaines denrées, différents laboratoires indépendants ont entrepris des recherches sur la formation de ce composé et ont établi que l'acrylamide était formé par la réaction de Maillard (ou réaction de brunissement non enzymatique), une réaction qui entraîne la formation d'arômes et de couleur (brunissement) dans certains types d'aliments cuits par réaction entre des acides aminés et des sucres.

Depuis l'apparition du problème en 2002, la *FAO* et l'OMS ont été consultées pour l'évaluation du risque concernant l'acrylamide dans les aliments. Un colloque organisé par l'OMS a eu lieu en juin 2002 à Genève (*WHO*, 2002) et a fourni des éléments sur les méthodes d'analyse, les risques toxicologiques et les mécanismes supposés de formation de l'acrylamide. Suite à ce colloque, il a été décidé de poursuivre les études sur l'acrylamide, notamment sur ses effets toxiques sur l'homme, le but ultime étant d'estimer le risque potentiel pour le consommateur lié à l'exposition à ce composé. L'AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) a été saisie de cette question en 2002 concernant certains aspects de l'analyse de l'acrylamide dans les aliments, de la pharmacocinétique et de la toxicologie de ce composé. C'est au laboratoire de l'AFSSA de Fougères (35), à l'unité de toxicologie génétique des contaminants alimentaires, que j'ai débuté ce travail, lors d'un stage de Master Recherche (M2R). Quelques aspects des expérimentations réalisées seront présentés dans ce mémoire.
Plus récemment, en octobre 2007, la Société Française de Toxicologie (SFT), lors de son 33ème Congrès annuel à Montpellier intitulé « Alertes toxicologiques : excipients, additifs, adjuvants, impuretés » évoqua la question de l'acrylamide (SFT, 2007). Les préoccupations liées à ce composé sont donc toujours au cœur de l'actualité de la toxicologie et de la santé publique.

Ce travail présente tout d'abord les généralités concernant l'acrylamide à savoir sa chimie, son utilisation, sa formation et son dosage dans les aliments ainsi que son métabolisme, puis fait le point sur les éléments connus à ce jour sur la toxicité de ce composé. Enfin, une évaluation de l'exposition chez l'homme notamment dans l'alimentation permet d'aborder le risque pour la santé humaine lié à l'acrylamide, principalement en ce qui concerne la cancérogénicité, toxicité considérée comme préoccupante par le *JECFA*. Des solutions sont aussi envisagées pour limiter la formation d'acrylamide dans les aliments.

1. L'acrylamide : chimie et utilisation

1.1. Propriétés physiques et chimiques

Formules chimiques

Les formules brute et semi-développée de l'acrylamide figurent ci-dessous (*figures 1* et *2*).

C_3H_5ON

Figure 1 - Formule brute de l'acrylamide.

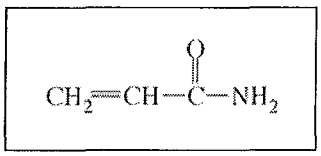


Figure 2 - Formule semi-développée de l'acrylamide.

Propriétés physiques

L'acrylamide, ou 2-propénamide (CAS No. 79-06-1, EINECS No. 201-173-7) est un composé qui se présente sous forme de poudre cristalline blanche inodore, de masse moléculaire 71,08 g/mol. Il se sublime lentement à température ambiante. Il est très soluble dans l'eau (215,5 g/100 mL à 30 °C) et dans de nombreux solvants organiques comme l'éthanol, le méthanol ou l'acétone (*annexe 1*). Son point de fusion est de 84,5 °C et sa densité de 1,122 à 30 °C. Le chauffage, l'humidité ou les radiations UV provoquent sa polymérisation en polyacrylamide. Les solutions commerciales contiennent du cuivre (<100 ppm) ou d'autres antioxydants pour le stabiliser et éviter qu'il ne se polymérise.

Le polyacrylamide peut se dépolymériser en acrylamide sous l'effet de la température et de la lumière (Smith *et al.*, 1996). L'effet du pH serait nul. A cause de sa propriété de

polymérisation, il ne bout pas à pression ambiante mais à 3,33 kPa (25 mm Hg), sa température d'ébullition est alors de 125 °C. Sous forme solide, l'acrylamide est stable s'il est stocké dans un endroit sec, à température ambiante. Les autres propriétés physiques de l'acrylamide figurent en *annexe 1*. Les contenants utilisés pour stocker l'acrylamide pur doivent être étiquetés avec le symbole « Toxique » (*figure 3*) avec l'énumération des risques particuliers ainsi que des conseils de prudence (*annexe 2, 1ère page de la fiche toxicologique de l'Institut National de Recherche et de Sécurité, INRS).*



Figure 3 - Symbole « Toxique » pour l'étiquetage de l'acrylamide.

Propriétés chimiques

L'acrylamide possède les propriétés chimiques de la fonction vinyle et de la fonction amide (*figure 4*) :

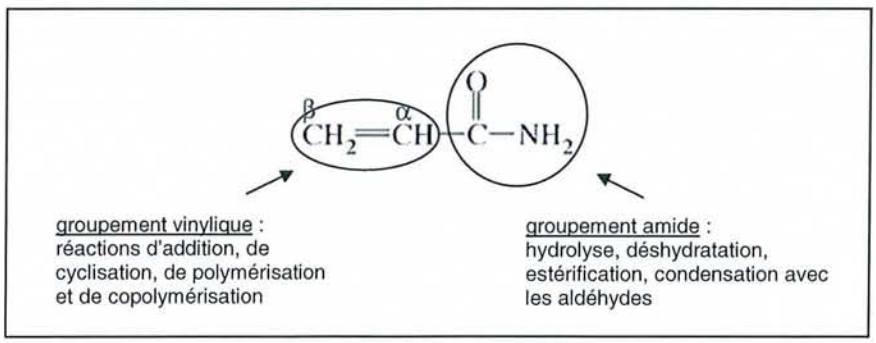


Figure 4 - Réactivité de l'acrylamide. (INRS, 1992)

La double liaison αβ insaturée confère à l'acrylamide la majeure partie de sa réactivité. Ce composé est très actif avec les composés nucléophiles comme les protéines par exemple à cause du caractère électrophile de sa liaison αβ insaturée. Cette double liaison va aussi être

responsable du métabolisme de l'acrylamide par son oxydation, en formant un composé époxydé, le glycidamide. Ceci sera traité ultérieurement dans la partie métabolisme.

Formation d'adduits avec les protéines

Dès 1953, Druckrey *et al.* montrèrent que l'acrylamide était capable de réagir avec les protéines, formant ainsi des adduits. Les adduits sont des produits d'addition c'est-à-dire des espèces chimiques dont chaque entité moléculaire est formée par combinaison directe entre deux entités moléculaires distinctes. La double liaison (électrophile) entre en jeu dans des additions de Mickael (Rice *et al.*, 2005) entre le carbone en β de l'acrylamide et les groupements nucléophiles des protéines comme (*figure 5*) (Friedman *et al.*, 2003) :

- les groupements SH de la cystéine, de l'homocystéine et du glutathion,
- le groupement αNH_2 des acides aminés libres des protéines (valine de l'hémoglobine),
- les résidus acides aminés N-terminaux des protéines,
- les groupements εNH_2 de la lysine,
- les groupements NH de l'histidine.

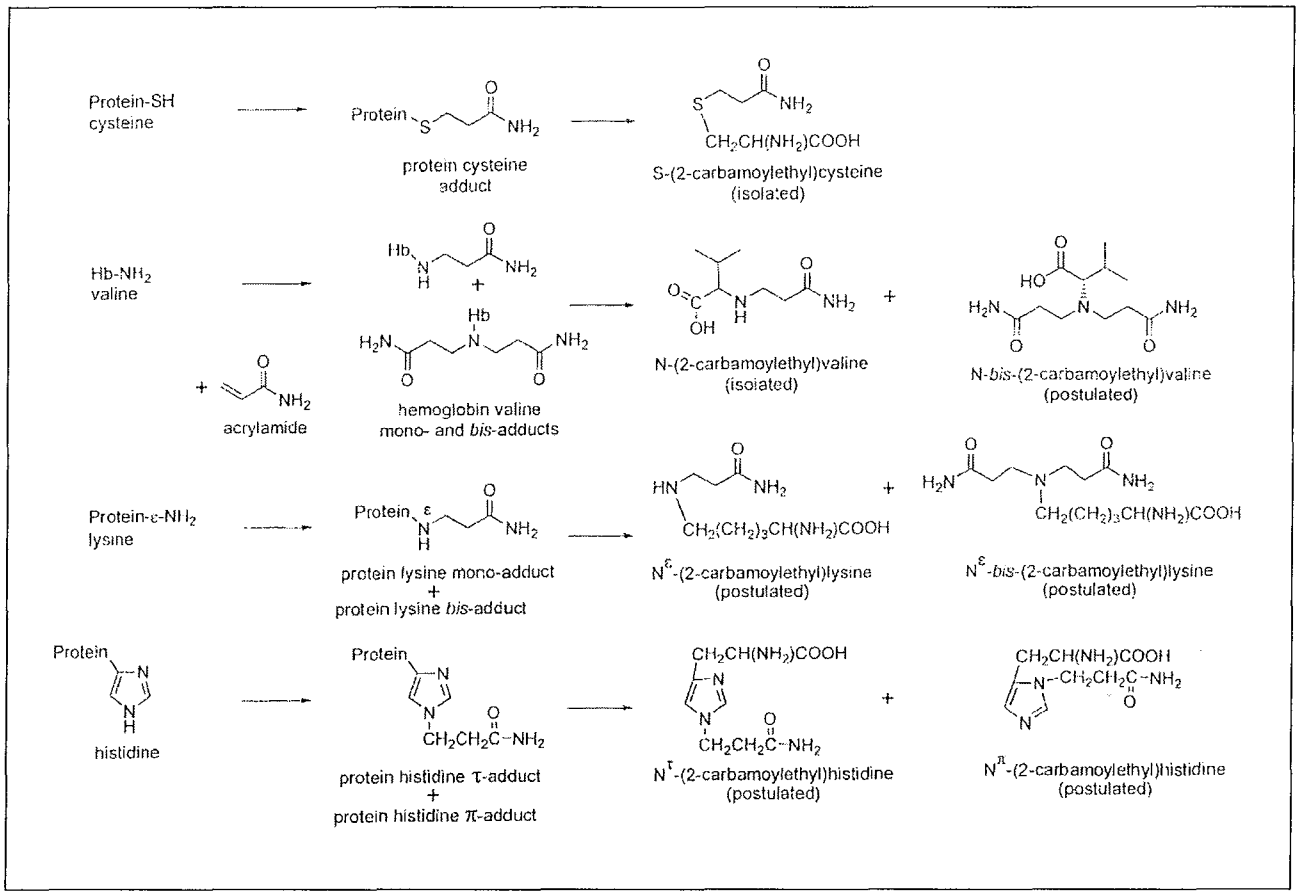


Figure 5 - Alkylation de l'acrylamide avec les protéines, formant des adduits. (Friedman *et al.*, 2003)

Formation d'adduits avec l'ADN

L'acrylamide, mais surtout le glycidamide son métabolite époxydé, peuvent aussi réagir avec l'ADN et tout particulièrement sur les bases de l'ADN, générant des adduits d'alkylation principalement. Ceci sera vu ultérieurement dans la partie qui traite de la toxicologie de l'acrylamide.

Autres réactions de l'acrylamide

L'acrylamide est aussi impliqué dans des réactions non covalentes. Ceci a été étudié par des études de fluorescence (*quenching*) dans les années 1980 (Eftink *et al.*, 1982 ; Follenius *et al.*, 1983). D'autres travaux ont été publiés sur les interactions non covalentes de l'acrylamide avec divers composés et notamment avec l'ADN pour étudier les domaines de liaison de l'ADN (Bousquet *et al.*, 1996 ; Espinosa *et al.*, 2003).

1.2. Production et utilisation

Production

La production de l'acrylamide sous forme de monomère débuta dans les années 1955 aux Etats-Unis et sa fabrication sous forme de polymère dans les années 1965. L'acrylamide est produit généralement à partir de solution d'acrylonitrile chauffée à 100 - 150 °C dans un réacteur par une réaction d'hydratation catalysée par du cuivre. On obtient alors une solution aqueuse à 30 - 50 %.

Un procédé utilisant une enzyme, la nitrile hydratase, a été mis en place par la société *Nitto Chemical Industry* au Japon pour produire de l'acrylamide (IUPAC, 1995). De même, il permet la transformation de l'acrylonitrile en acrylamide. En modifiant génétiquement le microorganisme produisant cette enzyme, de bons rendements de production peuvent être atteints (Kobayashi *et al.*, 1992). Ce procédé permet aussi une réduction de l'énergie consommée durant la production de 80 % et un gain en pureté par rapport au procédé chimique classique. L'acrylamide peut aussi être produit à partir d'un microorganisme. Un des premiers à être utilisé est *Rhodococcus rhodochrous*, qui transforme l'acrylonitrile en acrylamide à l'aide d'une nitrile hydratase (Astaurova *et al.*, 2000).

Utilisation

L'acrylamide est un monomère très utilisé en industrie et fut disponible commercialement dès les années 1955. Au début des années 1990, il a été produit à grande échelle (50 000 à 75 000 tonnes par an au Japon, aux Etats-Unis et en Europe). Plus de 99,9 % de l'acrylamide est utilisé pour la production de polymère, le polyacrylamide, aux Etats-Unis. Il est produit par polymérisation de monomère d'acrylamide, réaction catalysée par les radicaux libres en solution aqueuse, en présence de bis acrylamide (N,N'méthylène-bisacrylamide) qui agit comme agent pontant et dont la quantité va déterminer le taux de réticulation du gel (*figure 6*).

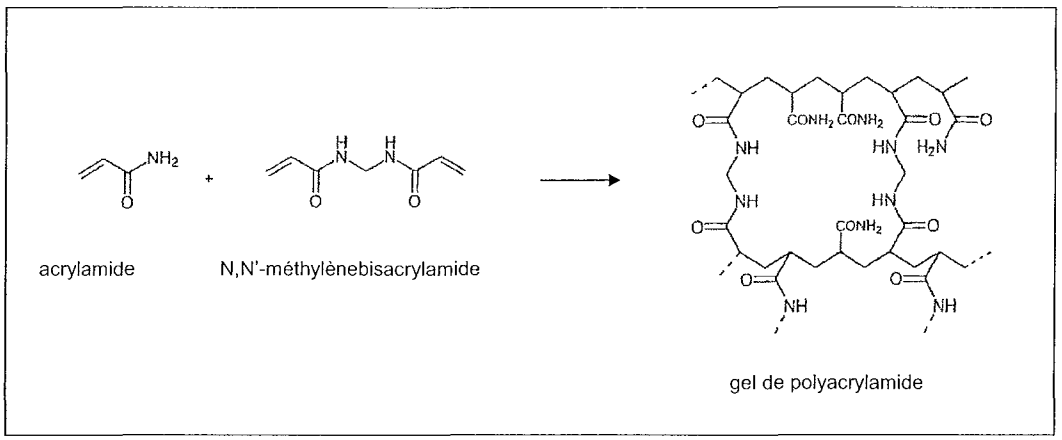


Figure 6 - Formation du gel de polyacrylamide.

L'acrylamide, utilisé sous forme de polymère, le polyacrylamide, possède de nombreuses applications industrielles (*EC*, 2000 ; INVS, 2005) :

- Fabrication de polymères et de copolymères hydrosolubles utilisés comme floculants pour le traitement des eaux et par l'industrie minière. Les polymères se lient aux particules à éliminer présentes dans l'eau et forment des agrégats qui vont sédimenter et ainsi pouvoir être éliminés,
- Modificateur de viscosité dans l'industrie pétrolière,
- Adjuvant de fabrication dans l'industrie du papier. Il permet de servir de liant aux fibres du papier,
- Synthèse de latex acryliques pour les industries de peinture, textiles, vernis, adhésifs, cuirs. Utilisé comme additif dans les peintures acryliques (0,1 - 0,5 %), il améliore la fixation des pigments et la tenue de la peinture. Dans l'industrie du textile, on l'utilise par exemple pour éviter la déformation des vêtements en laine,
- Fabrication de gel de polyacrylamide pour électrophorèse (utilisé par la recherche pour séparer les macromolécules biologiques) ; stabilisant d'émulsion pour les encres d'imprimantes,

  Dans les gels de polyacrylamide, on retrouve de l'acrylamide sous forme de monomère, mais les taux sont en général inférieurs à 0,1 % masse/masse. Il est cependant nécessaire de prendre les précautions suffisantes durant la préparation ou l'utilisation de ces gels pour éviter l'exposition à ce composé.

2. Formation de l'acrylamide dans les aliments

2.1. La réaction de Maillard

Louis-Camille Maillard

Louis-Camille Maillard (*figure 7*) est né à Pont-à-Mousson (Meurthe-et-Moselle) en 1878. C'est un biochimiste français mondialement connu.



Figure 7 - Louis-Camille Maillard.

Après des études à la Faculté des Sciences puis de Médecine de Nancy, il obtient un poste à la Faculté de Médecine de Paris puis l'agrégation de médecine à 26 ans. Par la suite, il continue ses travaux de recherche à Paris. Il réalise une thèse et découvre une réaction entre les acides aminés et les sucres. Elle sera appelée « réaction de Maillard ». Il publie le premier article sur cette réaction en 1912 (*annexe 3*). Cette réaction est à l'origine du goût de nombreuses préparations culinaires. Dans l'industrie agroalimentaire, elle permet de développer de façon optimale des arômes de grillé, appelés arômes de Maillard et contribue à donner des couleurs caractéristiques aux aliments.

Après quelques années passées dans l'armée, il revient à la vie civile à Paris puis part pour Alger pour occuper une chaire à la Faculté de Médecine et de Pharmacie. Il meurt

brutalement à Paris, où il était venu participer au jury de l'agrégation, le 12 mai 1936. Il sera récompensé pour ses nombreux travaux (*annexe 4*) par de nombreuses distinctions et en particulier par plusieurs prix de l'Académie des Sciences et de l'Académie de Médecine.

La réaction de Maillard et ses conséquences sur les caractères organoleptiques des aliments et de la santé humaine

La réaction de Maillard est une réaction entre des composés aminés (acides aminés) et des composés carbonylés (glucides réducteurs particulièrement) ayant lieu dans les aliments. C'est une réaction de brunissement, c'est-à-dire qu'elle est responsable de modifications de couleur et d'arôme des aliments, comme la croûte du pain, les sauces des viandes, les poissons frits, les viandes grillées, le café, les frites... Elle est en général recherchée pour augmenter la qualité organoleptique des aliments. Pour cette réaction, on emploie le terme de « brunissement non enzymatique », par opposition aux réactions de « brunissement enzymatique » qui nécessitent l'intervention d'enzymes (action du système polyphénol oxydase sur des composés phénoliques) et qui sont responsables du brunissement des pommes, des bananes... Les réactions de brunissement non enzymatique sont des réactions qui aboutissent principalement à la formation de pigments bruns ou noirs tels les mélanoïdines, qui sont des polymères (*figure 8*).

Cependant, la formation de molécules odorantes ou la modification de couleur de l'aliment peut se révéler défavorable pour certains aliments : aliments déshydratés comme la poudre de lait ou d'œuf, les farines de poissons, les jus de fruits, les sirops. De plus, la réaction nécessitant des acides aminés, elle est a l'origine d'une diminution de la valeur nutritionnelle des aliments par perte en acides aminés. Le dernier inconvénient de cette réaction, et certainement le plus important, est la génération de molécules mutagènes et cancérogènes : furfural, réductones... et bien d'autres, parmi lesquelles l'acrylamide. Les études toxicologiques de ces molécules sont encore trop rares et leur impact sur la santé publique est mal connu, notamment dans la genèse des cancers du tractus digestif. Il est à noter que la réaction de Maillard peut aussi avoir lieu *in vivo*, dans l'organisme, et aboutit à la glycation de protéines (Frye *et al.*, 1998 ; Rerat *et al.*, 2002).

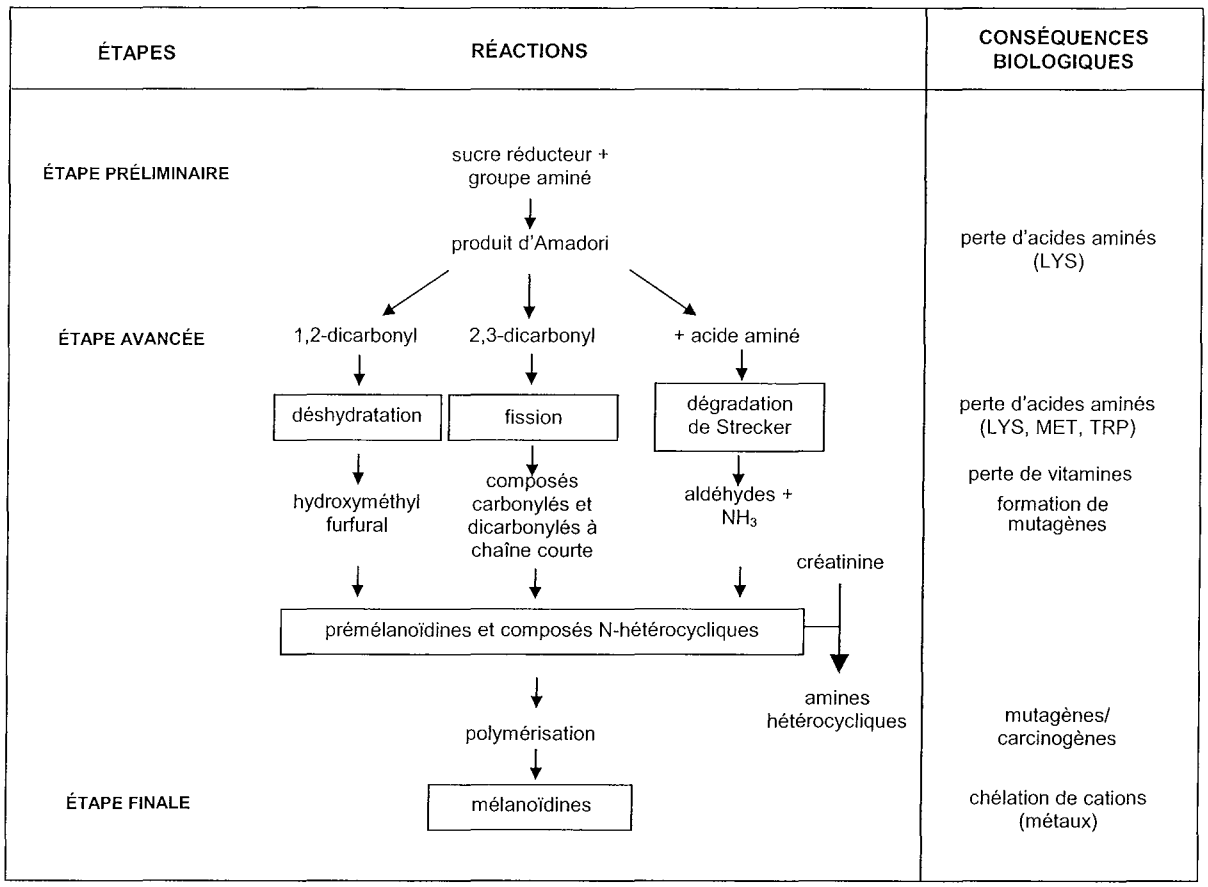


Figure 8 - La réaction de Maillard et ses conséquences.

Les différentes étapes de la réaction

La réaction de Maillard est un ensemble complexe de réactions qui comprend de nombreuses étapes. On peut les diviser en cinq groupes principaux comme suit.

- **Condensation de Maillard** : condensation des groupements carbonyle (C=O) des glucides réducteurs ou de produits d'oxydation des lipides avec des groupements amines primaires ou secondaires. On aboutit à la formation de carbonylamines (cétosylamines ou aldosylamines, *figure 9*).

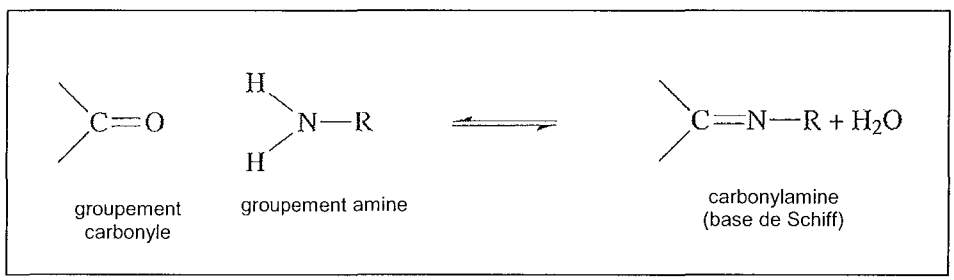


Figure 9 - Formation de carbonylamines à partir d'un groupement carbonyle (provenant par exemple d'un glucide réducteur) et d'un groupement amine (provenant d'un acide aminé).

- **Réarrangement d'Amadori ou de Heyns** : formation de cétosamines (réarrangement d'Amadori) ou d'aldosamines (réarrangement de Heyns) respectivement à partir des aldosylamines ou des cétosylamines en milieu acide (*figure 10*). Dans le cas d'une réaction avec le glucose, il y a formation d'une glycosylamine (imine substituée, instable, *figure 11*).

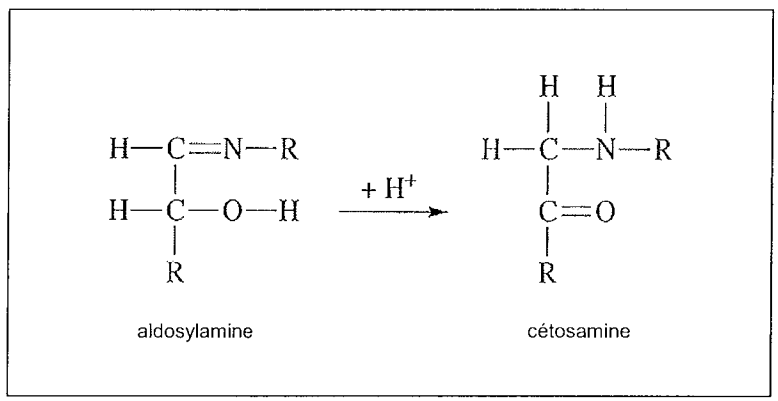


Figure 10 - Formation de cétosamines à partir d'aldosylamines (réarrangement d'Amadori).

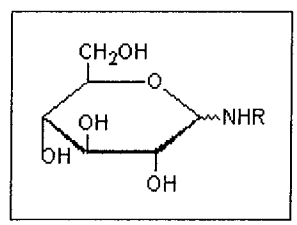


Figure 11 - Glycosylamine formée à partir du glucose.

- **Décomposition des cétosamines ou des aldosamines**. En milieu acide, une réaction d'énolisation 1,2 a lieu et en milieu basique, c'est une énolisation 2,3. Ces réactions sont suivies de déshydratations, de réarrangements et/ou de cyclisations. Elles aboutissent à la formation de molécules intermédiaires odorantes comme des petites molécules carbonylées, des furfurals ou des réductones.

- **Dégradation de Strecker** : dégradation d'acides aminés par les composés dicarbonylés formés au cours de la décomposition des cétosamines (*figure 12*). Le dérivé aminocarbonylé donne par cyclisation et oxydation une pyrazine conférant la flaveur de « grillé ».

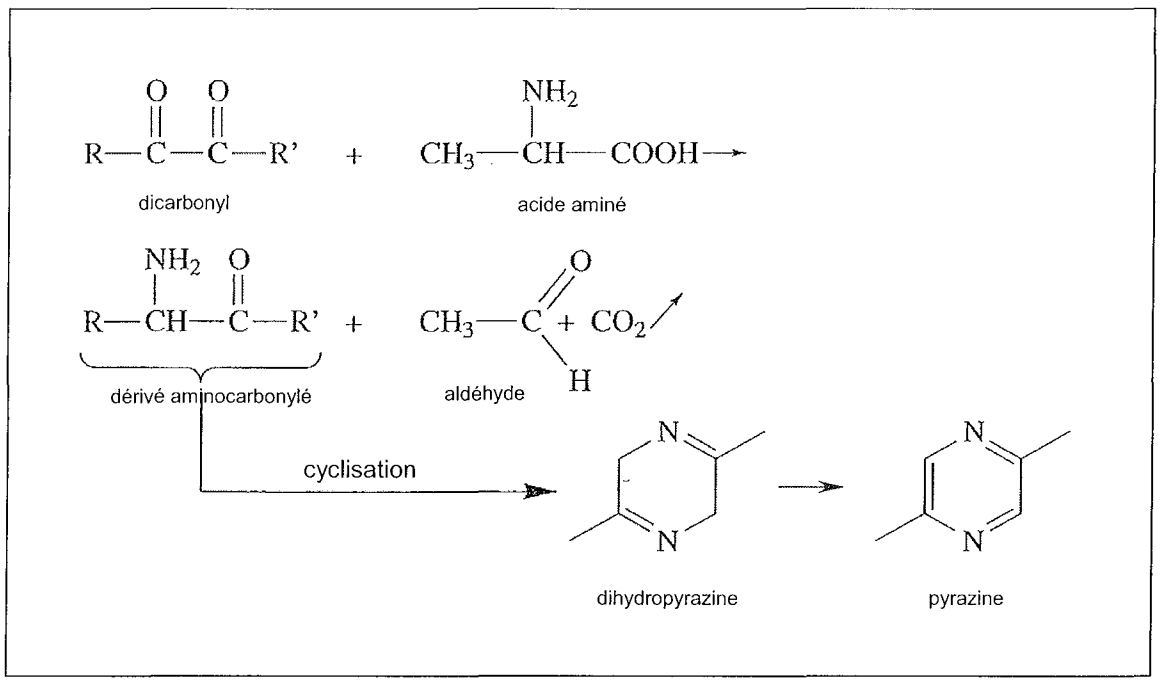


Figure 12 - Dégradation de Strecker.

Cette réaction aboutit à la formation de nombreux arômes (aldéhydes, pyrazines...).

- **Condensations, formation de polymères bruns (mélanoïdines).**

Un grand nombre des molécules issues de la dégradation de Strecker peuvent se polymériser et former des mélanoïdines, des polymères bruns (*figure 13*).

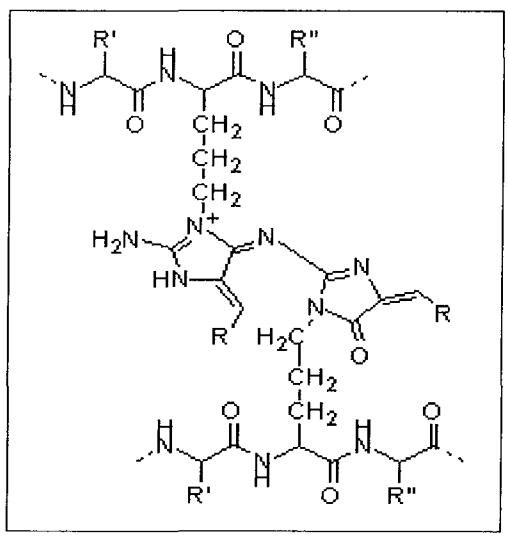


Figure 13 - Polymère brun de mélanoïdine, produit final de la réaction de Maillard.

La structure et le mécanisme de formation des mélanoïdines ne sont pas encore très bien connus.

2.2. Formation de l'acrylamide dans les aliments par la réaction de Maillard

L'acrylamide a été découvert dans de nombreux aliments (Tareke *et al.*, 2002). Il est formé essentiellement dans les aliments riches en amidon, cuits à haute température, par la réaction de Maillard. Les premiers travaux visant à déterminer l'origine de la formation de l'acrylamide dans les aliments furent réalisés par des laboratoires indépendants dans différents pays. Ils établirent que l'asparagine était à la base de la formation de l'acrylamide (Mottram *et al.*, 2002 ; Stadler *et al.*, 2002 ; Sanders *et al.*, 2002 ; Becalski *et al.*, 2003). Parmi les méthodes utilisées, les auteurs utilisèrent le marquage de l'asparagine à l'^{15}N ou la spectrométrie de masse. Mottram *et al.* (2002) et Stadler *et al.* (2002) établirent que la formation d'acrylamide nécessitait des températures supérieures à 120 °C. Cette réaction débute par la condensation du glucose (glucide réducteur) avec l'acide aminé asparagine. Comme on l'a vu, la réaction de Maillard comprend de nombreuses étapes, mais peut être résumée de la façon suivante (*figure 14*) :

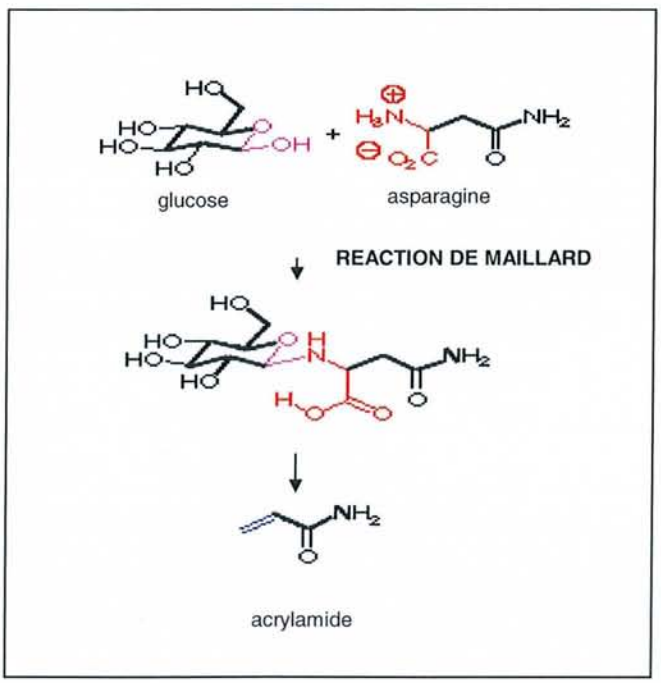


Figure 14 - Formation de l'acrylamide dans les aliments à partir de l'asparagine et du glucose par la réaction de Maillard.

Mécanisme détaillé de la formation d'acrylamide par la réaction de Maillard (*figure 15*)

Différents travaux ont contribués à l'explication du mécanisme de formation de l'acrylamide par la réaction de Maillard (Yasuhara *et al.*, 2003 ; Lingnert *et al.*, 2002 ; Stadler *et al.*, 2003).

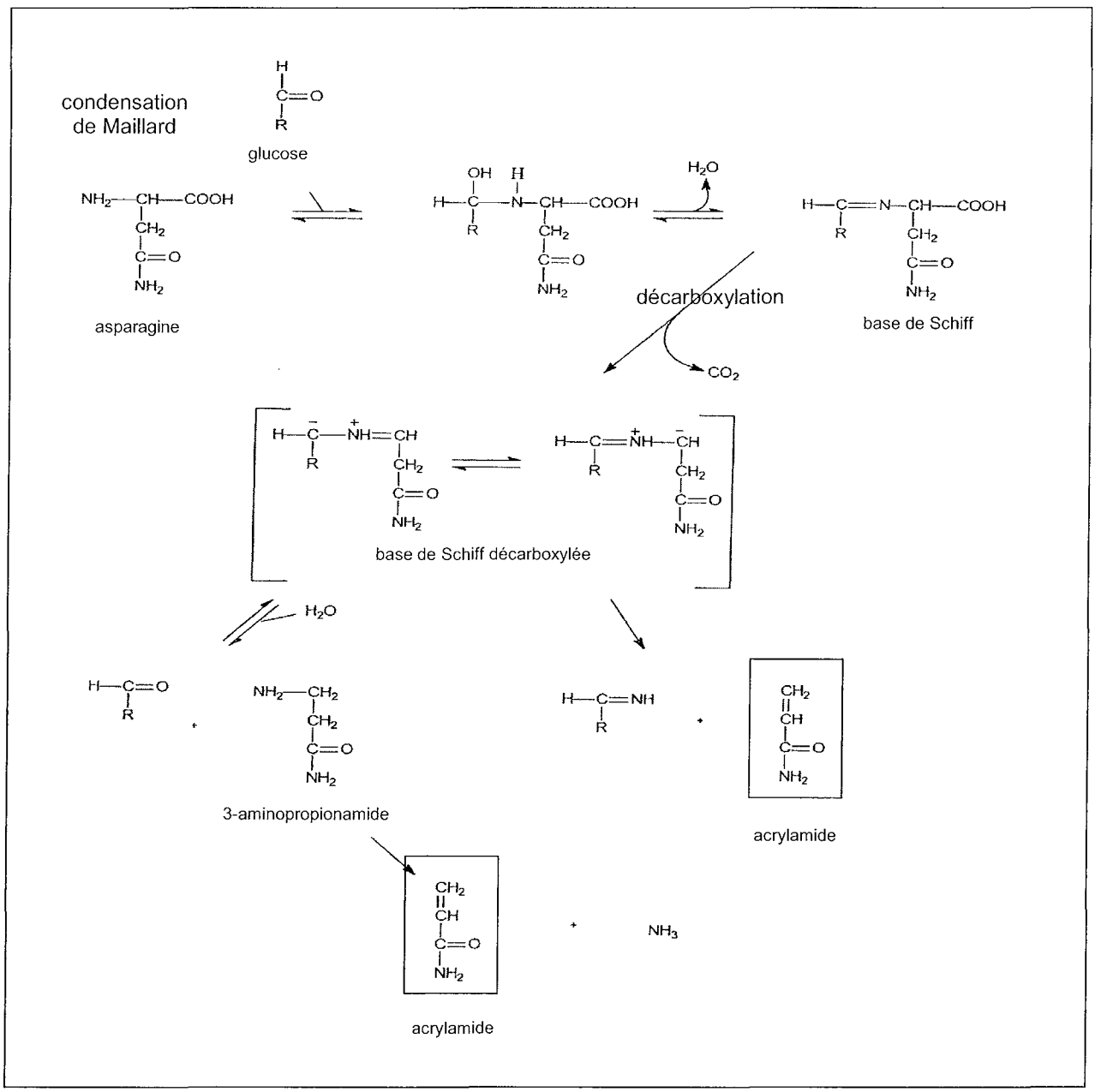


Figure 15 - Mécanisme supposé de la formation de l'acrylamide dans les aliments. (Zyzak *et al.*, 2003)

Le premier stade de la réaction de Maillard, la condensation de Maillard, est la condensation d'un composé aminé (principalement l'acide aminé asparagine) avec le groupement carbonyle d'un glucide réducteur (principalement le glucose) lors d'une réaction équimolaire, entraînant la formation d'un dérivé N-glycosyl de l'acide aminé asparagine, en équilibre avec une base de Schiff. Selon Zyzak *et al.* (2003) et Yaylayan *et al.* (2003), la base de Schiff de l'asparagine subit une décarboxylation à la température facilitée par la délocalisation de la charge négative. Ensuite, selon Zyzak *et al.* (2003), cette base peut soit entraîner la formation de 3-aminopropionamide par hydrolyse de la base de Schiff et élimination d'ammonium, soit se décomposer et aboutir directement à de l'acrylamide par élimination d'un groupement imine. Yaylayan *et al.* (2003) proposèrent une cyclisation intramoléculaire de la base de Schiff en dérivé oxazolidine-5-one. D'autres intermédiaires ont été proposés et sont répertoriés dans la *figure 16*. Dans tous les cas, le groupement amide de l'acrylamide provient de l'asparagine.

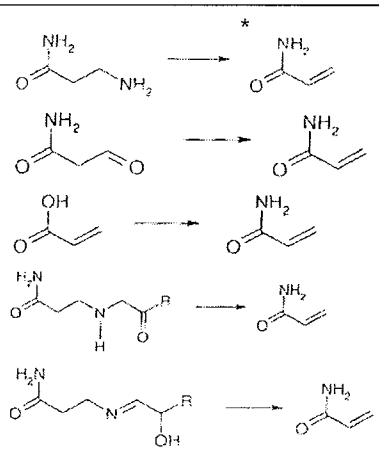
mécanisme proposé	référence
	Zyzak et al., 2003 Mottram et al., 2002 Yasuhara et al., 2003 ; Stadler et al., 2003 Yaylayan et al., 2003 Zyzak et al., 2003

Figure 16 - Molécules intermédiaires proposées se formant durant la réaction de Maillard et aboutissant à la formation d'acrylamide. (Stadler *et al.*, 2004b) (* : 3-aminopropionamide)

Après réarrangement d'Amadori ou de Heyns, le composé obtenu va subir des réactions de déshydratation pour former différents composés de faible masse moléculaire, comme des petites molécules carbonylées. L'étape suivante est la dégradation de Strecker par décarboxylation oxydative et désamination qui forme un aldéhyde et qui va aboutir à la formation d'acrylamide après différentes étapes de réductions et de déshydratations (Mottram *et al.*, 2002). Le rendement de cette réaction est faible : seulement 0,1 % à 0,3 % des molécules d'asparagine libres sont converties en acrylamide (Stadler *et al.*, 2004b).

Acides aminés et glucides réducteurs nécessaires

Acides aminés

Zyzak *et al.* (2003), en traitant des aliments avec de l'asparaginase, qui hydrolyse l'asparagine en acide aspartique et en ammoniac, ont réduit la concentration en asparagine de 88 %, ce qui a eu pour effet de réduire la concentration en acrylamide de plus de 99 %. Ceci montre bien que l'asparagine est le principal acide aminé des aliments impliqué dans la formation d'acrylamide.

L'asparagine est l'acide aminé libre qui serait présent en plus grande quantité (jusqu'à 93,9 mg/100 g) dans les pommes de terre (Martin *et al.*, 2001). Dans les chips, cet acide aminé représente 40 % des acides aminés totaux (Mottram *et al.*, 2002). D'autres acides aminés peuvent aboutir à la formation d'acrylamide comme l'alanine, l'arginine, l'acide aspartique, la cystéine, la glutamine, la méthionine, la thréonine et la valine, mais les quantités sont minimes.

Glucides réducteurs

Le contenu en sucres (glucose et fructose) des pommes de terre crues est corrélé avec la quantité d'acrylamide formé durant la cuisson des aliments (Biedermann *et al.*, 2002b). Amrein *et al.* (2003) ont montré que toutes les variétés de pommes de terre n'avaient pas le même potentiel à former de l'acrylamide car elles ne présentaient pas les mêmes quantités de glucides réducteurs. De par leurs variations importantes en asparagine et glucides réducteurs, certaines variétés de pommes de terre sont susceptibles de former jusqu'à 40 fois plus d'acrylamide que d'autres (Biedermann *et al.*, 2002a).

Paramètres jouant un rôle dans la formation de l'acrylamide

Comme il a déjà été dit, les paramètres majeurs influençant la formation d'acrylamide sont la présence de glucides réducteurs (glucose et fructose) et d'acides aminés libres (asparagine). La température joue aussi un rôle important (Mottram *et al.*, 2002 ; Tareke *et al.*, 2002 ; Yaylayan *et al.*, 2003), mais aussi le temps de cuisson, le taux de brunissement et le rapport surface sur volume des pommes de terre frites.

L'effet de la température et du temps de cuisson a été étudié par Robert *et al.* (2004). La *figure 17* montre que l'acrylamide se forme dès 120 °C (en concordance avec les premières études sur la formation de l'acrylamide en 2002, par Mottram *et al.* et Stadler *et al.*) pour des aliments cuits 60 min., alors que des températures supérieures à 160 °C sont nécessaires si les aliments sont cuits seulement 5 min. La diminution du taux d'acrylamide avec l'augmentation de température est probablement due à sa polymérisation en polyacrylamide (Stadler *et al.*, 2004a).

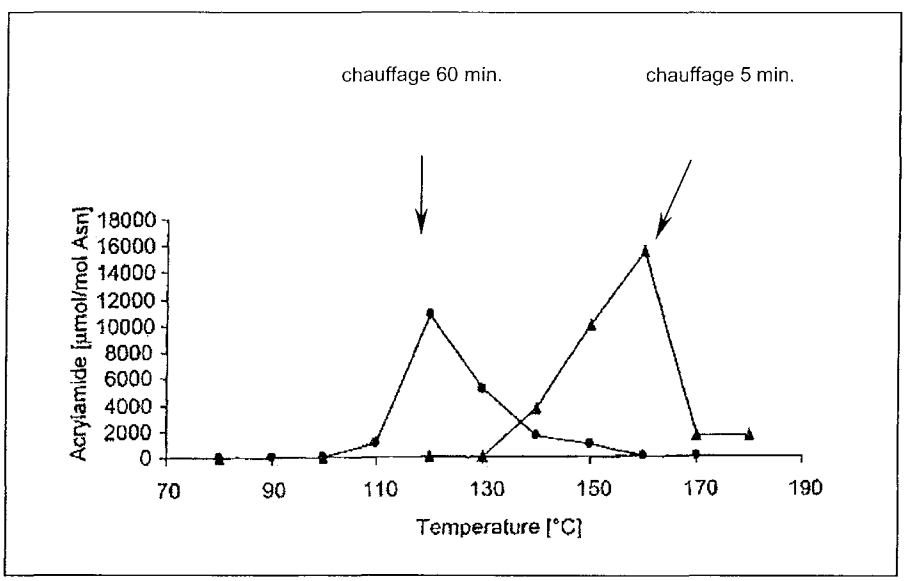
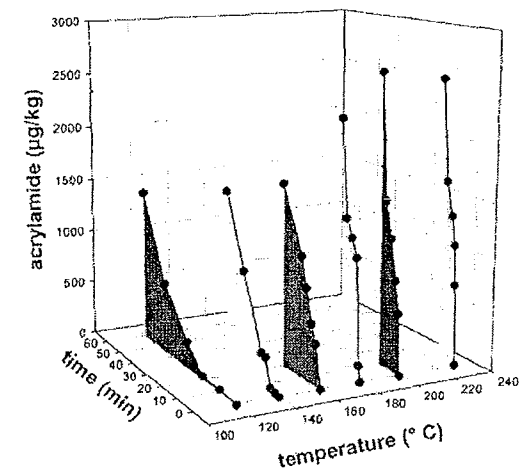


Figure 17 - Formation d'acrylamide par chauffage d'un mélange équimolaire de L-asparagine et de D-glucose. (Robert *et al.*, 2004)

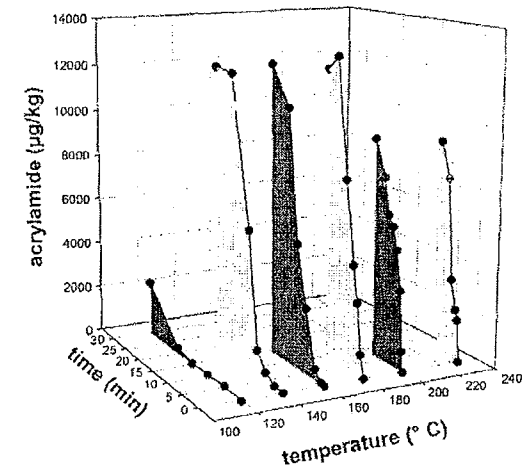
Ces résultats sont en accord avec ceux de Taubert *et al.* (2004) (*figure 18*). Ces auteurs réalisèrent un plan d'expérience pour croiser différents paramètres et montra que la surface de la pomme de terre, la température et le temps de cuisson ont une influence significative sur la production d'acrylamide. La *figure 18* montre l'influence du rapport surface sur volume des pommes de terre cuites sur la formation d'acrylamide. Les taux les plus importants ont été obtenus pour les pommes de terre râpées (jusqu'à 18 mg/kg), puis pour celles de 3 mm de hauteur (jusqu'à 12 mg/kg) et enfin pour celles de 15 mm de hauteur (jusqu'à 2,5 mg/kg) qui présentent le plus faible rapport surface/volume. Selon l'auteur, cela pourrait s'expliquer par le fait que le transfert de chaleur dans la pomme de terre prend plus de temps avec les pommes de terre présentant un faible rapport surface/volume.

La manière de cuire les pommes de terre (friture, cuisson au four traditionnel, au four à micro-ondes ou rôtissage) ne semble pas avoir d'influence significative sur les taux d'acrylamide (Taubert *et al.*, 2004). De même, la nature de l'huile utilisée pour la cuisson lors de la friture n'a pas d'impact important (Becalski *et al.*, 2003).

pommes de terres en **tranches cylindriques** de 30 mm de diamètre et de 15 mm de hauteur (rapport surface sur volume de **0,27 mm^{-1}**)



pommes de terres en **tranches cylindriques** de 30 mm de diamètre et de 3 mm de hauteur (rapport surface sur volume de **0,80 mm^{-1}**)



pommes de terres **râpées**, ayant des morceaux de dimension moyenne de 16,8x6,0x1,2 mm (rapport surface sur volume de **2,12 mm^{-1}**)

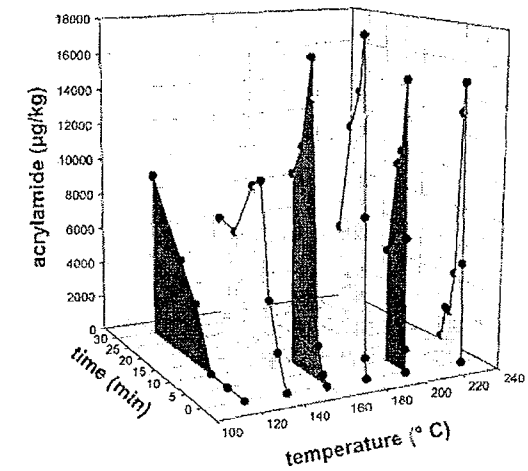


Figure 18 - Effet de la température et du temps de friture sur la formation d'acrylamide dans des pommes de terre cuites (exprimée en µg/kg de poids sec). L'acrylamide n'a pas été détecté dans les pommes de terre crues (taux inférieur à la limite de détection de 10 µg/kg). (Taubert *et al.*, 2004)

La *figure 19* présente l'augmentation du taux d'acrylamide de frites et leur brunissement en fonction de la durée de cuisson. Plus cette durée augmente, plus les frites brunissent et plus il y a d'acrylamide.

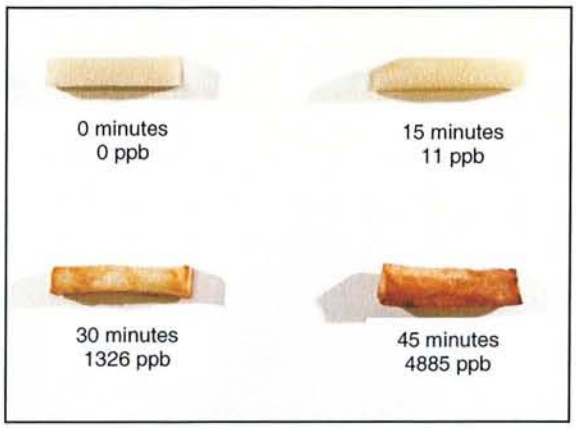


Figure 19 - Brunissement de frites et taux d'acrylamide en fonction du temps de cuisson. (Musser *et al.*, 2002)

Autres mécanismes

D'autres voies de formation de l'acrylamide existent, mais elles sont mineures. Selon certains auteurs (Becalski *et al.*, 2003 ; Stadler *et al.*, 2003 ; Gertz *et al.*, 2002), l'acrylamide peut se former à partir d'acroléine (résultant de la dissociation des lipides) ou d'acide acrylique. Actuellement, il existe encore des incertitudes sur le mécanisme de formation de l'acrylamide. Ces informations sont primordiales à comprendre pour pouvoir apporter des solutions pratiques à la préparation des aliments afin d'éviter ou de diminuer la formation de produits supposés mutagènes ou cancérogènes comme l'acrylamide.

3. Dosage de l'acrylamide dans les aliments

3.1. Méthodes de dosage

Plusieurs auteurs se sont attachés à quantifier les taux d'acrylamide dans différents types d'aliments quand la présence d'acrylamide fut révélée en avril 2002 par le *SNFA* (*Swedish National Food Administration*). Ils établirent chacun leur propre méthode de dosage car aucune méthode n'était disponible. Les publications de ces auteurs ont été résumées par Wenzl *et al.* (2004) et Taeymans *et al.* (2004).

Groupes de travail internationaux

Aux Etats-Unis, en octobre 2002, le *JIFSAN* (*Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition)* et l'industrie alimentaire décidèrent de créer un groupe de travail pour coordonner le gouvernement, l'industrie et l'université afin de répondre aux préoccupations sur l'acrylamide dans les aliments. Il en est ressorti la nécessité de développer les connaissances sur les thèmes suivants : mécanismes de formation de l'acrylamide dans les aliments, méthodes analytiques de détection, exposition, risque et données toxicologiques. Ce groupe de travail, ainsi que le groupe d'étude européen (Centre de recherche commun de la Commission européenne, *European Commission's Joint Research Centre*, *JRC*, April 2003) concluèrent qu'il n'existait pas de méthode unique de dosage applicable pour toutes les matrices à analyser. Les protocoles doivent être adaptés à chaque matrice (préparation de l'échantillon, extraction, lavages, technique d'analyse...). A l'heure actuelle, les méthodes d'extraction élaborées par les différents laboratoires permettent de quantifier l'acrylamide même dans des matrices difficiles telles le café ou le cacao. Les techniques analytiques disponibles présentent une exactitude et une précision suffisantes d'après des essais interlaboratoires. Par conséquent, les efforts actuels pour améliorer les méthodes analytiques ne devraient pas influencer de manière significative l'évaluation du risque.
Le *JECFA*, dans un rapport de février 2005, a conclu que les méthodes analytiques de dosage utilisées par les différents laboratoires travaillant sur l'acrylamide nécessitaient d'être améliorées et validées. En France, le laboratoire de l'AFSSA de Maisons-Alfort

(Laboratoire d'Etudes et Recherches sur la Qualité des Aliments et les Procédés agro-alimentaires, LERQAP) travaille dans cette voie et s'emploie à réaliser des essais entre plusieurs laboratoires français pour valider les méthodes de dosage.
Dans les pays d'Afrique ou d'Asie, peu d'études sont réalisées sur les méthodes de dosage de l'acrylamide dans les aliments. En Asie, on peut citer les études de Leung *et al.* (2003) et Ono *et al.* (2003).

Les méthodes classiques de dosage de l'acrylamide sont basées sur l'utilisation de la CLHP (Chromatographie Liquide Haute Performance) ou de la chromatographie en phase gazeuse (Taeymans *et al.*, 2004).

Schéma général pour l'analyse de l'acrylamide dans les aliments

La *figure 20* présente les principales étapes de l'analyse de l'acrylamide dans les aliments. Tout d'abord les échantillons subissent un prétraitement (extraction de l'acrylamide par un ou plusieurs solvants puis purification de l'extrait), puis le dosage en lui même peut être réalisé par chromatographie en phase liquide ou gazeuse (Castle *et al.*, 2005).

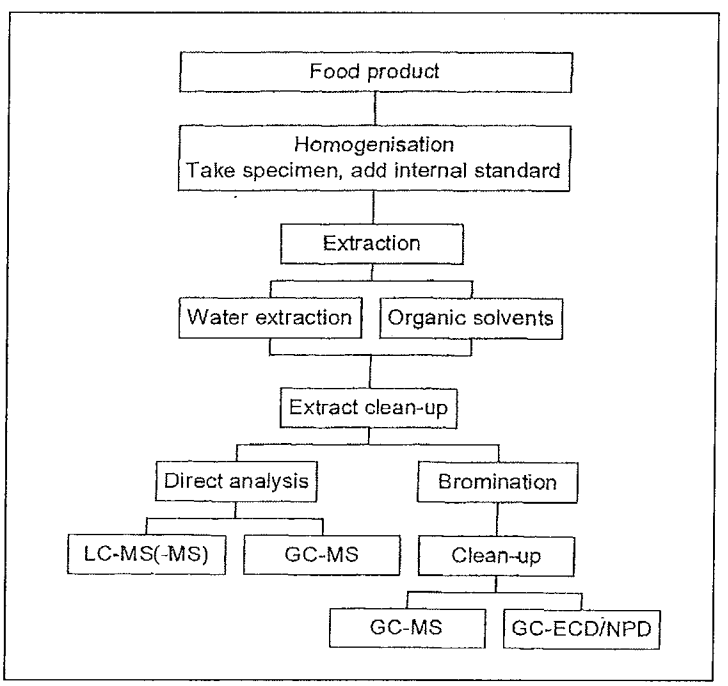


Figure 20 - Schéma général de l'analyse de l'acrylamide dans les aliments. (Castle *et al.*, 2005)

Chromatographie en phase gazeuse

Le dosage basé sur l'utilisation d'une chromatographie en phase gazeuse est la méthode la plus ancienne et doit être en général réalisé après avec une dérivation de l'analyte pour le rendre plus volatil (Biedermann *et al.*, 2002a ; Nemoto *et al.*, 2002 ; Tareke *et al.*, 2002 ; Ono *et al.*, 2003 ; Pittet *et al.*, 2004). En général, il s'agit d'une bromation, générant du 2,3-dibromopropionamide. La silylation a été utilisée par certains auteurs, et l'on obtient du N,O-bis(triméthylsilyl)acrylamide (Lagalante *et al.*, 2004). Sans dérivation, il peut y avoir une surestimation du taux d'acrylamide car il peut se former *in situ*. L'extraction de l'analyte se fait par extraction liquide-liquide (Taeymans *et al.*, 2004). La détection se fait préférentiellement par spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase gazeuse (CG/SM).

Chromatographie liquide haute performance

La méthode la plus utilisée actuellement pour doser l'acrylamide dans les aliments est la CLHP. La détection se fait préférentiellement par spectrométrie de masse (CLHP/SM ou CLHP couplée à la spectrométrie de masse en tandem CLHP/SM/SM). Rosen *et al.* (2002) développèrent la première méthode de dosage de l'acrylamide dans des aliments transformés. Ils utilisèrent une chromatrographie liquide avec dilution isotopique couplée à une détection par spectrométrie de masse (CLHP/SM). Cette méthode est utilisée maintenant par de nombreux auteurs (Ahn *et al.*, 2002 ; Ono *et al.*, 2003 ; Roach *et al.*, 2003 ; Becalski *et al.*, 2003 ; Tareke *et al.*, 2002 ; Riediker *et al.*, 2003 ; Rosen *et al.*, 2002). Son avantage est de ne pas nécessiter de dérivation préalable. De plus, les extractions de l'acrylamide, soluble dans l'eau, peuvent se faire avec des solvants aqueux. Rosen *et al.* (2002) par exemple utilisent le protocole suivant : extraction de l'analyte à l'eau, centrifugation, extraction en phase solide, filtration à l'aide d'une seringue de diamètres de pores de 0,22 µM et enfin filtration par centrifugation sur une membrane à porosité contrôlée de seuil de coupure de 3 kDa.

Le *tableau 1* établit la comparaison des différentes méthodes de dosage de l'acrylamide existantes.

méthode	limite de quantification (ppb)	spécificité	coefficient de variation CV (%)
CG/SM (non dérivée)	10	haute	10
CG/SM (dérivée)	50	haute	5 - 10
CLHP/SM	20	moyenne	5 - 10
CLHP/SM/SM	10	haute	5 - 10

Tableau 1 - Comparaison des différentes méthodes de dosage de l'acrylamide. (Musser *et al.*, 2002)

Aucune méthode n'a pour l'instant été validée par les autorités réglementaires et il n'existe donc pas de méthode officielle de dosage de l'acrylamide dans les aliments.

3.2. Taux en acrylamide de différents groupes d'aliments

En Europe et aux Etat-Unis ont été élaborées des bases de donnée publiques à partir d'informations collectées auprès des autorités nationales, de laboratoires scientifiques de recherche et de l'industrie alimentaire. Aux Etats-Unis, la principale étude sur les données de contamination des aliments par l'acrylamide est une étude de Roach *et al.* (2003). Elle est disponible à l'adresse suivante : www.cfsan.fda.gov/~dms/acrydata.html. En Europe, elle a été réalisée en collaboration entre le *JRC* et l'OMS (www.irmm.jrc.be/html/activities/acrylamide/EUacrylamidelevelmonitoringdatabase_statusJune05.xls). Il est parfois difficile de comparer ces deux bases de données car les aliments ne sont pas classés en mêmes catégories. Les aliments contenant le plus d'acrylamide sont à peu près identiques en Europe et aux Etats-Unis. Il s'agit principalement des produits à base de pomme de terre comme les frites, les chips, mais aussi les céréales, le pain suédois, le pain et le café.

Le *tableau 2* présente les taux d'acrylamide de divers groupes d'aliments.

aliments	concentration moyenne (µg/kg ou ppb)
pommes de terre frites	786,3
biscuits salés, soufflés	389,5
chips	297,8
pommes de terre sautées	173,8
poissons panés, frits	98,4
pains	84,4

Tableau 2 - Taux d'acrylamide dans divers groupes d'aliments. (analysés par le LERQAP, AFSSA, 2005)

Les frites contiennent le plus d'acrylamide avec une teneur d'environ 790 µg/kg. Comme développé précédemment, les températures élevées durant la cuisson favorisent la formation d'acrylamide étant donné que des taux allant jusqu'à 18000 µg/kg ont été obtenus dans l'étude de Taubert *et al.* en 2004. La *figure 21* permet de se rendre compte de la distribution des taux d'acrylamide dans certains produits à base de pomme de terre (A) et dans le café (B). L'influence de la méthode analytique est présentée dans le graphique C. La méthode utilisée ne semble pas avoir d'influence significative sur la distribution des données.

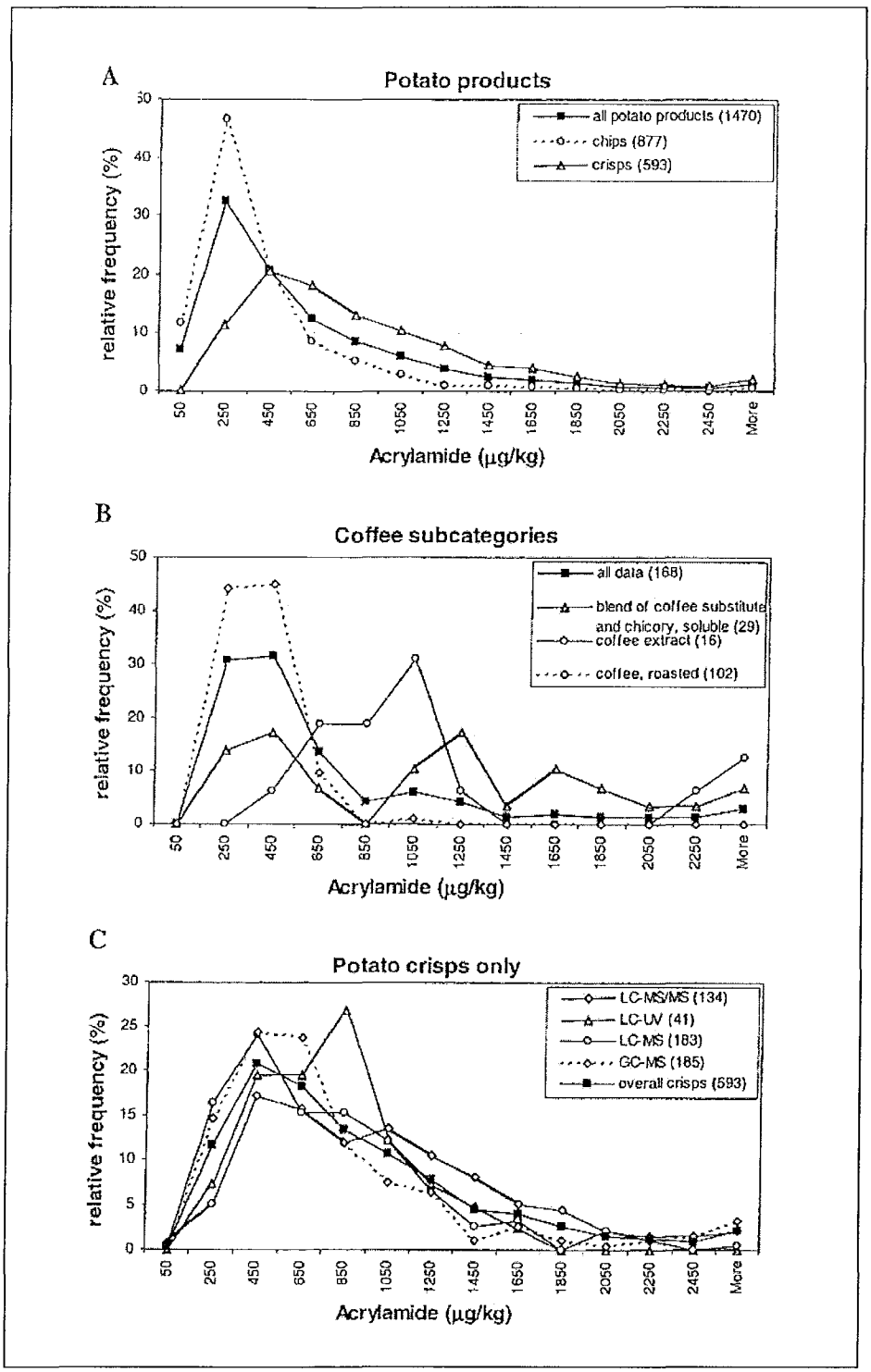


Figure 21 - Distribution des taux d'acrylamide dans quelques groupes d'aliments (le nombre d'échantillons analysés est indiqué entre parenthèses). (Stadler *et al.*, 2004b)

L'acrylamide n'est retrouvé qu'en faible quantité dans les fruits ou les légumes bouillis ou crus avec des concentrations inférieures à 30 µg/kg (*EC*, 2000). Parmi les aliments ne contenant pas d'acrylamide ou ayant un taux d'acrylamide inférieur à la limite de quantification (LOQ) de 10 ppb (Musser *et al.*, 2002), on trouve les aliments pour enfants aux fruits ou aux céréales, le caramel, le poulet cru ou cuit, le poisson cru ou cuit, les pommes de terres crues, les légumes surgelés, la sauce au soja, le jus de viande ou la gélatine.

4. Métabolisme de l'acrylamide

La *figure 22* schématise le métabolisme général (toxicocinétique et toxicodynamie) des xénobiotiques, parmi lesquels l'acrylamide. Après métabolisation, ces composés peuvent induire des lésions biomoléculaires comme des lésions cellulaires ou moléculaires à la base de la mutagenèse ou de la cancérogenèse.

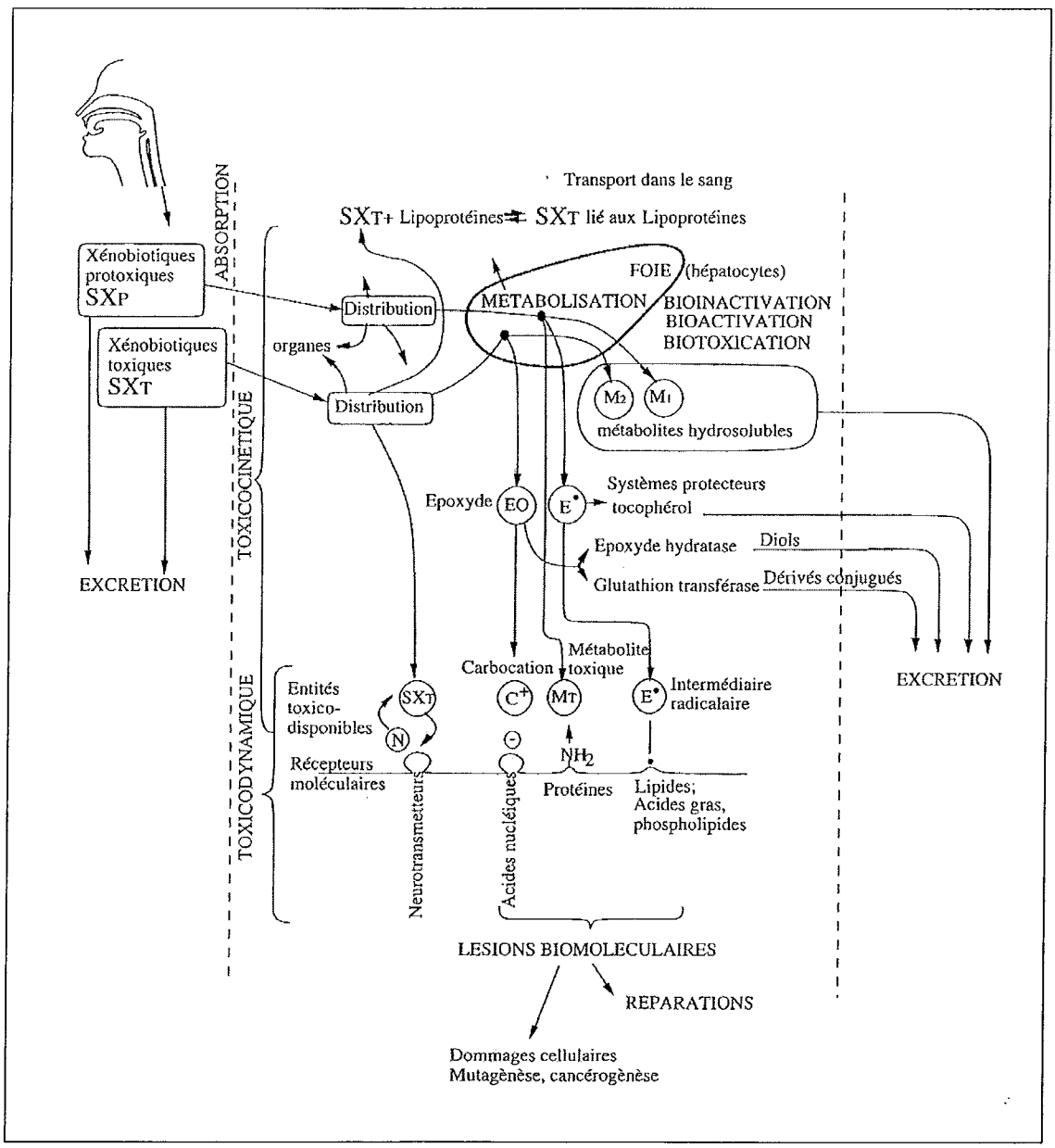


Figure 22 - Métabolisme des xénobiotiques.

Après administration orale, l'acrylamide est rapidement absorbé et distribué dans tous les tissus du corps, mais aussi dans des fluides tels que le lait. L'acrylamide est métabolisé chez les animaux de laboratoire et chez l'homme en dérivé époxydé, le glycidamide, par oxydation de la double liaison de l'acrylamide (Calleman *et al.*, 1990 ; Sumner *et al.*, 1992) (*figures 23 et 24*) principalement dans le foie par des monooxygénases cytochrome P450 dépendantes (CYP450 2E1) (Sumner *et al.*, 1999).

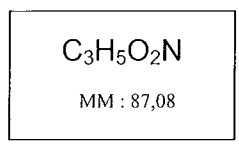


Figure 23 - Formule brute du glycidamide.

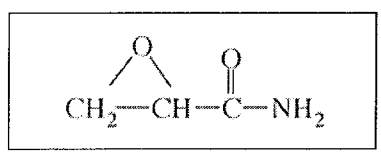


Figure 24 - Formule semi-développée du glycidamide.

Ceci a été étudié chez des souris dépourvues de cytochrome P450 2E1 (Sumner *et al.*, 1999 ; Ghanayem *et al.*, 2005). C'est la même voie métabolique qui est utilisée chez l'homme. L'acrylamide ou ses métabolites ne s'accumulent pas dans les tissus sauf dans les globules rouges où ils forment des adduits à l'hémoglobine. Ils peuvent aussi se lier de façon covalente aux acides nucléiques et à diverses protéines (Segerback *et al.*, 1995 ; Calleman *et al.*, 1993). Gamboa da Costa *et al.* (2003) ont montré que la formation des adduits de l'acrylamide et du glycidamide à l'ADN était dose-dépendante, c'est-à-dire que, chez la souris, il y avait une augmentation de leur quantité quand la dose d'acrylamide augmentait. Puis, il y avait saturation du métabolisme oxydatif aux plus fortes doses d'acrylamide administrées.

L'acrylamide non transformé en glycidamide et le glycidamide sont conjugués au glutathion par une glutathion-S-transférase pour former des acides mercapturiques (*figures 25 et 26*). Le glycidamide peut aussi être hydrolysé par une époxyde hydrolase en

dihydroxypropionamide. Sumner *et al.* (1992) ont détecté dans l'urine de rongeurs ces métabolites. Ils ont aussi été retrouvés chez l'homme et peuvent être utilisés comme biomarqueurs d'exposition à l'acrylamide dans l'urine, mais aussi le plasma ou les tissus (Boettcher *et al.*, 2005). La conjugaison de l'acrylamide et du glycidamide au glutathion pour former des acides mercapturiques excrétés dans l'urine, est la voie majeure du métabolisme et de la détoxification de l'acrylamide.

Lors d'études toxicologiques sur l'acrylamide, l'extrapolation des données toxicologiques de l'acrylamide de l'animal à l'homme nécessite de prendre en compte des différences qualitatives et quantitatives de métabolisme dues à la variabilité génétique des monooxygénases et des glutathion-S-transférases entre les espèces (Paulsson *et al.*, 2005 ; Ghanayem *et al.*, 2005). De même, il peut exister des variabilités intra espèces dans le métabolisme de l'acrylamide. Deux humains peuvent métaboliser ce composé différemment, notamment en cas de diabète, d'obésité, de consommation d'alcool ou de jeûne. Ces différences doivent être prises en compte pour l'analyse du risque lié à l'exposition *via* les aliments chez l'homme.

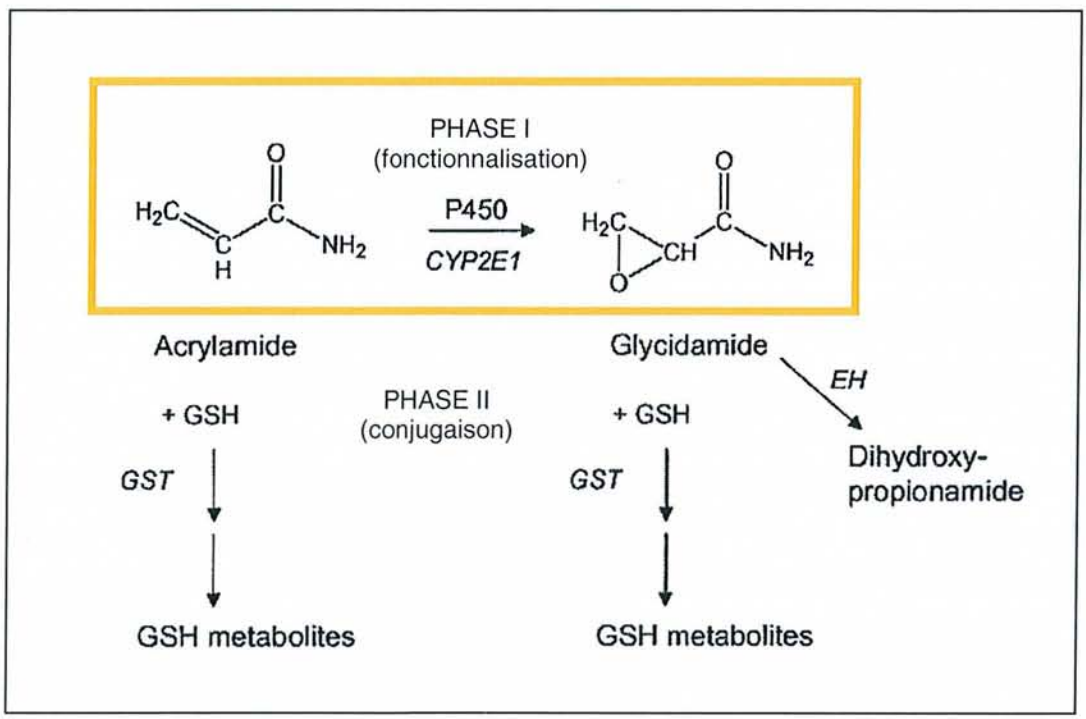


Figure 25 - Vue générale du métabolisme de l'acrylamide en glycidamide dans l'organisme. (EH : Epoxyde Hydrolase, GSH : Glutathion, GST : Glutathion-S-Transférase, P450 : Monooxygénase cytochrome P450 dépendante) (Paulsson *et al.*, 2005)

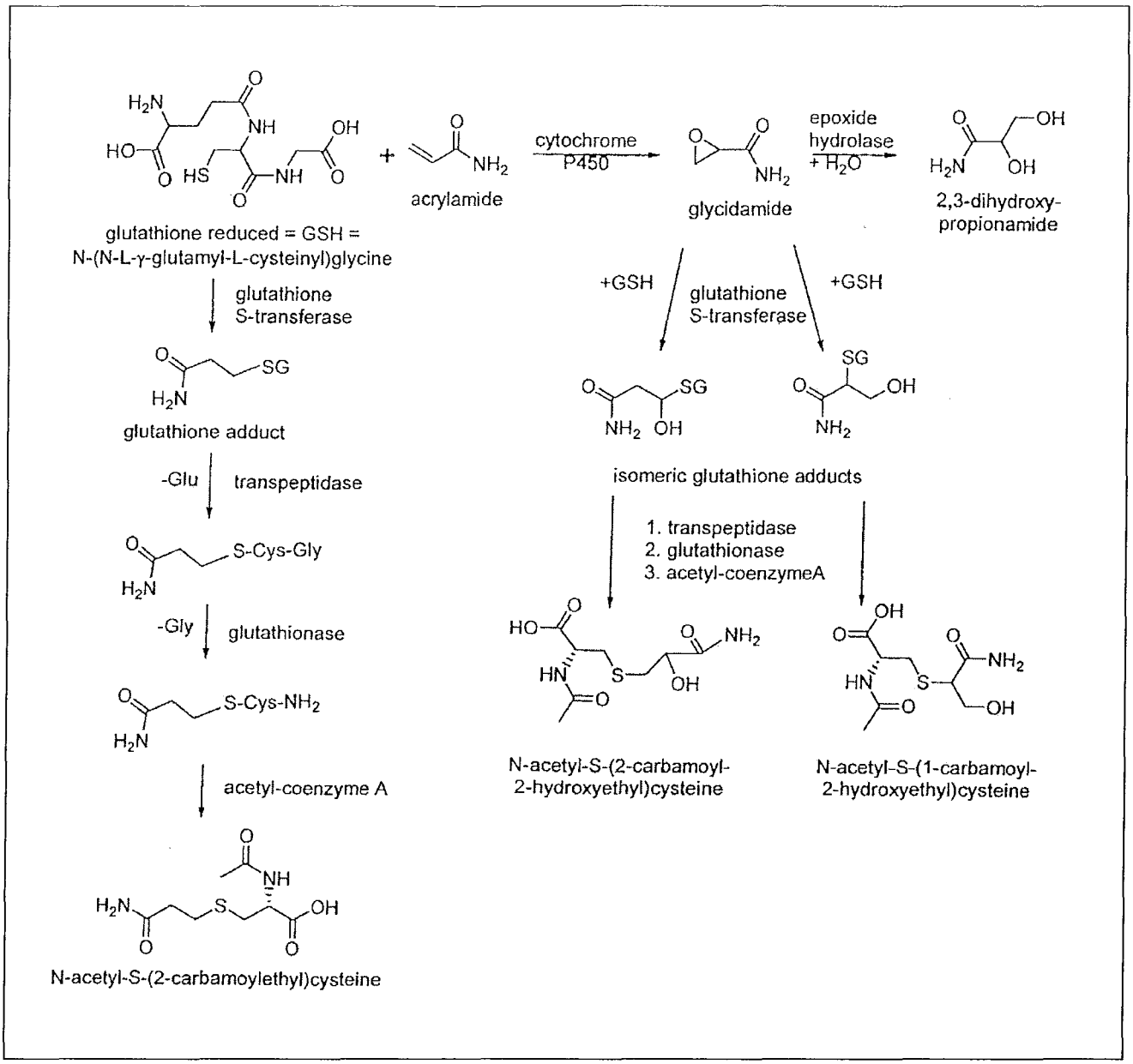


Figure 26 - Détail du métabolisme de l'acrylamide chez la souris. (Friedman *et al.*, 2003)

Le produit final du métabolisme de l'acrylamide est éliminé dans l'urine. Cette élimination est d'environ 2 heures chez le rat. Chez l'homme, peu d'informations sont disponibles.

5. Etude de toxicité de l'acrylamide

5.1. Principe de l'évaluation des risques liés aux contaminants alimentaires

Quatre étapes sont classiquement distinguées dans l'évaluation du risque lié à un contaminant alimentaire (*figure 27*) :

- Identification du potentiel dangereux (*hazard assessment*) de l'agent à étudier à partir de données de laboratoire ou d'observations,
- Evaluation de la relation dose-réponse (*dose-response assessment*),
- Estimation de l'exposition à cet agent (*exposure assessment*) : les populations susceptibles d'avoir été en contact sont quantifiées,
- Caractérisation du risque (*risk characterization*) : réalisation de la synthèse des étapes précédentes afin de décrire, pour chaque circonstance d'exposition de chacun des groupes exposés, la probabilité d'apparition des effets néfastes évoqués.

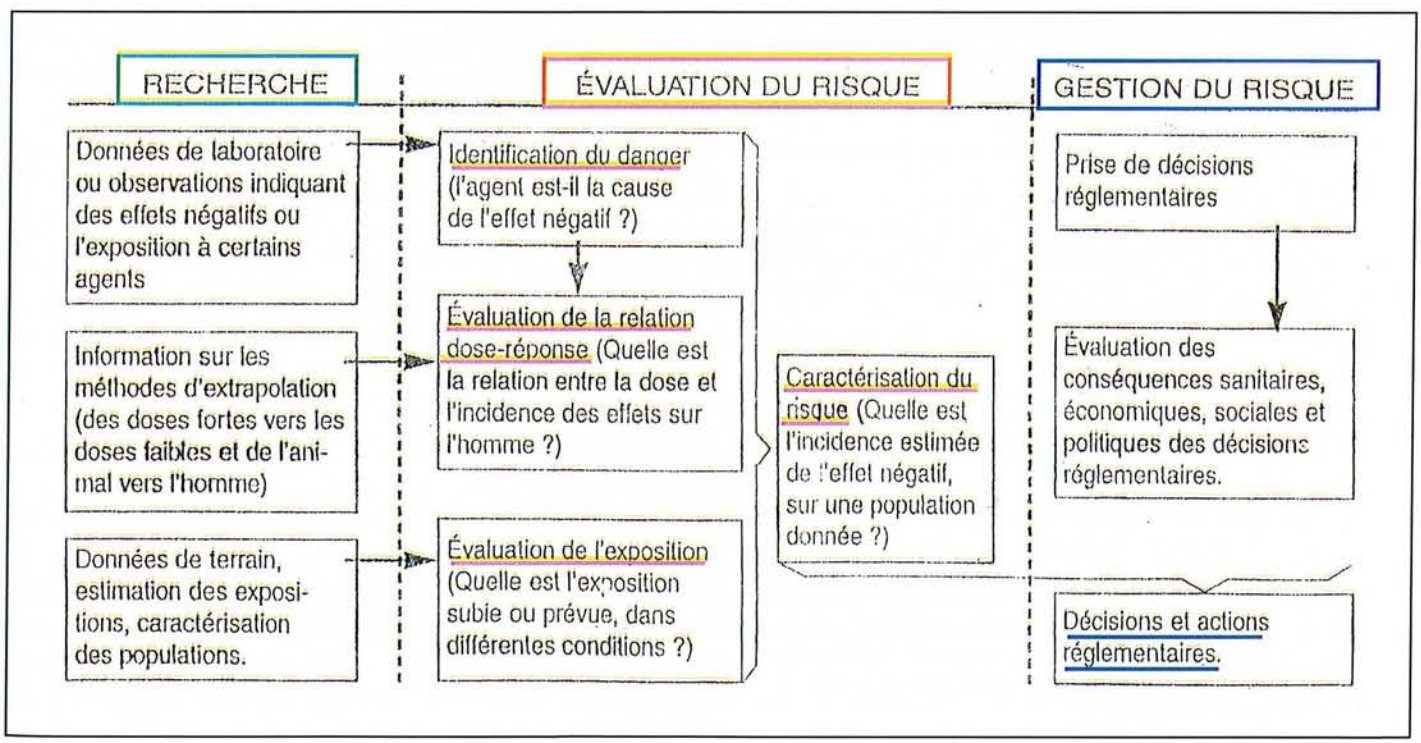


Figure 27 - Schéma général d'évaluation du risque sanitaire. (*National Research Council*, 1983)

Les études en laboratoire ou les observations (études épidémiologiques) consistent en la détermination des toxicités orales aiguë, subaiguë et chronique, des effets sur la reproduction et de l'effet cancérogène (études de mutagénicité *in vivo* et *in vitro*). On peut réaliser toute étude complémentaire pour couvrir tous les risques potentiels d'effets indésirables : allergénicité, immunotoxicité, neurotoxicité ou toxicité sur le système hormonal. Ceci va permettre d'identifier le danger. Quand le danger a été identifié, on le caractérise en réalisant une évaluation qualitative de la nature du danger et une description quantitative de la relation dose-réponse à partir des études sur les animaux de laboratoire ou des études épidémiologiques. Ces données vont permettre de déterminer le *NOAEL* (*No Observed Adverse Effect Level* ou dose sans effet nocif observé) sur des animaux.

Le calcul de l'exposition permet de déterminer s'il existe une exposition réelle de la population. Ensuite, les experts caractérisent le risque en calculant la Dose Journalière Admissible (DJA, en mg de substance/kg de poids corporel/jour). Pour cela, ils appliquent un facteur de sécurité au *NOAEL*. Ce facteur varie en général de 100 à 1000 en fonction de la qualité des études qui ont permis de déterminer le *NOAEL* et des variabilités inter- et intra-espèces principalement. La DJA représente la quantité que peut absorber un individu quotidiennement pendant toute sa vie sans aucun effet secondaire sur sa santé. Si l'exposition est inférieure à la DJA, le risque pour le consommateur est acceptable. Enfin, les autorités réglementaires se basent sur ces études pour prendre leurs décisions (dernière étape correspondant à la gestion du risque).

5.2. Quels sont les risques de toxicité due à l'acrylamide ?

5.2.1. Toxicité aiguë

L'acrylamide est toxique par voie orale chez les animaux de laboratoire (rongeurs, chat, porc, lapin) après administration aiguë. L'acrylamide a entraîné des phénomènes d'ataxie, de convulsions, de faiblesse musculaire et de perte de poids (Manson *et al.*, 2005). Chez les rats la Dose Létale 50 (DL_{50}) se situe autour de 107 à 203 mg/kg (*EC*, 2000).

Chez l'homme, l'exposition à l'acrylamide par voie orale ou dermique en milieu professionnel a été largement étudiée. On observe des effets comparables à ceux observés chez les animaux de laboratoire, c'est-à-dire principalement des signes de toxicité nerveuse périphérique comme des fourmillements, une incoordination motrice, de toxicité centrale comme des troubles de la mémoire, de la concentration ou du sommeil. De plus, on observe des signes généraux comme de la fatigue ou une perte de poids après quelques jours d'exposition (Manson *et al.*, 2005).

5.2.2. Toxicité nerveuse

L'administration orale répétée d'acrylamide chez le rat à des doses de 20 mg/kg/jour produit des lésions des nerfs périphériques, des signes de neuropathie périphérique, des atrophies des muscles squelettiques, une atrophie testiculaire et une diminution des paramètres érythrocytaires (*EC*, 2000). Chez le singe, l'administration orale d'acrylamide pendant 12 semaines à des doses de 10 mg/kg a également conduit à des signes de neuropathie périphérique. Dans cette étude, l'effet s'est montré réversible 30 semaines environ après l'arrêt du traitement.

Chez l'homme, l'acrylamide a été suspecté d'induire une toxicité nerveuse dès les années 1980 (Tilson *et al.*, 1981). Comme dit précédemment, des signes de neuropathie périphérique ont été observés chez des personnes exposées à l'acrylamide sur leur lieu de travail (He *et al.*, 1989 ; Calleman *et al.*, 1993 ; Costa *et al.* 1996). En 1997, lors de la construction d'un tunnel ferroviaire en Suède, l'utilisation d'agents chimiques de calfatage a entraîné une exposition à l'acrylamide. Il a été constaté après 2 mois des atteintes neurologiques du bétail notamment, mais aussi des travailleurs (Hagmar *et al.*, 2001). Ces études épidémiologiques chez l'homme après des expositions professionnelles, ont suggéré que le système nerveux était le principal site de toxicité chez l'homme (LoPachin *et al.*, 2004).

Des études sur des animaux de laboratoire montrent que l'action neurotoxique de l'acrylamide pourrait s'expliquer par la perturbation de la transmission neuronale dans les synapses. Elle serait probablement due à la formation d'adduits sur les groupements thiols des protéines des nerfs terminaux par addition de Mickael et dérèglement du stockage de la

dopamine (LoPachin *et al.*, 2002, 2006a, 2006b, 2007a, 2007b). Une seconde hypothèse mettrait en avant la perturbation de la kinésine et des microtubules de l'axone, ce qui gênerait la transmission du signal neuronal (Sickles *et al.*, 1996, 2002).

5.2.3. Toxicité sur la reproduction et le développement

Différentes études sur des rongeurs ont permis de mettre en évidence une diminution de la croissance pondérale chez le fœtus et à la naissance (Manson *et al.*, 2005 ; Zenick *et al.*, 1986 ; Wise *et al.*, 1995 ; Field *et al.*, 1990 ; Garey *et al.*, 2005). Ces effets peuvent être considérés comme secondaires à la toxicité maternelle (Tyl *et al.*, 2003). Une diminution de la fertilité a été constatée chez le rat ainsi qu'une augmentation de la mortalité fœtale (Manson *et al.*, 2005). Elle serait imputable en partie à une impuissance du mâle (inhibition de l'érection) et/ou à des anomalies quantitatives et qualitatives des spermatozoïdes (Sakamoto *et al.*, 1986 ; Wise *et al.*, 1995 ; Chapin *et al.*, 1995).

Selon Tyl *et al.* (2003), le mécanisme d'action toxique de l'acrylamide résulterait principalement d'une liaison de ce composé à des protéines des cellules nerveuses (kinésine et dynéine), ce qui perturberait la transmission du signal axonal et induirait des changements comportementaux lors de la reproduction comme une paralysie du pénis ou une diminution de tonicité des pattes. L'acrylamide pourrait aussi se lier aux flagelles des spermatozoïdes, d'où une perte de motilité de ceux-ci. Des effets sur le plan génétique seraient aussi impliqués comme des lésions des chromosomes des cellules germinales (Gutierrez-Espleta *et al.*, 1992 ; Dearfield *et al.*, 1995 ; Yang *et al.*, 2005). Le comité d'experts du NTP-CERHR (Manson *et al.*, 2005) indique d'ailleurs que cet effet génétique est la composante majeure de la toxicité de la reproduction chez le rat mâle.

5.2.4. Génotoxicité

5.2.4.1. Généralités sur la génotoxicité

Dans un organisme vivant, la molécule d'acide désoxyribonucléique (ADN) constitue le support de l'information génétique. La génotoxicité d'un produit chimique est une toxicité qui s'exerce sur cet ADN. Elle dépend du potentiel électrophile de ce produit, c'est-à-dire de son aptitude à se lier à des macromolécules *via* leurs sites nucléophiles.

Continuellement dans nos cellules se produisent des lésions de l'ADN sous l'action de divers agents internes dont les produits du métabolisme intermédiaire ou externes. Dans ce dernier cas, ces agents peuvent être de nature physique (radiations ionisantes, radioactivité, ultraviolets…) ou chimique (contaminants néoformés dans les aliments, métaux, pesticides, toxines, médicaments…). Ces lésions sont dites « primaires ».

Les lésions de l'ADN peuvent être de quatre types :

- La molécule d'ADN peut être endommagée sur les bases puriques et pyrimidiques : modification covalente (adduits d'oxydation, d'alkylation…), perte d'un groupement aminé par désamination, ce qui peut conduire à des substitutions de bases (C converti en U). Il peut s'agir aussi de délétions (perte d'une base) ou au contraire d'insertion de base, avec possibilité de changement du cadre de lecture (mutation *frameshift*),
- Mésappariements pendant la division cellulaire (réplication), malgré l'extrême précision de l'ADN polymérase, ADN dépendante,
- Cassures de brins de l'ADN. Elles peuvent toucher un seul brin des deux brins de l'ADN (cassure simple brin ou *Single-Stranded Break*, *SSB*) ou les deux (cassure double brin ou *Double-Stranded Break*, *DSB*),
- Pontages. Il peut s'agir de pontages intrabrin (dans un même brin d'ADN), interbrin (sur deux brins opposés, comme des dimères de thymine par exemple où 2 thymines vont se lier par des liaisons covalentes sous l'influence des rayons ultraviolets, ce qui fait arrêter la réplication par l'ADN polymérase) ou de pontages ADN-protéines.

Ces lésions, si elles ne sont pas réparées ou mal réparées, peuvent entraîner la mort cellulaire ou produire des mutations. Au sens large, une mutation est une modification de toute nature concernant la quantité et la qualité du génome, l'organisation de l'information génétique ou la séquence des nucléotides dans l'ADN. Ces mutations peuvent se situer sur l'ADN lui-même (mutations géniques : modification d'une ou de quelques base(s)), sur le chromosome (mutations chromosomiques, comme peuvent provoquer les substances clastogènes qui causent des cassures ou des aberrations chromosomiques) ou induire un changement du nombre de chromosomes (mutations génomiques, provoquées par les substances aneugènes qui provoquent des anomalies dans le nombre de chromosomes, en plus ou en moins) (*figure 28*).

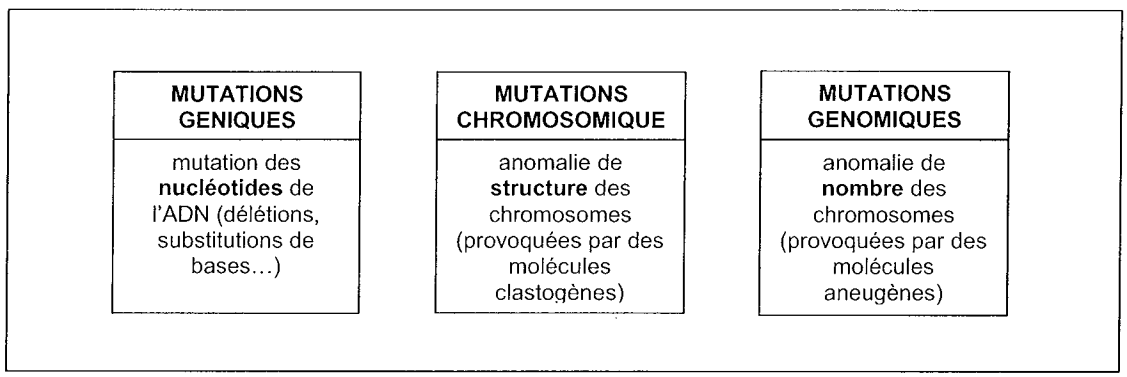


Figure 28 - Les trois grands types de mutations.

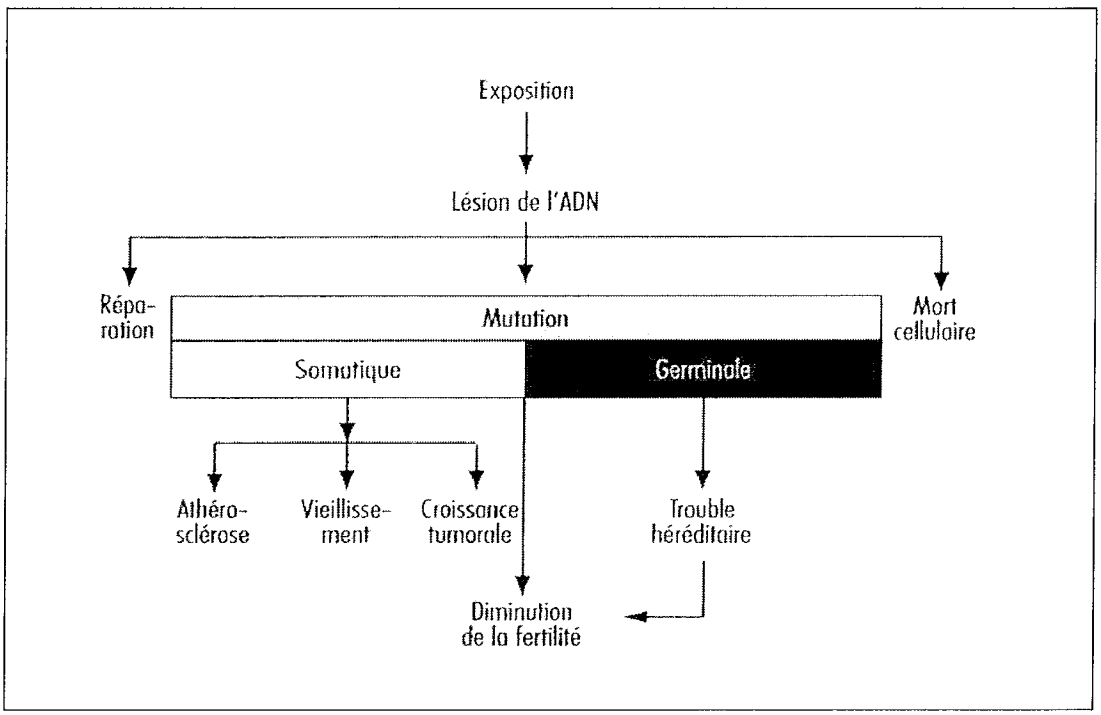


Figure 29 - La génotoxicité et ses conséquences sur la santé humaine. (Sorsa *et al.*, 2005)

La plupart des lésions génotoxiques sont réparées et ne sont jamais exprimées sous forme de mutations. Cependant, quand elles ne sont pas réparées, les mutations des cellules somatiques sont cumulatives et peuvent conduire à la mort cellulaire ou à des altérations des cellules entraînant des atteintes malignes si ces dernières se divisent (*figure 29*). La sénescence est vraisemblablement une conséquence liée à l'accumulation de mutations somatiques. Les mutations de la lignée cellulaire germinale peuvent être transférées au zygote et entraîner des maladies héréditaires en s'exprimant à la génération suivante. Il peut s'agir par exemple de mauvaise séparation des chromosomes lors de la gamétogenèse conduisant à des syndromes chromosomiques graves.

Relation entre mutations et cancer

Le cancer est un ensemble complexe et multifactoriel de mécanismes dont l'étiologie est généralement largement inconnue. On sait que les mutations de l'ADN peuvent toucher tous les gènes de l'ADN. Quand elles concernent des gènes codant des protéines du cycle cellulaire, comme des oncogènes ou des gènes suppresseurs de tumeur, elles peuvent entraîner un processus de tumorogenèse (*figure 30*). Dans la cellule cancéreuse a été découverte une activation de proto-oncogènes peu actifs en oncogènes actifs et une inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs. Les oncogènes activés sont responsables d'une prolifération cellulaire incontrôlée qui n'est plus contrebalancée par l'action inhibitrice des gènes suppresseurs de tumeurs inactivés. Ils codent des facteurs de croissance cellulaire, des protéines de transduction ou des récepteurs membranaires. Les gènes suppresseurs de tumeurs sont associés à l'arrêt du cycle cellulaire, à l'apoptose et à la réparation des lésions de l'ADN. La cellule transformée ainsi produite est caractérisée par un phénotype « mutateur » qui lui confère une instabilité génétique majeure et un avantage sélectif de croissance, aboutissant à un clone de cellules tumorales.

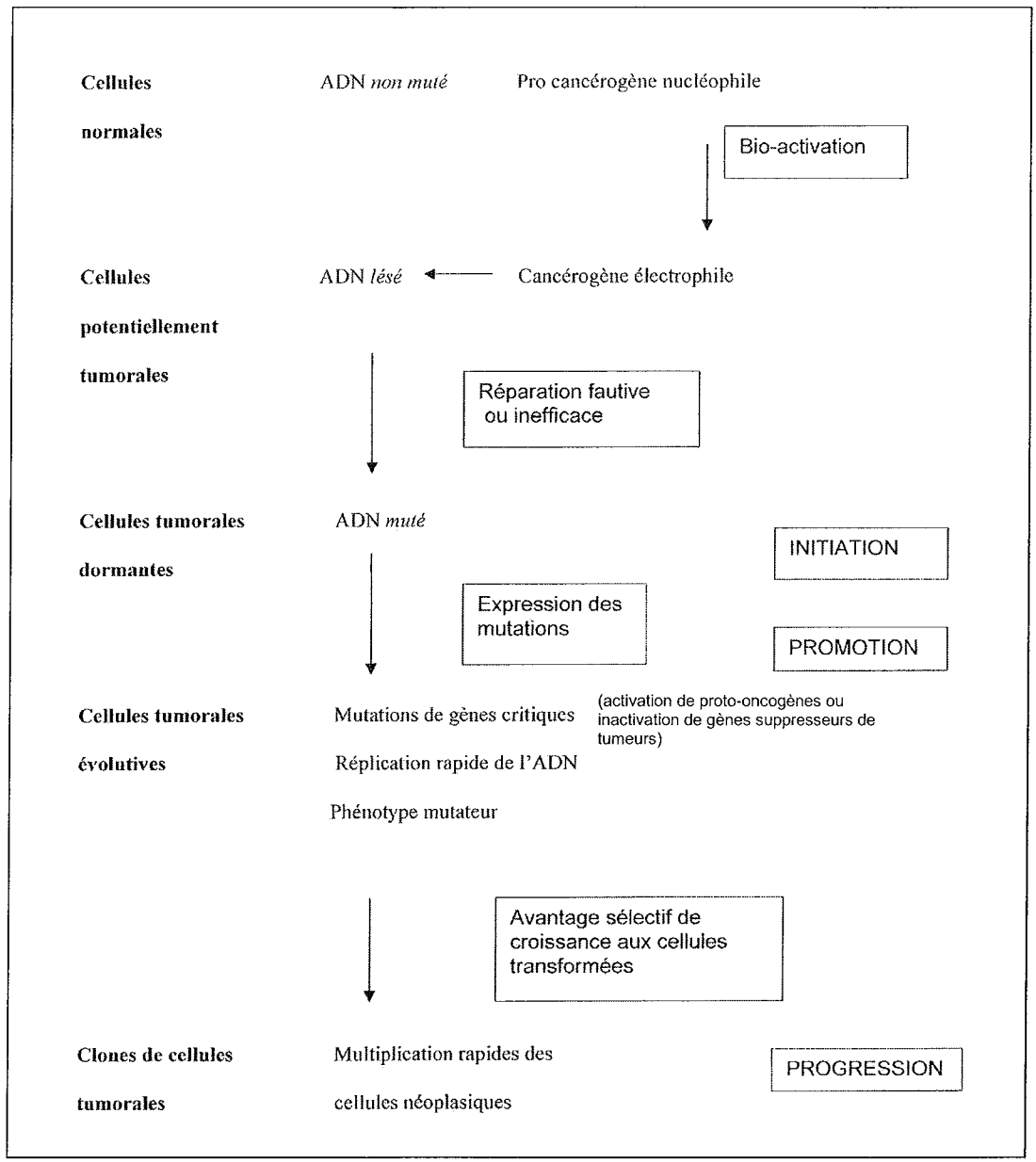


Figure 30 - Schéma simplifié de la cancérogenèse liée à la génotoxicité.

Prévention

Il a été déterminé que la nutrition jouait un rôle dans un tiers des cancers (Doll *et al.*, 1981). Par exemple il y a corrélation entre une forte consommation de fruits et de légumes et une faible incidence de certains cancers notamment des cancers gastro-intestinaux et du cancer des poumons. Depuis de nombreuses années, il est reconnu que nous sommes soumis à un stress oxydant provenant des radicaux libres, notamment des espèces réactives de l'oxygène

provenant des mitochondries durant la respiration cellulaire (Chance *et al.*, 1979). Ces espèces réactives de l'oxygène peuvent réagir et endommager les molécules biologiques, notamment l'ADN et créer des mutations qui peuvent être à l'origine de cancers. Il est donc conseillé de privilégier les aliments contenant des molécules antioxydantes comme la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes, les flavonoïdes (fruits et légumes) ou toutes les molécules qui d'ailleurs peuvent antagoniser l'effet de l'acrylamide dans l'alimentation. Par exemple, la verveine odorante, qui contient beaucoup de molécules antioxydantes comme les flavonoïdes ou les acides phénoliques, utilisée en infusion a montré une diminution des dommages à l'ADN mis en évidence par le test des comètes (Zamorano-Ponce *et al.*, 2006). Le ginseng aurait des effets protecteurs contre la neurotoxicité de l'acrylamide *via* son composé actif le ginsénoside (Mannaa *et al.*, 2006).

La toxicité génétique et l'identification du risque : les tests de génotoxicité

Afin de mettre en évidence les dommages de l'ADN et les mutations, différents tests de toxicité génétique à court terme ont été mis en place. Ils permettent de détecter des signes de génotoxicité des produits testés. Ce sont :

- des tests de mutations géniques sur bactéries (test d'Ames) ou sur cellules de mammifères (test *CHO/HGPRT*, test du lymphome de souris),
- des tests de clastogenèse comme le test des aberrations chromosomiques, le test du micronoyau ou le test d'échanges de chromatides sœurs,
- d'autres tests permettent de mettre en évidence les dommages primaires à l'ADN comme le test des comètes et la mesure des adduits.

Lors de mon Master Recherche (M2R, ex DEA) effectué en 2005 dans le laboratoire de l'AFSSA de Fougères (35), j'ai pu réaliser des travaux sur la génotoxité de l'acrylamide et du glycidamide, en utilisant le test des comètes dont le principe est expliqué en *annexe 5*. Un extrait de ce travail figure en *annexe 6*. Le test des comètes est un test de génotoxicité assez récent et très utilisé. Il est aussi appelé *SCGE* (*Single Cell Gel Electrophoresis*) et peut être réalisé *in vivo* (après administration du composé à étudier à des animaux de laboratoire) ou *in vitro* (en utilisant des cellules en culture). Il mesure les cassures simple- et double-brins et les cassures induites lors de la réparation des lésions de l'ADN.

Le rôle des altérations génétiques en cancérogenèse explique l'importance des tests de toxicité génétique pour identifier les agents cancérogènes potentiels. La plupart des agents cancérogènes chez l'humain donnent des résultats positifs dans ces tests, notamment les tests d'Ames ou d'aberrations chromosomiques.

5.2.4.2. Génotoxicité de l'acrylamide

L'effet cancérogène de l'acrylamide semble avoir pour origine principale un effet génotoxique qui résulterait de dommages à l'ADN de cette substance ou de son métabolite époxydé, le glycidamide.

1°) Potentiel génotoxique de l'acrylamide et du glycidamide

Le potentiel génotoxique de l'acrylamide a été recherché dans la plupart des tests de génotoxicité existants. Les principaux résultats sont résumés ci-dessous.

Acrylamide

L'acrylamide n'a pas induit de mutations dans le test d'Ames (sur Salmonelle) (Hashimoto *et al.*, 1985 ; Dearfield *et al.*, 1988 et 1995 ; Tsuda *et al.*, 1993) en présence ou en absence d'activation métabolique, bien qu'il réagisse avec l'ADN *in vitro* (Solomon *et al.* ; 1985, 1999). Sur cellules de mammifères, l'acrylamide s'est révélé inducteur d'aberrations chromosomiques, d'échanges de chromatides sœurs et de perturbations de la division cellulaire (Adler *et al.*, 1993). L'acrylamide s'est montré clastogène *in vitro* et *in vivo* (Higashikuni *et al.*, 1994 ; Schriever-Schwemmer *et al.*, 1997 ; Paulsson *et al.*, 2002 ; Abramsson-Zetterberg *et al.*, 2003 ; Koyama *et al.*, 2006) par le test du micronoyau et a montré des lésions à l'ADN dans le test des comètes *in vitro* (Blasiak *et al.*, 2004b) et *in vivo* (Manière *et al.*, 2005).

Lors de mon travail à l'AFSSA de Fougères, nous n'avons pas montré d'effet génotoxique dans le test des comètes à la concentration d'acrylamide maximale (6000 µM) contrairement à Blasiak *et al.* (*annexe 6*).

Comme déjà dit précédemment, Ghanayem *et al.* ont étudié la génotoxicité de l'acrylamide sur des souris déficientes en cytochrome P450 2E1 et chez des souris de souche sauvage. Le test du micronoyau s'est révélé positif sur les souris de souche sauvage, mais pas sur les souris déficientes en CYP450 2E1. Le métabolisme de l'acrylamide en glycidamide est donc nécessaire pour qu'il y ait génotoxicité, en ce qui concerne la souris.

Une étude sur des travailleurs exposés à l'acrylamide sur leur milieu de travail (jointage de tunnels) a permis de mettre en évidence une légère augmentation de la fréquence des brèches chromatidiennes dans les lymphocytes des 25 travailleurs exposés étudiés (Kjuus *et al.*, 2005). Aucune augmentation de fréquence des aberrations chromosomiques ni de cassures de chromosomes n'a été constatée. L'effet génotoxique lié à l'exposition professionnelle à l'acrylamide chez l'homme est donc faible.

L'acrylamide a aussi été étudié sur cellules germinales. Il s'est révélé clastogène sur cellules germinales mâles de rongeurs (modification de la structure de chromosomes dans les spermatozoïdes) et augmenterait la fréquence des mutations transmises à la descendance. Ces effets résulteraient d'une intéraction du glycidamide avec l'ADN, mais le mécanisme réel est encore mal connu. En ce qui concerne les éventuels effets aneugènes (anomalie du nombre de chromosomes) de l'acrylamide, ils ont été étudiés *in vivo* par quelques auteurs principalement sur des cellules germinales, mais les résultats ne vont pas tous dans le même sens et paraissent difficiles à interpréter.

Glycidamide

Le glycidamide induit des mutations dans le test d'Ames (Hashimoto *et al.*, 1985). Il a aussi donné des résultats positifs dans le test du micronoyau *in vitro* (Koyama *et al.*, 2006) et *in vivo* (Paulsson *et al.*, 2003) et dans le test des comètes *in vitro* (Baum *et al.*, 2005 ; Puppel *et al.*, 2005 ; Koyama *et al.*, 2006).

Lors de mon travail à l'AFSSA de Fougères, le test des comètes a montré un effet génotoxique dose dépendant, en accord avec les études réalisées avec les auteurs cités précédemment. Les résultats sur cellules *CHO-K1* présentent un effet à partir de 100 µM (*annexe 6*). Baum *et al.* (2005) ont montré que le glycidamide, testé sur sang total humain à des concentrations variant de 100 à 3000 µM pendant 1 à 4 heures, induisait des dommages de l'ADN dès 300 µM sur les lymphocytes (4 heures d'exposition). Pour un traitement de 1 et 2 heures, les dommages apparaissaient respectivement à partir de 3000 et 1000 µM.

Puppel *et al.* (2005) ont également montré que le glycidamide, après 3 heures de traitement, induisait des cassures dès 60 µM pour les hépatocytes de rat, 300 µM pour les cellules Caco-2 et 600 µM pour les cellules V79.

Conclusion

Lors de ces différentes études *in vitro*, l'acrylamide montre des effets inconstants et a nécessité de fortes doses. L'acrylamide pourrait être considéré comme mutagène faible. Par contre, le glycidamide est mutagène à doses relativement faibles et agit sur de nombreux types cellulaires. En ce qui concerne les mutations chromosomiques, les deux composés semblent clastogènes *in vitro*. *In vivo*, l'acrylamide et le glycidamide se sont révélés avoir des effets mutagènes. Les mutations induites seraient des transversions G → C et T → A et des décalages du cadre de lecture (Manjanatha *et al.*, 2006). En ce qui concerne les mutations chromosomiques, les deux composés semblent clastogènes *in vivo*.
In vivo, on constate donc que les deux composés ont à peu près le même profil. De plus, on a constaté une absence d'effets génotoxiques de l'acrylamide chez les souris déficientes en CYP450 2E1. Ceci indique donc que la génotoxicité de l'acrylamide *in vivo* est due à sa transformation en glycidamide.

2°) Adduits de l'acrylamide et du glycidamide à l'ADN

Les propriétés mutagènes et clastogènes de l'acrylamide et du glycidamide sont liées à leur réaction avec les macromolécules biologiques et notamment à la possibilité du glycidamide de se lier avec l'ADN par liaison covalente et de former des adduits (Besaratinia *et al.*, 2003, 2004, 2005). L'acrylamide a une réactivité faible pour l'ADN, contrairement au glycidamide qui est 100 à 1000 fois plus réactif vis à vis de l'ADN que l'acrylamide grâce à sa fonction époxyde. Il réagit sur le carbone β non substitué avec les sites nucléophiles des bases de l'ADN et provoque leur alkylation (mécanisme de substitution nucléophile de type 2).

La détection des adduits du glycidamide à l'ADN se fait actuellement par CLHP avec détection SM/SM (Gamboa da Costa *et al.*, 2003). Ils sont retrouvés *in vitro* (après incubation du composé avec de l'ADN) et *in vivo* (après administration du composé chez des rongeurs).

L'adduit N^7-(2-carbamoyl-2-hydroxyéthyl)-guanine (N^7-GA-Gua), adduit d'alkylation du glycidamide sur l'azote 7 de la guanine, a été mis en évidence chez des rongeurs traités à l'acrylamide (Segerback *et al.*, 1995) ; il est le principal adduit du glycidamide sur l'ADN. Ceci est dû à un caractère nucléophile élevé et à un encombrement stérique faible (Solomon *et al.*, 1999). La présence de cet adduit a été confirmée par de nombreux auteurs qui ont démontré qu'il existait d'autres adduits d'alkylation du glycidamide sur l'ADN, en particulier sur l'adénine (Gamboa da Costa *et al.*, 2003 ; Doerge *et al.*, 2005 ; Manière *et al.*, 2005).

Pour résumer, les principaux adduits identifiés dans ces études sont les suivants (*figure 31*) :

- adduits sur la guanine :
  - N^7-(2-carbamoyl-2-hydroxyéthyl)-guanine (N^7-GA-Gua),
  - N^7-(carbamoyléthyl)-guanine,
  - N^1-(2-carboxyéthyl)-guanine,
- adduits sur l'adénine ou l'adénosine :
  - N^1-(2-carboxyéthyl)-adénine,
  - N^6-(2-carboxyéthyl)-adénine,
  - N^3-(2-carbamoyl-2-hydroxyéthyl)-adénine (N^3-GA-Ade),
  - N^1-(2-carboxy-2-hydroxyéthyl)-adénine,
  - N^1-(2-carboxy-2-hydroxyéthyl)-2'-déoxyadénosine,
- adduits sur la cytosine :
  - N^3-(2-carboxyéthyl)-cytosine.

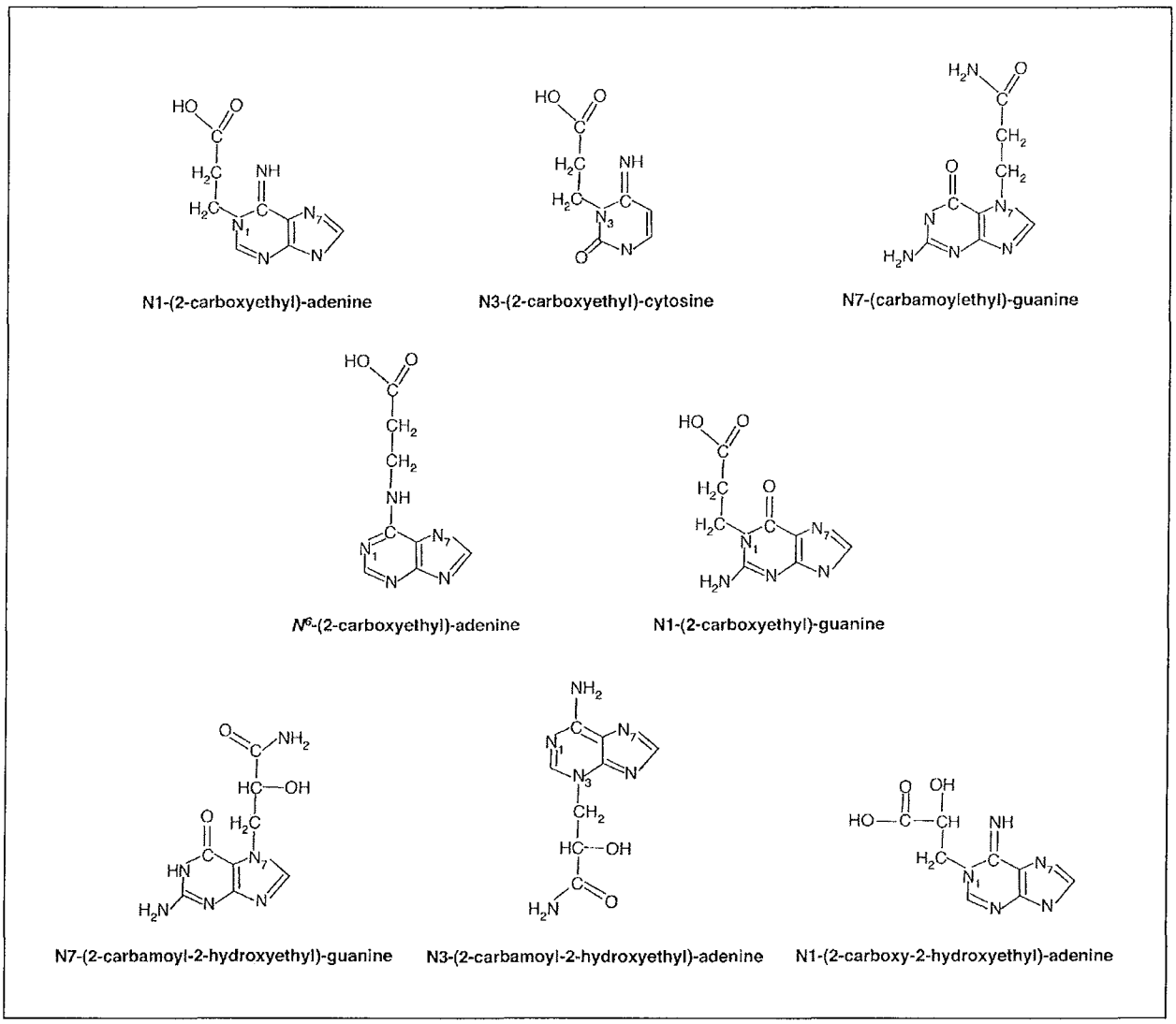


Figure 31 - Structures chimiques des principaux adduits à l'ADN de l'acrylamide et du glycidamide. L'adduit N^7-(2-carbamoyl-2-hydroxyethyl)-guanine (N^7-GA-Gua) est l'adduit le plus fréquent. (Besaratinia *et al.*, 2005)

La formation d'adduits du glycidamide au phosphate de l'ADN a été suggérée (Johansson *et al.*, 2005). Ils pourraient provoquer des cassures simple brins de la chaîne de nucléotides (*figure 32*). Le glycidamide formerait tout d'abord un adduit avec le phosphate de l'ADN, puis cet adduit réagirait par substitution nucléophile de type 2 conduisant à une cassure simple brin (*SSB*). Une preuve expérimentale par marquage radioactif au ^{32}P serait nécessaire pour confirmer ce mécanisme proposé par Johansson *et al.*.

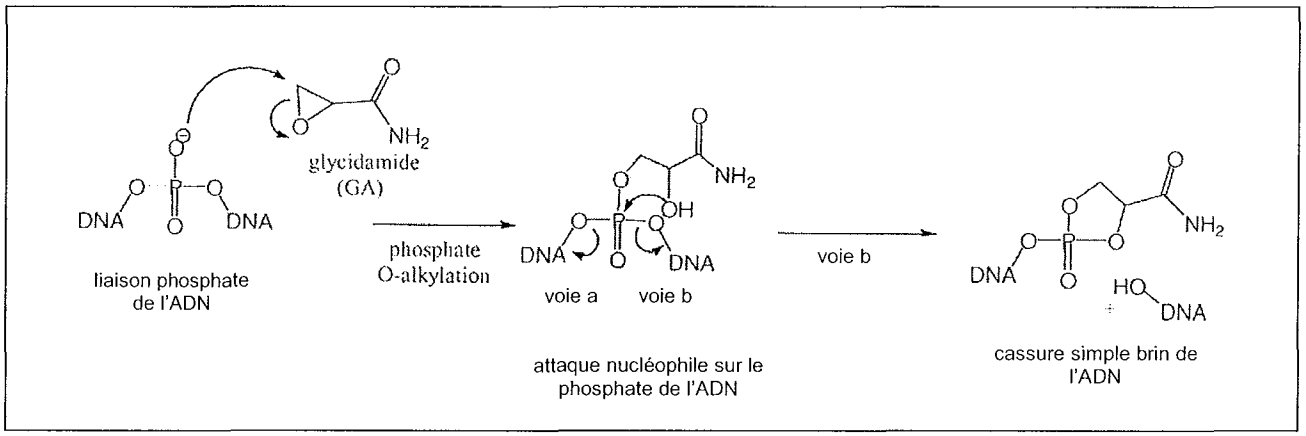


Figure 32 - Mécanisme supposé de la formation de *SSB* par le glycidamide. (Johansson F. *et al.*, 2005)

La cancérogénicité de l'acrylamide chez les rongeurs serait liée à un mécanisme d'action génotoxique, avec formation d'adduits par le glycidamide (Besaratinia *et al.*, 2003, 2004, 2005 ; Doerge *et al.*, 2005). Les mutations géniques induites *via* la formation d'adduits par l'acrylamide seraient des transitions de bases A → G et des transversions G → C et pour le glycidamide des transitions A → G et des transversions G → C et G → T (Besaratinia *et al.*, 2004). Là aussi, le glycidamide s'est révélé être plus mutagène que l'acrylamide.
Martins *et al.* (2007) montrèrent que l'induction d'échanges de chromatides sœurs *in vitro* par l'acrylamide est associé à son métabolisme en glycidamide et à la formation d'adduits à l'ADN comme la N^7-(2-carbamoyl-2-hydroxyéthyl)-guanine (N^7-GA-Gua) et la N^3-(2-carbamoyl-2-hydroxyéthyl)-adénine (N^3-GA-Ade). Par contre, ces adduits ne sont pas corrélés avec la présence d'aberrations chromosomiques.

Conclusion sur la génotoxicité de l'acrylamide

Comme déjà dit précédemment, les lésions à l'ADN et notamment les adduits peuvent, si elles ne sont pas réparées, entraîner des mutations de l'ADN avec les conséquences présentées *figure 29*. Si les mutations touchent des gènes codants du cycle cellulaire, elles peuvent entraîner un processus de tumorogenèse. La relation entre adduits à l'ADN et mutagénicité de l'acrylamide et du glycidamide a été étudiée par Besaratinia comme déjà cité précédemment (Besaratinia *et al.*, 2003 , 2004 et 2005). Cet auteur met en relation la

présence d'adduits et de bases modifiées (transitions et transversions) *in vitro*. Cependant, cet auteur fait remarquer que tous les adduits ne correspondent pas à des mutations car (i) les lésions peuvent être réparées ou (ii) les lésions peuvent ne pas être fixées par des divisions cellulaires. L'étude de Martins *et al.* (2007) a montré que la présence de certains adduits du glycidamide à l'ADN pouvait aussi être corrélée avec la présence d'échanges de chromatides sœur, mais pas forcément d'aberrations chromosomiques. Il pourrait donc exister d'autres mécanismes responsables de la génotoxicité de l'acrylamide.

5.2.5. Cancérogénicité

5.2.5.1. Etudes chez l'animal

Il faut en général compter 2 à 3 ans pour obtenir des résultats d'études à long terme chez l'animal sur l'effet cancérogène de l'acrylamide. Plusieurs études sur la cancérogénicité de l'acrylamide chez les rongeurs ont été publiées dans les années 1980. Au vu des études chez l'animal, l'acrylamide a été classé par le CIRC (ou *IARC*) comme cancérogène probable chez l'homme dès 1994 (groupe 2A ; *IARC*, 1994) (*annexes 7* et *8*). A titre de comparaison, les autres substances cancérogènes répertoriées par le CIRC figurent dans l'*annexe 9*. L'INRS a diffusé une liste des substances cancérogènes en milieu professionnel et a classé l'acrylamide dans la catégorie 2, c'est-à-dire que suffisamment d'éléments permettent de présumer du fait que l'exposition de l'homme à l'acrylamide peut provoquer un cancer (a*nnexe 10).*

Deux études à long terme chez les rats ont permis d'analyser le risque cancérogène de l'acrylamide (Johnsson *et al.*, 1986 ; Friedman *et al.* , 1995). Dans ces études, la dose à partir de laquelle des effets ont été détectés est de 1 à 2 mg/kg/jour. A partir de ces doses, l'acrylamide s'est révélé induire une augmentation des tumeurs des glandes mammaires, des testicules et de la thyroïde notamment. Des études sur des souris ont montré que l'acrylamide peut entraîner une augmentation des cancers du poumon (Bull *et al.* , 1984a ; Bull *et al.*, 1984b). Chez les souris *A/J* sensibles au développement des adénomes pulmonaires l'effet est constaté à des doses plus faibles et sur des études de plus courte durée que chez les souris *Swiss-ICR*. L'acrylamide serait aussi responsable de l'apparition de

cancers de la peau chez ces rongeurs. Il est à noter que les souris sont environ 10 fois plus sensibles que les rats à l'effet de l'acrylamide (Paulsson *et al.* , 2001).

D'après les études sur les rats et les souris, la répartition des tumeurs observées après administration d'acrylamide est caractéristique d'un cancérogène génotoxique (souvent multi-sites). De plus, la voie de biotransformation de l'acrylamide en glycidamide (par les CYP 2E1) est la même que celle du chlorure de vinyle en son métabolite réactif, l'oxyde de chloroéthylène (Zajdela *et al.*, 1980 ; El Ghissassi *et al.*, 1998) et il a été démontré que le chlorure de vinyle est cancérogène pour l'homme. Au regard des sites touchés par les tumeurs chez les animaux de laboratoire, d'autres facteurs pourraient intervenir dans les effets mutagènes et cancérogènes de l'acrylamide, comme la prolifération cellulaire et le stress oxydant (Lafferty *et al.*, 2004 ; Park *et al.*, 2002 ; Blasiak *et al.*, 2004a ; Yousef *et al.*, 2006). Une perturbation du système hormonal pourrait aussi être mise en cause. En effet, les organes touchés par les tumeurs sont des organes dont le fonctionnement est sous dépendance hormonale comme la thyroïde, les glandes mammaires ou les testicules. Mais aucune étude n'a encore vraiment évalué cette hypothèse.

Chez les rats traités à l'acrylamide, des adduits à l'ADN sont retrouvés dans les sites présentant des tumeurs (testicules, thyroïde), mais aussi dans d'autres sites où l'on n'a pas retrouvé de tumeurs (foie, rein, poumons). La cancérogenèse de l'acrylamide ne peut donc pas s'expliquer seulement par l'accumulation d'adduits à l'ADN. Des mécanismes autres que des dommages à l'ADN sont donc bien en cause dans l'effet cancérogène de l'acrylamide.

5.2.5.2. Etudes chez l'homme

Exposition professionnelle

C'est dans les années 1955 que débuta la production et l'utilisation de l'acrylamide dans l'industrie. Dans les années 70 - 80, on commença à s'interroger sur sa cancérogénicité, suite à la mise en évidence d'une augmentation des cas de cancers du foie chez des travailleurs exposés à des monomères de même type dont le chlorure de vinyle (Heath *et al.*, 1975) et à réaliser les premières études épidémiologiques sur ce composé.

En 1986, Sobel *et al.* étudièrent une cohorte de 371 hommes travaillant aux Etats-Unis dans une usine de production et de polymérisation de monomères d'acrylamide et, en 1989, Collins *et al.* analysèrent une autre cohorte de 8854 hommes provenant de quatre usines (Sobel *et al.*, 1986 ; Collins *et al.*, 1989). Aucune de ces deux études ne détecta une augmentation des cas de cancers chez les travailleurs exposés à l'acrylamide. Cependant, Sorbel *et al.* (1986) rapportèrent une augmentation de cancers digestifs dans le sous-groupe exposé préalablement à des colorants organiques et Collins *et al.* (1989) une augmentation des cancers des poumons chez les personnes préalablement exposées à l'acide muriatique. Néanmoins, ces deux études n'ont pas été jugées fiables par le CIRC pour l'évaluation de la cancérogénicité de l'acrylamide. Une mise à jour de l'étude de Collins a été effectuée et a montré une augmentation du risque de cancer du pancréas, du cerveau et des poumons chez les travailleurs les plus exposés (Marsh *et al.*, 1999). Schulz *et al.* (2001) reprirent les résultats de ce précédent auteur en ce qui concerne le cancer du pancréas et confirmèrent ces résultats. Cependant une récente mise à jour par Marsh *et al.* (2007) revint sur ces résultats pour les nuancer et conclure que l'exposition à l'acrylamide n'est pas associée à une mortalité par des cancers sur les sites étudiés. Néanmoins, une autre étude récente et publiée dans les mêmes temps par Swaen *et al.* portant sur 700 travailleurs dans des usines de production et de polymérisation d'acrylamide suivis de 1955 à 2001 mis en évidence une augmentation des cas de cancer du pancréas (Swaen *et al.*, 2007).

Exposition par les aliments

Depuis la découverte de la présence d'acrylamide dans les aliments en 2002, des études épidémiologiques rétrospectives ont cherché à établir une relation entre la consommation d'aliments riches en acrylamide et la survenue de cancer dans la population générale. Une étude de Mucci *et al.* (2003) n'a pas trouvé de lien entre la consommation d'acrylamide dans une population suédoise et des cas de cancers du colon, de la vessie ou du rein, avec des aliments contenant des taux en acrylamide allant de 30 à 1200 µg/kg. Cette étude cas-témoins sur environ 1500 personnes a été réalisée sur des personnes en bonne santé et des personnes atteintes de cancers. Ces auteurs ont recherché si une consommation importante de certains aliments riches en acrylamide comme les chips, les frites, les biscottes ou le pain grillé augmentait le risque de ces cancers. Des résultats similaires ont été trouvés par Pelucci *et al.* (2003) et Dybing *et al.* (2003). Cependant, ces études ont été

réalisées sur un nombre trop faible d'individus et n'ont pas pris en compte tous les sites potentiels de cancer. Hagmar et Törnqvist (2003) recommandent de prendre l'étude de Mucci de 2003 avec précaution car il existe notamment un manque de précision sur les quantités d'acrylamide réellement ingérées par la population étudiée. Une étude de Mucci *et al.* (2005) portant sur environ 40 000 femmes suédoises suivies pendant 11 ans a visé à étudier la relation entre cancer du sein et exposition à l'acrylamide. Aucune corrélation n'a été trouvée, de même dans leur étude de 2006 sur le cancer colorectal où la consommation moyenne d'acrylamide a été estimée à 25 µg par jour (0,38 µg/kg). Sur les 245 femmes dont la consommation a été estimée à 1 µg/kg, aucun cas de cancer du colon ou du rectum n'a été détecté. Une étude plus large et aussi récente de Pelucchi *et al.* portant sur des types variés de cancers (cavité orale, pharynx, œsophage, colon, rectum, larynx, seins, ovaires, prostate) n'a pas plus établi de lien entre la consommation d'acrylamide et des cancers (Pelucchi *et al.*, 2006).

6. Données d'exposition

Après la découverte de l'acrylamide dans différents types d'aliments, différents auteurs s'attachèrent à déterminer l'exposition réelle des consommateurs à ce composé.

6.1. Méthodes de détermination de l'exposition à l'acrylamide

Pour calculer l'exposition à l'acrylamide, on peut se servir des données de consommation et de taux d'acrylamide dans les aliments (pour calculer la quantité d'acrylamide ingéré) ou on peut l'estimer à partir de marqueurs d'exposition comme les adduits aux protéines telles que l'hémoglobine à partir de prélèvements sanguins. La première méthode est la plus utilisée. Une extrapolation est possible entre ces deux méthodes pour passer d'une estimation à l'autre, mais elle n'est pas encore fiable et nécessite d'être améliorée.

Les adduits en N-terminal à l'hémoglobine (sur le groupement αNH_2 de la valine) de l'acrylamide et du glycidamide sont utilisés par de nombreux auteurs comme marqueurs d'exposition à l'acrylamide (Perez *et al.*, 1999 ; Paulsson *et al.*, 2002). Il s'agit des adduits à l'acrylamide et au glycidamide suivants (respectivement) (Friedman *et al.*, 2003) : N-(2-carbamoyl-éthyl)-L-valine (*figure 5*) et N-(2-carbamoyl-2-hydroxyéthyl)-RS-valine. Ces adduits à l'hémoglobine permettent de quantifier l'exposition à l'acrylamide sur 120 jours (durée de vie d'un globule rouge). Ils confirment la présence de ces composés *in vivo* mais ne sont pas des indicateurs de toxicité. D'autres composés peuvent être utilisés pour évaluer l'exposition à l'acrylamide, comme les acides mercapturiques de l'acrylamide et du glycidamide (*figure 26*), respectivement la N-acétyl-S-(2-carbamoyléthyl)-L-cystéine et la N-(R,S)-acétyl-S-(2-carbamoyl-2-hydroxyéthyl)-L-cystéine, dosés dans l'urine humaine, le plasma ou les tissus (Boettcher *et al.*, 2005). Ils ne sont cependant pas beaucoup utilisés.

6.2. Taux d'exposition

L'acrylamide a été décelé principalement dans les aliments (y compris l'eau), le milieu de travail, la fumée de tabac et les cosmétiques. Selon des estimations récentes de la *FDA* (*Food and Drug Administration*) et des autorités européennes, la consommation moyenne d'acrylamide calculée à partir de données de consommation serait de 0,4 µg/kg de masse corporelle/jour (*FDA*/CFSAN, 2006). Ceci est à peu près en accord avec les conclusions du *JECFA* (*JECFA*, 2005) qui a estimé cette moyenne à 1 µg/kg de masse corporelle/jour pour la population générale. Pour les grands consommateurs, elle est de 4 µg/kg de masse corporelle/jour. La *figure 33* résume les études réalisées de 2002 à 2004 sur l'exposition à l'acrylamide basée sur des données de contamination moyenne et des données de consommation. On constate que les résultats sont assez proches.

Exposure estimates from 2002–2004

Exposure assessment	Daily intake μg/kg bw/day		Source
	Mean (age group)	95th percentile; *90th percentile	
FAO/WHO (2000)	0.3–0.8		http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/en/acrylamide_full.pdf
EU, SCF (2002)	0.2–0.4		http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out131_en.pdf
BfR, Germany (2002)	1.1 (15–18)	3.4	http://www.bfr.bund.de/cm/208/abschaetzung_der_acrylamid_aufnahme_durch_hochbelastete_nahrungsmittel_in_deutschland_studie.pdf
BAG, Switzerland (2002)	0.28 (16–57)		http://www.bag.admin.ch/verbrau/aktuell/d/DDS%20acrylamide%20preliminary%20communication.pdf
AFSSA, France (2002)	0.5 (>15) 1.4 (2–14)	1.1 2.9	http://www.afssa.fr/ftp/afssa/basedoc/acrylpoint2sansannex.pdf
FDA (2002)	0.7		http://www.jifsan.umd.edu/presentations/acry2004/acry_2004_dinovihoward_files/frame.htm
FDA (2003)	0.37 (>2) 1.00 (2–5)	0.81* 2.15*	See FDA above
SNFA, Sweden (2002)	0.45 (18–74)	1.03	Svensson et al. (2003)
NFCS, Netherlands	0.48 (1–97) 1.04 (1–6) 0.71 (7–18)	0.60 1.1 0.9	Konings et al. (2003)
SNT, Norway (2003)	0.49 (males) 0.46 (females) 0.36 (9, boys) 0.32 (9, girls) 0.52 (13, boys) 0.49 (13, girls) 0.53 (16–30, males) 0.50 (16–30, females)	1.01* 0.86* 0.72* 0.61* 1.35* 1.2*	Dybing and Sanner (2003)
FDA (2004)	0.43 (>2) 1.06 (2–5)	0.92* 2.31*	See FDA above

Figure 33 - Taux d'exposition à l'acrylamide d'après différentes études. (Dybing *et al.*, 2005)

Comme ils ont un poids corporel inférieur à celui des adultes, les enfants et les adolescents ont une moyenne de consommation d'acrylamide par kilogramme de masse corporelle supérieure à celui des adultes (Dybing *et al.*, 2005). Cette moyenne varie entre environ 0,5 et 1,31 μg/kg de masse corporelle par jour.

L'acrylamide, par sa propriété hydrophile, passe la barrière placentaire et peut passer dans le lait maternel. Une étude de Sorgel *et al.* (2002) estima que, chez les femmes enceintes, 10 à 50 % de l'acrylamide ingéré par l'alimentation était transféré au fœtus par le placenta. Dans cette même étude, des taux d'acrylamide supérieurs à 18,8 μg/L ont été trouvés dans le lait maternel.

Les données sur l'exposition à l'acrylamide existent pour l'Europe et les Etats Unis. Cependant, les différences culturelles n'ont pas encore été étudiées à ce jour, de même que l'existence de groupes à risques. Au sein de l'Union Européenne, il existe des différences considérables de taux d'exposition à l'acrylamide, dus à des modes d'alimentation et de préparation des aliments différents. Les taux d'exposition dépendent beaucoup des niveaux de consommation (quantité, fréquence), mais aussi de l'existence de différentes sources d'exposition comme la consommation de cigarettes par exemple.

Il existe encore beaucoup d'incertitudes sur les quantités d'acrylamide consommé par la population. Les différentes études existantes utilisent des méthodes d'évaluation des quantités d'acrylamide consommé propres à leurs auteurs donc présentant de légères différences et ne permettent donc pas une comparaison totale. Des efforts doivent être faits pour les harmoniser. Les populations, notamment en terme d'âges, doivent faire l'objet de recherches approfondies afin de pouvoir déterminer des facteurs de risques potentiels.

Exposition par les aliments

Parmi les groupes d'aliments contenant le plus d'acrylamide, il y a les produits à base de pommes de terre frites, comme les pommes frites et les chips, les céréales, les pâtisseries comme les *cookies* et les *cakes* et enfin le café et le pain (*FDA*/CFSAN, 2004). Ces aliments contribueraient à plus de 80 % des doses d'acrylamide ingérées (Dybing *et al.*, 2005). Cette exposition par les aliments correspondrait à environ 0,5 à 1 µg/kg de masse corporelle/jour (AFSSA, 2005).

Il existe de nombreuses différences de consommation alimentaire entre les populations de différents pays ou de différentes régions. Par exemple, les pommes de terre frites sont consommées en très forte quantité aux Etats-Unis et représentent 35 % en moyenne de la consommation journalière d'acrylamide (Dybing *et al.*, 2005). En Hollande, l'étude de Konings *et al.* (2003) montra que la consommation de pommes de terres était bien supérieure et que les frites et les chips pouvaient contribuer à jusqu'à 50 % de la consommation en acrylamide par jour.

La *figure 34* représente la contribution de diverses catégories d'aliments à la consommation d'acrylamide chez différentes tranches d'âge de la population française.

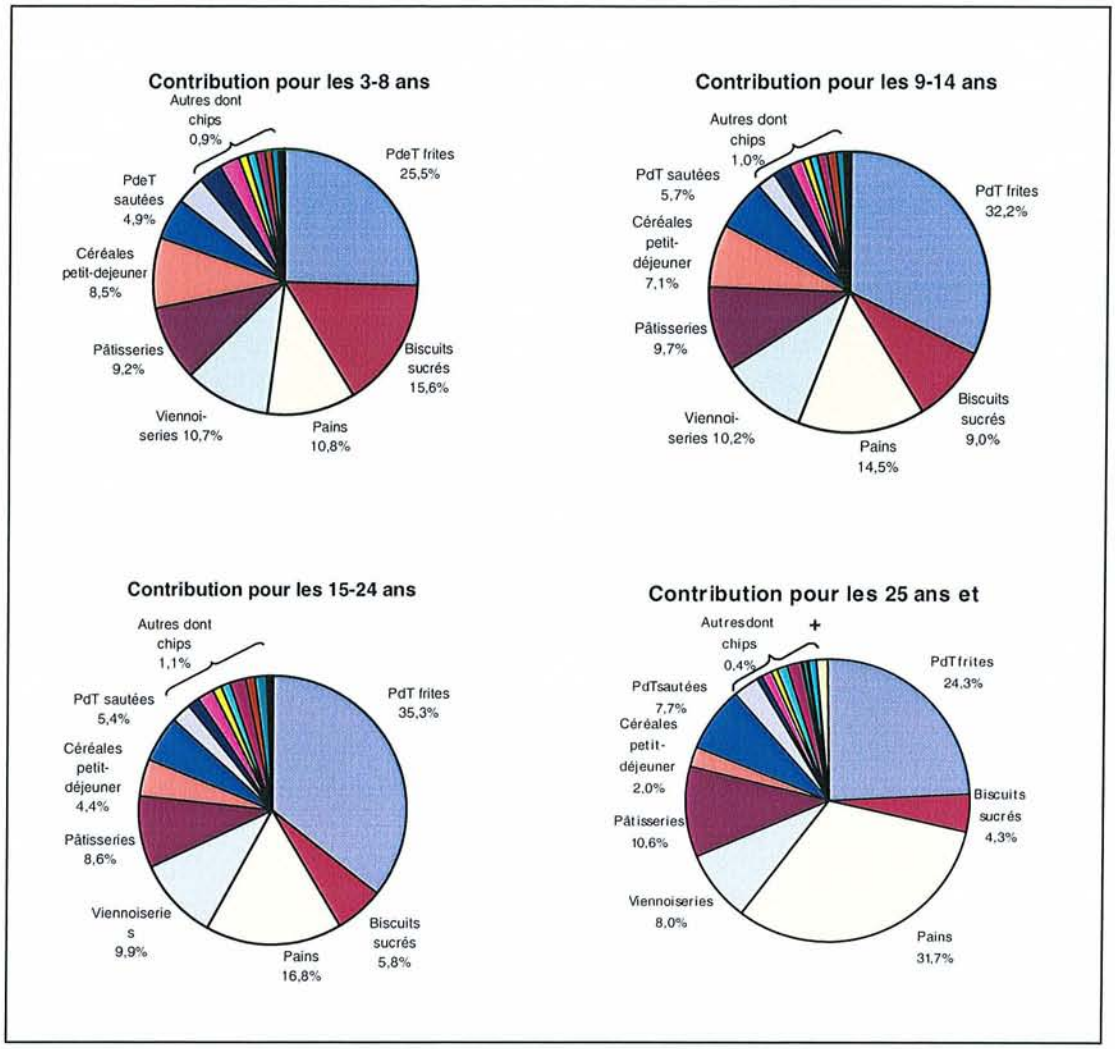


Figure 34 - Contribution des aliments à l'exposition totale à l'acrylamide selon les tranches d'âge, exprimée en pourcentage dans la population française. (AFSSA, 2005)

Cette étude rejoint ce qui a été dit précédemment. Ce sont les frites qui apportent le plus d'acrylamide, notamment chez les enfants et les jeunes adultes (plus de 30 % de l'exposition totale). Pour les plus de 25 ans, le pain représente un apport considérable (plus de 30 %). Les pâtisseries et les viennoiseries contribuent aussi fortement à l'exposition à l'acrylamide. Peu d'information est disponible sur les taux en acrylamide des aliments cuisinés à la maison et sur la contribution de ce type d'aliments à la consommation totale en acrylamide. Elle pourrait représenter 50 % de l'ingestion totale en acrylamide (Dybing *et al.*, 2005).

Exposition professionnelle

Les personnes travaillant dans les industries de production ou de transformation de l'acrylamide peuvent être exposées à ce composé par voie dermique ou par inhalation. En France, le Ministère du travail a fixé à 0,3 mg/m^3 la valeur limite moyenne admise dans l'air pour l'exposition à l'acrylamide dans les locaux. D'après les études sur l'exposition à l'acrylamide, cette limite est rarement atteinte (Manière *et al.*, 2006).

Exposition par le tabac

Parmi les sources non alimentaires d'acrylamide, la fumée de tabac peut représenter un apport important d'acrylamide, même de manière passive (Bergmark *et al.*, 1997 ; Smith *et al.*, 2000 ; Schettgen *et al.*, 2003, 2004 ; Hagmar *et al.*, 2005). Elle peut pour les gros fumeurs (plus de 20 cigarettes par jour) être comparable à la dose d'acrylamide ingérée par l'alimentation.

Autres sources d'exposition

L'utilisation de polyacrylamide pour le traitement (clarification) de l'eau visant à la rendre potable peut être à l'origine de l'introduction d'acrylamide (*EC*, 2000). Dans l'eau potable, la limite d'acrylamide résiduel a été fixée à 0,1 µg/L par la directive européenne 98/83/EC du 3 novembre 1998 (EEC 1998). La limite est de 0,5 µg/L aux Etats-Unis, limite fixée par l'Agence des Etats-Unis pour la protection de l'environnement (*U. S. Environmental Protection Agency, EPA).*

Les produits cosmétiques peuvent aussi être source d'acrylamide (*EC*, 2000). Ces produits peuvent contenir du polyacrylamide qui peut être une source d'acrylamide. L'exposition se fait alors de manière cutanée.

Les quantités en acrylamide ingérées par ces deux voies sont cependant bien inférieures à celles trouvées dans les aliments.

7. Quel est le risque pour le consommateur ?

L'évaluation du risque comprend différentes étapes comme il a été dit précédemment (*figure 27*) : l'identification du danger, l'évaluation de la relation dose-réponse, l'évaluation de l'exposition et la caractérisation du risque. L'identification du danger se fait à partir de données épidémiologiques ou des résultats des expérimentations animales (toxicité aiguë, subaiguë, nerveuse, sur la reproduction, génotoxicité et cancérogénicité). L'évaluation de la relation dose-réponse utilise aussi des données épidémiologiques ou des résultats des expérimentations animales. Elle permet la caractérisation du danger et le calcul du *NOAEL*. L'extrapolation à l'homme est complexe car les animaux de laboratoire et l'homme présentent des différences notamment dans le métabolisme de l'acrylamide en glycidamide ou dans sa détoxification par les GST. L'évaluation de l'exposition se base sur des données de consommation et de taux d'acrylamide dans les aliments en général. Enfin, la caractérisation du risque réalise la synthèse des étapes précédentes afin de décrire la probabilité d'apparition des effets néfastes évoqués.

Identification du danger et évaluation de la relation dose-réponse

Neurotoxicité

A partir des données exposées dans les chapitres précédents, l'acrylamide est neurotoxique chez l'animal de laboratoire et l'homme. Les études réalisées chez l'homme indiquent que l'effet secondaire prédominant après exposition chez les travailleurs est de type neurotoxique. Chez les rats, le *NOAEL* pour l'induction de perturbations morphologiques des nerfs suite à l'ingestion d'acrylamide dans l'eau de boisson durant 90 jours est de 0,2 mg/kg de masse corporelle par jour (*JECFA*, 2005).

Toxicité sur la reproduction et le développement

Les effets de l'acrylamide sur la reproduction et le développement sont modérés et concernent surtout le mâle par la survenue de changements comportementaux ou d'anomalie des spermatozoïdes, mais peuvent aussi entraîner des retards pondéraux des fœtus et des nouveaux-nés. Le *NOAEL* pour la toxicité sur la reproduction et le développement chez les rongeurs, est de 2 mg/kg de masse corporelle par jour (*JECFA*, 2005).

Génotoxicité et cancérogénicité

L'acrylamide et son dérivé époxydé le glycidamide sont génotoxiques *in vivo* et *in vitro* aussi bien dans les cellules somatiques que germinales de rongeurs. L'acrylamide a induit des cancers chez ces animaux après exposition alimentaire. Les organes cibles sont les glandes mammaires, les testicules, la thyroïde, les poumons et la peau. Le *NOAEL* pour la formation de tumeurs chez le rat est de 0,1 mg/kg de masse corporelle par jour. Au vu des études chez l'animal, l'acrylamide a été classé par le CIRC comme cancérogène probable chez l'homme dès 1994 (groupe 2A).
Cependant les études épidémiologiques (exposition professionnelle ou alimentaire) n'ont pas mis en évidence de relation entre l'exposition à l'acrylamide et des cas de cancers chez l'homme excepté une augmentation de risque de cancer du pancréas pour les plus fortes expositions en milieu professionnel. Mais ceci demande à être confirmé car ces études portent sur un nombre trop limité d'individus : la sensibilité obtenue n'est pas suffisante pour détecter des différences avec les taux de cancers auxquels on pourrait s'attendre entre les cas et les témoins.

Concernant les *NOAEL* calculés pour les différentes toxicités de l'acrylamide chez l'animal, il est encore difficile dans l'état actuel des connaissances de les utiliser pour les transposer à l'homme du fait de différences inter-espèces de métabolisme, de détoxification ou de biodisponibilité de l'acrylamide ou du glycidamide.

Caractérisation du risque

La caractérisation du risque la plus récente est celle du *JECFA* (2005). Afin d'estimer le risque pour l'homme, le comité mixte *JECFA* a utilisé une démarche d'évaluation des risques faisant appel à la marge d'exposition. La valeur de cette marge indique un niveau de préoccupation pour aider les autorités réglementaires à fixer des priorités pour prendre des mesures. Elle correspond au rapport entre la dose sans effet chez l'animal et le niveau d'exposition estimé. Plus elle est faible et plus la toxicité est importante. Selon le *JECFA*, au vu des marges d'expositions calculées, le risque lié aux effets neurotoxiques et reprotoxiques est considéré comme faible bien que l'acrylamide, comme il a été dit précédemment, induise des signes de neuropathie périphérique, de perturbation de la fertilité et du développement chez l'animal.

En ce qui concerne le risque cancérogène, la marge d'exposition a été estimée à 300 pour la population générale et 75 pour les personnes fortement exposées. Les experts ont utilisé une dose sans effet de 0,3 mg/kg/jour et une exposition de 1 à 4 µg/kg/jour. Ces marges sont relativement faibles pour une substance génotoxique cancérogène. A titre de comparaison, les hydrocarbures aromatiques polycycliques ont une marge d'exposition d'environ 25000 et de 10000 pour les doses ingérées élevées. Ce sont des composés qui se forment lors de la combustion incomplète de matières organiques quand les produits sont grillés, rôtis ou frits. De nombreux hydrocarbures aromatiques polycycliques sont génotoxiques et cancérigènes d'après les études chez l'animal. Or les quantités d'acrylamide contenues dans l'alimentation sont plus élevées que pour les hydrocarbures aromatiques polycycliques.

Gestion du risque : recommandations des experts

Au vu des marges d'exposition calculées, les experts ont conclu qu'il existe un risque préoccupant pour la santé humaine lié à la présence d'acrylamide dans les aliments. Cependant, ils estiment qu'il est encore difficile de déterminer précisément et de manière sûre ce risque. En effet, les résultats des études épidémiologiques en milieu professionnel et dans l'alimentation sont insuffisants pour conclure à une absence de risque de cancer chez l'homme. Les études sont peu nombreuses, ont des limites dues aux faibles effectifs et n'ont pas assez de puissance pour détecter de faibles augmentations de l'incidence tumorale. Elles manquent aussi de précision dans l'évaluation des doses d'acrylamide ingérées dans l'alimentation. De plus, la quantité d'acrylamide peut varier de façon considérable dans un même produit alimentaire en fonction de différents facteurs, notamment la température et le temps de cuisson. En ce qui concerne les données sur les animaux, il semblerait qu'elles ne permettent pas une transposition parfaite à l'homme. Il n'y a pas de raisons scientifiques de penser que l'homme pourrait présenter les mêmes réponses que l'animal. Les deux espèces ont une sensibilité différente aux cancérogènes dues à des différences qualitatives et quantitatives de métabolisme notamment.

En conclusion, les experts du comité mixte *JECFA* ont jugé qu'il était impossible d'établir une dose seuil en dessous de laquelle on pourrait consommer de l'acrylamide dans les aliments sans danger pour la santé humaine.

Les experts du *JECFA* recommandent :

- de réévaluer le risque lié à l'ingestion d'acrylamide lorsque les résultats des études en cours sur la cancérogénicité et la neurotoxicité à long terme seront disponibles,
- de poursuivre l'évaluation du risque en utilisant les études cinétiques afin de pouvoir trouver une relation entre les biomarqueurs chez l'homme (adduits à l'hémoglobine ou métabolites urinaires comme les acides mercapturiques de l'acrylamide et du glycidamide), les données de consommation et les données toxicologiques trouvées chez l'animal.

De plus, les experts font remarquer qu'il serait utile de disposer de données sur les taux d'acrylamide dans les aliments dans les pays en voie de développement comme en Amérique du Sud ou en Afrique afin de pouvoir calculer l'exposition à ce composé et de proposer dans ces pays des moyens de réduire les taux en acrylamide des aliments.

Enfin, des efforts pour réduire la présence d'acrylamide dans les aliments doivent être poursuivis, notamment par les professionnels de l'industrie alimentaire lors de la préparation de leurs denrées. Certaines mesures semblent adoptées en milieu industriel, mais leur détail n'a pas été communiqué. L'industrie alimentaire et les chercheurs doivent être encouragés à partager les techniques mises au point pour permettre une utilisation plus large. Dans ce but, en 2003, fut mis en place par la Commission européenne le projet *HEATOX* (*Heat-generated Food Toxicants*) qui a rassemblé pour 3 ans des scientifiques de 14 pays pour tenter de faire évoluer les connaissances sur l'acrylamide et de découvrir d'autres substances qui se forment au cours de la cuisson des aliments riches en féculents.

8. Comment réduire les quantités d'acrylamide dans les aliments ?

Les aliments sont la principale source de contamination par l'acrylamide. Pour diminuer les quantités d'acrylamide dans les aliments, on peut jouer sur le produit à la base de la formation de ce composé (pommes de terres essentiellement) ou sur le processus de fabrication (industriel, chez soi ou en restauration). La connaissance précise des mécanismes de formation de l'acrylamide dans les aliments est indispensable afin d'élaborer des méthodes pour éviter ou réduire sa formation.

Il est recommandé d'utiliser des variétés de pommes de terre contenant le moins de sucres (glucose et fructose) possible car ces sucres sont responsables de la formation d'acrylamide (Biedermann-Brem *et al.*, 2003). Certaines variétés sont susceptibles de former jusqu'à 40 fois plus d'acrylamide que d'autres. Il vaut donc mieux consommer les variétés suivantes : Agria, Markies, Charlotte, Urgenta, Bintje, Fontane, Desiree qui contiennent moins de 1 g de sucres/kg de poids frais de pomme de terre (Amrein *et al.*, 2003). Le fait de stocker les pommes de terre en dessous de 8 °C peut entraîner une augmentation irréversible de la quantité en sucres (Noti *et al.*, 2003 ; Chuda *et al.*, 2003). Il est donc préconisé de ne pas stocker les pommes de terre en dessous de cette température et n'est pas conseillé de mettre des pommes de terre crues au réfrigérateur.

Il est recommandé de ne pas trop (trop longtemps ou à des températures trop élevées) cuire les aliments (consultation *FAO*/OMS, 25 - 27 juin 2002) lors des opérations de friture, de rôtissage ou de cuisson au four des aliments. Par exemple pour faire des frites, la température optimale est de 170 °C, puis il est conseillé de diminuer cette température pour arriver à la fin de la cuisson à 145 - 150 °C car l'acrylamide se forme préférentiellement à la fin de la cuisson des pommes de terre.

Les solutions à apporter dans la préparation des aliments ne doivent pas entraîner de risque supplémentaire, notamment en terme de risque microbiologique ou chimique. Réduire la température de certaines étapes de préparation des aliments peut favoriser la présence de microorganismes comme des bactéries pathogènes. Les qualités nutritionnelles et organoleptiques du produit fini doivent aussi être conservées.

Différents auteurs ont testé des mesures chimiques pour diminuer la concentration d'acrylamide dans les pommes de terre. On peut citer l'addition d'acide citrique (Grob *et al.*, 2003 ; Biedermann *et al.*, 2003 ; Rydberg *et al.*, 2003). Ce composé a pour but de diminuer le pH, ce qui inhiberait la formation de la base de Schiff dans la réaction de Maillard en favorisant la protonation du groupement aminé de l'asparagine. Une réduction de plus de 70 % du taux d'acrylamide de pommes de terre frites à 190 °C pendant 6,5 minutes aurait été constatée après un prétrempage d'une heure dans une solution d'acide citrique à 1 % masse/masse. L'utilisation d'additifs comme les flavonoïdes (Fernandez *et al.*, 2003) ou de romarin (Becalski *et al.*, 2004) dans l'huile de friture a montré une efficacité dans la réduction de la concentration en acrylamide. Comme il a déjà été dit, l'addition d'asparaginase dans les pommes de terre permet de réduire le contenu des aliments en asparagine par digestion enzymatique, ce qui réduit considérablement la formation d'acrylamide (Zyzak *et al.*, 2003). Cette voie semble être une des plus intéressantes actuellement.

Rappelons que l'élimination totale des molécules cancérogènes et notamment de l'acrylamide dans les aliments est impossible mais ces voies permettent de diminuer sa concentration. Les professionnels de l'alimentation ainsi que les particuliers doivent suivre ces recommandations afin de réduire les taux d'acrylamide dans les aliments.

CONCLUSION

Lors d'exposition professionnelle ou accidentelle aiguë ou subaiguë, l'acrylamide a induit chez l'homme des troubles neurologiques comme des fourmillements et des troubles de la mémoire notamment. Mais c'est surtout son caractère génotoxique *in vitro* et *in vivo* et le fait qu'il induise des tumeurs chez les rongeurs après ingestion qui constitue une préoccupation pour la santé publique, d'autant qu'il est présent dans les aliments à base de féculents en concentration relativement élevée.

Il est métabolisé en glycidamide, un époxyde réactif qui forme des adduits à l'ADN. La présence de ces adduits tend à prouver qu'il s'agit d'un mécanisme génotoxique de cancérogenèse de l'acrylamide. La répartition des tumeurs observées laisse supposer que d'autres modes d'action pourraient exister, en particulier les tumeurs de tissus réactifs aux hormones, mais ce ne sont pour l'instant que des hypothèses.

Les voies de métabolisme de l'acrylamide sont identiques chez les rongeurs et chez l'homme. Actuellement, aucun élément ne prouve que les rongeurs et l'homme présentent des différences de sensibilité au cancer. Les études épidémiologiques existantes portent sur l'exposition professionnelle et accidentelle à l'acrylamide et montrent que la toxicité de ce composé s'exerce principalement sur le système nerveux chez l'homme. Ces études n'ont pas montré de relation avec des cas de cancer, sauf pour le cancer du pancréas aux plus fortes doses. Cependant, elles doivent être confirmées car elles portent sur un nombre trop faible d'individus et comportent des incertitudes sur les doses ingérées. En ce qui concerne l'exposition par les aliments, le comité du *JECFA* a conclu que les études disponibles sur l'homme ne suffisaient pas à l'évaluation des risques associés à la consommation d'acrylamide dans les aliments car elles ne sont pas assez nombreuses et manquent de fiabilité. L'évaluation du risque pour le consommateur demeure donc difficile. Il est impossible dans l'état actuel des connaissances d'établir une dose seuil en dessous de laquelle il n'y aurait pas d'effet toxique pour la santé humaine. Le comité a recommandé de

réévaluer le problème de l'acrylamide lorsque les résultats des études en cours sur la cancérogénicité et la neurotoxicité à long terme de l'acrylamide seront connus.

Cependant, il est à souligner que les évaluations actuelles ne permettent pas de déduire que l'ingestion d'acrylamide par voie alimentaire est responsable d'un grand nombre de cancers. Mais en absence de réelles certitudes et au vu des études sur les animaux, les efforts pour réduire les quantités d'acrylamide dans les aliments de la part des industriels ou des particuliers doivent se poursuivre, même si le problème existe finalement depuis que l'homme cuit sa nourriture. Les chercheurs doivent être encouragés à partager leurs connaissances dans ce but. Malgré tous les efforts pour diminuer la concentration d'acrylamide dans les produits alimentaires, rappelons qu'il est impossible de garantir l'élimination totale de l'acrylamide et des autres substances cancérogènes dans l'alimentation vu leur omniprésence.

Les autorités réglementaires nationales et internationales doivent guider les consommateurs pour réduire les quantités d'acrylamide dans les aliments. Elles doivent aussi continuer à les encourager à avoir une alimentation équilibrée comprenant beaucoup de fruits et de légumes et à consommer avec modération les aliments frits et gras.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 - Formule brute de l'acrylamide 3
Figure 2 - Formule semi-développée de l'acrylamide. 3
Figure 3 - Symbole « Toxique » pour l'étiquetage de l'acrylamide. 4
Figure 4 - Réactivité de l'acrylamide 4
Figure 5 - Alkylation de l'acrylamide avec les protéines, formant des adduits 6
Figure 6 - Formation du gel de polyacrylamide. 8
Figure 7 - Louis-Camille Maillard. 9
Figure 8 - La réaction de Maillard et ses conséquences. 11
Figure 9 - Formation de carbonylamines à partir d'un groupement carbonyle (provenant par exemple d'un glucide réducteur) et d'un groupement amine (provenant d'un acide aminé). 12
Figure 10 - Formation de cétosamines à partir d'aldosylamines 13
Figure 11 - Glycosylamine formée à partir du glucose. 13
Figure 12 - Dégradation de Strecker. 14
Figure 13 - Polymère brun de mélanoïdine, produit final de la réaction de Maillard. 15
Figure 14 - Formation de l'acrylamide dans les aliments à partir de l'asparagine et du glucose par la réaction de Maillard. 16
Figure 15 - Mécanisme supposé de la formation de l'acrylamide dans les aliments 17
Figure 16 - Molécules intermédiaires proposées se formant durant la réaction de Maillard et aboutissant à la formation d'acrylamide 18
Figure 17 - Formation d'acrylamide par chauffage d'un mélange équimolaire de L-asparagine et de D-glucose 20
Figure 18 - Effet de la température et du temps de friture sur la formation d'acrylamide dans des pommes de terre cuites 22
Figure 19 - Brunissement de frites et taux d'acrylamide en fonction du temps de cuisson 23
Figure 20 - Schéma général de l'analyse de l'acrylamide dans les aliments 25
Figure 21 - Distribution des taux d'acrylamide dans quelques groupes d'aliments 29
Figure 22 - Métabolisme des xénobiotiques 31
Figure 23 - Formule brute du glycidamide. 32

Figure 24 - Formule semi-développée du glycidamide 32
Figure 25 - Vue générale du métabolisme de l'acrylamide en glycidamide dans l'organisme 33
Figure 26 - Détail du métabolisme de l'acrylamide chez la souris. 34
Figure 27 - Schéma général d'évaluation du risque sanitaire 35
Figure 28 - Les trois grands types de mutations. 40
Figure 29 - La génotoxicité et ses conséquences sur la santé humaine 41
Figure 30 - Schéma simplifié de la cancérogenèse liée à la génotoxicité 43
Figure 31 - Structures chimiques des principaux adduits à l'ADN de l'acrylamide et du glycidamide 49
Figure 32 - Mécanisme supposé de la formation de *SSB* par le glycidamide 57
Figure 33 - Taux d'exposition à l'acrylamide d'après différentes études 57
Figure 34 - Contribution des aliments à l'exposition totale à l'acrylamide selon les tranches d'âge, exprimée en pourcentage 59

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 - Comparaison des différentes méthodes de dosage de l'acrylamide..... 27
Tableau 2 - Taux d'acrylamide dans divers groupes d'aliments..... 28

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 - Propriétés physiques et chimiques de l'acrylamide 83
Annexe 2 - Fiche toxicologique de l'acrylamide établie par l'INRS..... 84
Annexe 3 - 1er article paru sur la « réaction de Maillard » (1912)..... 89
Annexe 4 - Publications de Louis-Camille Maillard..... 92
Annexe 5 - Principe du test des comètes..... 94
Annexe 6 - Utilisation du test des comètes avec le glycidamide..... 96
Annexe 7 - Classification du CIRC des substances cancérogènes..... 98
Annexe 8 - Monographie élaborée par le CIRC de l'acrylamide..... 99
Annexe 9 - Liste élaborée par le CIRC des substances cancérogènes..... 102
Annexe 10 - Substances cancérogènes en milieu professionnel de catégorie 2 107
Annexe 11 - Liens internet vers les sites des autorités réglementaires traitants de l'acrylamide.. 108

RÉFÉRENCES

Publications

1. Abramsson-Zetterberg, L., *The dose-response relationship at very low doses of acrylamide is linear in the flow cytometer-based mouse micronucleus assay.* Mutat Res, 2003. **535**(2): p. 215-22.
2. Adler, I.D., R. Zouh, and E. Schmid, *Perturbation of cell division by acrylamide in vitro and in vivo.* Mutat Res, 1993. **301**(4): p. 249-54.
3. AFSSA, *Acrylamide: point d'information n°3.* 2005.
4. Ahn, J.S., et al., *Verification of the findings of acrylamide in heated foods.* Food Addit Contam, 2002. **19**(12): p. 1116-24.
5. Amrein, T.M., et al., *Potential of acrylamide formation, sugars, and free asparagine in potatoes: a comparison of cultivars and farming systems.* J Agric Food Chem, 2003. **51**(18): p. 5556-60.
6. Astaurova, O.B., et al., *[Adaptation of acrylamide producer Rhodococcus rhodochrous M8 to change in ammonium concentration in medium].* Prikl Biokhim Mikrobiol, 2000. **36**(1): p. 21-5.
7. Baum, M., et al., *Acrylamide and glycidamide: genotoxic effects in V79-cells and human blood.* Mutat Res, 2005. **580**(1-2): p. 61-9.
8. Becalski, A., et al., *Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modeling.* J Agric Food Chem, 2003. **51**(3): p. 802-8.
9. Becalski, A., et al., *Acrylamide in French fries: influence of free amino acids and sugars.* J Agric Food Chem, 2004. **52**(12): p. 3801-6.
10. Bergmark, E., *Hemoglobin adducts of acrylamide and acrylonitrile in laboratory workers, smokers and nonsmokers.* Chem Res Toxicol, 1997. **10**(1): p. 78-84.
11. Besaratinia, A. and G.P. Pfeifer, *Weak yet distinct mutagenicity of acrylamide in mammalian cells.* J Natl Cancer Inst, 2003. **95**(12): p. 889-96.
12. Besaratinia, A. and G.P. Pfeifer, *Genotoxicity of acrylamide and glycidamide.* J Natl Cancer Inst, 2004. **96**(13): p. 1023-9.
13. Besaratinia, A. and G.P. Pfeifer, *DNA adduction and mutagenic properties of acrylamide.* Mutat Res, 2005. **580**(1-2): p. 31-40.
14. Biedermann, M., Grob, K. , *Model studies on acrylamide formation in potato, wheat flour and corn starch [in German].* Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, 2003. **94**: p. 406-422.
15. Biedermann, M., et al., *Two GC-MS methods for the analysis of acrylamide in foods.* Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, 2002a. **93**: p. 638-652.
16. Biedermann, M., et al., *Experiments on acrylamide formation and possibilities to decrease the potential of acrylamide formation in potatoes.* Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, 2002b. **93**: p. 668-687.

17. Biedermann-Brem, S., et al., *How much reducing sugar may potatoes contain to avoid excessive acrylamide formation during roasting and baking?* European Food Research and Technology, 2003. **217**: p. 369-373.
18. Blasiak, J., et al., *Basal, oxidative and alkylative DNA damage, DNA repair efficacy and mutagen sensitivity in breast cancer.* Mutat Res, 2004a. **554**(1-2): p. 139-48.
19. Blasiak, J., et al., *Genotoxicity of acrylamide in human lymphocytes.* Chem Biol Interact, 2004b. **149**(2-3): p. 137-49.
20. Boettcher, M.I., et al., *Mercapturic acids of acrylamide and glycidamide as biomarkers of the internal exposure to acrylamide in the general population.* Mutat Res, 2005. **580**(1-2): p. 167-76.
21. Bousquet, J.A. and N. Ettner, *A possible tertiary structure change induced by acrylamide in the DNA-binding domain of the Tn10-encoded Tet repressor. A fluorescence study.* J Protein Chem, 1996. **15**(2): p. 205-18.
22. Bull, R.J., et al., *Carcinogenic effects of acrylamide in Sencar and A/J mice.* Cancer Res, 1984a. **44**(1): p. 107-11.
23. Bull, R.J., M. Robinson, and J.A. Stober, *Carcinogenic activity of acrylamide in the skin and lung of Swiss-ICR mice.* Cancer Lett, 1984b. **24**(2): p. 209-12.
24. Calleman, C.J., *The metabolism and pharmacokinetics of acrylamide: implications for mechanisms of toxicity and human risk estimation.* Drug Metab Rev, 1996. **28**(4): p. 527-90.
25. Calleman, C.J., E. Bergmark, and L.G. Costa, *Acrylamide is metabolized to glycidamide in the rat: evidence from hemoglobin adduct formation.* Chem Res Toxicol, 1990. **3**(5): p. 406-12.
26. Calleman, C.J., et al., *A nonlinear dosimetric model for hemoglobin adduct formation by the neurotoxic agent acrylamide and its genotoxic metabolite glycidamide.* Environ Health Perspect, 1993. **99**: p. 221-3.
27. Castle, L. and S. Eriksson, *Analytical methods used to measure acrylamide concentrations in foods.* Journal of AOAC international, 2005. **88**(1): p. 274-284.
28. Chance, B., H. Sies, and A. Boveris, *Hydroperoxide metabolism in mammalian organs.* Physiol Rev, 1979. **59**(3): p. 527-605.
29. Chapin, R.E., et al., *The reproductive and neural toxicities of acrylamide and three analogues in Swiss mice, evaluated using the continuous breeding protocol.* Fundam Appl Toxicol, 1995. **27**(1): p. 9-24.
30. Chavéron, H., *Introduction à la toxicologie nutritionnelle. Editions Tec et Doc.* 1999.
31. Chuda, Y., et al., *Effects of physiological changes in potato tubers (Solanum tuberosum L.) after low temperature storage on the level of acrylamide formed in potato chips.* Biosci Biotechnol Biochem, 2003. **67**(5): p. 1188-90.
32. Collins, J.J., et al., *Mortality patterns among workers exposed to acrylamide.* J Occup Med, 1989. **31**(7): p. 614-7.
33. Commission du codex alimentarius, *Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires. Comité du codex sur les additifs alimentaires et les contaminants. 36° session, Rotterdam, Pays-Bas, 22-26 mars 2004. Document de synthèse sur l'acrylamide.*
34. Costa, L.G., *Biomarker research in neurotoxicology: the role of mechanistic studies to bridge the gap between the laboratory and epidemiological investigations.* Environ Health Perspect, 1996. **104 Suppl 1**: p. 55-67.
35. Dearfield, K.L., et al., *Acrylamide: its metabolism, developmental and reproductive effects, genotoxicity, and carcinogenicity.* Mutat Res, 1988. **195**(1): p. 45-77.
36. Dearfield, K.L., et al., *Acrylamide: a review of its genotoxicity and an assessment of heritable genetic risk.* Mutat Res, 1995. **330**(1-2): p. 71-99.
37. Doerge, D.R., et al., *DNA adducts derived from administration of acrylamide and glycidamide to mice and rats.* Mutat Res, 2005. **580**(1-2): p. 131-41.
38. Doll, R. and R. Peto, *The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today.* J Natl Cancer Inst, 1981. **66**(6): p. 1191-308.
39. Druckrey, H., U. Consbruch, and D. Schmahl, *Effect of monomeric acrylamide on proteins.* Z. Naturforsch. B., 1953(86): p. 145-150.
40. Dybing, E., et al., *Human exposure and internal dose assessments of acrylamide in food.* Food Chem Toxicol, 2005. **43**(3): p. 365-410.

41. Dybing, E. and T. Sanner, *Risk assessment of acrylamide in foods.* Toxicol Sci, 2003. **75**(1): p. 7-15.
42. EC, *Risk Assessment of acrylamide (CAS No. 79-06-1, EINECS No. 201-173-7). Risk Assessment Report prepared by the UK on behalf of the European Union in the framework of Council Regulation (EEC) 793/93 on the evaluation and control of the risks of "existing" substances. European Commission, Joint Research Centre, European Chemicals Bureau, Ispra, October 2000. http://ecb.jrc.it/existing-chemicals/.*
43. Eftink, M.R. and D.M. Jameson, *Acrylamide and oxygen fluorescence quenching studies with liver alcohol dehydrogenase using steady-state and phase fluorometry.* Biochemistry, 1982. **21**(18): p. 4443-9.
44. el Ghissassi, F., A. Barbin, and H. Bartsch, *Metabolic activation of vinyl chloride by rat liver microsomes: low-dose kinetics and involvement of cytochrome P450 2E1.* Biochem Pharmacol, 1998. **55**(9): p. 1445-52.
45. Espinosa, V., et al., *Differences in nucleotide-binding site of isoapyrases deduced from tryptophan fluorescence.* Phytochemistry, 2003. **63**(1): p. 7-14.
46. *FDA*/CFSAN, *Workshop on acrylamide in food,* 2004, *http://www.cfsan.fda.gov/~dms/acrydino.html.*
47. *FDA*/CFSAN, *The 2006 Exposure Assessment for Acrylamide,* 2006.
48. Fernandez, S., L. Kurppa, and L. Hyvonen, *Content of acrylamide decreased in potato chips with addition of a proprietary flavonoid spice mix (Flavomare) in frying.* Innovations in Food Technology, 2003.
49. Field, E.A., et al., *Developmental toxicity evaluation of acrylamide in rats and mice.* Fundam Appl Toxicol, 1990. **14**(3): p. 502-12.
50. Follenius, A. and D. Gerard, *Acrylamide fluorescence quenching applied to tyrosyl residues in proteins.* Photochem Photobiol, 1983. **38**(3): p. 373-6.
51. Friedman, M., *Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review.* J Agric Food Chem, 2003. **51**(16): p. 4504-26.
52. Friedman, M.A., L.H. Dulak, and M.A. Stedham, *A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide.* Fundam Appl Toxicol, 1995. **27**(1): p. 95-105.
53. Frye, E.B., et al., *Role of the Maillard reaction in aging of tissue proteins. Advanced glycation end product-dependent increase in imidazolium cross-links in human lens proteins.* J Biol Chem, 1998. **273**(30): p. 18714-9.
54. Gamboa da Costa, G., et al., *DNA adduct formation from acrylamide via conversion to glycidamide in adult and neonatal mice.* Chem Res Toxicol, 2003. **16**(10): p. 1328-37.
55. Garey, J., S.A. Ferguson, and M.G. Paule, *Developmental and behavioral effects of acrylamide in Fischer 344 rats.* Neurotoxicol Teratol, 2005. **27**(4): p. 553-63.
56. Gertz, C. and S. Klostermann, *Analysis of acrylamide and mechanisms of its formation in deep-fried products.* European Journal of Lipid Science and Technology, 2002. **104**: p. 762-771.
57. Ghanayem, B.I., et al., *Comparison of germ cell mutagenicity in male CYP2E1-null and wild-type mice treated with acrylamide: evidence supporting a glycidamide-mediated effect.* Biol Reprod, 2005. **72**(1): p. 157-63.
58. Grob, K., et al., *French fries with less than 100 g/kg acrylamide. A collaboration between cooks and analysts.* European Food Research and Technology, 2003. **217**: p. 185-194.
59. Gutierrez-Espeleta, G.A., et al., *Acrylamide: dermal exposure produces genetic damage in male mouse germ cells.* Fundam Appl Toxicol, 1992. **18**(2): p. 189-92.
60. Hagmar, L., et al., *Health effects of occupational exposure to acrylamide using hemoglobin adducts as biomarkers of internal dose.* Scand J Work Environ Health, 2001. **27**(4): p. 219-26.
61. Hagmar, L. and M. Tornqvist, *Inconclusive results from an epidemiological study on dietary acrylamide and cancer.* Br J Cancer, 2003. **89**(4): p. 774-5; author reply 775-6.
62. Hagmar, L., et al., *Differences in hemoglobin adduct levels of acrylamide in the general population with respect to dietary intake, smoking habits and gender.* Mutat Res, 2005. **580**(1-2): p. 157-65.
63. Hashimoto, K. and H. Tanii, *Mutagenicity of acrylamide and its analogues in Salmonella typhimurium.* Mutat Res, 1985. **158**(3): p. 129-33.

64. He, F.S., et al., *Neurological and electroneuromyographic assessment of the adverse effects of acrylamide on occupationally exposed workers.* Scand J Work Environ Health, 1989. **15**(2): p. 125-9.
65. Heath, C.W., Jr., H. Falk, and J.L. Creech, Jr., *Characteristics of cases of angiosarcoma of the liver among vinyl chloride workers in the United States.* Ann N Y Acad Sci, 1975. **246**: p. 231-6.
66. Higashikuni, N., et al., *2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2) is a weak in vivo clastogen as revealed by the micronucleus assay.* Mutat Res, 1994. **320**(1-2): p. 149-56.
67. *IARC, International Agency for Research on Cancer. Mechanisms of carcinogenesis in risk identification. IARC Working Group Meeting, 11-18 June 1991, Lyon, France.* 1992.
68. *IARC, International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Industrial Chemicals. Vol. 60. Acrylamide. Lyon, France.* 1994: p. 389-433.
69. INRS, *Documents pour le médecin du travail. n°83. 3° trimestre 2000.* p. 257.
70. INRS, *L'acrylamide.* Fiche toxicologique n°119, 1992.
71. INVS, *Institut de veille sanitaire. Confrontation des cancérogènes avérés en milieu de travail et des tableaux de maladies professionnelles. Février 2005.*
72. IUPAC, Pure and Applied Chemistry, 1995(67): p. 1241-1256.
73. *JECFA, Joint FAO/WHO expert committee on food additives. Sixty-fourth meeting, Rome, 8-17 February 2005.*
74. *JIFSAN, JIFSAN/NCFST Workshop. Acrylamide in food, scientific issues, uncertainties, and research strategies, 28-30th October 2002. Rosemont, USA. www.jifsan.umd.edu/acrylamide/acrylamideworkshop.html.*
75. Johansson, F., et al., *Mutagenicity and DNA repair of glycidamide-induced adducts in mammalian cells.* Mutat Res, 2005. **580**(1-2): p. 81-9.
76. Johnson, K.A., et al., *Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fischer 344 rats.* Toxicol Appl Pharmacol, 1986. **85**(2): p. 154-68.
77. *JRC, European Commission's Joint Research Centre (JRC, Centre de recherche commun de la Commission européenne). European workshop on analytical methods for the determination of acrylamide in food products. Out-Turnhout, Belgium. 28-29th April 2003 EUR 20766 EN (2003).*
78. Kjuus, H., et al., *Chromosome aberrations in tunnel workers exposed to acrylamide and N-methylolacrylamide.* Scand J Work Environ Health, 2005. **31**(4): p. 300-6.
79. Klein, C., *Génotoxicité d'un contaminant néoformé dans les aliments, l'acrylamide, et de son métabolite époxyde, le glycidamide - Approche expérimentale par le test des comètes.* Mémoire de M2R Procédés biotechnologiques et alimentaires, Université de Nancy I, 2005.
80. Kobayashi, M., T. Nagasawa, and H. Yamada, *Enzymatic synthesis of acrylamide: a success story not yet over.* Trends Biotechnol, 1992. **10**(11): p. 402-8.
81. Konings, E.J., et al., *Acrylamide exposure from foods of the Dutch population and an assessment of the consequent risks.* Food Chem Toxicol, 2003. **41**(11): p. 1569-79.
82. Koyama, N., et al., *Genotoxicity of acrylamide and glycidamide in human lymphoblastoid TK6 cells.* Mutat Res, 2006. **603**(2): p. 151-8.
83. Lafferty, J.S., et al., *Subchronic acrylamide treatment induces a tissue-specific increase in DNA synthesis in the rat.* Toxicol Lett, 2004. **154**(1-2): p. 95-103.
84. Lagalante, A.F. and M.A. Felter, *Silylation of acrylamide for analysis by solid-phase microextraction/gas chromatography/ion-trap mass spectrometry.* J Agric Food Chem, 2004. **52**(12): p. 3744-8.
85. Leung, K.S., et al., *Acrylamide in Asian foods in Hong Kong.* Food Addit Contam, 2003. **20**(12): p. 1105-13.
86. Lingnert, H., et al., *Acrylamide in food: mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods.* Scandinavian Journal of Nutrition, 2002. **46**: p. 159-172.
87. LoPachin, R.M., *The role of fast axonal transport in acrylamide pathophysiology: mechanism or epiphenomenon?* Neurotoxicology, 2002. **23**(2): p. 253-7; discussion 265-70.
88. LoPachin, R.M., *The changing view of acrylamide neurotoxicity.* Neurotoxicology, 2004. **25**(4): p. 617-30.
89. LoPachin, R.M., et al., *Acrylamide inhibits dopamine uptake in rat striatal synaptic vesicles.* Toxicol Sci, 2006a. **89**(1): p. 224-34.

90. LoPachin, R.M. and D.S. Barber, *Synaptic cysteine sulfhydryl groups as targets of electrophilic neurotoxicants.* Toxicol Sci, 2006b. **94**(2): p. 240-55.
91. Lopachin, R.M., et al., *Neurotoxic Mechanisms of Electrophilic Type-2 Alkenes: Soft-Soft Interactions Described by Quantum Mechanical Parameters.* Toxicol Sci, 2007a.
92. Lopachin, R.M., et al., *Structure-toxicity analysis of type-2 alkenes: in vitro neurotoxicity.* Toxicol Sci, 2007b. **95**(1): p. 136-46.
93. Maniere, I., *Identification et caractérisation du danger d'un contaminant alimentaire, l'acrylamide, par l'étude de la génotoxicité, de l'hépatocancérogénicité et de la biodisponibilité orale chez le rat et le porc.* Thèse, Université de Rennes I, 2006.
94. Maniere, I., et al., *DNA damage and DNA adduct formation in rat tissues following oral administration of acrylamide.* Mutat Res, 2005. **580**(1-2): p. 119-29.
95. Manjanatha, M.G., et al., *Genotoxicity of acrylamide and its metabolite glycidamide administered in drinking water to male and female Big Blue mice.* Environ Mol Mutagen, 2006. **47**(1): p. 6-17.
96. Mannaa, F., et al., *Protective role of Panax ginseng extract standardized with ginsenoside Rg3 against acrylamide-induced neurotoxicity in rats.* J Appl Toxicol, 2006. **26**(3): p. 198-206.
97. Manson, J., et al., *NTP-CERHR expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of acrylamide.* Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol, 2005. **74**(1): p. 17-113.
98. Marsh, G.M., et al., *Mortality patterns among workers exposed to acrylamide: 1994 follow up.* Occup Environ Med, 1999. **56**(3): p. 181-90.
99. Marsh, G., et al., *Mortality patterns among workers exposed to acrylamide: updated follow up.* J Occup Environ Med, 2007. **49**(1): p. 82-95.
100. Martin, F.L. and J.M. Ames, *Formation of Strecker aldehydes and pyrazines in a fried potato model system.* J Agric Food Chem, 2001. **49**(8): p. 3885-92.
101. Martins, C., et al., *Cytogenetic damage induced by acrylamide and glycidamide in mammalian cells: correlation with specific glycidamide-DNA adducts.* Toxicol Sci, 2007. **95**(2): p. 383-90.
102. Moll, M., Moll, N. , *Précis des risques alimentaires.* Editions Tec et Doc, 2000.
103. Moll, M., Moll, N. , *Sécurité alimentaire du consommateur.* Collection sciences et techniques agroalimentaires. Editions Tec et Doc, 2ème édition., 2002.
104. Mottram, D.S., B.L. Wedzicha, and A.T. Dodson, *Acrylamide is formed in the Maillard reaction.* Nature, 2002. **419**(6906): p. 448-9.
105. Mucci, L.A., H.O. Adami, and A. Wolk, *Prospective study of dietary acrylamide and risk of colorectal cancer among women.* Int J Cancer, 2006. **118**(1): p. 169-73.
106. Mucci, L.A., et al., *Dietary acrylamide and cancer of the large bowel, kidney, and bladder: absence of an association in a population-based study in Sweden.* Br J Cancer, 2003. **88**(1): p. 84-9.
107. Mucci, L.A., et al., *Acrylamide intake and breast cancer risk in Swedish women.* Jama, 2005. **293**(11): p. 1326-7.
108. Musser and Steven, *Detection and Occurrence of Acrylamide in U.S. Foods, FDA Food Advisory Committee Contaminants and Natural Toxicants Subcommittee Meeting, December 4-5, 2002, University of Maryland University College, College Park, Maryland. http://www.cfsan.fda.gov/~dms/acrymuss.html*
109. Nemoto, S., et al., *Determination of acrylamide in foods by GC/MS using 13C-labeled acrylamide as an internal standard.* Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 2002. **43**(6): p. 371-6.
110. Noti, A., et al., *Storage of potatoes at low temperatures should be avoided to prevent increased acrylamide formation during frying or roasting.* Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, 2003. **94**: p. 167-180.
111. NRC, *National Research Council. Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process. Committee on the Institutional Means for Assessment of Risks to Public Health. Washington, D.C.,* 1983.
112. Olive, P.L., Banath, J. P. & Durand, R. E. , *Heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cells measured using the "comet" assay.* Radiat Res, 1990. 122: p. 86-94.
113. Ono, H., et al., *Analysis of acrylamide by LC-MS/MS and GC-MS in processed Japanese foods.* Food Addit Contam, 2003. **20**(3): p. 215-20.
114. Ostling, O. and K.J. Johanson, *Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells.* Biochem Biophys Res Commun, 1984. **123**(1): p. 291-8.

115. Park, J., et al., *Acrylamide-induced cellular transformation.* Toxicol Sci, 2002. **65**(2): p. 177-83.
116. Paulsson, B., et al., *The multiplicative model for cancer risk assessment: applicability to acrylamide.* Carcinogenesis, 2001. **22**(5): p. 817-9.
117. Paulsson, B., J. Grawe, and M. Tornqvist, *Hemoglobin adducts and micronucleus frequencies in mouse and rat after acrylamide or N-methylolacrylamide treatment.* Mutat Res, 2002. **516**(1-2): p. 101-11.
118. Paulsson, B., et al., *Induction of micronuclei in mouse and rat by glycidamide, genotoxic metabolite of acrylamide.* Mutat Res, 2003. **535**(1): p. 15-24.
119. Paulsson, B., et al., *In vitro studies of the influence of glutathione transferases and epoxide hydrolase on the detoxification of acrylamide and glycidamide in blood.* Mutat Res, 2005. **580**(1-2): p. 53-9.
120. Pelucchi, C., et al., *Fried potatoes and human cancer.* Int J Cancer, 2003. **105**(4): p. 558-60.
121. Pelucchi, C., et al., *Dietary acrylamide and human cancer.* Int J Cancer, 2006. **118**(2): p. 467-71.
122. Perez, H.L., et al., *Simultaneous analysis of hemoglobin adducts of acrylamide and glycidamide by gas chromatography-mass spectrometry.* Anal Biochem, 1999. **274**(1): p. 59-68.
123. Pittet, A., A. Perisset, and J.M. Oberson, *Trace level determination of acrylamide in cereal-based foods by gas chromatography-mass spectrometry.* J Chromatogr A, 2004. **1035**(1): p. 123-30.
124. Puppel, N., et al., *DNA strand breaking capacity of acrylamide and glycidamide in mammalian cells.* Mutat Res, 2005. **580**(1-2): p. 71-80.
125. Rerat, A., et al., *Nutritional and metabolic consequences of the early Maillard reaction of heat treated milk in the pig. Significance for man.* Eur J Nutr, 2002. **41**(1): p. 1-11.
126. Rice, J.M., *The carcinogenicity of acrylamide.* Mutat Res, 2005. **580**(1-2): p. 3-20.
127. Riediker, S. and R.H. Stadler, *Analysis of acrylamide in food by isotope-dilution liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry.* J Chromatogr A, 2003. **1020**(1): p. 121-30.
128. Roach, J.A., et al., *Rugged LC-MS/MS survey analysis for acrylamide in foods.* J Agric Food Chem, 2003. **51**(26): p. 7547-54.
129. Robert, F., et al., *Acrylamide formation from asparagine under low-moisture Maillard reaction conditions. 1. Physical and chemical aspects in crystalline model systems.* J Agric Food Chem, 2004. **52**(22): p. 6837-42.
130. Rosen, J. and K.E. Hellenas, *Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry.* Analyst, 2002. **127**(7): p. 880-2.
131. Rydberg, P., et al., *Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs.* J Agric Food Chem, 2003. **51**(24): p. 7012-8.
132. Sakamoto, J. and K. Hashimoto, *Reproductive toxicity of acrylamide and related compounds in mice--effects on fertility and sperm morphology.* Arch Toxicol, 1986. **59**(4): p. 201-5.
133. Sanders, R.A., et al., *An LC/MS acrylamide method and its use in investigating the role of asparagine.* Paper presented at: Association of Analytical Communities Annual Meeting; September 22, Los Angeles, CA., 2002.
134. SCF, *Scientific Committee on Food. Opinion of the EU Scientific Committee on Food on new findings regarding the presence of acrylamide in food. http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/scf/out131_en.pdf.* 2002.
135. Schettgen, T., et al., *Determination of haemoglobin adducts of acrylamide and glycidamide in smoking and non-smoking persons of the general population.* Int J Hyg Environ Health, 2004. **207**(6): p. 531-9.
136. Schettgen, T., et al., *A first approach to estimate the internal exposure to acrylamide in smoking and non-smoking adults from Germany.* Int J Hyg Environ Health, 2003. **206**(1): p. 9-14.
137. Schriever-Schwemmer, G., U. Kliesch, and I.D. Adler, *Extruded micronuclei induced by colchicine or acrylamide contain mostly lagging chromosomes identified in paintbrush smears by minor and major mouse DNA probes.* Mutagenesis, 1997. **12**(4): p. 201-7.
138. Schulz, M.R., et al., *Dose-response relation between acrylamide and pancreatic cancer.* Occup Environ Med, 2001. **58**(9): p. 609.
139. Segerback, D., et al., *Formation of N-7-(2-carbamoyl-2-hydroxyethyl)guanine in DNA of the mouse and the rat following intraperitoneal administration of [14C]acrylamide.* Carcinogenesis, 1995. **16**(5): p. 1161-5.

140. SFT, *Alertes toxicologiques : excipients, additifs, adjuvants, impuretés. 33ème Congrès annuel, 25-26 octobre 2007, Montpellier, France.*
141. Sickles, D.W., et al., *Direct effect of the neurotoxicant acrylamide on kinesin-based microtubule motility.* J Neurosci Res, 1996. **46**(1): p. 7-17.
142. Sickles, D.W., J.D. Stone, and M.A. Friedman, *Fast axonal transport: a site of acrylamide neurotoxicity?* Neurotoxicology, 2002. **23**(2): p. 223-51.
143. Singh, N.P., et al., *A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells.* Exp Cell Res, 1988. **175**(1): p. 184-91.
144. Singh, N.P., R.E. Stephens, and E.L. Schneider, *Modifications of alkaline microgel electrophoresis for sensitive detection of DNA damage.* Int J Radiat Biol, 1994. **66**(1): p. 23-8.
145. Smith, C.J., et al., *"IARC group 2A Carcinogens" reported in cigarette mainstream smoke.* Food Chem Toxicol, 2000. **38**(4): p. 371-83.
146. Smith, E.A., S.L. Prues, and F.W. Oehme, *Environmental degradation of polyacrylamides. 1. Effects of artificial environmental conditions: temperature, light, and pH.* Ecotoxicol Environ Saf, 1996. **35**(2): p. 121-35.
147. *SNFA, Swedish National Food Administration. Acrylamide is formed during the preparation of food (press release). http://www.slv.se/templatesSLV/SLV_Page___6182.asp.* 2002.
148. Sobel, W., et al., *Acrylamide cohort mortality study.* Br J Ind Med, 1986. **43**(11): p. 785-8.
149. Solomon, J.J., *Cyclic adducts and intermediates induced by simple epoxides. IARC* Sci Publ, 1999(150): p. 123-35.
150. Solomon, J.J., et al., *Direct alkylation of 2'-deoxynucleosides and DNA following in vitro reaction with acrylamide.* Cancer Res, 1985. **45**(8): p. 3465-70.
151. Sorgel, F., et al., *Acrylamide: increased concentrations in homemade food and first evidence of its variable absorption from food, variable metabolism and placental and breast milk transfer in humans.* Chemotherapy, 2002. **48**(6): p. 267-74.
152. Sorsa, M., *Les produits chimiques génotoxiques.* Encyclopédie de sécurité et de santé au travail, disponible sur le site www.ilo.org, 2005.
153. Stadler, R.H., et al., *Acrylamide from Maillard reaction products.* Nature, 2002. **419**(6906): p. 449-50.
154. Stadler, R.H., et al., *In-depth mechanistic study on the formation of acrylamide and other vinylogous compounds by the maillard reaction.* J Agric Food Chem, 2004a. **52**(17): p. 5550-8.
155. Stadler, R.H. and G. Scholz, *Acrylamide: an update on current knowledge in analysis, levels in food, mechanisms of formation, and potential strategies of control.* Nutr Rev, 2004b. **62**(12): p. 449-67.
156. Stadler, R.H., et al., *Formation of vinylogous compounds in model Maillard reaction systems.* Chem Res Toxicol, 2003. **16**(10): p. 1242-50.
157. Sumner, S.C., et al., *Role of cytochrome P450 2E1 in the metabolism of acrylamide and acrylonitrile in mice.* Chem Res Toxicol, 1999. **12**(11): p. 1110-6.
158. Sumner, S.C., J.P. MacNeela, and T.R. Fennell, *Characterization and quantitation of urinary metabolites of [1,2,3-13C]acrylamide in rats and mice using 13C nuclear magnetic resonance spectroscopy.* Chem Res Toxicol, 1992. **5**(1): p. 81-9.
159. Swaen, G.M., et al., *Mortality study update of acrylamide workers.* Occup Environ Med, 2007. **64**(6): p. 396-401.
160. Taeymans, D., et al., *A review of acrylamide: an industry perspective on research, analysis, formation, and control.* Crit Rev Food Sci Nutr, 2004. **44**(5): p. 323-47.
161. Tareke, E., et al., *Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs.* J Agric Food Chem, 2002. **50**(17): p. 4998-5006.
162. Taubert, D., et al., *Influence of processing parameters on acrylamide formation during frying of potatoes.* J Agric Food Chem, 2004. **52**(9): p. 2735-9.
163. Tilson, H.A., *The neurotoxicity of acrylamide: an overview.* Neurobehav Toxicol Teratol, 1981. **3**(4): p. 445-61.
164. Tsuda, H., et al., *Acrylamide; induction of DNA damage, chromosomal aberrations and cell transformation without gene mutations.* Mutagenesis, 1993. **8**(1): p. 23-9.
165. Tyl, R.W. and M.A. Friedman, *Effects of acrylamide on rodent reproductive performance.* Reprod Toxicol, 2003. **17**(1): p. 1-13.

166. Wenzl, T., et al., *Evaluation of the results from an inter-laboratory comparison study of the determination of acrylamide in crispbread and butter cookies.* Anal Bioanal Chem, 2004. **379**(3): p. 449-57.
167. *WHO, FAO/WHO Consultation on the Health Implications of Acrylamide in Food. Summary Report of a meeting held in Geneva. http://www.who.int/foodsafety/publications/ ehaw/en/acrylamide_full.pdf.* 2002.
168. Wise, L.D., et al., *Developmental neurotoxicity evaluation of acrylamide in Sprague-Dawley rats.* Neurotoxicol Teratol, 1995. **17**(2): p. 189-98.
169. Yang, H.J., et al., *Genotoxicity and toxicological effects of acrylamide on reproductive system in male rats.* J Vet Sci, 2005. **6**(2): p. 103-9.
170. Yasuhara, A., et al., *Gas chromatographic investigation of acrylamide formation in browning model systems.* J Agric Food Chem, 2003. **51**(14): p. 3999-4003.
171. Yaylayan, V.A., A. Wnorowski, and C. Perez Locas, *Why asparagine needs carbohydrates to generate acrylamide.* J Agric Food Chem, 2003. **51**(6): p. 1753-7.
172. Yousef, M.I. and F.M. El-Demerdash, *Acrylamide-induced oxidative stress and biochemical perturbations in rats.* Toxicology, 2006. **219**(1-3): p. 133-41.
173. Zajdela, F., et al., *Carcinogenicity of chloroethylene oxide, an ultimate reactive metabolite of vinyl chloride, and bis(chloromethyl)ether after subcutaneous administration and in initiation-promotion experiments in mice.* Cancer Res, 1980. **40**(2): p. 352-6.
174. Zamorano-Ponce, E., et al., *Anti-genotoxic effect of Aloysia triphylla infusion against acrylamide-induced DNA damage as shown by the comet assay technique.* Mutat Res, 2006. **603**(2): p. 145-50.
175. Zenick, H., E. Hope, and M.K. Smith, *Reproductive toxicity associated with acrylamide treatment in male and female rats.* J Toxicol Environ Health, 1986. **17**(4): p. 457-72.
176. Zyzak, D.V., et al., *Acrylamide formation mechanism in heated foods.* J Agric Food Chem, 2003. **51**(16): p. 4782-7.

Sites internet

(juin 2007)

www.acrylamide-food.org

www.afssa.fr

www.agriculture.gouv.fr

www.cfsan.fda.gov

www.cfsan.fda.gov/~lrd/pestadd.html#acrylamide

www.codexalimentarius.net

ecb.jrc.it

www.fao.org

www.fda.gov

www.finances.gouv.fr/DGCCRF

www.heatox.org

jecfa.ilsi.org

www.jifsan.umd.edu/acrylamide/acrylamideworkshop.html

www-cie.iarc.fr

www.inrs.fr

www.invs.fr

www.irmm.jrc.be

www.lc-maillard.org

www.legifrance.fr

www.sftox.com

www.who.int/fsf/acrylamide/acrylamide_index.html

ANNEXES

Annexe 1 - Propriétés physiques et chimiques de l'acrylamide

(INRS, 1992)

Autres dénominations de l'acrylamide :

Nom IUPAC : 2-propenamide

Noms en anglais : 2-propenamide, acrylic acid amide, ethylene carboxamide, propenoic acid amide, vinyl amide.

Solubilité de l'acrylamide à 30 °C dans divers solvants :

eau	216 g/100g
méthanol	155 g/100g
éthanol	86,2 g/100g
acétone	63,1 g/100g
éthyl acétate	12,6 g/100g
chloroforme	2,66 g/100g
benzène	0,35 g/100g
heptane	0,0068 g/100g

Autres propriétés physiques

Densité de vapeur (air=1)	2,45
Tensions de vapeur	25 °C : 0,93 Pa
	40 °C : 3,9 Pa
	87 °C : 270 Pa
Concentration de la vapeur saturante (25 °C)	27 mg/m^3
Point d'éclair	138 °C
pH de la solution à 50 % (m/m)	5,2 à 6,0

Impuretés majeures présentes dans l'acrylamide sous forme solide :

3-hydroxypropionitrile, 3-hydroxypropionamide, acrylic acid, tris-nitrilopropionamide, acrylonitrile, eau

Annexe 2 - Fiche toxicologique de l'acrylamide établie par l'INRS (INRS, 1992)

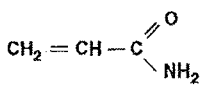
INRS

CDU Acrylamide

FICHE TOXICOLOGIQUE N° 119 — Édition 1992

Acrylamide

Note établie par les services techniques et médicaux de l'INRS



Numéro CAS

N° 79-06-1

Numéro CEE

N° 616-003-00-0

Synonyme

2-Propénamide



T – Toxique

ACRYLAMIDE (*)

R 45	– Peut causer le cancer
R 46	– Peut causer des altérations génétiques héréditaires
R 24/25	– Également toxique par contact avec la peau et par ingestion
R 48/23/24/25	– Toxique : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par inhalation, contact avec la peau et ingestion
S 53	– Éviter l'exposition. Se procurer des instructions spéciales avant l'utilisation
S 45	– En cas de malaise, consulter un médecin (si possible lui montrer l'étiquette)

(*) Lorsque l'acrylamide est sous forme non stabilisée, le nom de la substance doit être suivi de la mention « non stabilisé ».

CARACTERISTIQUES

Utilisation [1, 5]

– Fabrication de polymères et copolymères hydrosolubles utilisés comme floculants pour le traitement des eaux et par l'industrie minière ; modificateur de viscosité dans l'industrie pétrolière ; adjuvants de fabrication dans l'industrie du papier.

– Synthèse de latex acryliques pour les industries des peintures, vernis, adhésifs, textiles, cuirs...

Propriétés physiques [1 à 6]

L'acrylamide se présente sous la forme de cristaux pailletés blancs, inodores, qui se subliment lentement à température ambiante. Il est très soluble dans l'eau (215,5 g/100 ml à 30 °C) et soluble dans de nombreux solvants organiques (acétone, acétate d'éthyle, éthanol...). Ses principales caractéristiques physiques sont les suivantes :

Masse molaire : 71,08

Point de fusion : 84,5 °C

Point d'ébullition : 125 °C sous 3,33 kPa

Densité (D_4^{30}) : 1,122

Densité de vapeur (air = 1) : 2,45

Tensions de vapeur :

0,93 Pa à 25 °C
3,9 Pa à 40 °C
270 Pa à 87 °C

Concentration de la vapeur saturante à 25 °C : 27 mg/m^3

Point d'éclair 138 °C

Dans le commerce, l'acrylamide est le plus souvent disponible sous la forme de solutions aqueuses en contenant 30 ou 50 %.

Les propriétés de la solution à 50 % sont les suivantes :

pH : 5,2 à 6

Point de cristallisation : 12 à 13 °C

Point d'ébullition : environ 105 °C

Tension de vapeur : ≥ 0,3 Pa à 25 °C

Concentration de la vapeur saturante à 25 °C : 9 mg/m^3

Densité (D_4^{25}) : 1,038

Propriétés chimiques [1 à 6, 14]

L'acrylamide possède les propriétés caractéristiques de la fonction amide (hydrolyse, déshydratation, estérification, condensation avec les aldéhydes) et celles du groupement vinylique (réactions d'addition, de cyclisation, de polymérisation et de copolymérisation).

L'acrylamide peut se polymériser dans certaines conditions : exposé à l'humidité, lorsqu'il est stocké à l'état solide (formation d'un gel) ; sous l'action de la chaleur ou des rayons ultraviolets ; en présence d'initiateurs, même à l'état de traces, tels que la rouille, les peroxydes et les persulfates. La réaction est exothermique et peut devenir dangereuse.

Pour pallier cette tendance à la polymérisation, les solutions aqueuses doivent être stabilisées par la présence simultanée d'ions cuivriques (25 à 30 ppm) et d'oxygène (barbotage). La stabilisation n'est plus efficace en l'absence d'oxygène ou si la température s'élève au-dessus de 50 °C. D'autres stabilisants ont été utilisés, tels que l'hydroquinone ou le *tert*-butylcatéchol.

L'acrylamide peut également réagir dangereusement avec les agents oxydants ou réducteurs, les acides ou les bases.

D'autre part, il se décompose au-dessus de 175 °C en donnant naissance à de l'oxyde

et du dioxyde de carbone, de l'ammoniac et/ou des oxydes d'azote.

Récipients de stockage

Il est recommandé de stocker l'acrylamide solide en sacs ou fûts en carton doublés de polyéthylène.

Les solutions sont généralement stockées dans des récipients en acier inoxydable ou en polyester renforcé de fibres de verre.

Les plus petites quantités sont gardées dans des bonbonnes en verre protégées par une enveloppe métallique convenablement ajustée.

Le contact direct avec le cuivre, l'aluminium, leurs alliages, le fer et l'acier ordinaire doit être évité.

Méthodes de détection et de détermination dans l'air

- Prélèvement par barbotage dans l'eau distillée, analyse par chromatographie liquide haute performance avec détection UV [7, 8].

- Prélèvement sur filtre de fibre de verre suivi d'un tube de gel de silice, extraction au méthanol, analyse par chromatographie en phase gazeuse avec détection spécifique azote-phosphore [9].

RISQUES

Risques d'incendie

Il existe peu de données sur l'inflammabilité de l'acrylamide. Toutefois, ce produit semble peu inflammable.

En cas d'incendie où le produit serait impliqué, les agents d'extinction préconisés sont : l'eau pulvérisée, le dioxyde de carbone, les poudres chimiques. Les récipients de stockage seront refroidis au moyen de jets d'eau car l'exposition à la chaleur peut déclencher polymérisation et rupture des récipients.

En raison de la toxicité des fumées émises, les intervenants seront équipés d'appareils de protection respiratoire autonomes isolants.

Pathologie – Toxicologie

Toxicité expérimentale

Aiguë et chronique [5, 6, 10 à 14]

La DL50 par voie orale est de 100 à 170 mg/kg chez la souris, 120 à 150 mg/kg chez le rat et 150 à 180 mg/kg chez le cobaye et le lapin.

La DL50 par voie cutanée est de 400 mg/kg chez le rat.

Pour toutes les espèces étudiées, quelle que soit la voie d'administration, les effets aigus ou chroniques observés traduisent une toxicité essentiellement neurologique.

En cas d'administration unique, on note des signes neurologiques évoquant une atteinte du système nerveux central, se traduisant par un tremblement, une ataxie, une asthénie, un comportement suggérant des hallucinations, des convulsions. Lorsque l'animal ne meurt pas, tous les signes sont en principe réversibles.

Lors d'expositions répétées, on observe plutôt une atteinte du système nerveux périphérique, par effet cumulatif. L'intensité des effets dépend de la dose administrée, mais aussi de l'âge (les animaux jeunes sont plus résistants). On note une faiblesse musculaire des membres débutant par les postérieurs, des troubles de la marche, une aréflexie tendineuse et une atteinte neurologique vésicale avec rétention. Il peut parfois s'y associer des perturbations des nerfs crâniens, en particulier du nerf optique chez le singe (baisse de l'acuité visuelle, perturbation des potentiels évoqués) ayant une neuropathie.

La neuropathie est sensitivo-motrice et se traduit au plan histologique par une dégénérescence lente, progressive et rétrograde des fibres nerveuses périphériques, avec une diminution des vitesses de conduction nerveuse. Si l'exposition est interrompue, l'animal récupère cliniquement progressivement et les paramètres de conduction nerveuse reviennent à la normale (chez le chat et le rat environ 55 jours après arrêt d'une intoxication à la dose de 10 mg/kg/j).

En application locale répétée, une solution aqueuse à 10 % provoque une irritation modérée sur la peau abrasée et n'a pas d'effet sur la peau intacte. Sur l'œil, une solution aqueuse à 40 % est responsable de légères douleurs, d'une irritation modérée de la conjonctive difficilement réversible et d'une kératite réversible en 24 heures. Si un lavage oculaire est pratiqué, l'atteinte cornéenne n'apparaît pas et l'irritation conjonctivale disparaît dans les 24 heures.

Effets génotoxiques [14 à 18]

L'acrylamide n'est pas mutagène pour les souches classiques de Salmonella typhimurium dans les conditions du test d'Ames. Il n'induit de mutation génique ni dans les cellules ovariennes de hamster chinois ni chez la drosophile. En revanche, sans activation métabolique, l'acrylamide induit des mutations dose-dépendantes dans les cellules de lymphome de souris en culture.

L'acrylamide est clastogène, in vitro, pour les cellules de lymphome de souris, pour les cellules ovariennes de hamster chinois (augmentation de la fréquence des échanges entre chromatides sœurs) et pour les lymphocytes humains en culture (augmentation du taux d'aberrations chromosomiques et d'aneuploïdie).

In vivo, chez la souris, l'effet clastogène est plus prononcé dans les cellules germinales (spermatogonies) que dans les cellules somatiques (moelle osseuse). De plus, l'acrylamide induit la synthèse non programmée de l'ADN dans les hépatocytes de rat et des anomalies de la tête des spermatozoïdes chez la souris.

L'acrylamide est susceptible de se lier avec les protéines (notamment la protamine du spermatozoïde) et les acides nucléiques par alkylation directe de l'ADN. La nature de cette fixation semble varier selon la voie d'administration, ce qui pourrait expliquer les différences entre certains résultats d'essais de génotoxicité.

Effets cancérogènes [14, 16, 17, 19, 30]

In vitro, l'acrylamide détermine des transformations cellulaires, dose-dépendantes, sur culture de cellules de souris.

In vivo, le potentiel cancérogène de l'acrylamide a été mis en évidence et confirmé par une série d'expérimentations portant sur plusieurs souches de rongeurs et différentes voies d'administration.

L'administration orale de 2 mg/kg/j d'acrylamide, pendant 2 ans, induit chez le rat une augmentation significative dose-dépendante des tumeurs bénignes et malignes. Chez le mâle, 40,7 % des animaux sont porteurs de tumeurs du scrotum, de la thyroïde et des surrénales, dont 18,5 % sont des tumeurs malignes (scrotum). Chez la femelle, 76,7 % des animaux sont porteurs de tumeurs (glandes mammaires, thyroïde, utérus, cavité orale et système nerveux central), dont 33,3 % sont des tumeurs malignes (thyroïde, glandes mammaires, système nerveux central, utérus).

Dans une seconde étude par voie orale, des rats étaient exposés aux doses de 0,1, 0,5 et 2 mg/kg/j pour les mâles, 1 et 3 mg/kg/j pour les femelles, pendant deux ans. On a noté, à la plus forte dose, une mortalité de 75 % chez les mâles traités (contre 58,5 % chez les témoins) et de 49 % chez les femelles traitées (contre 34 % chez les témoins). Il n'y a pas de différence significative du nombre de tumeurs du système nerveux central. Il n'y a pas d'augmentation du nombre d'adénocarcinomes mammaires ou thyroïdiens, mais une élévation du nombre de tumeurs (bénignes ou malignes) dans ces deux organes, le résultat restant pour les tumeurs mammaires dans les limites historiques de l'espèce. Il existe une augmentation du nombre de mésothéliomes du scrotum à 2 mg/kg/j mais pas à 0,5 mg/kg/j. La dose de 0,5 mg/kg/j est considérée, dans cette expérimentation, comme sans effet tumorigène.

Chez la souris, l'acrylamide induit des tumeurs pulmonaires chez 93 % des animaux à la dose de 30 mg/kg administrée par voie intrapéritonéale, 3 fois par semaine pendant 8 semaines. Il initie des tumeurs de la peau par 3 voies d'administration (orale, intrapéritonéale et cutanée) à partir de 12,5 mg/kg, 6 fois en 2 semaines. Par ailleurs, chez cet animal, l'administration par voie orale, par injection ou par application cutanée de doses variables selon l'étude (6,25 à 300 mg/kg), 6 fois en 2 semaines, suivie ou non d'un traitement par un agent promoteur (TPA), entraîne une augmentation du nombre de tumeurs cutanées et/ou pulmonaires, seulement en présence du promoteur.

Effets sur la reproduction [14, 17, 20]

Après injection dans l'œuf de poule, aux doses de 0,03 à 0,6 mg du jour 5 au jour 7 d'incubation, l'acrylamide induit une foetotoxicité et une embryolétalité (déformation des pattes).

Chez le mâle, des expérimentations effectuées sur rats et souris, par voies orale et intrapéritonéale, à des doses allant jusqu'à 30 mg/kg/j, ont mis en évidence une toxicité testiculaire (perte de poids, dégénérescence du tissu épithélial, oligospermie) et un effet létal-dominant (entraînant chez la fe-

melle une augmentation des résorptions fœtales pré- et post-implantation). Ces effets sont dus à l'action de l'acrylamide sur les derniers stades de la spermatogénèse, entraînant une augmentation du taux d'anomalies de la tête du spermatozoïde.

Chez la femelle, l'administration de l'acrylamide n'affecte ni la fertilité des mères, ni la viabilité des petits, mais diminue la prise de poids corporel de ces derniers pendant la gestation et la lactation (au-dessus de 5 mg/kg/j).

L'acrylamide franchit la barrière placentaire chez le rat, le lapin, le chien et le porc, 1 à 2 heures après injection intraveineuse [9]. Une exposition in utero provoque chez le nouveau-né des manifestations neurotoxiques de nature dégénérative (sur le nerf tibial et le nerf optique), à des doses sans toxicité visible pour la mère (environ 5 mg/kg/j).

La dose sans effet sur la reproduction est de 0,5 mg/kg/j.

Toxicocinétique – Métabolisme [10, 14, 17]

Chez l'animal, l'absorption de l'acrylamide est complète et rapide après pénétration par le tractus gastro-intestinal ; en revanche, elle ne représente que 25 % de la dose 24 heures après application cutanée.

Le produit se répartit rapidement dans tout l'organisme et s'accumule dans les zones à forte irrigation sanguine (muscle, peau). L'acrylamide se fixe dans les érythrocytes (12 % de la dose après 1 heure), probablement en réagissant avec les groupements sulfhydriles de l'hémoglobine et y persiste pendant au moins 10 jours ; moins de 1 % de la dose est retrouvé dans le tissu nerveux. La demi-vie de l'acrylamide est d'environ 1,7 heure dans le sang, 5 heures dans les tissus et 24 jours dans la moelle épinière.

Après absorption, l'acrylamide est métabolisé principalement par conjugaison avec le glutathion. Il peut interférer avec sa propre détoxification par inhibition de l'activité glutathion-S-transférase. La neurotoxicité de l'acrylamide serait due à cette inhibition accompagnée d'une déplétion en glutathion hépatique.

En 24 heures, 62 % de la dose sont éliminés dans les urines et 71 % en 7 jours, dont 2 % correspondent au composé inchangé. Le métabolite urinaire le plus important (environ 50 % de la dose) est la *N*-acétyl-*S*-(3-amino-3-oxypropyl)cystéine (ou *N*-acétylcystéine-*S*-β-propionamide). Trois autres métabolites urinaires, non sulfhydriles, non identifiés représentent 14 % de la dose. L'acrylamide subit un cycle entérohépatique : 15 % de la dose injectée apparaissent dans la bile après 6 h mais, après 7 jours, seuls 6 % sont excrétés dans les fèces. Entre 4 et 6 % de la dose sont éliminés par les poumons sous forme de CO_2 et le reste est fixé aux composés tissulaires.

Toxicité sur l'homme

Aiguë [23, 24, 26]

L'acrylamide est absorbé par voie digestive, respiratoire et cutanée. On observe des intoxications aiguës par les deux premières voies, alors que le contact cutané répété donne plus volontiers des formes subaiguës ou retardées.

Les signes sont particulièrement nets après ingestion ; une dose de 200 mg/kg dans de l'eau a provoqué des troubles neurologiques centraux (somnolence, confusion mentale, hallucination et perte de mémoire) associés à une toux spasmodique et une rhinorrhée. Dans certains cas, on peut également observer un coma et des convulsions. Les complications biologiques comportent une élévation modérée des aminotransférases, de rares pancréatites et une acidose dans les cas graves. Parfois, une à deux semaines après l'intoxication, apparaissent des signes de neuropathie périphérique (faiblesse musculaire, fourmillements des extrémités). Cette symptomatologie régresse en quelques mois.

Chronique [21, 22, 25, 27]

Il s'agit avant tout d'une atteinte du système nerveux périphérique, d'installation progressive. Elle se manifeste par une sensation de faiblesse des quatre membres, une sensation d'engourdissement, une incoordination des gestes fins, un tremblement des extrémités, une diminution de la sensibilité thermique et profonde. L'examen objective l'aréflexie ostéo-tendineuse.

Il peut s'y ajouter des troubles cérébelleux avec nystagmus, ataxie et dysarthrie. Il est parfois difficile de distinguer l'atteinte centrale des lésions périphériques.

Enfin certaines anomalies, comme un refroidissement et une hyperhydrose des mains et des pieds, une hypotension ainsi qu'une cyanose des extrémités, témoignent d'une atteinte du système nerveux autonome.

L'arrêt de l'exposition permet le plus souvent une régression complète des troubles après plusieurs semaines ou mois. Des séquelles sont toutefois possibles.

Par ailleurs, les effets de l'acrylamide sont décrits comme « anamnestiques » : après une guérison, en cas d'exposition nouvelle, la symptomatologie réapparaîtra pour une exposition plus faible.

Le contact cutané ou prolongé peut entraîner l'apparition d'une dermite de contact avec desquamation. C'est un signe quasi constant qui précède les signes d'atteinte neurologique chronique.

Des gastralgies et des douleurs musculaires ont également été rapportées.

Cancérogénèse [14, 28, 31]

Deux études épidémiologiques portant respectivement sur 371 et 2 293 employés exposés à l'acrylamide monomère n'ont pas révélé d'augmentation de la mortalité par cancer. La signification de ces études est toutefois limitée par la faiblesse du nombre des personnes exposées dans le premier cas, par l'imprécision sur l'importance de l'exposition dans le second.

En raison des résultats expérimentaux, l'acrylamide doit être considéré comme une substance probablement cancérogène pour l'homme.

Valeurs limites d'exposition

En France, le ministère du Travail a fixé à 0,3 mg/m³ la valeur limite de moyenne d'exposition indicative qui peut être admise dans l'air des locaux de travail pour l'acrylamide.

Aux États-Unis, cette valeur a été fixée en 1991 par l'ACGIH à 0,03 mg/m³.

REGLEMENTATION

Hygiène et sécurité du travail

1° Aération et assainissement des locaux

– Articles R. 232-5 à R. 232-5-14 du Code du travail.

– Circulaire du ministère du Travail du 9 mai 1985 (non parue au *J.O.*).

– Arrêtés des 8 et 9 octobre 1987 (*J.O.* du 22 octobre 1987) relatifs aux contrôles des installations.

2° Valeur limite d'exposition

– Circulaire du ministère du Travail du 10 mai 1984 (non parue au *J.O.*).

3° Maladies de caractère professionnel

– Article L. 461-6 du Code de la Sécurité sociale et décret du 3 août 1963 (*J.O.* du 23 août 1963) ; déclaration médicale de ces affections.

4° Etiquetage

a) de l'acrylamide *pur* :

• arrêté du 10 octobre 1983 modifié (*J.O.* du 21 janvier 1984) et circulaire du 29 janvier 1986 (non parue au *J.O.*). Cet arrêté prévoit des étiquettes comportant notamment :

– le symbole *Toxique,*

– l'énumération des risques particuliers et des conseils de prudence ;

b) des *préparations* contenant de l'acrylamide :

• arrêté du 21 février 1990 modifié (*J.O.* du 24 mars 1990) et circulaire du 29 janvier 1986 (non parue au *J.O.*).

Protection de l'environnement

Installations classées pour la protection de l'environnement, Paris, Imprimerie des Journaux officiels, brochures n° 1001 :

– arrêté du 10 juillet 1990 relatif aux rejets dans les eaux souterraines.

Protection de la population

Décret du 29 décembre 1988 relatif aux substances et préparations vénéneuses (articles R. 5149 à R. 5167 du Code de la Santé publique) (*J.O.* du 31 décembre 1988) et cir-

culaire du 2 septembre 1990 (*J.O.* du 13 octobre 1990) :

– détention dans des conditions déterminées ;

– étiquetage (cf. 4°) ;

– cession réglementée.

Transport

Se reporter éventuellement aux règlements suivants :

1° Transport national (route, chemin de fer)

– RTMD (arrêté du 15 avril 1945 modifié).

Acrylamide solide ou en solution :

- Classe : 6.1
- Code danger : 60
- Groupe : 61311 a ou b
- Code matière : 2074
- Etiquette : n° 6.1 A

2° Transport international (route, chemin de fer)

– ADR et RID.

3° Transport par air

– IATA.

4° Transport dans les ports maritimes et par mer

– RPM (arrêté du 27 juin 1951 modifié).

– IMDG (OMCI).

RECOMMANDATIONS

En raison notamment de la toxicité de l'acrylamide, des mesures de prévention et de protection très sévères sont nécessaires lors du stockage et de l'utilisation de ce produit.

I. Au point de vue technique

Stockage

• Stocker l'acrylamide dans des locaux spéciaux, munis d'une ventilation efficace, à l'abri de toute source d'ignition ou de chaleur et à l'écart des produits incompatibles tels que les produits oxydants, les bases et les acides. Le sol des locaux où sont stockées les solutions sera imperméable et formera cuvette de rétention, afin qu'en cas de déversement accidentel, le liquide ne puisse se répandre au dehors.

• Afin d'éviter toute polymérisation, conserver l'acrylamide solide à l'abri de l'humidité et de la lumière. Les solutions stabilisées ne doivent jamais être stockées sous atmosphère inerte, car une certaine quantité d'oxygène dissous est indispensable à la réaction d'inhibition.

• Maintenir la température en dessous de 32 °C pour le stockage du solide et entre 15,5 et 32 °C pour celui des solutions (ne jamais dépasser 50 °C). Celles-ci ne peuvent généralement pas être stockées plus de 6 mois et il est nécessaire de contrôler régulièrement la concentration de l'inhibiteur conformément aux recommandations du fabricant.

• Les récipients seront soigneusement fermés et correctement étiquetés. Reproduire l'étiquetage en cas de fractionnement des emballages.

• Prévoir des appareils de protection respiratoire autonomes isolants pour intervention d'urgence, à proximité immédiate des locaux.

Manipulation

Les prescriptions relatives aux locaux de stockage sont applicables aux ateliers où est manipulé l'acrylamide. En outre :

• Instruire le personnel des risques présentés par le produit, des précautions à observer et des mesures à prendre en cas d'accident. Les procédures spéciales en cas d'urgence feront l'objet d'exercices d'entraînement.

• Eviter l'inhalation de poussières ou de vapeurs. Effectuer en appareil clos toute opération industrielle qui s'y prête. Prévoir une aspiration des vapeurs à leur source d'émission, ainsi qu'une ventilation générale des locaux. Prévoir également des appareils de protection respiratoire pour certains travaux de courte durée, à caractère exceptionnel ou pour des interventions d'urgence.

• Contrôler fréquemment et régulièrement la teneur de l'atmosphère en acrylamide.

• Eviter le contact du produit avec la peau et les yeux. Mettre à la disposition du personnel des vêtements de protection, des gants en caoutchouc et des lunettes de sécurité. Ces effets seront maintenus en bon état et nettoyés après chaque usage. Les équipements de caoutchouc souillés seront changés immédiatement et décontaminés. Proscrire tout équipement en cuir.

• Prévoir l'installation de douches et de fontaines oculaires.

• Maintenir les locaux en parfait état de propreté.

• Ne pas fumer, boire et manger dans les ateliers. Observer une hygiène corporelle et vestimentaire très stricte : passage à la douche et changement de vêtements après le travail.

• Ne jamais procéder à des travaux sur ou dans des cuves et réservoirs contenant ou ayant contenu de l'acrylamide sans prendre les précautions d'usage [29].

• Eviter le rejet atmosphérique ou aqueux d'acrylamide.

• En cas de souillure sur le sol, récupérer immédiatement le produit en l'épongeant avec un matériau absorbant inerte s'il est en solution. Laver à grande eau la surface ayant été souillée. Si le déversement est important, évacuer le personnel en ne faisant intervenir que des opérateurs entraînés munis d'un équipement de protection.

• Conserver les déchets dans des récipients spécialement prévus à cet effet. L'acrylamide peut être détruit dans un incinérateur à post-combustion muni d'un épurateur. Avant destruction, les petites quantités de monomère peuvent être transformées en produit moins dangereux (après dilution au-dessous de 25 % car les réactions sont exothermiques) soit par polymérisation, soit par réaction avec le bisulfite de sodium (formation de β-sulfopropionamide de sodium). Dans tous les cas, éliminer les déchets dans les conditions autorisées par la réglementation (traitement dans l'entreprise ou dans un centre spécialisé).

II. Au point de vue médical

• A l'embauchage, rechercher des affections cutanées, respiratoires ou neurologiques chroniques susceptibles d'être aggravées par l'exposition à l'acrylamide.

• Par la suite, contrôler l'absence de signes pouvant traduire une exposition trop importante. Lors de l'examen, rechercher plus particulièrement des signes cutanés ou neurologiques périphériques. En cas d'anomalie, un électromyogramme sera demandé.

• Ecarter de l'exposition les femmes enceintes ainsi que les sujets qui ont été victimes d'une intoxication par acrylamide et qui demeurent souvent hypersensibles à ce produit.

• Lors d'accidents aigus, *demander dans tous les cas l'avis d'un médecin* ou du centre antipoison régional ou d'un service de secours d'urgence médicalisés.

• En cas de contact cutané, retirer les vêtements souillés et laver immédiatement la peau à grande eau pendant 10 à 15 min. Si une irritation apparaît ou si la contamination est étendue ou prolongée, consulter un médecin.

• En cas de projection oculaire laver immédiatement et abondamment à l'eau les paupières bien écartées, pendant 15 min. Consulter un ophtalmologiste s'il apparaît une douleur, une rougeur oculaire ou une gêne visuelle.

• En cas d'inhalation massive, retirer le sujet de la zone polluée après avoir pris toutes les précautions nécessaires pour les intervenants.

• En cas d'ingestion, si le sujet est parfaitement conscient et si la quantité ingérée est importante, tenter de faire vomir.

• Dans les deux derniers cas, si la victime est inconsciente, la placer en position latérale de sécurité ; en cas d'arrêt respiratoire, commencer les manœuvres de respiration assistée ; même si l'état initial est satisfaisant, transférer, si nécessaire par ambulance médicalisée, en milieu hospitalier. Une évacuation digestive, une surveillance de l'état de conscience ainsi que des fonctions hépatique et rénale peuvent s'avérer nécessaires.

Bibliographie

1. KIRK-OTHMER – Encyclopedia of chemical technology, 3e éd., vol. 1, New-York, John Wiley & sons, 1979, pp. 298-311.
2. Acrylamide poudre et solutions aqueuses – Fiches de données de sécurité. Rungis, Cyanamid SA, 1991.
3. SAX N.I., LEWIS R.J. – Dangerous properties of industrial materials, 7e éd. vol. II. New-York, Van Nostrand Reinhold Co., 1984, pp. 71-72

4. The Merck Index, 11e éd. Rahway, Merck and co., 1989, p. 21.

5. Occupational Health Guideline for acrylamide. Cincinnati, NIOSH/OSHA, 1978.

6. Acrylamide. Extrait de la base de données CHEMINFO. Hamilton, Centre canadien d'hygiène et de sécurité au travail, 1990.

7. SKELLY N.E., HUSSER E.R. – Determination of acrylamide monomer in polyacrylamide and in environmental samples by high performance liquid chromatography. *Analytical Chemistry*, 1978, 14, pp. 1959-1962.

8. Acrylamide in air. Laboratory method using high performance liquid chromatography after collection in an impinger containing water. Londres, HSE, Occupational Medicine and Hygiene Laboratory, mars 1987, MDHS 57.

9. Acrylamide – OSHA analytical methods manual n° 21. Salt Lake City, OSHA Analytical Laboratory, 1985.

10. TILSON M.A. – The neurotoxicity of acrylamide. An overview. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*, 1981, 3, pp. 445-461.

11. FULLERTON P.M., BARNES J.M. – Peripheral neuropathy in rats produced by acrylamide. *British Journal of Industrial Medicine*, 1966, 23, pp. 210-213.

12. O'DONOGHUE J.L. – Neurotoxicity of industrial and commercial chemicals, vol. II. Boca Raton, CRC Press, 1985, pp. 170-173.

13. MCCOLLISTER D.D. et coll. – Toxicology of acrylamide. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1964, 6, pp. 172-181.

14. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some chemicals used in plastic and elastomers, vol. 39 – Acrylamide. Lyon, CIRC, 1985, pp. 41-66.

15. SHELBY M.D. et coll. – Acrylamide : induction of heritable translocations in male mice. *Environmental Mutagenesis*, 1987, 9, pp. 363-368.

16. BULL R.J. et coll. – Carcinogenic effects of acrylamide in Sencar and A/J mice. *Cancer Research*, 1984, 44, pp. 107-111.

17. DEARFIELD K.L. et coll. – Acrylamide : its metabolism, developmental and reproductive effects, genotoxicity and carcinogenicity. *Mutation Research*, 1988, 195, pp. 45-77.

18. SEGA G.A. et coll. – Acrylamide binding to the DNA and protamine of spermiogenic stages in the mouse and its relationships to genetic damage. *Mutation Research*, 1989, 216, pp. 221-230.

19. JOHNSON K.A. et coll. – Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fischer 344 rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1986, 85, pp. 154-168.

20. ZENICK H. et coll. – Reproductive toxicity associated with acrylamide treatment in male and female rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 1986, 17, pp. 457-472.

21. AULD R.B., BEDWELL S.F. – Peripheral neuropathy with sympathetic overactivity from industrial contact with acrylamide. *Canadian Medical Association Journal*, 1967, 96, pp. 652-654.

22. GAVIGNEAUX A., CABASSON G.B. – Intoxication par l'acrylamide. *Archives des Maladies Professionnelles*, 1972, 33, pp. 115-116.

23. DONOVAN J.W., PEARSON T.O. – Ingestion of acrylamide with severe encephalopathy, neurotoxicity and hepatotoxicity (Abstract). *Veterinary and Human Toxicology*, 1987, 29, p. 462.

24. FULLERTON P.M. – Electrophysiological and histological observations on peripheral nerves in acrylamide poisoning in man. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 1969, 32, pp. 186-192.

25. HE F.S. et coll. – Neurological and electromyographical assessment of the adverse effects of acrylamide on occupationally exposed workers. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, 1989, 15, pp. 125-129.

26. IGISU H., GOTO I., KAWAMURA Y. et coll. – Acrylamide encephalopathy due to well water pollution. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 1975, 38, pp. 581-584.

27. LE QUESNE P.M. – Clinical and morphological findings in acrylamide toxicity. *Neurotoxicology*, 1985, 6, pp. 17-24.

28. SOBEL W. et coll. – Acrylamide cohort mortality study. *British Journal of Industrial Medicine*, 1986, 43, pp. 785-788.

29. Cuves et réservoirs – Recommandations R 119 et Ra 276. Paris, INRS.

30. A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. Final report. Wayne (NJ), Cyanamid Company, 1989, Etude n° 85033.

31. COLLINS J.J. et coll. – Mortality patterns among workers exposed to acrylamide. *Journal of Occupational Medicine*, 1989, 31, 7, pp. 614-617. ■

Annexe 3 - 1er article paru sur la « réaction de Maillard » (1912)

(http://www.lc-maillard.org/)

compte rendu de l'Académie des Sciences,
année 1912, n° 154, pages 66 à 68
Comptes rendus, 27 novembre 1911 ; C.R. Soc. Biol. 2 décembre 1911.
SÉANCE DU 8 JANVIER 1912

Texte intégral

CHIMIE ORGANIQUE.—Action des acides aminés sur les sucres; formation des mélanoïdines par voie méthodique.

Note de Monsieur **Louis Camille MAILLARD**
présentée par Monsieur Armand GAUTIER

Mes recherches sur le rôle des alcools dans la synthèse naturelle des albuminoïdes m'ont amené à mettre les acides aminés en présence d'un alcool complexe universellement répandu chez les êtres vivants, le d-glucose. Mais ici le rôle de la fonction aldéhydique prévaut sur celui des fonctions alcooliques, au moins quand le glucose est en excès.

Si dans un tube on place 1 partie de glycocolle avec 4 parties de glucose et 3 à 4 parties d'eau, puis qu'on porte au bain-marie pour faciliter la dissolution, le liquide prend une teinte jaune très reconnaissable au bout d'une dizaine de minutes au plus. La coloration s'accentue avec une vitesse croissante, et arrive assez rapidement au brun foncé ; plus tard on voit mousser le liquide, par dégagement de CO_2 qu'on reconnaît en conduisant le gaz au moyen d'un courant d'air dans la baryte.

Le gaz CO_2 peut-être : ou le débris du carboxyle du glycocolle, ou le produit d'oxydation d'autres atomes de carbone par l'oxygène emprunté, soit aux oxhydriles du glucose, soit à l'air atmosphérique.

Dans une cloche sur le mercure, on introduit 0,5 g de glycocolle, 2 g de glucose, 2 cm^3 d'eau, et 14,6 cm^3 d'oxygène. Après 6 heures passées à 100°, on retrouve 12,6 cm^3 d'oxygène, soit une disparition de 2 cm^3 seulement, alors qu'il s'est formé 22,9 cm^3 de CO_2. Ce gaz n'emprunte donc pas son oxygène à l'atmosphère.

Avec un dispositif où les produits gazeux sont conduits dans des absorbeurs, 0,4993 g de glycocolle et 2,0044 g de glucose ont fourni en 7 heures 0,1048 g de CO_2. Séché à froid dans le vide, le résidu accuse une perte de 0,6227 g, dont 0,5179 g sont autre chose que CO_2. Or, l'analyse centésimale de ce résidu révèle que cette différence est de l'eau, dont le rapport avec CO_2 dégagé répond à l'expression ($CO_2 + 12\ H_2O$). L'oxygène de CO_2 ne provient donc pas du glucose.

Le dégagement du gaz carbonique résulte de la scission du carboxyle appartenant au glycocolle. Si l'on admet que cette scission est corrélative de la fixation de l'azote sur le carbone aldéhydique du sucre, nous sommes conduits à penser que les molécules de glucose, au nombre de deux au moins, qui entrent dans la constitution du nouveau corps, éprouvent des déshydratations qui créent des doubles liaisons et peut-être des cycles. Les substances noirâtres ainsi formées pourraient être des molécules polycycliques à 1 atome d'azote.

J'ai généralisé la réaction en traitant le glucose par le glycocolle, la sarcosine, l'alanine, la valine, la leucine, la tyrosine, l'acide glutamique. L'alanine est le plus actif des aminoacides, ce qui n'est point pour surprendre quand on connaît son rôle capital en Chimie biologique. Avec le glycocolle, le xylose et l'arabinose réagissent instantanément ; le fructose, le galactose, le glucose et le mannose, assez rapidement ; le lactose et le maltose, lentement ; le saccharose pas du tout pendant plusieurs heures, après quoi se produit une réaction lente, consécutive sans doute à un dédoublement.

Violente à 150°, assez rapide à 100°, la réaction s'observe après quelques jours à 37°, et même au-dessous ; on conçoit d'ailleurs que diverses substances ou divers modes d'énergie pourraient l'accélérer.

Les conséquences de ces faits me paraissent aussi nombreuses qu'intéressantes dans divers domaines de la Science : non seulement en physiologie et en pathologie humaines, mais aussi en physiologie végétale (alcaloïdes cycliques, etc.), en agronomie (maturation des fumiers, humus, industries diverses), en géologie (combustibles minéraux, etc.). La seule énumération de ces conséquences, dont plusieurs peuvent être considérées comme évidentes, serait ici trop longue.

Je n'en signalerai qu'une : la perturbation apportée dans toutes les techniques d'analyse où les matériaux fournissent à la fois des sucres et des acides aminés : par exemple, dans les hydrolyses de protéiques ou de tissus, on ne peut retrouver comme acides aminés que la fraction qui a échappé à l'action des sucres. C'est pourquoi ces hydrolyses fournissent des mélanoïdines, de constitution inconnue jusqu'ici, et dont la composition même n'a jamais pu être définie. Je me suis assuré que les produits de la réaction que je signale sont précisément des mélanoïdines ; mais tandis que les anciennes mélanoïdines fournies par le hasard n'étaient que des mélanges inextricables dérivant

d'aminoacides variés et peut être de sucres divers, nous sommes aujourd'hui en mesure de réaliser individuellement la condensation d'un aminoacide défini avec un sucre défini. Il est donc permis d'espérer que la présente méthode apportera des éclaircissements comparables à ceux qu'a fournis la substitution pour l'étude, aux mélanges inextricables que sont les peptones naturelles, des polypeptides volontairement construits. On pourra dès lors étudier la constitution des mélanoïdines sur laquelle mes essais projettent déjà quelques lueurs.

La portée de la réaction générale que je signale n'a d'égale que son extrême facilité : on est surpris qu'elle ne soit pas depuis longtemps connue dans ses moindres détails. Je m'y suis trouvé conduit méthodiquement par mes recherches sur le rôle que jouent les alcools complexes dans l'enchaînement des acides aminés.

Annexe 4 - Publications de Louis-Camille Maillard

(liste non exhaustive)

(http://www.lc-maillard.org/)

1897 : L'influence du calcaire sur la végétation. Bulletin de la Société des Sciences de Nancy, tome 15, p. 35.

1899 : Du rôle de l'ionisation dans la toxicité des sels métalliques: sulfate de cuivre et Penicillium glaucum. Bulletin Soc. Chim., 3ème s., tome 21, p. 26. Bulletin de la Société des Sciences de Nancy, t. 1/2/3, p. 32-40.

1900 : Présentation d'un poisson rare, la Loche d'étang (Cobitis fossilis) provenant d'une localité inédite. Bulletin de la Société des Sciences de Nancy, 11/06/1900, p. 176-177.

1900 : Variété cristalline de la fibrine du sang. Bulletin de la Société des Sciences et Réunion Biologique de Nancy, tome 1, p. 146.

1900 : Dosage colorimétrique du vanadium. Bulletin Soc. Chim., 3ème s., tome 23, p. 559.

1901 : Réflexions biologiques sur la présence de la vanilline dans une orchidée indigène, Epipactis atrorubens Hoff. Bulletin de la Société des Sciences et Réunion Biologique de Nancy, tome 2, p. 140-146, 05/12/1901.

1903 : L'indoxyle urinaire et les couleurs qui en dérivent. Paris. Thèse de Docteur en Médecine.

1904 : Traité élémentaire d'Histologie. Tome I. Cytologie générale et spéciale. (en collaboration avec Auguste Prenant et Pol Bouin). Paris Schleicher frères.

1906 : Les peptides. Introduction à la synthèse des matières protéiques. Revue générale des Sciences, t. 17, p. 115. Haller A. Les récents progrès en chimie, 2ème série, 233, Gauthier-Villars, Paris.

1907 : Observation d'un cas de mélanhydrose avec R. Blanchard. Bulletin de l'Académie de Médecine, n°57/58, p. 527-547.

1908 : Recherche du plomb dans les Cestodes d'animaux saturnins. C.R. Société de Biologie, tome 64 (LXIV), p. 943.

1909 : Hygiène Alimentaire. Les ordinaires de l'armée française. Composition chimique & valeurs énergétiques.

1911 : Signification actuelle et technique de détermination du coefficient d'imperfection uréogénique. Compte-rendu Société de Biologie, tome 71 (LXXI), p. 652-655. **Coefficient de Maillard.**

1912 : Réaction générale des acides aminés sur les sucres. Journal de Physiologie, tome 14, p. 813.

1912 : Action des acides aminés sur les sucres: formation des mélanoïdines par voie méthodique. Compte-rendu de l'Académie des sciences, tome 154, p. 66-68. **Réaction de Maillard.** (*annexe 3*)

1913 : Genèse des matières protéiques et des matières humiques, CR de la Société de Biologie, p. 303.

1913 : Maillard (Dr L.-C.) Thèse présentée à la Faculté des Sciences de Paris. Action de la glycérine et des sucres sur les acides x-aminés : cyclo-glycil-glycines & polypeptides; mélanoïdines et matières humiques.

1923 : L'oeuvre chimique de Pasteur par Louis-Camille Maillard. Eloge des travaux prononcé lors du Centenaire de la naissance de Pasteur.

1936 : Dosage du titane de l'organisme par extraction et photométrie (avec M. Jean Ettori). CR de l'Académie des sciences, t 202, p. 594-596, fev.17, Revue générale des Sciences, t.47, p. 384, 504, 508.

1936 : Répartition du titane dans les organes de l'homme (avec J.Ettori). CR de l'Académie des Sciences, t. 202, p. 1621-1622.

1936 : Le titane chez les mammifères et en particulier chez l'homme. CR Soc. de biol., 122, p. 951-954.

Annexe 5 - Principe du test des comètes

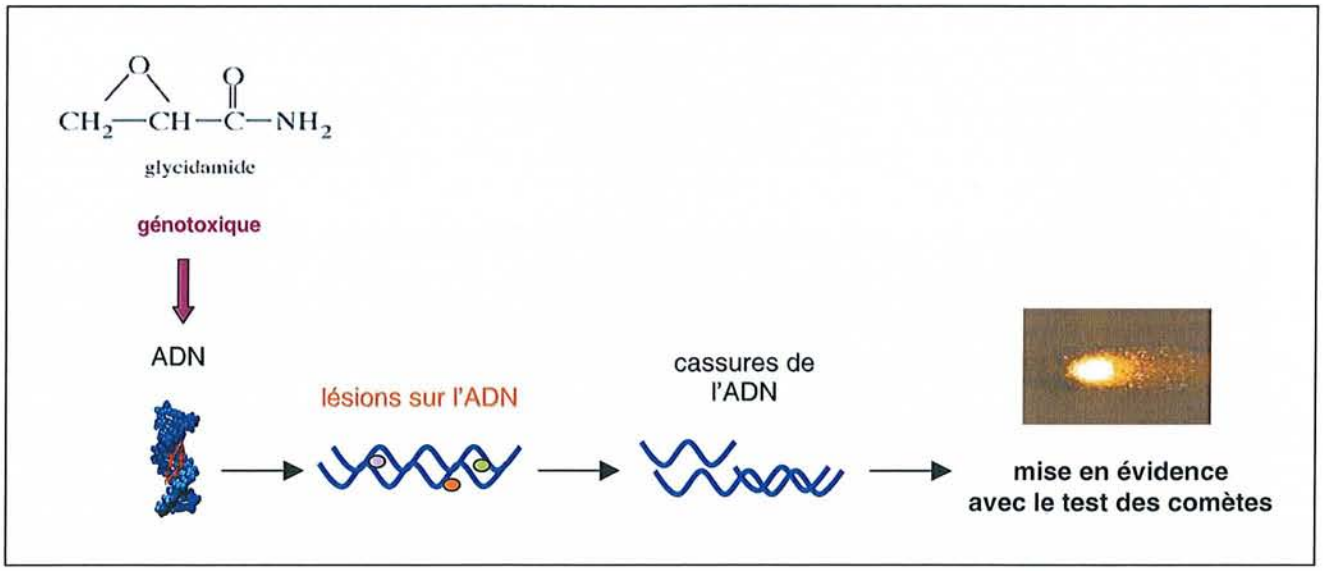
(Klein *et al.*, 2005)

Ce test a été mis au point par Ostling et Johanson (1984) et modifié par Singh *et al.* (1988). C'est une technique de microélectrophorèse qui permet de visualiser directement les lésions de l'ADN dans des cellules individuelles. Ce test présente de nombreuses applications. Il est utilisé en épidémiologie pour le suivi de populations exposées à des toxiques (biomonitoring, dans la détermination de la génotoxicité de xénobiotiques, en industrie pour le criblage de nouvelles molécules et également dans les études des mécanismes des dommages à l'ADN).

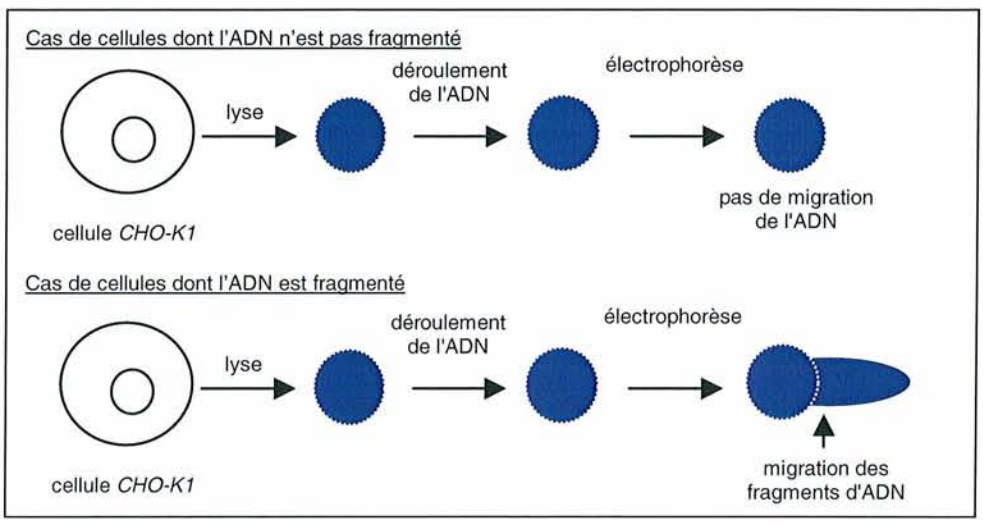
Le principe du test des comètes consiste tout d'abord à obtenir une suspension de cellules isolées qui vont être ensuite incluses dans une fine couche d'agarose sur une lame de microscope. Les cellules sont ensuite lysées dans un détergent qui a pour but d'éliminer les membranes, le contenu du cytoplasme et la majorité des protéines nucléaires. L'ADN superenroulé obtenu est désenroulé par un traitement alcalin. L'ADN est ensuite soumis à une électrophorèse qui permet la migration et la séparation des fragments d'ADN (chargés négativement) vers l'anode sous l'influence du courant appliqué. Le nucléoïde va constituer la tête de la structure dite en « comète » alors que les fragments d'ADN se retrouvent dans la queue. Lorsque l'ADN de la cellule est complètement fragmenté, que le noyau disparaît et que tout l'ADN se retrouve dans la queue de la comète, les cellules sont dites *HDC* (*Highly Damaged Cells*). Ce type de comètes peut représenter des cellules nécrosées ou en apoptose.
Après coloration de l'ADN et analyse des images par un logiciel ou examen visuel, les principaux paramètres mesurés sont :

- la longueur de la comète,
- le pourcentage d'ADN dans la queue de la comète (basé sur l'intensité de la fluorescence),
- le *tail moment* (ou *OTM*, *Olive Tail Moment*, Olive *et al.*, 1990) : c'est la longueur de la comète multipliée par le pourcentage d'ADN dans la queue. Il n'a pas d'unité.

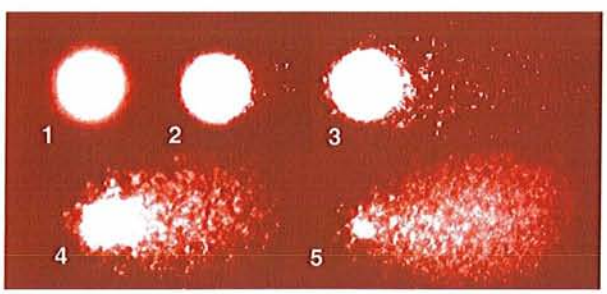
Les avantages de ce test sont nombreux : grande sensibilité (détection de bas niveaux de lésions de l'ADN) et reproductibilité (Singh *et al.*, 1994), utilisation facile et rapide. De plus, il ne nécessite qu'un faible nombre de cellules par échantillon. Sa grande sensibilité se révèle cependant être parfois un inconvénient car il peut donner des faux positifs.



Principe du test des comètes.



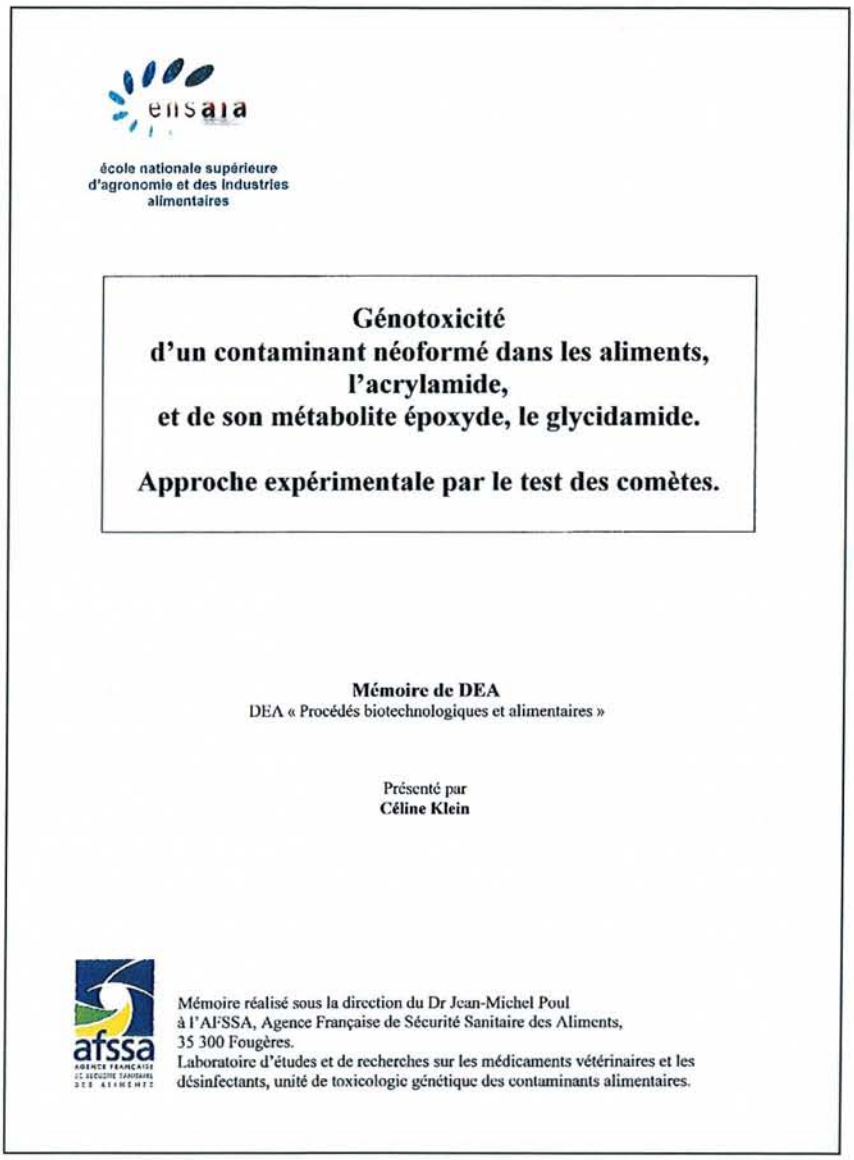
Protocole simplifié du test des comètes.



Aspect de l'ADN de cellules après le test des comètes (cellule 1 : cellules témoins n'ayant pas été traitées, cellules 2 à 4 : cellules peu endommagées à très endommagées, cellule 5 : cellule dite « *HDC* »).

Annexe 6 - Utilisation du test des comètes avec l'acrylamide et le glycidamide

Klein *et al.*, 2005 : travail réalisé lors d'un M2R effectué en 2005 dans le laboratoire de l'AFSSA de Fougères, 35 :



ensaia

école nationale supérieure
d'agronomie et des industries
alimentaires

Génotoxicité
d'un contaminant néoformé dans les aliments,
l'acrylamide,
et de son métabolite époxyde, le glycidamide.

Approche expérimentale par le test des comètes.

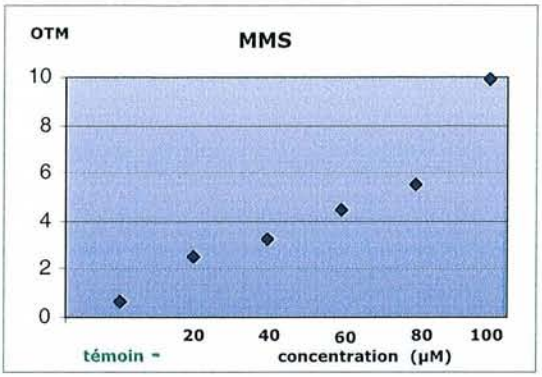
Mémoire de DEA
DEA « Procédés biotechnologiques et alimentaires »

Présenté par
Céline Klein

afssa

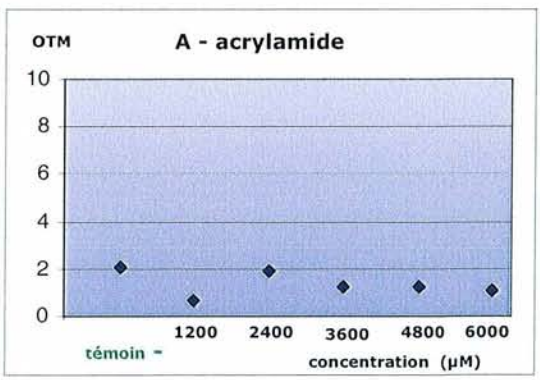
Mémoire réalisé sous la direction du Dr Jean-Michel Poul
à l'AFSSA, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments,
35 300 Fougères.
Laboratoire d'études et de recherches sur les médicaments vétérinaires et les désinfectants, unité de toxicologie génétique des contaminants alimentaires.

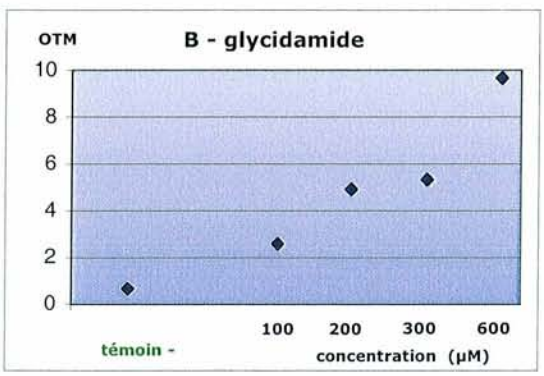
Le témoin positif, le méthylméthanesulfonate (MMS), testé à des concentrations allant de 0 à 100 µM sur des cellules *CHO-K1* (cellules d'ovaire de hamster chinois, *Chinese hamster ovary cells*), présente une réponse dose-dépendante. Les dommages sont supérieurs à ceux observés chez les témoins négatifs à partir de 20 µM (*OTM* à 3 environ) et atteint un *OTM* de 10 à la plus forte concentration.



Test des comètes sur cellules *CHO-K1* : traitement de 2 heures avec le MMS.

Les deux graphiques suivants présentent les valeurs d'*OTM* obtenues par le test des comètes, après traitement (2 heures) des cellules *CHO-K1* par l'acrylamide et le glycidamide. L'acrylamide à des concentrations variant de 1200 à 6000 µM (*figure A*) n'induit pas de lésions, puisque les valeurs d'*OTM* sont les mêmes que le témoin négatif. Pour le glycidamide, une première gamme de concentrations allant de 0 à 1200 µM a été testée (0, 240, 480, 720, 960 et 1200 µM). On constate une réponse concentration-dépendante. A partir de 720 µM, toutes les cellules apparaissent comme des *HDC*, alors que la fréquence de ces cellules très endommagées est inférieure à 10 % pour les concentrations inférieures (résultats non présentés). Le graphe de la *figure B* est issu d'une deuxième série de tests, avec une gamme de concentrations plus faible de glycidamide (de 0 à 600 µM). Les résultats obtenus sont en concordance avec ceux trouvés avec la gamme précédente. A la dose de 100 µM, on commence à observer un léger effet à savoir un *OTM* à 2,6, alors que le témoin est à 0,6 et, à la dose la plus forte (600 µM), on a une valeur d'*OTM* d'environ 10 (cellules *HDC*<5 %).





Test des comètes sur cellules *CHO-K1* : traitement de 2 heures avec l'acrylamide (*A*) et le glycidamide (*B*).

Annexe 7 - Classification du CIRC des substances cancérogènes

(http://www-cie.iarc.fr/monoeval/grlist.html)

Un cancérogène est un agent capable d'induire des cancers et donc d'en augmenter la fréquence dans les populations exposées. L'évaluation du potentiel cancérogène des produits chimiques pour l'homme est basée sur les résultats de différent types d'études, épidémiologiques et/ou expérimentales. Depuis 1969, le CIRC, organisme de l'OMS, développe un programme d'évaluation de la cancérogénicité pour l'homme de produits chimiques. Il met à jour régulièrement un classement des cancérogènes :

Groupe 1 : cancérogénicité avérée pour l'homme.
Groupe 2A : cancérogénicité probable.
Groupe 2B : cancérogénicité possible.
Groupe 3 : agents non classables.
Groupe 4 : agents probablement non cancérogènes.

Le CIRC publie ainsi plusieurs monographies par an sur des substances spécifiques.

Annexe 8 - Monographie élaborée par le CIRC de l'acrylamide

(http://www-cie.iarc.fr/htdocs/monographs/vol60/m60-11.htm)

ACRYLAMIDE

(Group 2A)

For definition of Groups, see Preamble Evaluation.
VOL.: 60 (1994) (p. 389)
CAS No.: 79-06-1
Chem. Abstr. Name: 2-Propenamide

5. Summary of Data Reported and Evaluation

5.1 Exposure data

Acrylamide has been produced since the 1950s by hydration of acrylonitrile. It is used mainly to produce water-soluble polyacrylamides used as flocculents for clarifying drinking-water, for treating municipal and industrial waste waters and as flow control agents in oil-well operations. Other major uses of acrylamide are in soil stabilization, in grout for repairing sewers and in acrylamide gels used in biotechnology laboratories. The major routes of exposure at the workplace appear to be dermal absorption of acrylamide monomer from solution and inhalation of dry monomer or aerosols of acrylamide solution. Exposure occurs during acrylamide and polyacrylamide manufacture, during acrylamide grouting and during laboratory preparation of polyacrylamide gels.

5.2 Human carcinogenicity data

Two cohort mortality studies were conducted among workers exposed to acrylamide. The first showed no significant excess of cancer but suffered from small size, short duration of exposure and short latency. In the other study, in one Dutch and three US plants, a nonsignificant increase was seen in deaths from pancreatic cancer, but there was no trend with increasing exposure.

5.3 Animal carcinogenicity data

Acrylamide was tested for carcinogenicity in one experiment in rats by oral administration. It increased the incidences of peritoneal mesotheliomas found in the region of the testis and of follicular adenomas of the thyroid in males and of thyroid follicular tumours, mammary tumours, glial tumours of the central nervous system, oral cavity papillomas, uterine adenocarcinomas and

clitoral gland adenomas in females. In screening bioassays, acrylamide, given either orally or intraperitoneally, increased both the incidence and multiplicity of lung tumours in strain A mice.
Acrylamide was also tested as an initiating agent for skin carcinogenesis after oral, intraperitoneal and topical administration to mice of one strain and after oral administration to mice of another strain, followed by topical treatment with 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate. It induced a dose-related increase in the incidence of squamous-cell papillomas and carcinomas of the skin in all four experiments.

5.4 Other relevant data

In occupational settings, acrylamide is taken up both through the skin and by inhalation. Damage to both the central and peripheral nervous systems has been reported on several occasions in exposed humans and has been thoroughly studied in animals.
Acrylamide is metabolized *in vitro* and *in vivo* in mice, rats and humans to the epoxide, glycidamide. Both substances are equally distributed throughout the tissues and have half-lives of about 5 h in rats; acrylamide itself has also been shown to be uniformly distributed between tissues in several other species. The conversion of acrylamide to glycidamide is saturable, ranging from 50% at very low doses to 13% at 100 mg/kg bw in treated rats. Both agents are detoxified by glutathione conjugation, and glycidamide is also detoxified by hydrolysis. Both agents react directly with haemoglobin in vivo, but DNA adducts result only from the formation of glycidamide.
The presence of haemoglobin adducts of acrylamide was correlated with neurotoxicity in a group of highly exposed workers.
Acrylamide was not teratogenic to rats or mice after oral treatment of dams with doses up to the toxic level. It causes testicular atrophy, with damage to spermatids and mature spermatozoa. Reduced sperm motility, impaired fertility and dominant lethal mutations at the spermatozoa stage have also been reported in mice and rats. A single study in rats provides evidence that the testicular damage is not secondary to neurotoxicity, since testicular damage but not neurotoxicity was induced by injection of the reactive epoxide, glycidamide.
The genotoxicity of acrylamide has been studied extensively. It induces gene mutation, structural chromosomal aberrations, sister chromatid exchange and mitotic disturbances in mammalian cells *in vitro* in the presence or absence of exogenous metabolic systems. It induces structural chromosomal aberrations *in vivo* in both somatic and germ-line cells. Chromosomal aberrations and micronuclei were induced in mouse bone marrow and in premeiotic and postmeiotic cells. Treatment with acrylamide *in vivo* also caused somatic mutation in the spot test, heritable translocation and specific locus mutations in mice and dominant lethal mutations in both mice and rats in several studies. Acrylamide induces unscheduled DNA synthesis in rat spermatocytes *in vivo* but apparently not in rat hepatocytes; glycidamide induced unscheduled DNA synthesis in rat

hepatocytes in one study *in vitro*. Acrylamide induces transformation in cultured mammalian cells. It does not induce mutation in bacteria, but glycidamide does in the absence of an exogenous metabolic system. Acrylamide induces sex-linked recessive lethal and somatic mutations in *Drosophila*.

5.5 Evaluation

There is *inadequate evidence* in humans for the carcinogenicity of acrylamide.

There is *sufficient evidence* in experimental animals for the carcinogenicity of acrylamide.

In making the overall evaluation, the Working Group took into consideration the following supporting evidence:

(i) Acrylamide and its metabolite glycidamide form covalent adducts with DNA in mice and rats.

(ii) Acrylamide and glycidamide form covalent adducts with haemoglobin in exposed humans and rats.

(iii) Acrylamide induces gene mutations and chromosomal aberrations in germ cells of mice and chromosomal aberrations in germ cells of rats and forms covalent adducts with protamines in germ cells of mice *in vivo*.

(iv) Acrylamide induces chromosomal aberrations in somatic cells of rodents *in vivo*.

(v) Acrylamide induces gene mutations and chromosomal aberrations in cultured cells *in vitro*.

(vi) Acrylamide induces cell transformation in mouse cell lines.

Overall evaluation

Acrylamide is *probably carcinogenic to humans (Group 2A)*.

For definition of the italicized terms, see Preamble Evaluation.

Previous evaluation: Suppl. 7 (1987) (p. 56)

Synonyms

Acrylic acid amide

Acrylic amide

Ethylenecarboxamide

Propenamide

Propenoic acid amide

Vinyl amide

Last updated 08/26/1997

Annexe 9 - Liste élaborée par le CIRC des substances cancérogènes

(http://www-cie.iarc.fr)

Overall Evaluations of Carcinogenicity to Humans

As evaluated in *IARC Monographs* Volumes 1-88 (a total of 900 agents, mixtures and exposures)

This list contains all hazards evaluated to date, according to the type of hazard posed and to the type of exposure. Where appropriate, chemical abstract numbers are given [in square brackets]. For details of the evaluation, the relevant Monograph should be consulted (volume number given in round brackets, followed by year of publication of latest evaluation). Use a free-text search to find a particular compound.

Group 1 : Carcinogenic to humans (95)

Aflatoxins (naturally occurring mixtures of) [1402-68-2] (Vol. 56, Vol. 82; 2002)

4-Aminobiphenyl [92-67-1] (Vol. 1, Suppl. 7; 1987)

Arsenic [7440-38-2] and arsenic compounds (Vol. 23, Suppl. 7;1987)

(NB: This evaluation applies to the group of compounds as a whole and not necessarily to all individual compounds within the group)

Asbestos [1332-21-4] (Vol. 14, Suppl. 7; 1987)

Benzene [71-43-2] (Vol. 29, Suppl. 7; 1987)

Benzidine [92-87-5] (Vol. 29, Suppl. 7; 1987)

Beryllium [7440-41-7] and beryllium compounds (Vol. 58; 1993)

(NB: Evaluated as a group)

N,*N*-Bis(2-chloroethyl)-2-naphthylamine (Chlornaphazine) [494-03-1] (Vol. 4, Suppl. 7; 1987)

Bis(chloromethyl)ether [542-88-1] and chloromethyl methyl ether [107-30-2] (technical-grade)

(Vol. 4, Suppl. 7; 1987)

1,4-Butanediol dimethanesulfonate (Busulphan; Myleran) [55-98-1] (Vol. 4, Suppl. 7; 1987)

Cadmium [7440-43-9] and cadmium compounds (Vol. 58; 1993)

(NB: Evaluated as a group)

Chlorambucil [305-03-3] (Vol. 26, Suppl. 7; 1987)

1-(2-Chloroethyl)-3-(4-methylcyclohexyl)-1-nitrosourea (Methyl-CCNU; Semustine) [13909-09-6] (Suppl. 7; 1987)

Ciclosporin [79217-60-0] (Vol. 50; 1990)

Cyclophosphamide [50-18-0] [6055-19-2] (Vol. 26, Suppl. 7; 1987)

Diethylstilboestrol [56-53-1] (Vol. 21, Suppl. 7; 1987)

Epstein-Barr virus (Vol. 70; 1997)

Ethylene oxide [75-21-8] (Vol. 60; 1994)

(NB: Overall evaluation upgraded from 2A to 1 with supporting evidence from other data relevant to the evaluation of carcinogenicity and its mechanisms)

Formaldehyde [50-00-0] (Vol. 88; in preparation)

Helicobacter pylori (infection with) (Vol. 61; 1994)

Hepatitis B virus (chronic infection with) (Vol. 59; 1994)

Hepatitis C virus (chronic infection with) (Vol. 59; 1994)

Herbal remedies containing plant species of the genus *Aristolochia* (Vol. 82; 2002)

Human immunodeficiency virus type 1 (infection with) (Vol. 67;1996)

Human papillomavirus type 18 (Vol. 64; 1995)

Human T-cell lymphotropic virus type I (Vol. 67; 1996)

Mustard gas (Sulfur mustard) [505-60-2] (Vol. 9, Suppl. 7; 1987)

Nickel compounds (Vol. 49; 1990)

(NB: Evaluated as a group)

Oestrogen therapy, postmenopausal (Vol. 72; 1999)

Oestrogens, nonsteroidal (Suppl. 7; 1987)

(NB: This evaluation applies to the group of compounds as a whole and not necessarily to all individual compounds within the group)

Oestrogens, steroidal (Suppl. 7; 1987)

(NB: This evaluation applies to the group of compounds as a whole and not necessarily to all individual compounds within the group)

Oral contraceptives, combined (Vol. 72; 1999)

(NB: There is also conclusive evidence that these agents have a protective effect against cancers of the ovary and endometrium)

Oral contraceptives, sequential (Suppl. 7; 1987)

Radionuclides, β-particle-emitting, internally deposited (Vol. 78; 2001)

(NB: Specific radionuclides for which there is *sufficient* evidence for carcinogenicity to humans are also listed individually as Group 1 agents)

Radium-224 and its decay products (Vol. 78; 2001)

Solar radiation (Vol. 55; 1992)

Tamoxifen [10540-29-1] (Vol. 66; 1996)

(NB: There is also conclusive evidence that this agent (tamoxifen) reduces the risk of contralateral breast cancer)

Vinyl chloride [75-01-4] (Vol. 19, Suppl. 7; 1987)

X- and Gamma (γ)-Radiation (Vol. 75; 2000)

Group 2A : Probably carcinogenic to humans (66)

Acrylamide [79-06-1] (Vol. 60; 1994)

(NB: Overall evaluation upgraded from 2B to 2A with supporting evidence from other data relevant to the evaluation of carcinogenicity and its mechanisms)

Androgenic (anabolic) steroids (Suppl. 7; 1987)

Benz[*a*]anthracene [56-55-3] (Vol. 32, Suppl. 7; 1987)

(NB: Overall evaluation upgraded from 2B to 2A with supporting evidence from other data relevant to the evaluation of carcinogenicity and its mechanisms)

Benzo[*a*]pyrene [50-32-8] (Vol. 32, Suppl. 7; 1987)

(NB: Overall evaluation upgraded from 2B to 2A with supporting evidence from other data relevant to the evaluation of carcinogenicity and its mechanisms)

Chloramphenicol [56-75-7] (Vol. 50; 1990)

(NB: Overall evaluation upgraded from 2B to 2A with supporting evidence from other data relevant to the evaluation of carcinogenicity and its mechanisms)

α-Chlorinated toluenes (benzal chloride [98-87-3], benzotrichloride [98-07-7], benzyl chloride [100-44-7]) and benzoyl chloride [98-88-4] (combined exposures) (Vol. 29, Suppl. 7, Vol. 71; 1999)

Cisplatin [15663-27-1] (Vol. 26, Suppl. 7; 1987)

(NB: Overall evaluation upgraded from 2B to 2A with supporting evidence from other data relevant to the evaluation of carcinogenicity and its mechanisms)

Clonorchis sinensis (infection with) (Vol. 61; 1994)

(NB: Overall evaluation upgraded from 2B to 2A with supporting evidence from other data relevant to the evaluation of carcinogenicity and its mechanisms)

Dibenz[*a,h*]anthracene [53-70-3] (Vol. 32, Suppl. 7; 1987)

(NB: Overall evaluation upgraded from 2B to 2A with supporting evidence from other data relevant to the evaluation of carcinogenicity and its mechanisms)

Kaposi's sarcoma herpesvirus/human herpesvirus 8 (Vol. 70; 1997)

5-Methoxypsoralen [484-20-8] (Vol. 40, Suppl. 7; 1987)

(NB: Overall evaluation upgraded from 2B to 2A with supporting evidence from other data relevant to the evaluation of carcinogenicity and its mechanisms)

Methyl methanesulfonate [66-27-3] (Vol. 7, Suppl. 7, Vol. 71; 1999)

(NB: Overall evaluation upgraded from 2B to 2A with supporting evidence from other data relevant to the evaluation of carcinogenicity and its mechanisms)

N-Methyl-*N*-nitrosourea [684-93-5] (Vol. 17, Suppl.7; 1987)

(NB: Overall evaluation upgraded from 2B to 2A with supporting evidence from other data relevant to the evaluation of carcinogenicity and its mechanisms)

Nitrogen mustard [51-75-2] (Vol. 9, Suppl. 7; 1987)

Phenacetin [62-44-2] (Vol. 24, Suppl. 7; 1987)

Trichloroethylene [79-01-6] (Vol. 63; 1995)

Ultraviolet radiation A (Vol. 55; 1992)

(NB: Overall evaluation upgraded from 2B to 2A with supporting evidence from other data relevant to the evaluation of carcinogenicity and its mechanisms)

Ultraviolet radiation B (Vol. 55; 1992)

(NB: Overall evaluation upgraded from 2B to 2A with supporting evidence from other data relevant to the evaluation of carcinogenicity and its mechanisms)

Ultraviolet radiation C (Vol. 55; 1992)

(NB: Overall evaluation upgraded from 2B to 2A with supporting evidence from other data relevant to the evaluation of carcinogenicity and its mechanisms)

Vinyl bromide [593-60-2] (Vol. 39, Suppl. 7, Vol. 71; 1999)

(NB: Overall evaluation upgraded from 2B to 2A with supporting evidence from other data relevant to the evaluation of carcinogenicity and its mechanisms)

Vinyl fluoride [75-02-5] (Vol. 63; 1995)

Group 2B : Possibly carcinogenic to humans (241)

Agents and groups of agents

Acetaldehyde [75-07-0] (Vol. 36, Suppl. 7, Vol. 71; 1999)

Acetamide [60-35-5] (Vol. 7, Suppl. 7, Vol. 71; 1999)

Acrylonitrile [107-13-1] (Vol. 71; 1999)

Aflatoxin M1 [6795-23-9] (Vol. 56; 1993)

para-Aminoazobenzene [60-09-3] (Vol. 8, Suppl. 7; 1987)

ortho-Aminoazotoluene [97-56-3] (Vol. 8, Suppl. 7; 1987)

Chloroform [67-66-3] (Vol. 73; 1999)

Cobalt sulfate [10026-24-1] and other soluble cobalt(II) salts (Vol. 86; in preparation)

Griseofulvin [126-07-8] (Vol. 79; 2001)

Human immunodeficiency virus type 2 (infection with) (Vol. 67;1996)

Human papillomaviruses: some types other than 16, 18, 31 and 33 (Vol. 64; 1995)

Nickel, metallic [7440-02-0] and alloys (Vol. 49; 1990)

Oestrogen-progestogen therapy, postmenopausal (Vol. 72; 1999)

Phenobarbital [50-06-6] (Vol. 79; 2001)

Phenolphthalein [77-09-8] (Vol. 76; 2000)

Progestins (Suppl. 7; 1987)

Progestogen-only contraceptives (Vol. 72; 1999)

Schistosoma japonicum (infection with) (Vol. 61; 1994)

Vinyl acetate [108-05-4] (Vol. 63; 1995)

Group 3 : Not classifiable as to carcinogenicity to humans (497)

Caffeine [58-08-2] (Vol. 51; 1991)

Diazepam [439-14-5] (Vol. 66; 1996)

Electric fields (extremely low-frequency) (Vol. 80; 2002)

Eosin [15086-94-9] (Vol. 15, Suppl. 7; 1987)

Ethylene [74-85-1] (Vol. 60; 1994)

Hepatitis D virus (Vol. 59; 1994)

Magnetic fields (static) (Vol. 80; 2002)

Mercury [7439-97-6] and inorganic mercury compounds (Vol. 58;1993)

Oestradiol mustard [22966-79-6] (Vol. 9, Suppl. 7; 1987)

Opisthorchis felineus (infection with) (Vol. 61; 1994)

Paracetamol (Acetaminophen) [103-90-2] (Vol. 73; 1999)

Penicillic acid [90-65-3] (Vol. 10, Suppl. 7; 1987)

Phenol [108-95-2] (Vol. 47, Vol. 71; 1999)

Prednisone [53-03-2] (Vol. 26, Suppl. 7; 1987)

Resorcinol [108-46-3] (Vol. 15, Suppl. 7, Vol. 71, 1999)

Saccharin [81-07-2] and its salts (Vol. 73; 1999)

(NB: Overall evaluation downgraded from 2B to 3 with supporting evidence from other data relevant to carcinogenicity and its mechanisms)

Sulfites (Vol. 54; 1992)

Talc [14807-96-6], not containing asbestiform fibres (Vol. 42,Suppl. 7; 1987)

Vitamin K [12001-79-5] substances (Vol. 76; 2000)

Group 4 : Probably not carcinogenic to humans (1)

Caprolactam [105-60-2] (Vol. 39, Suppl. 7, Vol. 71; 1999)

Last updated: 22 July 2004

Annexe 10 - Substances cancérogènes en milieu professionnel de catégorie 2

(INRS, 2000)

(catégorie 2 : substances devant être assimilées à des substances cancérogènes pour l'homme. On dispose de suffisamment d'éléments pour justifier une forte présomption que l'exposition de l'homme à de telles substances peut provoquer un cancer. Cette présomption est généralement fondée sur des études appropriées à long terme sur l'animal et d'autres informations appropriées.)

Substance	Travailleurs exposés en France (1)	Type de cancer
acétate de méthylazoxyméthyle		
acrylamide	13 403	
acrylonitrile	5 925	leucémies
amines aromatiques		
4-aminoazobenzène		
4-amino-3-fluorophénol		
ammonium (dichromate d')		
benzo[a]anthracène		
benzo[a]pyrène		
benzo[b]fluoranthène		
béryllium	11 620	poumons
4,4'-bi-o-toluidine		
bromoéthylène		
1,3-butadiène	9 584	hémato
cadmium (sels de)	22 034	
captafol		
cabadox		
4-chloroaniline		
1-chloro-2,3-époxypropane		
chlorure de diméthylcarbamoyle		
chlorure de diméthylsulfamoyle		
4,4'-diaminodiphénylméthane		vessie
diazométhane		
dibenzo[a,h]anthracène		
1,2-dibromo-3-chloropropane		
1,2-dibromoéthane	9 561	
3,3-dichlorobenzidine		
1,4-dichlorobut-2-ène		
1,2-dichloroéthane		
2,2-dichloro-4,4'-méthylènedianiline		
1,3-dichloro-2-propanol		
dichlorure de chromyle		
3,3'-diméthoxybenzidine		vessie
3,3'-diméthylbenzidine		vessie
1,2-diméthylhydrazine		
N,N-diméthylhydrazine		
diméthylnitrosamine		
éthylèneimine		
fibres céramiques réfractaires	17 478	
hexachlorobenzène		
houille (brais de)		peau, poumons, vessie
houilles (goudrons de)		peau, poumons, vessie
houilles (huiles de)		peau, poumons, vessie
hydrazine		
hydrazobenzène		
hydrocarbures aromatiques polycycliques (sauf fumée de tabac)	117 202	
2-méthoxyaniline		
2-méthylaziridine		
4,4'-méthylènedi-o-toluidine		
5-nitroacénaphtène		
2-nitroanisole		
4-nitrobiphényle		
nitrophène		
2-nitronaphtalène		
2-nitropropane		
nitrosodipropylamine		
2,2'-(nitrosoimino)bisléthanol		
o-toluidine		vessie
oxyde d'éthylène	13 320	leucémies
oxyde de propylène		
oxyde de 7,8-styrène	1 961	
pétrole (dérivés du)		peau
polybiphényles chlorés (PCB) (2)	5 311	
potassium (bromate, chromate et dichromate)		
1,3-propanesultone		
3-propanolide		
safrole		
sodium (dichromate de)		
strontium (chromate de)		
Styrène (3)	50 058	
suies		peau, poumons, vessie
sulfallate		
sulfate de diéthyle	1 248	
sulfate de diméthyle	2 932	poumons
sulfate de toluène-2,4-diammonium		
thioacétamide		
α, α, α-trichlorotoluène		
triamide hexaméthylphosphorique		
uréthane		

(1) Vincent R., Kauppinen T., Toikkanen J., Pedersen D., Kogevinas M. - CAREX. Système international d'information sur l'exposition professionnelle aux agents cancérogènes en Europe. Résultats des estimations pour la France pendant les années 1990-1993. Cahiers de notes documentaires - Hygiène et sécurité du travail. *1999, 176, pp. 49-58.*

Annexe 11 - Liens internet vers les sites des autorités réglementaires traitants de l'acrylamide

(Stadler *et al.*, 2004b)

Source	Link
L'Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA, Belgium)	http://www.favv-afsca.fgov.be/portal/page?_pageid=34,51101&_dad=portal&_schema=PORTAL
Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA, France)	http://www.afssa.fr
Center for Food Safety and Applied Nutrition (FDA/ CFSAN, US)	http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/pestadd.html#acrylamide
European Commission DG Health and Consumer Protection	http://europa.eu.int/comm/food/chemical safety/contaminants/acryl_database_en.htm
European Commission Joint Research Center (JRC)	http://www.irmm.jrc.be/
European Union 6th Framework Project: Heat-generated Food Toxicants: Identification, Characterization and Risk Minimization (HEATOX, Sweden)	http://www.slv.se/templatesHeatox/Heatox_default_8424.asp
Federal Institute for Risk Assessment (BfR, Germany)	http://www.bfr.bund.de/cd/1621
Federal Office of Consumer Protection and Food Safety (BVL, Germany)	http://www.bvl.bund.de/acrylamid/
Food Standards Agency (FSA, UK)	http://www.food.gov.uk/safereating/foodadvice/acrylamide_branch/
Food Standards Australia New Zealand (FSANZ)	http://www.foodstandards.gov.au/mediareleasespublications/factsheets/factsheets2003/acrylamideandfoodupd1901.cfm
Health Canada	http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/cs-ipc/chha-edpcs/e_acrylamide_and_food.html
Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition, Acrylamide in Food Network (FAO/WHO JIFSAN, US)	http://www.acrylamide-food.org/
The National Food Administration (SNFA, Sweden)	http://www.slv.se/templatesSLV/SLV_DocumentList_4089.asp
National Food Research Institute (NFRI, Japan)	http://aa.iacfc.affrc.go.jp/en/
Official Food Control Authority of the Canton of Zurich (KLZ, Switzerland)	http://www.klzh.ch/aktuelles/detail.cfm?id=6&archiv=set
Swiss Federal Office of Public Health (BAG)	http://www.bag.admin.ch/verbrau/lebensmi/Acrylamid/d/index.htm





FACULTÉ DE PHARMACIE UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ – NANCY 1

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 17 décembre 2007

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE Présenté par **Céline KLEIN** Sujet : **L'acrylamide, contaminant alimentaire cancérogène méconnu ?** Jury : Président : M. Bertrand RIHN, Professeur Juges : M. Luc MEJEAN, Professeur M. Luc FERRARI, Maître de Conférences	Vu, Nancy, le 21-11-07 Le Président du Jury et le Directeur de Thèse, Professeur B. RIHN Nancy - Université **M. Bertrand RIHN**, Professeur
Vu et approuvé, Nancy, le 21 novembre 2007 Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1, UNIVERSITE HENRI POINCARE NANCY 1 FACULTE de PHARMACIE M^me^ Chantal FINANCE	Vu, Nancy, le 27.11.07 Le Président de l'Université Henri Poincaré - Nancy 1, UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ NANCY LE PRÉSIDENT M. Jean-Pierre FINANCE N° d'enregistrement:

N° d'identification : 90

TITRE :

L'acrylamide, contaminant alimentaire cancérogène méconnu ?

Thèse soutenue le 17 décembre 2007,
Par Céline KLEIN.

RESUMÉ :

La découverte récente en 2002 de la présence d'acrylamide, un cancérogène probable pour l'homme, dans des aliments à base de pommes de terre a alerté la communauté internationale. Ce composé induit des cancers dans de nombreux sites chez les rongeurs. Aujourd'hui, aucun élément n'a pu indiquer une différence de sensibilité au cancer entre les animaux de laboratoire et l'homme. Les études épidémiologiques disponibles ont mis seulement en évidence une neurotoxicité de ce composé sur l'homme, mais l'étude de la toxicité sur la reproduction et le développement, de la génotoxicité et de la cancérogénicité chez les animaux montre qu'il existe un risque pour la santé humaine dû à l'acrylamide. Les études disponibles sur la cancérogénicité de l'acrylamide notamment sont encore trop peu nombreuses et nécessitent d'être poursuivies. En l'absence de réelles certitudes, les efforts pour réduire les quantités d'acrylamide dans les aliments par les industriels ou les particuliers doivent se poursuivre. Les autorités nationales et internationales doivent émettre des recommandations dans ce but.

The recent discovery of acrylamide in 2002, probably carcinogenic to humans, in a variety of fried and starch-based food products has raised concern worldwide. Acrylamide is clearly carcinogenic in studies in animals, in which it causes increased tumour incidence at a variety of sites. At this time, there is no information to indicate any significant difference between rodents and humans in sensitivity to cancer formation from acrylamide. Neurotoxicity appears to be the only documented effect of acrylamide in human epidemiological studies; reproductive toxicity, genotoxicity and carcinogenicity are potential human health risks on the basis of only animal studies. More data on cancer epidemiology in populations of known high exposure are required. It is recommended to make efforts to decrease the acrylamide content of the diet. More guidance on this by national and international authorities is warranted.

MOTS CLÉS : acrylamide, glycidamide, génotoxicité, cancérogénicité, gestion du risque.

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Professeur Bertrand RIHN	EA 3452, Nancy-Université, Mise en forme et évaluation de matériaux d'intérêt thérapeutique et biologique	Bibliographique Thème : 4

THÈMES : 1 - Sciences fondamentales
2 - Hygiène - Environnement
3 - Médicament
4 - Alimentation - Nutrition
5 - Biologie
6 - Pratique professionnelle