

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 3 janvier 2013

AVIS **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,** **de l'environnement et du travail**

relatif à la demande d'autorisation d'emploi de l'isododécane pour la fabrication de matériaux organiques entrant au contact d'eau destinée à la consommation humaine

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) a été saisie le 8 juin 2012 par la Direction générale de la santé (DGS) pour la réalisation de l'expertise suivante : demande d'autorisation d'emploi de l'isododécane pour la fabrication de matériaux organiques entrant au contact d'eau destinée à la consommation humaine (EDCH).

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

La mise sur le marché des matériaux et objets destinés à entrer en contact avec de l'EDCH d'une part, et leur utilisation dans les installations de production, de distribution et de conditionnement d'eau d'autre part, sont soumises aux dispositions réglementaires des articles R. 1321-48 et 49 du code de la santé publique (CSP).

L'arrêté du 29 mai 1997 modifié précise les conditions auxquelles doivent répondre les matériaux et objets utilisés dans les installations fixes de production, de traitement et de distribution d'EDCH. Il indique notamment que les matériaux organiques peuvent être utilisés au contact d'EDCH sous réserve qu'ils soient fabriqués à partir des constituants chimiques autorisés au titre de la réglementation relative aux matériaux et objets pouvant être placés au contact des denrées alimentaires ainsi que ceux listés en annexe III de l'arrêté.

Le chapitre C du guide pratique de la Direction générale de la santé (DGS) de mars 1999 pour la constitution des dossiers relatifs à la conformité sanitaire des matériaux placés en

contact avec les EDCH précise les éléments constitutifs du dossier de demande d'ajout d'une nouvelle substance à l'une des listes positives annexées à l'arrêté du 29 mai 1997 modifié.

Le rapport de décembre 2011 « *Positive Lists for Organic Materials* » du groupe de 4 États membres de l'Union européenne dit « 4MS », précise les informations nécessaires et décrit la procédure d'évaluation pour l'ajout d'une nouvelle substance autorisée dans la liste positive commune. La procédure est basée sur la « *Note for Guidance for Food Contact Materials* » de l'EFSA (European Food Safety Authority) (EFSA, 2008).

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par le groupe de travail (GT) « Évaluation de l'innocuité sanitaire des matériaux et objets utilisés dans les installations fixes de production, de traitement et de distribution d'EDCH (MCDE) », sur la base d'un rapport sur le dossier technique du pétitionnaire, préparé par un expert de ce même GT et un expert du CES « Évaluation des risques chimiques dans les aliments (ERCA) » pour la partie toxicologique du dossier.

L'analyse conduite et les conclusions des travaux du GT « MCDE » ont été présentées au GT « Évaluation des substances et procédés soumis à autorisation en alimentation humaine (ESPA) » et adoptées par le CES « Eaux » le 4 décembre 2012.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES « EAUX »

Le dossier technique du pétitionnaire comprend toutes les informations nécessaires à l'évaluation (cf. le paragraphe 2.4 de l'approche commune du groupe des 4MS, la « *Note for guidance* » de l'EFSA et le chapitre C du guide pratique de la DGS de mars 1999).

3.1. Analyse des documents reçus

3.1.1. Identité

L'isododécane correspond à un ensemble d'hydrocarbures saturés linéaires et/ou ramifiés composés exclusivement d'hydrogène et de carbone (formule générale $C_{12}H_{26}$). En théorie, il existe 355 isomères de l'isododécane.

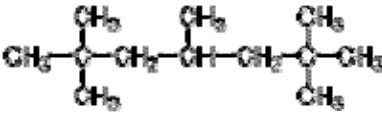
Lorsqu'il est obtenu par voie de synthèse, par réaction d'oligomérisation à 120°C sur résine acide d'isobutylène suivi d'une hydrogénation catalytique, et non par distillation fractionnée du pétrole, il est très fortement ramifié ce qui lui confère une plus grande inertie chimique.

Le tableau I résume les principales données relatives à l'identité de la substance lorsqu'elle est obtenue par synthèse. Les isomères principaux sont :

- 83 % de 2,2',4,6,6'-pentaméthylheptane (N° CAS : 13475-82-6),
- 7 % de 2,2',4,5,6-pentaméthylheptane (N° CAS : 62199-64-8),
- 3 % de 2,2',4,4',6-pentaméthylheptane (N° CAS : 62199-62-6),
- 0,6 % de 2,2',3,6,6'-pentaméthylheptane (N° CAS : 62198-88-3).

Dans la Fiche de données de sécurité (FDS) jointe au dossier et dans le rapport de sécurité chimique transmis à l'European chemicals agency (ECHA) dans le cadre du règlement Reach, la substance est identifiée comme « hydrocarbures en C4, exempts de 1,3-butadiène, polymérisés, fraction triisobutylène hydrogénée » (N° CAS : 93685-81-5). Elle est qualifiée d'« UVCB », substances de composition inconnue ou variable, produits de réactions complexes ou matériels biologiques.

Tableau I : principales données relatives à l'identité de la substance

| | |
|--|---|
| Dénomination | Isododécane ou hydrocarbures en C4, exempts de butadiène-1-3, polymérisés, fraction triisobutylène hydrogénée |
| Numéro CAS | 93685-81-5 |
| Formule brute | C ₁₂ H ₂₆ |
| Formule semi-développée du 2,2',4,6,6'-pentaméthylheptane |  |
| Masse moléculaire | 170 g/mole |
| Pureté obtenue par oligomérisation à 120°C sur résine acide de l'isobutylène conduisant à la formation de triisobutylène (TIB) suivi d'une hydrogénation catalytique | <p style="text-align: center;">99,5 % d'isomères en C₁₂ 83 % de 2,2',4,6,6'-pentaméthylheptane (CAS : 13475-82-6)</p> <p style="text-align: center;">Ne contient pas de sulfure (< 1 ppm), de carbonyle (< 5 ppm) de molécule aromatique (< 1 ppm) et de molécule naphténiq</p> |

3.1.2. Propriétés physiques et chimiques

Les propriétés physico-chimiques de l'isododécane sont présentées dans le tableau II.

Tableau II : principales propriétés physico-chimiques

| | |
|---|----------------------------------|
| Point de fusion | - 81°C |
| Point d'ébullition | 176-192°C |
| Point éclair | 45°C |
| Coefficient de partage n-octanol/eau (Log K _{ow}) | 6,32 |
| Densité | 0,75 (20°C) |
| Densité de vapeur | 5,9 (Air :1) |
| Pression de vapeur | 1,1 hPa (20°C) 3,4 hPa (50°C) |
| Tension de surface | 22,6 mN/m (20°C) |
| Viscosité | 1,30 mPa.s (20°C) |

3.1.3. Applications prévues

L'isododécane est utilisé en tant qu'agent flegmatisant des peroxydes organiques utilisés en polymérisation radicalaire pour la fabrication de nombreux polymères tels que le polychlorure de vinyle (PVC), les polyéthylènes (PE) basse densité, les copolymères éthylène-acétate de vinyle, les copolymères éthylène-acrylate, les terpolymères éthylène-acrylate-anhydride maléique, certains polymères acryliques utilisés comme additifs chocs des PVC, les caoutchoucs et les élastomères. L'isododécane est également utilisé comme agent de transfert ou de rinçage des peroxydes organiques lors de polymérisation en réacteurs.

L'isododécane s'utilise habituellement à moins de 0,1 % en masse dans les matériaux.

3.1.4. Autorisations d'usage

L'isododécane est autorisé en Allemagne avec une concentration maximale tolérable au robinet (CMT_{robinet}) de 250 µg/L (<http://kse.zadi.de/kse/faces/DBEmpfehlung.jsp>) :

- BfR¹ II « *Plasticizer-free Polyvinyl Chloride, Plasticizer-free Copolymers of Vinyl Chloride and Mixtures of these Polymers with other Copolymers and Chlorinated Polyolefins Containing Mainly Vinyl Chloride in the Total Mixture (As of 01.01.2012)* ». Paragraphe 2a : « *For the catalysts mentioned below isododecane may be added as desensitising agent. The transfer from the final product may not exceed 5 mg isododecane/kg foodstuff* ».
- BfR III « *Polyethylene (As of 01.03.2011)* ». Paragraphe 2b : « *tert-Amyl perneodecanoate with isododecane as desensitizing agent. The maximum amount of tert-amyl perneodecanoate is 560 mg/kg of polymer and of isododecane 190 mg/kg of polymer* ».
- BfR V « *Polystyrene Produced Exclusively from the Polymerisation of Styrene (As of 01.01.2010)* ». Paragraphe 2a : « *O,O-tert-Butyl-O-isopropylmonoperoxy carbonate, max. 0.05 %, 50 % isododecane can be added as a desensitizing agent* ».
- BfR VI « *Styrene Copolymers and Graft Polymers, and Mixtures of Polystyrene with other Polymers (As of 01.01.2010)* ». Paragraphe 2a : « *O,O-tert-Butyl-O-isopropylmonoperoxy carbonate, max. 0.05 %; 50 % isododecane may be added as a desensitizing agent* ».
- BfR XXXV « *Copolymers of Ethylene, Propylene, Butylene, Vinyl Esters and Unsaturated Aliphatic Acids, and their Salts and Esters (As of 01.01.2010)* ». Paragraphe 2a : « *tert-Amylperpivalate, max. 0.014 %, in mixture with isododecane, max. 0.005 % and tert-Amylperneodecanoate, max. 0.02 %, in mixture with isododecane, max. 0.007 %* ».
- Lettre du BfR « *following listed catalysts can be used in mixtures with Isododecane as a desensitizing agent, as long as the specific migration limit of 5 mg Isododecane/kg food is not exceeded* ».

Des solvants hydrocarbonés sont autorisés pour la fabrication de MCDE :

- aux Pays-Bas : hydrocarbures en C₁₀-C₁₄ avec une teneur en aromatiques ≤ 1% (*Dutch warenwet Hoofdstuk I, 22-11-2006, p. 88, "Koolwaterstoffen, C10-C14, aromaatgehalte ≤ 1%*)
- aux États-Unis : la substance (*Isoparaffinic petroleum hydrocarbons, synthetic*) est conforme au chapitre 178.3530 de la réglementation FDA 21 CFR (www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/CFRSearch.cfm).

La DGS a jugé non recevable la référence à la résolution du Conseil de l'Europe AP(92)2 sur les aides à la polymérisation pour autoriser l'isododécane en tant qu'agent flegmatisant².

¹ Bundesinstitut für Risikobewertung.

² Courrier du 17 juillet 2012 à l'attention des laboratoires habilités. Matériaux organiques entrant au contact d'eau destinée à la consommation humaine – Dérogation à la réglementation applicable pour l'emploi de l'isododécane dans les formulations des matériaux plastiques entrant en contact avec l'eau.

3.1.5. Données sur la migration

Des essais de migration ont été réalisés par un laboratoire habilité (Arrêté du 18 août 2009 relatif aux conditions d'habilitation des laboratoires en application de l'article R*. 1321-52 du CSP) selon la norme XP P41-250-2 avec dosage dans l'eau de l'isododécane par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM). Après 24 h de contact, pour un rapport Surface/Volume (S/V) de 240 cm²/L, la migration est inférieure à la limite de détection (LD) de la méthode (0,2 µg/L) pour les 3 échantillons de PVC testés. Ainsi, au regard du niveau d'exposition (migration inférieure à 2,5 µg/L), seules des études de génotoxicité sont obligatoires pour son évaluation.

Toutefois, ces derniers n'ont pas été réalisés selon la norme NF EN 12873-2 retenue pour inscrire une nouvelle substance dans la liste positive commune aux « 4MS ».

3.1.6. Données sur la teneur résiduelle dans le matériau au contact avec l'eau

La teneur résiduelle en isododécane dans 2 échantillons de PVC a été déterminée par CG-SM après extraction au méthanol par chauffage de 15 min à 130°C sur les matériaux broyés. Les concentrations sont inférieures à la LD de la méthode (400 µg/L).

3.1.7. Données toxicologiques

Génotoxicité

- Mutation génique chez les bactéries (Test d'Ames) (Étude datant de 1990 et ne donnant pas d'information sur la pureté de l'isododécane)

L'étude menée selon la ligne directrice de l'OCDE 471, tend à indiquer une absence de potentiel mutagène de l'isododécane sur le système bactérien utilisé pour le test d'Ames. Néanmoins, des limites importantes existent, en particulier l'absence d'utilisation d'une souche de *Salmonella typhimurium* spécifique (par exemple la souche TA102) pour mettre en évidence certains événements génétiques. Ainsi, ces résultats sont à prendre avec précaution.

- Essai *in vitro* de mutation génique de cellules de mammifères (Étude datant de 1996 et la pureté de l'isododécane est d'au moins 98 % d'isoparaffine en C₁₂ avec un maximum de 2 % d'isoparaffine en C₈-C₁₆)

Le test de mutation génique au locus hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transférase (HGPR) sur cellules de poumon de Hamster chinois (cellules V79), selon la ligne directrice 476 de l'OCDE, en présence et en absence d'activation métabolique, tend à indiquer une absence de potentiel mutagène de l'isododécane sur ce système cellulaire. Cependant, en l'absence d'essai utilisant des temps longs de traitement sans activation métabolique, ces résultats sont à prendre avec précaution.

- Essai *in vitro* d'aberration chromosomique sur des cellules de mammifères (Étude datant de 1996 et la pureté de l'isododécane est d'au moins 98 % d'isoparaffine en C₁₂ avec un maximum de 2 % d'isoparaffine en C₈-C₁₆)

Malgré les déviations aux bonnes pratiques de laboratoire (BPL), le test d'aberration chromosomique *in vitro* sur cellules de poumon de Hamster chinois (cellules V79) est conforme à la majeure partie des recommandations de la ligne directrice 473 de l'OCDE. Aucune augmentation du nombre d'aberration structurale de type chromatidien et chromosomique, statistiquement significative et reproductible n'a été notée. Cependant, des aberrations chromatidiennes de type « échanges » ont été détectées au cours du 2^e essai en présence d'activation métabolique. Ces effets clastogènes qui correspondent à un double événement génétique (cassure et réarrangement) doivent être considérés comme biologiquement significatifs. En effet, l'absence d'effet au cours du 1^{er} essai n'est pas suffisant pour conclure que l'isododécane n'induit pas d'aberration chromosomique

structurale sur ce système cellulaire car le type d'aberrations chromosomiques observées est relativement rare y compris avec les substances clastogènes de référence. Le choix de la lignée cellulaire est critiquable compte tenu de son origine murine et de son instabilité génétique qui pourraient être à l'origine de résultats faussement positifs (Honma et Hayashi, 2011). Ces résultats devraient être confirmés en utilisant des cellules génétiquement stables comme, par exemple, des lymphocytes humains.

Toxicité générale

- Étude de toxicité sub-chronique par voie orale de 90 jours (Étude datant de 1983 avec un isododécane d'une pureté de 84,9 % de 2,2',4,6,6'-pentaméthylheptane)

Cette étude ne fait aucune référence au suivi d'une ligne directrice de l'OCDE et il semble quelle ait été effectuée en dehors des recommandations des BPL.

L'isododécane est plutôt bien toléré par les rats Wistar exposés par voie orale par gavage pendant 90 jours avec l'absence de mortalité liée au traitement jusqu'à la dose maximale de 3000 mg/kg/j (Doses administrées : 330, 1000 et 3000 mg/kg/j). La diminution de la masse corporelle a été plus nette chez les rats mâles (dès la 1^{ère} semaine à 3000 mg/kg/j et dès la 4^e semaine à 1000 mg/kg/j) que chez les rats femelles (dès la 11^e semaine à 3000 mg/kg/j).

Les changements histo-pathologiques corroborés par les analyses biochimiques sanguines et urinaires, indiquent que les organes cibles sont le foie, les reins et les glandes surrénales. Les effets néphrotoxiques observés exclusivement chez les rats mâles peuvent être en partie liés à la nature de l'isododécane et ont déjà été observés avec d'autres substances telles que le d-limonène (NTP, 1990 ; Flamm et Lehman-McKeeman, 1991 ; Lehman-McKeeman et Caudill, 1994). Ce mécanisme, faisant intervenir la protéine $\alpha 2\mu$ -globuline, est très spécifique du rat mâle. Une hématotoxicité aux doses supérieures à 1000 mg/kg/j a également été observée chez les rats mâles exclusivement.

Le niveau d'effet indésirable non observé (NOAEL) est établi à 330 mg/kg p.c./j pour les mâles et les femelles, à partir des résultats de cette étude de toxicité orale de 90 jours.

Conclusion

Les études ne suivent pas toujours les lignes directrices de l'OCDE correspondantes. Quelle que soit l'étude, aucun contrôle n'est fourni concernant les concentrations dans les solutions de traitement avec les solvants/excipients utilisés ce qui, au-delà de correspondre à une déviation aux BPL, ne permet pas de s'assurer de la stabilité du produit dans les conditions de traitement.

Au regard de l'ensemble de ces éléments, il n'est pas possible de conclure quant à l'absence de potentiel génotoxique de l'isododécane. Par conséquent, sans l'apport de données complémentaires précises, le risque génotoxique pour l'Homme ne peut pas, à ce stade, être exclu.

3.2. Conclusions

Au vu du dossier soumis par le pétitionnaire, le CES « Eaux » :

- 1) émet un sursis à statuer à la demande d'autorisation d'emploi de l'isododécane (CAS : 13475-82-6 / 93685-81-5). pour la fabrication de matériaux organiques entrant au contact d'eau destinée à la consommation humaine ;

- 2) demande de réitérer le test d'aberration chromosomique *in vitro* dans une étude se conformant aux règles des bonnes pratiques de laboratoire, utilisant des cellules d'origine humaine et stables sur le plan génétique (lymphocytes humains par exemple) (OCDE 473). Le contrôle des concentrations dans les solutions de traitement utilisées au cours de cette étude devrait être effectué.

Si les résultats obtenus au cours de cette nouvelle étude sur ce nouveau type cellulaire sont négatifs, l'hypothèse d'un résultat faussement positif obtenu sur la lignée murine V79, déficiente en protéine p53 et génétiquement instable pourra être avancée.

- 3) rappelle que le niveau de migration de l'isododécane devra être vérifié en réalisant des essais selon la norme NF EN 12873-2 (4MS, Décembre 2011), pour pouvoir l'inscrire dans la liste positive commune des 4MS.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail adopte la conclusion et les recommandations du CES « Eaux ».

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

Eau destinée à l'alimentation humaine, matériaux au contact de l'eau, matériaux organiques, listes positives, autorisation d'une substance.

BIBLIOGRAPHIE

4.1. Publications

4MS (Décembre 2011). Positive Lists for Organic Materials – 4MS Common Approach – Part A : Compilation and management of a suite of Positive Lists (PLs) for organic materials – Part B : Assessment of products for compliance with Positive List requirements (Conversion Factors – CFs).

www.umweltbundesamt.de/wasser-e/themen/downloads/trinkwasser/4ms_positive_list.pdf.

DGS (Mars 1999). Guide pratique pour la constitution des dossiers relatifs à la conformité sanitaire des matériaux placés en contact avec les eaux d'alimentation.

www.sante.gouv.fr/rese/edch/reg/ti-a020.htm

EFSA (30 July 2008). Note for guidance for petitioners presenting an application for the safety assessment of a substance to be used in food contact materials prior to its authorisation. www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/21r.pdf.

Flamm W.G., Lehman-McKeeman L.D. (1991). The human relevance of the renal tumor-inducing potential of d-limonene in male rats: implications for risk assessment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 13, 1:70-86.

Honma M., Hayashi M. (2011). Comparison of in vitro micronucleus and gene mutation assay results for p53-competent versus p53-deficient human lymphoblastoid cells. *Environ. Mol. Mutagen.*, 52, 5:373-84.

Lehman-McKeeman L., Caudill D. (1994). d-Limonene Induced Hyaline Droplet Nephropathy in α 2u-Globulin Transgenic Mice. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 23, 4:562-568.

NTP (1990). Toxicology et Carcinogenesis Studies of d-Limonene (CAS No. 5989-27-5) in F344/N Rats et B6C3F1 Mice (Gavage Studies). www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12704437.

4.2. Normes

NF EN 12873-2 : Influence sur l'eau des matériaux en contact avec l'eau destinée à la consommation humaine – Influence de la migration – Partie 2 : Méthode d'essai des matériaux appliqués sur site excepté les matériaux métalliques et ceux à base de ciment.

XP P 41-250-2 : Effet des matériaux sur la qualité des eaux destinées à la consommation humaine – Matériaux organiques – Partie 2 : Méthode de mesure des micropolluants minéraux et organiques.

4.3. Législation et réglementation

Arrêté du 29 mai 1997 relatif aux matériaux et objets utilisés dans les installations fixes de production, de traitement et de distribution d'eau destinée à la consommation humaine modifié par les arrêtés du 24 juin 1998, 13 janvier 2000, 22 août 2002 et 16 septembre 2004 (publiés aux Journaux Officiels des 1^{er} juin 1997, 25 août 1998, 21 janvier 2000, 3 septembre 2002 et 23 octobre 2004).

Arrêté du 18 août 2009 relatif aux conditions d'habilitation des laboratoires en application de l'article R*. 1321-52 du code de la santé publique.

Résolution AP (92)2 du Conseil de l'Europe relative à un système de contrôle des auxiliaires de polymérisation (coadjuvants technologiques) pour les matières et articles plastiques destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires (adoptée par le Comité des Ministres le 19 octobre 1992 lors de la 482^e réunion des Délégués des Ministres).