

Les nanotechnologies dans le domaine alimentaire : (re)découvertes et nouveautés

Paul COLONNA

Ingénieur Agronome Paris (1975), Doctorat d'Etat ès Sciences Physiques Paris VI (1984).

Ses activités de recherche ont porté sur les biopolymères, pour comprendre les mécanismes de biosynthèse comme les relations structure-propriétés dans le domaine alimentaire et la chimie verte. Il est actuellement Directeur Scientifique adjoint Plantes et Produits du Végétal à l'INRA.

INRA

147 rue de l'Université
75338 Paris cedex 07

RESUME

Les nanotechnologies à base de molécules alimentaires suscitent un engouement croissant. Au delà de la redécouverte de mécanismes anciens qui trouvent là un meilleur cadre explicatif, un nouveau champ de recherche s'est construit avec des formulations apportant des atouts en matière de sécurité, santé, propriétés d'usage, coût et impacts environnementaux. Une approche risques/bénéfices est nécessaire pour prévenir une mauvaise acceptabilité et aussi des usages inutiles. Une difficulté particulière réside dans la détection des ces nano-assemblages, ce qui dépasse la simple analyse compositionnelle.

Conférence du 15 janvier 2009

La Lettre Scientifique de l'IFN engage la seule responsabilité de son auteur.

1 - INTRODUCTION

Les nanotechnologies et nanosciences représentent un domaine très actif de recherches en physique, en sciences des matériaux, en matière molle (colloïdes, interfaces). Taniguchi (1974) a publié un article "On the basic concept of nano-technology", qui donnait une suite matérielle à la célèbre conférence de Richard Feynman (American Physical Society meeting au Caltech le 29 décembre 1959) "There's plenty of room at the bottom".

Les nanotechnologies ont été alors définies comme étant la manipulation, le fractionnement, l'assemblage, la déformation de la matière atome par atome ou molécule par molécule, à l'échelle du nanomètre. Cette définition a été ensuite étendue pour inclure les assemblages impliquant des macromolécules et donnant des propriétés nouvelles, comparativement aux organisations classiques et bien connues aux échelles supérieures (macro).

Les nanotechnologies ont fait leur apparition dans le domaine alimentaire avec la communication de Moraru (2003). En fait les chercheurs impliqués dans les travaux sur les colloïdes, les interfaces, ainsi que les emballages, avaient investi ce domaine depuis longtemps (Conde-Petit et Nuessli, 2004). Ce décalage d'expression reflète un affichage des travaux plutôt par finalités ou source des matières premières plutôt que par mécanisme générique.

2 - CONCEPTS ET METHODES

Les nanosciences sont l'étude des phénomènes et de la manipulation de la matière aux échelles atomique, moléculaire et macromoléculaire : les propriétés (physico-chimiques) des assemblages entre 1 et 1 000 nm diffèrent sensiblement de celles qui prévalent à une plus grande échelle.

À l'échelle nanométrique, la matière présente des propriétés quantiques, et aussi des effets de surface, de volume, ou de bord, qui justifient une approche spécifique. À l'échelle nanoscopique, le rapport entre les différentes forces d'interactions est différent du rapport à l'échelle macroscopique. Les forces de surface deviennent prépondérantes face aux forces d'inertie, car (i) les forces d'inertie et le poids varient avec le cube de la longueur caractéristique des objets manipulés (forces volumiques), (ii) Les forces de surface telles que les forces de Van der Waals ou les forces électromagnétiques varient avec le carré de la longueur caractéristique de l'objet, (iii) les rapports de surfaces devenant prépondérants, les nanotechnologies ouvrent des perspectives en transport et en chimie, en particulier pour la catalyse.

Au plan technologique, les nanotechnologies sont fondées sur les mécanismes d'auto-assemblage. L'auto-assemblage est un mécanisme d'agrégation où la polymérisation est gouvernée par la recherche du minimum d'énergie libre, avec l'intervention de forces non covalentes, comme les liaisons hydrogène, les interactions électrostatiques, les liaisons hydrophobes et van der Waals, et parfois des coordinations métalliques cinétiquement stables. En ce sens les nanotechnologies inversent la démarche classique d'élaboration qui fait appel aux techniques de fragmentation ou de déformation d'une matière déjà organisée (cf technologies agroalimentaires en général). Les propriétés des objets créés diffèrent donc des propriétés des objets constitutifs ; celles-ci déterminées en état sol pour l'agroalimentaire, différent de celles des objets créés, ce qui explique la notion de propriété émergente revendiquée pour les nano-objets.

L'outil clé dans ce domaine est la microscopie à force atomique (AFM) à une résolution de 0,1 nm, qui permet la visualisation des organisations nanométriques in situ, tant dans les produits biologiques (matières premières) que dans les aliments. L'AFM permet de mesurer la topologie et les forces d'interactions entre la pointe du microscope et la surface explorée. Les autres microscopies électroniques (TEM et SEM), malgré leurs bonnes résolutions, présentent l'inconvénient de nécessiter des travaux préparatoires, sources d'artefacts.

3 - HISTOIRE ET ACTEURS

Aux USA, la National Nanotechnology Initiative (NNI) a permis de

mettre en place les crédits nécessaires, avec des recherches depuis les domaines plus fondamentaux de la physique. L'USDA (United States Department of Agriculture) a lancé le programme "Nanoscale Science and Engineering for Agriculture and Food Systems" dans le cadre du National Research Initiative (NRI) centré sur le développement des capteurs. Les premiers résultats ont été présentés à la 1st Food Nanotechnology Conference en 2006. Depuis les travaux citant spécifiquement "nano" ont pris une grande importance dans les publications, tant dans la recherche publique, privée que les ONG.

La US Food and Drug Administration (FDA) a mis en place une *Nanotechnology Task Force* (NTF) en août 2006 pour étudier l'opportunité de mesure particulière pour les nano-objets. L'état actuel des discussions est de considérer que ces objets entrent bien dans le champ de la FDA, et doivent être étudiés comme ceux résultant des technologies émergentes (nouvelles). Les effets particuliers sont bien liés à la taille des particules, et un programme de recherche spécifique a été lancé.

Au Japon, le programme *Development of Nanotechnology and Materials for Innovative Utilizations of Biological Functions*, doté de 150-200 million JPY/an, a été ouvert en 2002.

Au Canada, il existe un réseau des aliments et des matériaux d'avant garde, fortement mobilisé sur les nanotechnologies, depuis 1999, avec un budget de 80 millions C\$/an.

LA FAO et l'OMS ont lancé une enquête sur les impacts potentiels des nanotechnologies alimentaires avec une fin de consultation le 16 janvier 2009.

4 - NANOSTRUCTURES D'ORIGINE BIOLOGIQUE

La croissance des terres cultivées en agriculture biologique en Ces structures sont présentes dans les organismes vivants, où elles résultent de l'articulation des mécanismes biologiques de biosynthèse (transcription, synthèse des protéines) avec des mécanismes physico-chimiques d'association.

De nombreuses organisations supramoléculaires utilisées en agroalimentaire correspondent aux concepts des nanosciences : fibres musculaires, globules gras du lait et micelle de caséine, parois végétales, les lipoprotéines à faible densité du jaune d'oeuf.

Le grain d'amidon est un exemple simple montrant comment les différentes échelles de structure sont à interpréter dans une approche nano. L'amidon se présente sous la forme d'une poudre blanche insoluble dans l'eau à température ambiante. Il est constitué d'entités granulaires de diamètre compris entre 1 et 100 μm . Ces grains correspondent à un agencement semi-cristallin de polymères de glucose dont ses différents niveaux d'échelle lui confèrent un caractère complexe.

Malgré toutes les données accumulées, il n'existe pas de modèle intégré validé impliquant les différentes enzymes de biosynthèse. Cette forme de réserve de carbone, à la fois très condensée et métabolisable, n'a jamais pu être reproduite *in vitro*. L'un des verrous majeurs concerne l'articulation des mécanismes d'initiation de la synthèse des biopolymères, mais aussi des voies de polymérisation en relation avec les mécanismes et les cinétiques d'association locale des molécules d'amylose et d'amylopectine (séparation de phase, formation de doubles hélices, cristallisation). La biosynthèse de l'amidon n'a pas lieu selon un schéma : synthèse de la molécule, puis agrégation avec d'autres pour former des cristallites dont l'association donnerait des grains. Aucune macromolécule soluble n'est récupérable en cours de biosynthèse, et les grains d'amidon en cours d'élaboration présentent les mêmes caractéristiques que les grains natifs, à la taille près. La proposition d'une organisation de l'amylopectine selon un modèle supramoléculaire en cristaux liquides (Waigh *et al.*, 2000) permet de relier l'organisation en unités mésogéniques, bras flexibles à la coexistence d'états nématique et smectique.

Considérer un grain d'amidon comme un assemblage nano facilite la compréhension de la formation de ses différentes échelles de structure, de comprendre les relations qui lient les échelles depuis le niveau local moléculaire jusqu'au microscopique, le grain d'amidon, soit 4 ou 5 décades.

5 - MICRO-FLUIDIQUE

Pour répondre aux besoins d'intensification des procédés, les micro-réacteurs et les micro-mélangeurs connaissent une grande expansion actuellement.

L'apport des nanotechnologies se manifeste surtout pour les procédés de fractionnement avec des membranes apportant une meilleure efficacité, un coût moindre de traitement des solutions et des dispersions. Les phases constitutives des colonnes sont formées de particules ou de fibres allant de 10 à 500 nm. Ces fibres ont des ratios surface-volume extrêmement élevés en faveur des mécanismes d'adsorption. Ces fibres sont fabriquées par des procédés de type *electrospinning*, *electrospraying*, et *coacervation*. Après cette étape de mise en forme, une modification de surface des fibres est possible par *core-shell spinning*, *co-spinning*, *spin-coating* ou *electrostatic deposition*.

Il est alors possible d'obtenir des émulsions monodispersées, par ces nanotechnologies. A la différence des émulsions qui recouvrent des dimensions de 500 nm à 10 microns, les nano-émulsions ont des gammes de particules de 5-30 nm avec une meilleure stabilité contre la coalescence et une limpidité des suspensions. Les dimensions des particules dépendent de la géométrie et des dimensions des microcanaux.

Les développements commerciaux se trouvent déjà dans les nouveaux capteurs, focalisés sur la détection des agents pathogènes, les organismes à effet délétère, qui représentent un premier domaine, où l'on trouve une association de techniques biochimiques et de micro-électroniques. Entrent dans ce domaine les biocapteurs, les nez électroniques, et les microarrays.

Le gain apporté réside dans des temps d'analyse réduits à quelques secondes ou quelques minutes, comparativement aux méthodes plus anciennes telles que le blotting, les analyses d'acides nucléiques, les différentes chromatographies, l'immunoprécipitation ou l'agglutination qui demandaient plusieurs heures à plusieurs jours, principalement en raison d'une étape d'enrichissement préalable à l'analyse strictement dite.

6 - LES MATERIAUX NANOSTRUCTURES EN SURFACE

6.1 - Films interfaciaux et émulsions

L'incompatibilité entre les lipides et les composants hydrophiles est à la base des émulsions, générées par une large famille de procédés. Les nanoparticules présentent des solubilités et des points de fusion différents de ceux des micro-émulsions.

Les protéines présentent des propriétés émulsifiantes, c'est-à-dire capables de contribuer à la formation des interfaces entre des phases lipidiques et des phases aqueuses. Le mécanisme de base est l'adsorption des protéines à l'interface, avec un changement conformationnel et la création d'interactions pour donner des couches élastiques.

Le changement de paradigme dans une vision nano est de considérer la formation d'un réseau protéique à l'interface et la compétition entre les agents interfaciaux simples et ces réseaux de protéines, pouvant aboutir à l'exclusion des protéines de ces interfaces. En conséquence la stabilité des réseaux de protéines aux interfaces est une question clé, pour comprendre la formation et la maîtrise de la formation et de la durée de vie des interfaces.

Cependant lors de la digestion in vivo, la compétition entre ces protéines et la co-lipase peut affecter le devenir des lipides dans le duodénum. Le rôle des sels biliaires, les incompatibilités protéines-polysaccharides dans cet ensemble est aussi l'objet d'interrogations.

A partir de ces connaissances, le design d'ultrastructures à réactivité maîtrisée permettrait de maîtriser le devenir des composés lipidiques lors de la digestion.

6.2 - Design d'interfaces et de films barrières

L'étape suivante est d'envisager une structuration par auto-assemblage couche par couche de biopolymères.

Les propriétés visées sont l'élasticité et la porosité. Ces structures

peuvent être conçues pour présenter des réactivités particulières au pH, à la force ionique ou aux différentes enzymes durant la digestion.

L'obtention de ces nanostructures est réalisée par des opérations de trempage successives, avec éventuellement l'incorporation de nanoparticules.

Les premières générations dérivait principalement du domaine pharmaceutique, avec les microémulsions, les liposomes, les nanoémulsions et les nanofibres. L'ordre de structuration et la chronologie mise en œuvre sont alors à contrôler précisément pour que les propriétés finales résultantes dépendent bien des structures mises en place.

7 - LES MATERIAUX NANOSTRUCTURES EN VOLUME

L'assemblage de molécules ou de macromolécules peut conduire à des objets tridimensionnels qui auront des propriétés spécifiques. Par mise en œuvre de mécanismes d'auto-assemblage, peuvent être cités dans ce domaine les bâtonnets formés à partir de caséine-kappa, par traitement thermique, les particules en cônes, rubans torsadés, à partir d'acides gras hydroxylés.

Les nano-liposomes représentent une classe d'objets où deux composants à solubilité différente peuvent être associés. Leurs libérations en synergie peuvent être provoquées par un changement de pH, ou une attaque enzymatique. Dans la même famille structurale, sont présents des archéosomes, préparés à partir de composants des archéobactéries. Ces archéosomes sont plus stables aux pH acides et à l'action des sels biliaires.

Un dernier exemple est l'amélioration des propriétés mécaniques, pour des produits frais en longue conservation. Le mécanisme clé est l'incorporation de nanostructures comme des feuillettes d'argile ou des nanoparticules dans le corps de la matrice.

L'incorporation de nanostructures ayant des propriétés fonctionnelles comme les flaveurs, les antioxydants, les agents antimicrobiens, et les nutraceutiques est le domaine qui suscite actuellement le plus de développements.

Ces différentes structures doivent être piégées dans la matrice de polymère, pour améliorer les propriétés mécaniques de ces matériaux composites. L'inclusion de ces particules crée une tortuosité, qui va augmenter de manière considérable les chemins de diffusion, et restreindre les vitesses de diffusion de l'oxygène et de l'eau.

8 - APPLICATION DES NANOTECHNOLOGIES DANS LE DOMAINE ALIMENTAIRE

Le premier atout des nanoparticules réside dans l'élaboration de produits polycomposants. Les produits hydrosolubles peuvent être rendus lipodispersibles et vice-versa, par le biais de micelles inversés ou de nanosomes. Les solutions obtenues sont limpides et non opalescentes. La stabilité mécanique des nanoparticules est un autre avantage, les microparticules étant plus fragiles et susceptibles de perdre leur contenu.

Le deuxième atout résulte du ratio surface/masse (ou volume) des nanostructures. La disponibilité du contenu des nanoparticules sera plus élevée (surface d'échange et pénétration de l'eau dans la matrice).

Les bénéfices attendus sont à rechercher dans le moindre impact sur l'environnement, la diminution des coûts énergétiques (50 % de réduction des coûts d'obtention des émulsions), l'efficacité réactionnelle (sensorielle, stabilité, diffusion) conduisant à un moindre besoin de matières actives.

Deux domaines sont très actifs vis-à-vis des nanotechnologies :

- Les emballages qui développent le plus de travaux sur les nanoparticules.

Les domaines d'application s'étendent jusqu'aux propriétés thermiques. Une solution originale a été créée pour des nanoparticules de silicate de calcium capables d'absorber des alcanes. Ces derniers, alors piégés dans la structure poreuse des nanoparticules, présentent une importante chaleur latente de transition de

phase, utilisée pour stabiliser les réponses aux chocs thermiques (Phase change materials, PCMs).

- Les aliments fonctionnels, les nutraceutiques, les aliments santé.

Ce domaine représente la principale source de nano-applications au plan mondial. La problématique est alors la maîtrise de la stabilité des molécules actives, la biodisponibilité, l'absorption des composants de l'aliment.

9 - SECURITE DES NANO-ORGANISATIONS DANS LE DOMAINE ALIMENTAIRE

Les enjeux et les risques induits par l'incorporation de structures nanotechnologiques ainsi que les nouvelles applications qui seront permises par le biais de la maîtrise de la fabrication à ces échelles, nourrissent un vif débat. Il est clair que l'existence de nanostructures produites "naturellement" dans des procédés traditionnels, mais à des concentrations réduites, n'est jamais considérée dans les études.

Il convient de souligner que l'essentiel des applications décrites sont fondées sur des molécules GRAS (Generally Recognized As Safe). Par ailleurs de nombreuses formes galéniques sont déjà fondées sur des particules nano- ou micro. Les avantages résident dans la facilité de manipulation (en poudre ou en suspension) et la facilité d'élaboration, dans un marché à faible volume et haute valeur ajoutée. Un large corpus de connaissances est disponible actuellement sur la toxicité des nanoparticules aériennes, d'origine anthropique ou naturelle (Borm *et al.*, 2006). Les développements médicaux sont aussi une large source de documentation, pour les produits injectés, la cosmétique pour les écrans solaires de même. En revanche la littérature est réduite pour les nanoparticules ingérées et présentes dans le tube digestif. La taille est un paramètre important de la diffusion de la particule dans le corps. En intra-tissulaire, les grosses particules ont tendance à rester là où elles sont apportées (Kohane *et al.*, 2002), alors que les nanoparticules peuvent voyager sans mécanisme biologique particulier (Kohane *et al.*, 2006). En galénique, les grosses particules ont un intérêt plutôt pour les applications locales (anesthésie, hormones de croissance) ou les petits vaisseaux, sans traverser les barrières cellulaires et peuvent être absorbées par les phagocytes. Inversement les nanoparticules circulent et peuvent pénétrer dans toutes les cellules par pinocytose, ce qui les promet pour les applications systémiques (chimiothérapie ciblée, antifongiques). Les nanoparticules pourraient avoir une disponibilité accrue vis-à-vis du film muqueux intracorporel. La principale interrogation est l'absence de connaissances sur les effets induits par la taille réduite des particules, sur la bioaccumulation et la toxicité.

Dans les aliments, la question clé est le devenir digestif et métabolique de ces nano-organisations. Les paramètres à prendre en compte sont la composition chimique, la taille et la forme, les caractéristiques de surface. Les mécanismes qui devraient retenir notre attention sont (i) la plus grande exposition en raison d'un ratio surface/masse plus élevé, (ii) le passage au travers des membranes cellulaires, (iii) la confirmation du maintien des modes d'action malgré la taille nano. L'inertie des nanoparticules est l'une des questions clés avec l'inertie des nano-organisations dans le tube digestif et le devenir de ces particules dans l'environnement.

Si ces deux fonctions digestive et métabolique ne sont pas pertur-

bées, les produits devraient être acceptés. Au plan mondial sont déjà disponibles des acides gras oméga 3 nanoencapsulés, des minéraux et des vitamines. La nanodispersion de lycopène BASF proposée tant pour ses propriétés colorantes que de biodisponibilité est un exemple de produit européen considéré comme GRAS aux USA.

Quand les deux fonctions digestive et métabolique sont perturbées, l'autorisation de mise sur le marché est plus délicate. Aucun produit n'entre dans cette catégorie en Europe, quoique de nombreux brevets décrivent des produits qui devraient y entrer.

Entrent dans cette famille les nanoparticules pour le contrôle de l'oxygène et de l'eau dans les emballages pour augmenter la durée de vie des produits, les nanograins d'argent dans les farines comme agent antibactérien. Aucune information sur la métabolisation, l'absence de bioaccumulation n'est disponible, en lien avec la granularité particulière de ces produits.

En découlent des besoins de réglementation spécifiques, d'information des consommateurs et d'étiquetage des produits. Les nanostructures tirent leurs propriétés de leurs tailles et non de leurs compositions. En Europe afficher des nanoparticules est considéré comme un <Novel Food>, ce qui entraîne l'autorisation de mise sur le marché, pour garantir l'innocuité.

Suite aux difficultés rencontrées avec les OGM, il est important d'entreprendre une analyse avantages / inconvénients, de cerner les dangers hypothétiques avant de donner libre cours à des diffusions de nouvelles technologies. Currall *et al.* (2006) ont perçu une meilleure acceptabilité des nanotechnologies comparativement aux boissons alcooliques ou aux OGM, en raison de la mise en œuvre de molécules déjà connues et employées. Aux USA, le National Nanotechnology Initiative (NNI) actualise sur son site les études concernant l'acceptabilité sociétale (www.nano.gov). L'acquisition de connaissances sur les propriétés biologiques permettra de justifier l'absence d'un étiquetage de la présence d'ingrédients sous une forme nano ou inversement la mise en place d'une nouvelle classe d'additifs en E. Le choix raisonné des consommateurs pourra s'exercer de manière libre et fondée.

REFERENCES

- CONDE-PETIT B, NUSSLI J. 2004. COST ACTION 921: FOOD MATRICES: STRUCTURAL ORGANIZATION FROM NANO- TO MACRO SCALE AND IMPACT ON FLAVOUR RELEASE AND PERCEPTION - A SELECTION OF PRESENTATIONS HELD AT THE COST ACTION 921 WORKSHOPS IN GLASGOW, UK, 3-4 APRIL 2003 AND BRUSSELS, BELGIUM, 1-2 APRIL 2004.
- KOHANE DS, LIPP M, KINNEY RC, ANTHONY DC, LOUIS DN, LOTAN N, LANGER R. 2002. BIOCOMPATIBILITY OF LIPID-PROTEIN-SUGAR PARTICLES CONTAINING BUPIVACAINE IN THE EPINEURIUM. J. BIOMED. MATER. RES. 59: 450-9.
- KOHANE DS, TSE JY, YEO Y, PADERA R, SHUBINA M, LANGER R. 2006 BIODEGRADABLE POLYMERIC MICROSPHERES AND NANOSPHERES FOR DRUG DELIVERY IN THE PERITONEUM. J. BIOMED. MAT. RES. ; 77.
- MORARU CI, PANCHAPAKESAN CP, HUANG Q, TAKHISTOV P, LIU S, KOKINI JL. 2003. NANOTECHNOLOGY: A NEW FRONTIER IN FOOD SCIENCE. FOOD TECHNOLOGY 57(12):24-29.
- TANIGUCHI N. 1974. ON THE BASIC CONCEPT OF 'NANO-TECHNOLOGY', PROC. INTL. CONF. PROD. LONDON, PART II, BRITISH SOCIETY OF PRECISION ENGINEERING, 1974.
- WAIGH TA, GIDLEY MJ, KOMANSHEK BU. 2000. THE PHASE TRANSFORMATIONS IN STARCH DURING GELATINISATION: A LIQUID CRYSTALLINE APPROACH. CARBOHYDRATE RES. 328 (2) :165-176.



Institut Français pour la Nutrition
71 Avenue Victor Hugo
75116 PARIS
Tél : 01 45 00 92 50
Fax : 01 40 67 17 76
Institut.nutrition@ifn.asso.fr
Président : Jean-Paul Laplace
Secrétaire Générale : Florence Strigler
Chargée de la Communication : Morgane Guirriec
Réalisation PAO : Elisabeth Hamladji