

AVIS

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

relatif à la mise en place d'un protocole expérimental pour l'analyse de pignons de pin

1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 13 novembre 2009 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) d'une demande d'avis relatif à la mise en place d'un protocole expérimental pour l'analyse de pignons de pin.

2. CONTEXTE

Depuis l'été 2008, la DGCCRF et les centres antipoison et de toxicovigilance¹ (CAPTV) ont enregistré un nombre important de signalements faisant état d'un goût amer persistant suite à l'ingestion de pignons de pin. Des cas similaires ont également été rapportés dans d'autres pays, les premiers cas ayant été observés en 2001. L'apparition des symptômes survient de façon retardée, un à trois jours après l'ingestion, et la sensation d'amertume est souvent exacerbée par la consommation d'aliments ; cette sensation d'amertume persiste pendant plusieurs jours voire une semaine.

Le 8 septembre 2009, en réponse à une première saisine de la DGCCRF, l'Afssa avait conclu qu'aucune hypothèse scientifiquement argumentée ne permettait d'expliquer les phénomènes d'amertume rapportés et d'évoquer un risque sanitaire (Afssa 2009). Le BfR (l'institut fédéral allemand d'évaluation du risque) évoque également l'absence de risque sanitaire aigu (BfR 2010). L'agence irlandaise de sécurité sanitaire (Food Safety Authority of Ireland) souligne n'avoir eu connaissance d'aucun effet adverse associé à cette dysgueusie². Les travaux de Mostin en 2001 et les analyses effectuées sur ce type de produits lors de contrôles réalisés en France et en Europe n'ont pas permis de mettre en évidence la présence de contaminants chimiques dans les lots incriminés. Des interrogations ont été soulevées quant à l'usage de pignons provenant de certaines espèces de pin (*Pinus armandii* notamment).

La DGCCRF souhaite réaliser une analyse complète de lots de pignons provenant de plusieurs variétés de pins et interroge l'Afssa sur la mise en place d'un protocole expérimental adapté.

¹ Une enquête a été mise en place par les CAPTV en 2009

² <http://www.fsai.ie/details.aspx?id=8648&LangType=1033&terms=pine+nuts>

3. METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective a été réalisée par le comité d'experts spécialisés (CES) « Résidus et contaminants chimiques et physiques » (RCCP) réuni le 7 juillet 2010.

4. ARGUMENTAIRE

Evolution du phénomène

L'enquête, réalisée en 2009/2010 par le CAPTV de Strasbourg dans le but d'apprécier l'ampleur du phénomène, décrit un pic de signalements en août 2009, suivi d'une diminution à partir de décembre 2009. La hausse des signalements observée en août 2009 peut être en partie attribuée à la mise en place de nombreux forums internet sur ce sujet. La baisse du nombre de signalements observée depuis décembre 2009 peut être expliquée par le changement de pratiques signalé par certains distributeurs (approvisionnement différent, tamisage des pignons, etc.).

Le Pin et les pignons de pin

Le pignon de pin est une graine riche en huile, à la coque dure, placée sous chaque écaille du cône du pin (genre *Pinus*).

Il existe plus d'une centaine d'espèces dans le genre *Pinus*. Une trentaine produit des pignons comestibles selon l'Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO)³. Les pignons les plus couramment commercialisés proviendraient des espèces suivantes : *P. pinea* (espèce européenne), *P. gerardiana* (Pakistan, Inde), *P. koraiensis* (Chine, Corée, Japon) ou *P. sibirica* (Russie, Chine, Mongolie) (Destailats et al. 2010).

Cependant certaines espèces asiatiques de pignons de pin non répertoriées comme étant comestibles par la FAO, seraient importées en Europe, en particulier les espèces chinoises suivantes:

- *P. armandii* (Chinese white pine ou Huashan pinekernels ou Huashan pine ou pin d'Armand), provenant des provinces du Shanxi et Gansu ; pignons de petit calibre (1200-1700 pignons / 100g) et **localement réputés amers**; cette espèce est commune en Chine et a été acclimatée comme ornementale en Amérique du Nord
- *P. massoniana* (Chinese red pine), rencontré en Chine exclusivement et notamment utilisé par l'industrie de la pâte à papier
- *P. yunnanensis* (Yunnan pine)
- *P. tabuliformis* (Chinese pine).

Certains pignons de pin provenant de ces espèces chinoises seraient ainsi présents sur le marché alimentaire. En l'absence de recul sur un usage alimentaire, d'inscription au Codex Alimentarius et compte tenu de l'origine non européenne de ces pignons, leur commercialisation volontaire en Europe devrait relever de la réglementation novel food.

³ Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Non-wood forest products from conifers, 1998.

Tentative d'identification de l'agent responsable

La symptomatologie associée à l'ingestion de pignons de pin est, un à trois jours suivant l'ingestion, une dysgueusie caractérisée par une forte amertume survenant lors de l'absorption des aliments. Aucun autre symptôme n'a été décrit. Ces troubles sont réversibles et disparaissent après une période allant de quelques jours à une semaine en moyenne. Le mode de préparation (cru/cuit, seul/en association avec d'autres ingrédients) ne semble pas intervenir dans la survenue des symptômes. Il est à noter que la sensation d'amertume n'est pas ressentie au moment de la première consommation des pignons de pin, ce qui peut faire supposer que le composé recherché n'est pas nécessairement amer. Par ailleurs, il semblerait qu'il existe une très forte variabilité de réponses au niveau des consommateurs.

Pour confirmer l'hypothèse selon laquelle ces troubles seraient dus à un composé intrinsèque aux pignons, il serait nécessaire de développer une méthode fondée sur un travail de phytochimie séparative consistant à réaliser des fractionnements successifs dichotomiques, avec une analyse volontaire et gustative des différentes fractions ainsi obtenues. Une analyse chimique de la fraction permettrait ensuite d'identifier plus précisément l'agent causal.

En l'absence d'identification de marqueurs d'amertume, il serait nécessaire idéalement, d'adopter une stratégie holistique de détection (dite sans *a priori*) d'un marqueur spécifique des lots suspectés d'amertume. Cette démarche consisterait à confronter, sur la base d'une prise d'empreinte (mettant en œuvre la spectrométrie de masse ou la résonance magnétique nucléaire), une population de pignon témoins *versus* une population de pignons entraînant la sensation d'amertume.

Ces efforts de recherche s'avèrent cependant incompatibles avec la mise en place rapide d'un outil de gestion compte tenu de la situation actuelle.

Une identification précise de l'agent causal étant impossible à court terme, il est proposé à la DGCCRF d'établir un protocole basé sur l'identification des espèces de *Pinus*. En effet, les enquêtes effectuées entre 2008 et 2010 mettent en cause des pignons provenant de Chine (origine géographique indiquée sur les paquets). Parmi ces espèces, *Pinus armandii* n'est pas reconnue comme étant comestible par la FAO. L'exclusion de cette espèce permettrait donc dans un premier temps de réduire le risque d'exposition pour le consommateur.

Proposition d'une démarche d'analyse des lots de pignons de pin

Plusieurs approches, de spécificité très inégale, peuvent être envisagées :

- Le tri visuel permettant d'écartier potentiellement les pignons de *P. armandii* caractérisés par leur petite taille (10 à 15 mm de long),
- L'analyse chimique se fondant sur l'analyse des profils de composition en acides gras en Δ -5, typiques du genre *Pinus*,
- l'analyse génétique, seule méthode permettant d'identifier avec certitude les différentes espèces de *Pinus*.

Il n'existe aucune donnée publiée à ce jour permettant de mettre en œuvre un protocole d'identification fondé sur des critères génétiques.

La spécificité du tri visuel et du tamisage étant insuffisante, l'Anses propose de compléter cette approche par l'utilisation de la seule méthode exploitable immédiatement, méthode d'analyse chimique des profils d'acides gras.

Le genre *Pinus* élabore des acides gras insaturés typiques en Δ -5, en particulier les acides taxoléique (5,9-18:2), pinoléique (5,9,12-18:3) et sciadonique (5,11,14-20:3). Ceux-ci peuvent servir de marqueurs taxonomiques chez les conifères, leur concentration relative étant différente pour chaque espèce. Destailats (2010) ont mis au point une méthode fondée sur la détermination d'un indice qui permet d'identifier l'espèce en question par le dosage des esters méthyliques d'acides gras. Le tableau 1 présente les indices calculés pour diverses espèces de pignons de *Pinus*.

Tableau 1 : Indice de Destailats sur diverses espèces de pignons de *Pinus*

Espèces de Pinus	Indice calculé
<i>P. pinea</i>	0,34
<i>P. geradiana</i>	0,17
<i>P. massoniana</i>	3,55
<i>P. sibirica</i>	3,03
<i>P. armandii</i>	2,92
<i>P. koraiensis</i>	2,38

Selon l'auteur, l'utilisation de cette méthode pour identifier les espèces présentes dans les lots commerciaux s'est révélée fiable pour des lots homogènes. Dans le cas d'un lot comprenant plusieurs espèces différentes, l'analyse peut se révéler plus délicate.

L'autorité de sécurité alimentaire norvégienne (Norwegian Food Safety Authority) a d'ailleurs recommandé aux importateurs de pignons de pin l'emploi de cette méthode pour exclure la présence de pignons provenant d'espèces non répertoriées par la FAO.

Les lots commercialisés en France pouvant contenir des mélanges de pignons provenant d'espèces différentes, il est donc proposé de réaliser successivement :

- le tri des graines selon des critères morphologiques pour optimiser l'homogénéité des lots avant analyse,
- la détermination de l'indice de Destailats sur les échantillons de graines de morphologie identique.

Cette méthode, combinant des critères morphologiques et chimiques, peut permettre d'identifier de façon relativement simple les lots contaminés par des pignons de pin provenant d'une espèce non reconnue comestible, notamment *P. armandii*.

Cette méthode présente néanmoins des limites. Elle n'est pas particulièrement discriminante (surtout pour des lots hétérogènes, constitués de diverses espèces) et que l'indice de Destailats n'a été déterminé que pour les espèces les plus courantes. Par conséquent, la détection de pignons provenant d'une espèce non étudiée et potentiellement à risque s'avère beaucoup plus délicate.

5. CONCLUSION

L'agence nationale de sécurité sanitaire (Anses) observe que les signalements ont tendance à diminuer.

L'agence estime au regard des données actuellement disponibles, que l'agent responsable de l'amertume n'est pas identifiable à court terme, et que bien que fortement suspectée, la mise en cause des espèces en provenance de Chine, et notamment *P. armandii* n'est pas confirmée. Selon l'Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), l'espèce *P. armandii* n'est pas répertoriée comme une espèce de pin produisant des pignons comestibles.

C'est pourquoi, au vu des incertitudes actuelles, l'Anses recommande de :

- veiller à ce que seules les espèces répertoriées comestibles par la FAO soient importées,
- suivre l'évolution des plaintes de consommateurs,
- effectuer un premier contrôle visuel (recherche de pignons de petite taille),
- évaluer la pertinence de l'indice de Destailats pour la vérification des espèces de pignons de pin présentes dans les lots importés, au regard des espèces répertoriées par la FAO,

L'Anses encourage, par ailleurs, des recherches pour développer une méthode génétique permettant d'identifier avec certitude les différentes espèces de *Pinus*.

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

PIGNONS DE PIN, AMERTUME, PROTOCOLE EXPERIMENTAL

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Afssa (2009) Note du 8 septembre 2009 : Eléments d'information relatifs à la notification d'amertume liée à la consommation de pignons de pin.

BFR (2010) Origin of bitter taste of pine nuts remains to be determined.

Destailats F, Cruz-Hernandez C, Giuffrida F, Dionisi F (2010) Identification of the Botanical Origin of Pine Nuts Found in Food Products by Gas-Liquid Chromatography Analysis of Fatty Acid Profile. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**(4), 2082-2087.

Mostin M (2001) Taste disturbances after pine nut ingestion. *European Journal of Emergency Medicine* **8**(1), 76.