



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

Nanotechnologies et nanoparticules dans l'alimentation humaine et animale

Mars 2009

Sommaire

Chapitre I : Contexte général.....	4
Chapitre II : Tentative d'inventaire des produits issus des nanotechnologies dans l'alimentation humaine et animale	7
2.1. Un encadrement réglementaire qui ne permet pas d'identifier les produits issus des nanotechnologies.....	7
2.2. Alimentation humaine.....	9
2.3. Matériaux aux contact des denrées alimentaires (MCDA)	14
2.4. Alimentation animale.....	18
Chapitre III : Données toxicologiques disponibles	20
3.1. Propriétés des nanoparticules, interaction avec la matrice alimentaire.....	22
3.2. Toxicocinétique des nanoparticules après administration par voie orale	22
3.3. Toxicité <i>in vivo</i> par administration orale	23
Chapitre IV : Conclusion	26
Annexe	27

Contributions

Comités d'experts spécialisés

- Additifs, arômes et auxiliaires technologiques,
- Alimentation animale,
- Matériaux au contact des denrées alimentaires,
- Microbiologie,
- Nutrition humaine
- Résidus et contaminants chimiques et physiques .

Rapporteurs membres de CES :

- M. Michel Etienne, INRA - Saint-Gilles
- M. Jean-François Gérard, UMR CNRS Ingénierie des Matériaux Polymères INSA Lyon
- Mme Barbara Gouget, CEA Saclay
- M. Jean-Pierre Jouany, INRA - Clermont Theix
- M. Maris Pierre, Afssa-Fougères
- M. Alain Mimouni, CTCPA Paris
- M. Daniel Ribera, Bio-Tox Bordeaux
- M. Joël Scher, ENSAIA Vandoeuvre les Nancy

Agence française de sécurité sanitaire des aliments :

- M. Mostafa Ould Elhkim (coordinateur),
- M. Jean Marc Frémy,
- Mme Nathalie Arnich,
- Mme Caroline Boudergue,
- Mme Sabine Houdart,
- M. Renaud Lailier,
- Mme Marie-Christine Favrot
- Mme Marie-Hélène Loulergue

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 26 juin 2006 par la Direction générale de la santé (DGS) afin de déterminer s'il existe aujourd'hui des produits relevant de sa compétence contenant des nanoparticules (notamment aliments destinés à l'homme ou l'animal, matériaux et objet destinés à entrer au contact de ces denrées), d'établir la liste des catégories de produits concernés, de quantifier leur utilisation et de procéder à une évaluation bénéfice/risque.

Cette saisine s'inscrit dans le cadre d'une consultation de l'ensemble des agences de sécurité sanitaire, chacune dans son domaine de compétence.

Une saisine du 2 août 2006 demandait l'extension de cette expertise au domaine des eaux destinées à la consommation humaine. Cet aspect particulier a fait l'objet d'un rapport de l'Afssa en février 2008¹. Le présent rapport complète donc cette évaluation dans les domaines de l'alimentation humaine et animale.

Il a été élaboré sur la base d'une recherche bibliographique et d'une consultation des comités d'experts spécialisés :

- Additifs, arômes et auxiliaires technologiques,
- Alimentation animale,
- Matériaux au contact des denrées alimentaires,
- Microbiologie,
- Nutrition humaine,
- Résidus et contaminants chimiques et physiques.

L'Afssa a par ailleurs consulté deux organisations interprofessionnelles: l'Association Nationale des Industries Alimentaires (ANIA) et *Plastics Europe France*.

Chapitre I : Contexte général

Diverses organisations ou instances scientifiques ont proposé des définitions couvrant les champs des nanotechnologies, nanoparticules et nanomatériaux².

Pour le présent rapport, sont pris en considération les nouveaux matériaux, structures, dispositifs, substances faisant intervenir des particules ou structures primaires dont au moins une dimension est de l'ordre de 100 nanomètres ou moins. Les substances nanoparticulaires ainsi produites peuvent présenter des propriétés physiques et chimiques différentes de celles des substances non nanoparticulaires, liées notamment à une aire surfacique plus importante.

Ces propriétés nouvelles, ainsi que les modifications de comportement des substances qui en découlent, sont l'objet de recherches et de développements dans des domaines industriels très divers. Dans le champ de l'alimentation humaine et animale, les applications envisageables des

¹ Les nanoparticules manufacturées dans l'eau (février 2008). Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) <http://www.afssa.fr/Documents/EAUX-Ra-Nanoparticules.pdf>

²A noter la récente publication ISO/TS 27687:2008, *Nanotechnologies – Terminology and definitions for nano-objects – Nanoparticle, nanofibre and nanoplate*

nanotechnologies concernent les matériaux au contact des aliments, les agents antimicrobiens, le développement de biosensors, les ingrédients/nutriments, les arômes, les agents texturants ...

Si l'essentiel de ces applications est encore à l'état de projets de recherche, certains développements feraient déjà l'objet de commercialisation, bien qu'il soit difficile d'objectiver dans bien des cas la réalité commerciale, comme indiqué dans le présent rapport.

Les propriétés particulières des nanoparticules sont à l'origine d'interrogations sur de possibles risques pour l'environnement et pour l'homme. Afin d'apporter des éléments de réponse à ces interrogations, des travaux et réflexions ont été engagés par diverses instances au niveau national et international ; ces travaux portent en particulier sur l'état des connaissances générales, les besoins de recherche et d'acquisition de données, l'adéquation ou l'adaptation des dispositifs réglementaires actuels, notamment dans le champ alimentaire.

Ainsi peuvent être cités les travaux de la FDA³, de l'US EPA⁴, de l'Afsset⁵, de la FSA⁶, de la FSAI⁷, du BfR⁸ et du RIKILT/RIVM⁹.

Au niveau communautaire, notamment de la DG SANCO, sont à noter les documents suivants :

- Plan d'action européen 2005-2009 sur nanosciences et nanotechnologies (adopté en juin 2005)
- Rapport du Parlement européen sur la mise en œuvre du Plan d'action (septembre 2007)
- Soutien dans le cadre du 7^{ème} PCRD à la sécurité des nanotechnologies
- Communication de la Commission sur les aspects réglementaires des nanotechnologies en juin 2008 (revue de l'adéquation des réglementations actuelles aux nanotechnologies)
- Travaux du SCENIHR (EC non-food Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks) : en mars 2006 Opinion sur l'adéquation des méthodologies existantes pour évaluer les risques potentiels associés aux nanotechnologies ; en mars 2007 Opinion sur l'adéquation aux nanomatériaux des lignes directrices et guides techniques actuels pour l'évaluation des risques des substances nouvelles et substances existantes ; en janvier 2009, Opinion sur évaluation des risques des produits issus des nanotechnologies¹⁰

³ FDA, 2007. Nanotechnology. A Report of the U.S. Food and Drug Administration Nanotechnology Task Force
<http://www.fda.gov/nanotechnology/taskforce/report2007.pdf>

⁴ US EPA (U.S. Environmental Protection Agency), 2007. Nanotechnology White Paper. Science Policy Council, Washington D.C., EPA100/B-07/001

⁵ Les nanomatériaux : Effets sur la santé de l'homme et sur l'environnement (2006). Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Afsset).

<http://www.afsset.fr/upload/bibliotheque/367611898456453755693572842048/nanomateriaux.pdf>

Nanomatériaux et sécurité au travail : Agents physiques, nouvelles technologies et grands aménagements (2008). Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Afsset).

<http://www.afsset.fr/upload/bibliotheque/258113599692706655310496991596/afsset-nanomateriaux-2-avis-rapport-annexes-ydef.pdf>

⁶ FSA (Food Standard Agency) and CSL July 2008 Final Report Assessment of Current and Projected Applications on Nanotechnology for Food Contact Materials in relation to Consumer Safety and Regulatory Implications

⁷ idem

⁸ BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) 2008 Wahrnehmung der Nanotechnologie in der Bevölkerung

BfR 2007. Nanotechnology: Health and environmental risks of nanomaterials – Research Strategy

http://www.bfr.bund.de/cm/290/nanotechnology_health_and_environmental_risks_of_nanomaterials_research_strategy_final_version.pdf

⁹ RIKILT (RIKILT – Institute of Food Safety, Wageningen UR) and RIVM (National Institute of Public Health & the Environment; Center for Substances and Integrated Risk Assessment), 2007. Health impact of nanotechnologies in food production. 1-91. Report 2007.014. <http://ix1.library.wur.nl/way/bestanden/clc/1865470.pdf>

¹⁰ Risk assessment of Products of nanotechnologies. January 2009 Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR) <http://www.flex-news-food.com/files/EFSA.nonotechnologies.18.02.09.pdf>

- Opinion de l'AESA (Autorité Européenne de Sécurité des Aliments) du 10 février 2009 « Opinion of the Scientific Committee on the Potential Risks arising from Nanoscience and Nanotechnologies on Food and Feed Safety ¹¹.

Les conclusions de l'ensemble ces réflexions soulignent l'insuffisance des données disponibles pour évaluer les risques associés aux nanoparticules dans l'alimentation en lien avec leurs propriétés particulières, et la nécessaire adaptation des méthodologies d'évaluation actuellement appliquées aux risques liés aux substances chimiques :

- insuffisance des études permettant d'analyser la toxicité par voie orale, la plupart des informations disponibles dérivant de la toxicité par inhalation ;
- besoin de méthodes pour la détection, quantification, suivi de ces nanoparticules dans les différentes matrices (pour approcher l'exposition) et dans l'organisme (pour la toxicocinétique notamment) ;
- modification des effets barrières à la pénétration des particules dans le corps et à leur circulation dans les organes.

Dans le champ de compétence de l'Afssa, la problématique des nanotechnologies est susceptible de concerner les médicaments à usage vétérinaire, les produits phytosanitaires, les produits relevant des nanotechnologies intentionnellement utilisés en alimentation humaine et animale, et l'exposition par voie alimentaire de nanoparticules présentes dans l'environnement.

Après consultation de l'Agence nationale du médicament vétérinaire (ANMV) et de la Direction du végétal et de l'environnement (DiVE) il apparaît qu'aucun médicament vétérinaire ou produit phytosanitaire relevant des nanotechnologies n'a été soumis à autorisation à ce jour en Europe.

De nombreuses lacunes subsistent sur la possibilité des nanoparticules à entrer dans la chaîne alimentaire comme contaminants de l'environnement : l'acquisition de données sur le comportement des nanoparticules dans les divers compartiments de l'environnement, ainsi que le développement de méthodes de détection et de quantification en routine dans l'environnement et les matrices alimentaires constituent un préalable à toute réflexion sur une éventuelle exposition de l'homme à travers la chaîne alimentaire.

¹¹ EFSA : The Potential Risks Arising from Nanoscience and Nanotechnologies on Food and Feed Safety1. 2009. Scientific Opinion of the Scientific Committee (Question No EFSA-Q-2007-124a)
http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Scientific_Opinion/sc_op_ej958_nano_en.0.pdf?ssbinary=true

Chapitre II : Tentative d'inventaire des produits issus des nanotechnologies dans l'alimentation humaine et animale

Dans le cadre de cet exercice, la démarche mise en œuvre pour tenter d'identifier des produits relevant des nanotechnologies s'est développée dans plusieurs directions :

- un point de situation sur les limites du cadre réglementaire actuel dans le champ alimentaire
- une recherche bibliographique et la consultation de plusieurs sites « d'inventaires » sur Internet
- la consultation de l'industrie au travers des interprofessions¹² de l'agroalimentaire pour mieux cerner la réalité du terrain.

2.1. Un encadrement réglementaire qui ne permet pas d'identifier les produits issus des nanotechnologies

Certaines catégories de produits/ingrédients font l'objet d'un encadrement réglementaire prévoyant une autorisation préalable subordonnée à une évaluation des risques à travers l'expertise d'un dossier industriel. Il n'est cependant pas possible d'identifier les produits commercialisés relevant des nanotechnologies à partir de notifications ou d'autorisations existantes en l'état actuel de l'ensemble de la réglementation dans le champ alimentaire.

En effet, les exigences actuellement prévues ne caractérisent pas la notion de taille particulière (*a fortiori* nanoparticulaire) comme un critère sensible et déterminant de l'autorisation.

Pour les substances réglementées, l'examen des dispositifs actuels d'autorisation au regard de la question des nanotechnologies permet de dégager les éléments suivants :

Selon la réglementation communautaire¹³ relative aux *additifs alimentaires pour alimentation humaine* (actuellement en révision), seuls les additif (édulcorants, colorants, conservateurs, etc...) préalablement autorisés et inscrits sur les listes officielles, après évaluation du risque, peuvent être utilisés. Les études d'innocuité nécessaires pour une demande d'autorisation de mise sur le marché d'un additif alimentaire couvrent tous les aspects de la toxicocinétique, du métabolisme, de la toxicologie et de la tolérance chez l'homme. Des critères spécifiques de pureté des additifs peuvent être repris dans des directives¹⁴ complémentaires. Parmi ces critères, il n'est pas usuel de renseigner la taille des particules. Pour quelques produits seulement (cellulose microcristalline, carraghénane, gomme arabique,...) la taille des particules fait l'objet de critères réglementaires spécifiques. Ainsi, peut être relevé l'exemple de la cellulose *microcristalline* dont la taille des particules ne doit pas être inférieure à 5 μm (et pas plus de 10 % des particules ne doivent avoir une taille inférieure à 5 μm).

¹² ANIA, Plasctics Europe France, FP2E, SAUR, SUEZ, Véolia Environnement.

¹³ Directive 89/107/CEE, harmonisation dans la CE, en matière d'additifs, établie sur la base de critères généraux décrits dans la directive. Directive 94/35/CE modifiée concerne les édulcorants ; Directive 94/36/CE concerne les colorants ; Directive 95/2/CE modifiée concerne les additifs alimentaires autres que les colorants et les édulcorants.

¹⁴ Directives 95/31/CE, 95/45/CE et 96/77 relatives aux critères de pureté applicables aux additifs alimentaires.

Aucun produit présenté comme issu des nanotechnologies ou de taille nanoparticulaire n'a jusqu'alors été évalué en tant qu'additif ou auxiliaire technologique¹⁵. Mais il convient de noter que des substances peuvent avoir été autorisées comme des additifs ou auxiliaires technologiques sous une forme conventionnelle et être depuis développées, commercialisées et utilisées dans l'alimentation sous forme nanoparticulaire sans obligation de nouvelle notification, évaluation ou autorisation préalable. Le dioxyde de silice (SiO₂) est autorisé comme additif alimentaire (E 551) mais des silices de taille nanométrique sont utilisées depuis longtemps dans l'alimentation pour leurs propriétés rhéologiques sous le même numéro d'additif (silices précipitée et silices pyrogénées par exemple). Il en est de même pour le dioxyde de titane (TiO₂) autorisé comme additif alimentaire (E171).

Le champ des *arômes alimentaires* est régi par un dispositif réglementaire communautaire, en cours de révision lui aussi. Ce dispositif prévoit l'évaluation des substances aromatisantes mais n'envisage pas explicitement de prise en compte de la taille particulière ou le développement de dispositif complexe de type encapsulation.

Concernant la situation des compléments alimentaires ou de l'enrichissement des aliments, à la difficulté précédemment évoquée s'ajoute l'absence actuelle de liste positive exhaustive de substances autorisées.

Le champ d'application du règlement (CE) n°258/97 relatif aux *nouveaux aliments ou ingrédients alimentaires* concerne entre autres «les aliments et ingrédients alimentaires auxquels a été appliqué un procédé de production qui n'est pas couramment utilisé, lorsque ce procédé entraîne dans la composition ou dans la structure des aliments ou des ingrédients alimentaires des modifications significatives de leur valeur nutritive, de leur métabolisme ou de leur teneur en substances indésirables». Le dispositif d'évaluation de la sécurité d'emploi des nouveaux aliments avant leur autorisation au cas par cas est très complet, notamment sur les aspects toxicologiques, toxicocinétiques et nutritionnels, à moins d'avoir démontré l'équivalence en substance avec un produit conventionnel. Cette réglementation dans sa formulation en vigueur peut recouvrir les développements de nanotechnologie dans les denrées alimentaires. Aucun aliment ou ingrédient n'a cependant jusqu'alors fait l'objet d'une évaluation au titre de l'approche « Novel Food » du fait d'une production sous forme nanotechnologique.

Ce règlement est en cours de révision. Dans le dernier projet dont l'Afssa a eu connaissance, il serait précisé de manière plus explicite qu'il s'appliquerait aux aliments relevant d'un nouveau procédé de production, *tel que les nanotechnologies et nanosciences*, lorsque ce procédé de production donne lieu à des changements significatifs dans la composition ou la structure de l'aliment qui affectent sa valeur nutritive, son métabolisme ou le niveau de substances indésirables. Si cette précision paraît intéressante, les modalités de mises en œuvre (comment s'assurer de l'absence de changements sans évaluation d'études dédiées ?) et l'articulation entre ce texte « Novel Food » et les textes

¹⁵ Auxiliaires technologiques = réglementation nationale

régissant les additifs, arômes, compléments alimentaires et enrichissement n'apparaissent pas encore très claires au regard des développements possibles dans le champ alimentaire.

Dans le champ du *conditionnement au contact de l'aliment*, des difficultés similaires sont rencontrées. La réglementation communautaire permet d'encadrer l'autorisation d'emploi de substances entrant dans les matériaux au contact des aliments, cependant les matériaux intelligents ou actifs, qui constituent la niche privilégiée d'applications potentielles des nanotechnologies, sont évoqués dans une réglementation cadre sans déclinaison à ce jour de modalités particulières d'évaluation.

Dans le dispositif réglementaire actuel, le développement des nanotechnologies dans le champ alimentaire s'avère en conséquence beaucoup plus difficilement contrôlable que dans le champ des médicaments (qui prévoit une évaluation bénéfice/risque de chaque préparation et de ses composants, dans son conditionnement de commercialisation).

Ce n'est que tout récemment, dans le contexte général des diverses réflexions engagées sur les nanotechnologies, que l'AESA a explicitement considéré l'évaluation de certains produits au regard de la taille nanoparticulaire :

- Hydrosol d'argent : en réponse à une demande de la Commission, l'AESA a adopté le 26 novembre 2008 une opinion scientifique (rendue publique le 17 décembre 2008) évoquant l'insuffisance des données pour l'évaluation des nanoparticules d'un hydrosol d'argent au titre de la directive 2002/46/EC relative aux compléments alimentaire (voir paragraphe 2.2).
- Lycopène synthétique : l'AESA précise, dans son avis du 10 avril 2008, que les trois formulations évaluées en tant que « Nouvel aliment » ne correspondent pas à la définition de nanoparticules (voir paragraphe 2.2)
- Nitrite de titane (TiN) nanoparticulaire : évalué par l'AESA comme additif dans du polyéthylène téréphtalate (PET) pour bouteille au contact d'aliments liquides (opinion du 27 novembre 2008 rendue publique le 16 décembre 2008) (voir paragraphe 2.2).

2.2. Alimentation humaine

L'inventaire des produits issus de cette nouvelle technologie est essentiellement le fruit de données provenant de moteurs de recherche scientifiques et publics incluant la littérature grise. Parmi les sites consultés peuvent notamment être cités : « Nanotechnology consumer products Inventory¹⁶ », « Project on emerging nanotechnologies de Woodrow Wilson International Center for Scholars¹⁷ », « Nanotechnologies for Food and Beverages (2007)¹⁸ ».

Cette étude s'est focalisée sur les structures nanométriques délibérément produites ou utilisées pour des propriétés nouvelles (nanoparticules manufacturées) et non sur les structures existant naturellement à l'échelle nanométrique (cristal, micelle par exemple) ou sur les contaminants.

¹⁶ <http://www.nanotechproject.org/>

¹⁷ www.nanotechproject.org

¹⁸ <http://www.researchandmarkets.com/reports/357299>

Dans le champ de la nutrition, la diversité des produits relevés sur Internet, associant souvent des allégations de santé ou une meilleure biodisponibilité au concept de nanotechnologie, paraît relever d'un positionnement d'accroche commerciale plus souvent que d'une réalité technologique ou de mise sur le marché, sans vérification possible toutefois. A cet égard, il est intéressant de noter que les interrogations grandissantes au niveau international sur les risques liés aux nanotechnologies se sont traduites par la disparition de la référence à ces technologies sur certains supports de communication ; ces évolutions pourraient conduire à ne pas déclarer le caractère nanoparticulaire de certains ingrédients.

Selon l'ANIA et les premières réflexions au sein du CIAA, le champ des nanotechnologies ne peut actuellement être considéré comme une réalité commerciale pour ce qui concerne les denrées elles-mêmes, mais il est l'objet de recherches et de développements dans certains secteurs comme l'encapsulation, les matériaux de conditionnement ou de revêtement de surface. La faiblesse des techniques de détection et de caractérisation, le manque de données toxicologiques par voie orale, les impacts possibles sur l'absorption, ainsi que les possibles évolutions réglementaires et les interrogations qui leurs sont liées sont autant d'éléments conduisant à un positionnement prudent des industries agroalimentaires vis-à-vis de formulations de denrées intégrant les nanotechnologies.

Si les consultations de sites Internet font apparaître de nombreux produits présentés comme relevant des nanotechnologies, la réalité commerciale de tels produits dans l'alimentation n'est pas vérifiable, à l'instar des conclusions des investigations d'autres instances européennes (AESAs, Agence Irlandaise¹⁹ ou BfR²⁰ par exemple).

Quelques exemples illustratifs sont présentés ci-après.

Cas du Lycopène

Le lycopène (E 160d) extrait de tomates est autorisé en tant que colorant alimentaire à la dose maximale de 100 mg/kg. Le lycopène obtenu de sources naturelles a été évalué au niveau européen par le Scientific Committee on Food (SCF, 1989) et au niveau international par le Joint FAO/WHO expert committee on food additives (JECFA) (WHO, 1978). Aucun de ces deux comités n'avaient alors pu établir de dose journalière admissible (DJA) pour le lycopène. Toutefois l'emploi de ce lycopène extrait de tomates en tant que colorant alimentaire avait été considéré comme acceptable à condition que l'exposition liée à cet emploi ne diffère pas significativement de celle liée à la consommation des aliments en contenant naturellement.

Par la suite, d'autres usages du lycopène ont été développés pour ses propriétés anti-oxydantes et ont fait l'objet d'évaluations successives en Europe en tant que nouvel ingrédient (selon la procédure réglementaire « Novel food ») : lycopène obtenu par fermentation à partir de *Blakeslea trispora* sous forme de suspension huileuse contenant de l' α -tocopherol, lycopène issu l'oléorésine concentrée

¹⁹ Food Safety Authority of Ireland

²⁰ Bundesinstitut für Riskobewertung, Allemagne

extraite de tomates, lycopène obtenu sous forme cristalline par synthèse chimique et intégré dans 3 formulations (deux poudres et une dispersion).

Plusieurs avis ont été rendus sur ces produits à la fois par l'Afssa (notamment avis du 8 janvier 2007, avis du 30 avril 2008) et l'AESA (« opinion on safety of synthetic lycopene » 10 avril 2008).

L'AESA a ainsi établi en 2008, sur la base des dernières études toxicologiques, une DJA de 0,5 mg/kg pc/jour applicable en principe au lycopène de toutes sources, cohérente avec la DJA établie par le JECFA en 2006 pour certaines sources.

Les préoccupations/interrogations exprimées jusqu'alors par l'Afssa sur ces diverses sources de lycopène concernent essentiellement les biodisponibilités comparées de ces diverses sources en lien notamment avec leur composition isomérique et les effets matrices de leurs formulations, les usages allégués et les risques liés à une exposition excessive du consommateur, ainsi que les questionnements sur un possible effet promoteur du lycopène à niveau d'apport élevé dans un contexte d'exposition à des cancérigènes environnementaux.

Concernant l'évocation de la nature nanoparticulaire du lycopène, régulièrement recensée comme telle sur divers sites Internet, les précisions suivantes peuvent être apportées :

- Dès 2005, le lycopène issu de la synthèse chimique par BASF a fait l'objet d'une notification GRAS (Statut « Generally Recognized As Safe ») par la FDA ²¹ comme ingrédients de diverses denrées alimentaires commercialisées aux USA. Les documents accessibles évoquent une microencapsulation de particules de lycopène, sans qu'il puisse être clairement établi si le lycopène en question est sous forme «conventionnelle» ou nanoparticulaire.
- Une publication de BASF (Wegmann *et al.*, 2002)²² présente une méthode analytique pour caractériser le lycopène nanoparticulaire ; sur son site, BASF²³, a indiqué que le lycopène synthétique dispersible sous forme de nanoparticules augmentait sa biodisponibilité, mais les études correspondantes ne sont cependant pas accessibles.
- Dans son dernier avis du 10 avril 2008 sur la sécurité du lycopène synthétique (Nouvel ingrédient déposé par BASF pour trois formulations) l'AESA rappelle les observations formulées par les Etats membres sur le fait que le lycopène synthétique est souvent considéré comme le premier ingrédient commercialisé sous forme nanoparticulaire. L'avis de l'AESA souligne cependant que selon le pétitionnaire, les formulations présentées ne tombent pas sous la terminologie de nanoparticules. Le *Lycopène 10 %* et le *Lycopène 10 CWD dispersible dans l'eau froide* et le *Lycopène en dispersion dans l'huile* sont constitués de poudres de granulométrie supérieure à 100 micromètres, à base de particules de lycopène de 300 nanomètres environ, recouvertes d'une matrice de gélatine et sucrose.

²¹ Notification de la FDA, Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN 000119, CFSAN/Office of Food Additive Safety, April 7, 2005. Disponible à l'adresse : <http://vm.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-g119.html>

²² Wegmann J., Krucker M., Bachmann S., Fischer G., Zeeb D., Lienau A., Glaser T., Runge F., Lüddecke E., and Albert K. (2002), Characterization of lycopene nanoparticles combining solid-state and suspended-state NMR spectroscopy. J Agric Food Chem. 18; 50(26):7510-7514

²³ www.corporate.basf.com/en/innovationen/felder/nanotechnologie

Cet exemple du lycopène, ingrédient classiquement associé au développement des nanotechnologies en agroalimentaire, illustre parfaitement les difficultés rencontrées pour identifier précisément la présence d'ingrédients sous forme nanoparticulaire dans les denrées alimentaires et pour en faire l'évaluation.

Cas de l'hydrosol d'argent :

En réponse à une demande de la Commission, l'AESA a adopté le 26 novembre 2008 une opinion scientifique (rendue publique le 17 décembre 2008) sur l'évaluation d'un hydrosol d'argent au titre de la directive 2002/46/EC relative aux compléments alimentaire. L'AESA a été interrogée sur la sécurité et la biodisponibilité de cette présentation : suspension colloïdale aqueuse de particules d'argent de 0,8 nanomètre. L'AESA a estimé que les données produites par le pétitionnaire étaient insuffisantes pour caractériser le risque de cette forme nanoparticulaire (insuffisance des données toxicologiques et absence de données de biodisponibilité). Il a été considéré qu'en l'état actuel, les données et connaissances sur l'ion argent ne pouvaient pas être utilisées pour établir la sécurité d'emploi de l'hydrosol d'argent.

Thé vert : une entreprise chinoise commercialiserait un thé, présenté comme riche en sélénium et fabriqué selon un procédé breveté, qui permettrait la formation d'une poudre de thé de granulométrie inférieure à 100 nanomètres. Ce produit revendique une meilleure biodisponibilité des substances bénéfiques pour la santé présentes dans le thé.

Substituts de repas à base de soja et de protéines végétales : ces produits présentés comme relevant des nanotechnologies, sont essentiellement disponibles par correspondance sur site Internet.

Compléments alimentaires : de nombreux compléments alimentaires présentés comme relevant de nanotechnologies sont commercialisés notamment aux USA, avec diverses allégations santé ou s'appuyant sur une meilleure biodisponibilité. Cette situation est identifiée comme préoccupante par des groupes consommateurs aux USA, les compléments alimentaires n'étant pas évalués par la FDA pour leur sécurité et leur efficacité avant mise sur le marché, contrairement aux médicaments²⁴.

Encapsulation : l'encapsulation sous forme nanoparticulaire fait l'objet de recherche et de développement, dans le champ des arômes notamment mais aussi de diverses autres substances ou nutriments, à des fins de modification organoleptique, de protection de molécules fragiles (ex : protection contre l'humidité et l'oxygène ; Hambleton *et al.*, 2007)²⁵ ou de contrôle de la libération dans l'aliment ou l'organisme.

²⁴ article scheduled for the Feb. 9 online issue of Chemical & Engineering News, American Chemical Society' weekly newsmagazine.

²⁵ Hambleton A. Debeaufort F. Voilley A. (2007). Encapsulation in Emulsion Based-Edible Of Aroma Active Compound For Its Protection Against Moisture And Oxygen. (ENSBANA) Travaux présentés au congrès « Second International Symposium on the Delivery of Functionality in Complex Food Systems », University of Massachusetts, Amherst, MA. du 8 au 10 octobre 2007.

Ce principe serait utilisé en Australie dans un pain enrichi en acides gras oméga-3 issus d'huile de poisson encapsulés, pour une libération au niveau de l'estomac, permettant de masquer le goût de poisson des oméga-3 ajoutés²⁶.

Diverses technologies d'encapsulation sont au stade de recherche ou de développement telles que : micelles nanoparticulaires d'acide alpha lipoïque pour une meilleure solubilité et biodisponibilité ; technologie NLC (Nanostructural Lipid Carrier) permettant l'incorporation sous forme de colloïdes de bêta-carotène dans des systèmes dispersibles aqueux ; technologie NSSL (Nano-sized Self-assembled Structured Liquids)²⁷, qui fait appel à des micelles d'un diamètre d'environ 30 nanomètres pour le transport de substances hydrophobes encapsulées comme les phytostérols, le lycopène, la β -carotène, la lutéine ou encore des coenzymes Q10 (ou ubiquinone).

Une huile de canola²⁸, enrichie en phytostérols libres encapsulés dans des micelles formées grâce au procédé NSSL, serait commercialisée avec l'allégation d'une réduction optimisée du taux de cholestérol.

D'autres recherches sont menées par exemple sur des nanoparticules à cœur lipidique (Relkin *et al.* 2007)²⁹, sur des nanocapsules comme les lipoprotéines de jaune d'œuf (gouttelettes d'huile entourées de films de protéines et de lécithines), sur la gomme d'Acacia comme support naturel d'encapsulation (Francis Thévenet³⁰, 2006) ou encore sur des nanotubes à base d'alpha-lactalbumine (protéine du lait) de diamètre de 20 nm et de cavité de 8 nm³¹.

Les nanocapsules pourraient être vectorisées (adressage intelligent) et ne libérer les molécules transportées qu'au niveau de l'organe cible.

Une part importante des applications alléguées pour les produits alimentaires est en relation avec un renforcement des effets nutritionnels escomptés, que ce soit par une meilleure absorption, une modification de solubilisation, de cinétique de diffusion ou une vectorisation vers des organes cibles... L'influence de la taille des particules d'une poudre sur l'absorption et la biodisponibilité est bien connue et largement développée notamment dans le champ du médicament. Cependant les modifications notoires de comportement dans l'organisme évoquées pour des nutriments ou des substances actives nanoparticulaires imposent une attention toute particulière pour les évaluations de risques associées. En effet, au-delà de l'impact potentiel de telles modifications sur les caractéristiques toxicologiques des substances (voir chapitre 3), ce sont tous les référentiels d'apports nutritionnels qui sont susceptibles d'être affectés : une quantité donnée de nutriment nanoparticulaire ne paraît pas pouvoir être rapprochée, sans étude préalable approfondie, d'une dose nutritionnelle de référence établie pour une forme « conventionnelle ».

²⁶ La description du produit est disponible à l'adresse : Ronald J.Versic, "Flavor Encapsulation: An Overview," sur Internet : <http://www.rtdodge.com/flowrvw.html> (16 juillet 2004). Cité dans le rapport : ETC Group releases Down on the Farm : The Impact of Nano-Scale Technologies on Food and Agriculture (2004).

²⁷ www.nutrarelease.com

²⁸ appellation canadienne d'une variété de Colza

²⁹ Relkin P. Jung JM., Ollivon M. Structure Behaviour of Fat Globules in Protein-Stabilised Emulsions and Impact On Vitamin Stability (AgroParisTech, CNAM, INRA). Travaux présentés au congrès «Second International Symposium on the Delivery of Functionality in Complex Food Systems», University of Massachusetts, Amherst, MA. du 8 au 10 octobre 2007.

³⁰ Thévenet F. (2006). Gomme d'Acacia, support naturel d'encapsulation en alimentaire. Colloïdes Naturels International (CNI). Symposium, ENSIA, MASSY «nano et microencapsulation : du laboratoire au produit fini».

³¹ Richard S. (2007). Nanotechnologie des promesses de taille. RIA 683, p. 37.

2.3. Matériaux au contact des denrées alimentaires (MCDA)

Dans le domaine des MCDA certaines propriétés nouvelles et spécifiques ne peuvent être atteintes que par l'assemblage maîtrisé de briques élémentaires nanométriques (monomères, polymères, nanoparticules/nanotubes, nanoclusters, etc...), communément dénommées NBB (NanoBuilding Blocks). Ainsi, pour les MCDA, les nanoparticules sont rarement en contact direct avec l'aliment mais généralement enrobées dans des liants ou matrices polymère pour former des nanocomposites ou revêtements.

L'utilisation de nanoparticules dans les MCDA peut conférer aux matériaux des propriétés particulières : renfort, transparence, solidité, effet barrière, protection UV avec les objectifs suivants ³² :

- augmentation des propriétés barrière (CO₂, O₂, H₂O) des matériaux existants
- substitution de structures multicouches par un nanomatériau (intérêt en termes de recyclabilité³³ ou plus généralement, de respect de l'environnement)
- modification des propriétés de surface par nanostructuration (généralement par addition de nanoparticules) et obtention de propriétés interfaciales telles que :
 - résistance à la rayure ;
 - contrôle de la mouillabilité (surfaces hyper-hydrophobes) ;
 - surfaces auto-nettoyantes (par effet photocatalytique) ;
 - caractère antimicrobien.

La littérature est abondante dans le domaine des nanomatériaux, notamment pour les applications antibactériennes ou de matériaux barrières qui ont fait l'objet d'importants efforts de recherche et de développement industriels ces dernières années.

Les références d'une dizaine de produits industriels impliquant l'exploitation des nanotechnologies ont été relevées dans la littérature : revêtement de réfrigérateur, emballages, planche de coupe, film, voire produits de nettoyage. Toutefois, dans ce domaine également, la distinction précise entre stade avancé de développement/recherche ou commercialisation/utilisation effective de produits en Europe dans les industries agroalimentaires reste difficile (absence d'enregistrement, de déclaration, insuffisance d'information fiable).

Matériaux antimicrobiens

Des applications antimicrobiennes se sont principalement développées avec des nanoparticules métalliques (argent, zinc, cuivre essentiellement) ; l'utilisation de l'ion argent apparaît la plus fréquente. Les matrices d'oxydes de métaux sont introduites au sein de divers matériaux (polymère, fibres textiles, papier). La libération de substances biocides pourrait être contrôlée par différents

³² Fink D., Rojas-Chapana J., Petrov A., Tributsch H., Friedrich D., Küppers U., Wilhelm M., Yu Appel P., Zrineh A. (2006). The Artificial Ostrich Eggshell Project: Sterilizing Polymer Foils for Food Industry and Medicine', Solar Energy Mater. & Solar Cells, 90, 1458.

³³ Un matériau multi-couches est généralement constitué de plusieurs polymères différents. Cette variété de matière rend difficile le recyclage usuellement spécifique d'un type de polymère. La nanotechnologie permettrait de réduire le nombre de couches jusqu'à une seule couche de polymère tout en conservant les mêmes propriétés de sélectivités.

processus tels que la modification du rapport silice/biocide, l'ajout d'additifs (alkylsilane) qui changent la porosité ou encore l'ajout de substances formant un complexe avec les biocides³⁴.

Les revendications avancées par les industriels lors du développement et de la commercialisation de tels revêtements recouvrent la modification des propriétés physico-chimiques des surfaces afin de faciliter le nettoyage, la limitation de l'adhésion des souillures, la limitation et le développement de biofilms bactériens et l'inhibition ou l'élimination des bactéries sur les surfaces ou les aliments au contact avec ces matériaux.

Parmi les applications retrouvées sur Internet, évocatrices de nanomatériaux antimicrobiens, peuvent être cités:

- des films transparents commercialisés depuis 2005 dans lesquels des nanoparticules d'argent sont incorporées (Kodak) ;
- des réfrigérateurs dont la cuve intérieure est constituée de plastique enrichi en nanoparticules d'argent (LG Electronics et Samsung) ;
- un buvard contenant des zéolites pour les barquettes alimentaires afin de limiter la prolifération bactérienne et absorber les exsudats de la viande, allongeant ainsi la limite de conservation de 1 à 3 jours ;
- un matériau en polyuréthane contenant des particules d'argent (100 mg/100 cm²) libérant 70 ppm d'ions Ag, associant de la chlorhexidine. (Landsdown, 2006)³⁵.

L'AESA a rendu en 2005 des avis sur des formulations d'argent (Zéolite notamment) destinées à être introduites dans des matières plastiques au contact alimentaire. Ces avis scientifiques n'évoquent pas le caractère nanoparticulaire des composés évalués (voir annexe).

Si l'argent est connu pour ses propriétés antimicrobiennes, le mode d'action des nanoparticules d'argent, particulièrement au sein de matériaux comme des polymères, est cependant encore mal connu. Il existe peu d'études fiables et elles sont parfois contradictoires.

Matériaux barrières

L'intérêt de ces nanomatériaux (ou plus simplement des nanocomposites issus de l'addition de nanoparticules de fort facteur de forme – rapport entre plus grande et plus faible dimension) réside dans leur capacité à donner des effets de tortuosité (figure 1.a.) et à modifier la perméabilité aux gaz et aux vapeurs, emprisonnés dans un labyrinthe en zigzag. Cet effet est en effet combiné avec des orientations en nanofeuillets perpendiculairement aux chemins de diffusion.

³⁴ Haufe H. , Thron A., Fiedler D., Mahltig B., Böttcher H. (2005). Biocidal nanosol coatings, Surface Coatings International Part B : Coatings transaction, 88, B1, 55-60.

³⁵ Landsdown ABG., (2006). Silver in health care : antimicrobial effects and safety use. Curr. Probl. Dermatol., 33, 17-34.

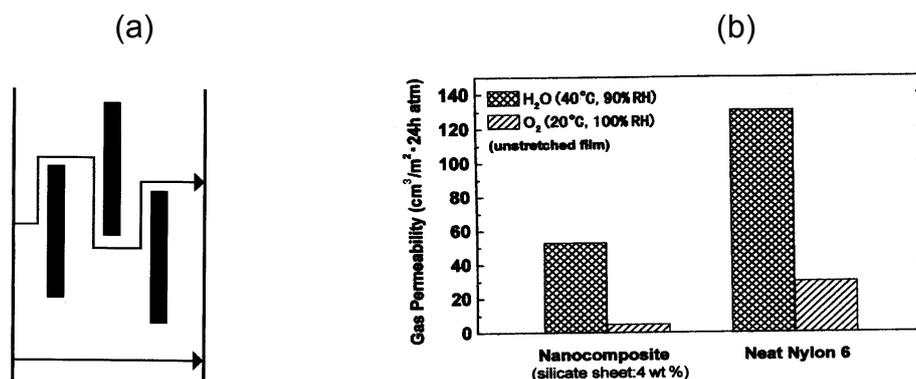


Figure 1 (a) Schéma de principe de la modification de tortuosité dans les chemins de diffusion à travers une membrane de polymère modifiée par des nanofeuillets (facteur de forme élevé) ; (b) Perméabilité à l'oxygène de films de polyamide 6 et d'un nanocomposite PA6 – argile de type montmorillonite organophile (4% en pds)³⁶.

Divers types de polymères ont été modifiés par des nanoparticules (essentiellement des nanofeuillets d'argiles organophiles, c'est-à-dire modifiés avec des ammoniums quaternaires porteurs de groupements organiques permettant la compatibilité avec la matrice polymère par exemple C₁₈, phényle, etc...) (figure 1.b.). Ces polymères modifiés sont soit conventionnels soit biodégradables (polyacide lactique (PLA) ou polycaprolactone (PCL). On trouve également des revêtements qui pourraient répondre aux fonctions conventionnelles (imprimabilité, comportement mécanique) mais aussi à des propriétés supplémentaires comme la perméabilité...³⁷. L'intérêt de modifier la perméabilité des polymères réside en l'augmentation de la durée de conservation des aliments. Bayer a ainsi développé un film de polyamide contenant des nanoparticules de silice (Durethan®), avec amélioration des propriétés barrière et mécanique du film.

Des travaux de recherche sont par ailleurs menés sur l'association de nanoparticules d'argiles et d'amidon de blé pour la fabrication de papiers au contact des aliments capable d'absorber le gaz carbonique (Université de Montpellier II)³⁸.

Matériaux intelligents

Des applications incluant des nanotechnologies sont développées dans le cadre des matériaux intelligents. On entend par matériau intelligent, tout composant ou objet conçu pour développer une interaction avec l'aliment ou son environnement immédiat, permettant de suivre les conditions de conservation (ex : couple temps/température) ou de détecter certaines substances indicatrices de la qualité microbiologique ou organoleptique d'une denrée alimentaire.

Parmi les applications développées, on trouve des systèmes de détection basés sur la mise en œuvre de nanoobjets ou nanoparticules. Des bio-indicateurs miniaturisés sont d'ores et déjà en cours de développement pour détecter rapidement *in situ* (sans transfert d'échantillons au laboratoire) des contaminants, des toxines ou des agents pathogènes dans l'aliment. Ces outils sont incorporés directement dans l'emballage contenant l'aliment et ainsi permettent de suivre l'évolution de la qualité du produit pendant le transport, le stockage voire jusqu'au moment de la consommation.

³⁶ Yasue K., Katahira S., Yoshikawa M., Fujimoto K., (2000). In-Situ Polymerization Route to Nylon 6-Clay Nanocomposites', Chap. 6, in 'Polymer-Clay Nanocomposites', Wiley & Sons Ed., Ed. T.J. Pinnavaia, G.W. Beall.

³⁷ Burgentzle D. (2003). Nouvelles formulations thermoplastiques ou réactives de revêtements nanocomposite à base de silicates lamellaires, Thèse INSA Lyon.

³⁸ L'USINE NOUVELLE du 04/05/2006, n° 3008, 1 / p43.

Quelques exemples d'applications ou de développements peuvent être cités:

- le système BioSwitch® développé par le TNO (Netherland Organisation for Applied Scientific Research) initialement pour des emballages actifs. Il consiste à relarguer un agent antimicrobien à lorsque la charge microbienne devient trop importante (l'amylase sécrétée par les bactéries dégrade la capsule de biopolymère permettant de libérer la substance biocide) ;
- la technologie de la «langue électronique» développée par Kraft Food, en lien avec les universités américaines du Connecticut et de Rutgers. Elle consisterait en un capteur qui change de couleur par réaction à la présence, de l'ordre d'une partie par trillion, de substances issues de pathogènes ou de la dégradation de la denrée ;
- un biocapteur développé aux Etats-Unis qui détecterait *Listeria monocytogenes* en moins de 24 heures ;
- un capteur d'arômes intégré à l'étiquette qui changerait de couleur en fonction du degré de maturité des fruits (vire du rouge au jaune en passant par l'orange, éventail qui correspond à un fruit croquant, ferme ou juteux).

Matériaux biodégradables

Les nanotechnologies peuvent être employées dans les MCDA pour améliorer le caractère biodégradable des polymères.

Ainsi, Ray et Bousmina (2005)³⁹ expliquent que l'introduction de nanoparticules de montmorillonite dans le PLA accélère sa dégradation enzymatique par diminution de la cristallinité (une structure amorphe est plus facile à dégrader). De plus, cette dégradation enzymatique serait renforcée par l'effet catalytique de certains groupements portés par les ammoniums quaternaires des montmorillonites modifiées.

Données pertinentes dans l'évaluation du risque matériau en contact

Le seul exemple d'évaluation européenne de dossier industriel clairement identifié comme relevant des nanotechnologies est le Nitrite de titane (TiN) nanoparticulaire pour usage comme additif dans du polyéthylène téréphtalate (PET) pour bouteille au contact d'aliments liquides : l'AESA dans son opinion du 27 novembre 2008 (publiée le 16 décembre 2008) a estimé qu'en l'absence de toute migration à travers les simulants conventionnels et les modèles de diffusion, il n'était pas requis de données toxicologiques pour cette application.

³⁹ Ray SS. and Bousmina M. Biodegradable polymers and their nanolayered silicate nanocomposites : In greening the 21th century materials world. Progress in Materials Science 50 (2005) 962-1079

De manière générale, il apparaît nécessaire pour l'évaluation de telles applications MCDA d'être vigilant sur :

- le vieillissement et le cycle de vie des nanomatériaux considérés,
- les mécanismes potentiels de contamination de l'aliment par les nanoparticules, qui peuvent s'envisager autrement que par une migration classique de type fickienne,
- la possible migration d'additifs utilisés dans le procédé de préparation des nanomatériaux (par exemple migration des ammoniums quaternaires présents initialement sur les argiles organophiles de nanocomposites) ;
- l'adaptation aux nanomatériaux d'un niveau de migration théorique à partir duquel des études toxicologiques seraient requises,
- l'induction lors du processus d'élaboration des matériaux d'effets d'interface exacerbés (adsorption aux interfaces des additifs, mécanismes de dégradation des additifs, des liants/résines polymères, composés néoformés etc...).

2.4. Alimentation animale

Rien ne permet d'exclure le développement futur de nanotechnologies appliquées à l'alimentation animale à des fins nutritionnelles ou zootechniques. Les interrogations légitimes en terme de sécurité sanitaire, au-delà de la démonstration de l'efficacité, rejoindraient celles formulées pour l'alimentation humaine (toxicologiques, cinétiques notamment).

A ce jour, la seule application recensée de nanotechnologies en alimentation animale concerne le développement d'argiles. Les argiles ont fait l'objet de travaux de recherches^{40, 41, 42, 43}, y compris chez l'homme pour réduire la toxicité des aflatoxines. Le principe des adsorbants de toxines est basé sur le fait que la taille du complexe «argile-toxine» formé ne permet plus à cette dernière d'être absorbée dans le tractus digestif. Ainsi, une part importante des toxines ingérées est donc excrétée dans les fécès ce qui limite non seulement leur effet délétère sur les animaux mais aussi le transfert de ces toxines ou de leurs métabolites dans les produits animaux (lait, viande, œufs,...).

Un produit à base d'argiles⁴⁴, recensé comme appartenant au domaine des nanotechnologies, a pu être identifié en alimentation animale. Ce produit commercialisé notamment aux Etats Unis et en Asie en tant que prémélange d'additifs par la société OLMIX n'a pas été évalué jusqu'alors en France ou au niveau communautaire.

Il s'agit d'un produit constitué d'une structure cristalline sous forme d'empilement lamellaire, résultant d'une transformation de la structure d'une argile, la bentonite/montmorillonite, avec des extraits

⁴⁰ Wang JS. *et al.* Short-term safety evaluation of processed calcium montmorillonite clay (NovaSil) in humans. (2005). *Food Addit Contam.* 22(3):270-9.

⁴¹ Evans Afriyie-Gyawu (2004). Safety and efficacy of NOVASIL Clay as a dietary supplement to prevent aflatoxicosis. Doctor of Philosophy (PhD) Submitted to the Office of Graduate Studies of Texas A&M University.

⁴² Afriyie-Gyawu E. *et al.* (2005). Chronic toxicological evaluation of dietary NovaSil clay in Sprague-Dawley rats. *Food Addit Contam.* 22(3):259-69.

⁴³ Wiles M., Huebner H., Afriyie-Gyawu E., Taylor R., Bratton G., Phillips T. (2004). Toxicological evaluation and metal bioavailability in pregnant rats following exposure to clay minerals in the diet. *J Toxicol Environ Health A.* 11;67(11):863-74.

⁴⁴ Feed. Mix. (2006). *The International Journal On Feed, Nutrition and Technology*, 14, 3, 1-3.

d'algues vertes (ulvanes). L'espace inter-lamellaire entre deux feuillets d'aluminosilicate, d'environ 1 nanomètre, serait élargi à 10 nanomètres par réaction avec les ulvanes. En éclatant la structure de l'argile et en intercalant les extraits d'algues vertes entre les feuillets, les propriétés physiques de l'argile sembleraient être renforcées. La société revendique l'efficacité de ce produit dans la captation de l'humidité et des toxines. Plus l'espace entre ces feuillets est grand, plus le matériau peut absorber des composés comme les mycotoxines et autres toxines alimentaires de grande taille.

En l'absence d'évaluation de ce produit, il ne peut être statué sur son efficacité sur les mycotoxines. Néanmoins, ce type d'application soulève plusieurs types de questions qui méritent d'être étudiées, notamment :

- du fait de leur pouvoir adsorbant élevé, leur permettant de capter les mycotoxines, ces produits sont susceptibles d'interagir avec des micronutriments (vitamines, oligoéléments...) de l'aliment, voire d'en diminuer la biodisponibilité, avec un risque de déséquilibre de la ration pour l'animal,
- la présence potentielle dans les argiles de contaminants naturels de type métaux lourds, dioxines.

Le dispositif réglementaire européen actuel d'évaluation/autorisation des additifs pour l'alimentation animale n'envisage pas de distinction particulière des produits au regard de leur taille particulière. Comme pour les additifs à usage humain, le cadre réglementaire actuel ne permet donc pas de distinguer le développement nanoparticulaire d'un additif « conventionnel » déjà évalué et autorisé par ailleurs, et donc de s'assurer de son innocuité.

Le cas des argiles est singulier car l'apparition sur le marché européen de tels produits en alimentation animale a fait émerger l'inadéquation de la réglementation actuelle des additifs : il n'existait pas jusqu'alors d'additif autorisé ayant pour objectif l'atténuation d'effets toxiques liés à la contamination des matières premières par des mycotoxines ; le règlement (CE) n°1831/2003 relatif aux additifs destinés à l'alimentation animale ne comporte pas par ailleurs de groupe fonctionnel, dans la catégorie des additifs technologiques, permettant l'utilisation de telles allégations.

Des réflexions sont en cours au niveau de la Commission européenne pour créer une nouvelle catégorie pour ces additifs, afin d'encadrer réglementairement leur mise sur le marché.

Sollicitée en appui technique sur l'opportunité de cette évolution réglementaire, l'Afssa a souligné dans son avis du 30 octobre 2008 la nécessité de porter une attention particulière aux produits « détoxifiants » de mycotoxines relevant de nouvelles technologies, nanotechnologies notamment.

Une simple argile (Bentonite/Montmorillonite) autorisée comme additif en alimentation animale en tant que liant (E 558) et une argile intégrée dans une technologie complexe relevant de nanotechnologie devraient faire l'objet d'une évaluation et d'une autorisation distinctes.

Chapitre III : Données toxicologiques disponibles

Il n'existe pas, à l'heure actuelle, d'étude épidémiologique publiée portant sur l'exposition et les risques sanitaires liés aux nanoparticules, à l'exception de celles réalisées avec les particules ultra fines (Englert N 2004⁴⁵, Oberdörster G 2005⁴⁶). Elles mettent principalement en évidence une toxicité pulmonaire chronique à type de maladies obstructives respiratoires ; les risques cardio-vasculaires et les risques de cancers sont peu ou pas documentés (Delfino RJ 2005⁴⁷).

Plusieurs rapports ou publications donnent une synthèse des travaux de la littérature sur la toxicité des nanoparticules (NIOSH⁴⁸, BfR 2007⁴⁹, FDA 2007⁵⁰, SCENIHR 2007a⁵¹, Donaldson K et al. 2005, 2006⁵², Oberdörster G et al. 2005). L'Afsset a rendu 2 rapports, en 2006 et en 2008, sur la toxicité des nanomatériaux dans l'environnement et au travail. L'AESA (2009)⁵³, la FSA⁵⁴ et la FSAI (2008)⁵⁵, le RIKILT/ RIVM (2007)⁵⁶ ont rendu des rapports orientés vers les risques liés aux nanotechnologies dans l'alimentation.

Il n'est pas dans les objectifs de ce rapport de procéder à une nouvelle revue de la toxicité des nanoparticules. A titre indicatif quelques publications et travaux illustratifs peuvent être mentionnés.

La toxicité des nanoparticules sur des cultures de cellules humaines ou animales a été largement étudiée mais les doses utilisées sont généralement très supérieures aux expositions humaines potentielles.

⁴⁵ Englert N., 2004 1. Fine particles and human health – a review of epidemiological studies. *Toxicol Lett* 149 (1-3): 235-42

⁴⁶ Oberdörster G, Oberdörster E, Oberdörster J., 2005. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect.* 113(7):823-39

⁴⁷ Delfino RJ, Sioutas C, Malik S, 2005. Potential role of ultrafine particles in associations between airborne particle mass and cardiovascular health. *Environ Health Perspect* 113(8): 934-46

⁴⁸ NIOSH Approaches to Safe Nanotechnology

<http://www.cdc.gov/niosh/topics/nanotech/safenano/healthconcerns.html>

⁴⁹ BfR 2007. Nanotechnology: Health and environmental risks of nanomaterials – Research Strategy

http://www.bfr.bund.de/cm/290/nanotechnology_health_and_environmental_risks_of_nanomaterials_research_strategy_final_version.pdf

⁵⁰ FDA, 2007. Nanotechnology. A Report of the U.S. Food and Drug Administration Nanotechnology Task Force

<http://www.fda.gov/nanotechnology/taskforce/report2007.pdf>

⁵¹ SCENIHR 2007a (Scientific Committee on Emerging or Newly-Identified Health Risks), 21-22 June 2007, The Appropriateness of the Risk Assessment Methodology in Accordance with the Technical Guidance Documents for New and Existing Substances for Assessing the Risks of Nanomaterials, at

http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihr/docs/scenihr_o_010.pdf

⁵² Donaldson K, Tran L, Jimenez LA, Duffin R, Newby DE, Mills N, MacNee W, Stone V, 2005. Combustion-derived nanoparticles: a review of their toxicology following inhalation exposure. *Part Fibre Toxicol.* 2:10.

Donaldson K. 2006. Resolving the nanoparticles paradox. *Nanomed.* 1(2):229-34.

⁵³ EFSA : The Potential Risks Arising from Nanoscience and Nanotechnologies on Food and Feed Safety1. 2009. Scientific Opinion of the Scientific Committee (Question No EFSA-Q-2007-124a)

http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Scientific_Opinion/sc_op_ej958_nano_en.0.pdf?ssbinary=true

⁵⁴ FSA (Food Standard Agency) and CSL July 2008 Final Report Assessment of Current and Projected Applications on Nanotechnology for Food Contact Materials in relation to Consumer Safety and Regulatory Implications

⁵⁵ FSAI (Food Safety Authority of Ireland), 2008. The Relevance for Food Safety of Applications of Nanotechnology in the Food and Feed Industries. 1-82. http://www.fsai.ie/publications/reports/Nanotechnology_report.pdf.

⁵⁶ RIKILT (RIKILT – Institute of Food Safety, Wageningen UR) and RIVM (National Institute of Public Health & the Environment; Center for Substances and Integrated Risk Assessment), 2007. Health impact of nanotechnologies in food production. 1-91. Report 2007.014. <http://lx1.library.wur.nl/way/bestanden/clc/1865470.pdf>

Certaines nanoparticules peuvent traverser et/ou altérer les membranes plasmiques, nucléaires et mitochondriales, induire une peroxydation lipidique et la génération d'espèces réactives de l'oxygène elle-même à l'origine d'un stress oxydatif pouvant altérer des protéines et l'ADN (Hong 2006⁵⁷ ; Xia 2006⁵⁸ ; Beck-Speier 2005⁵⁹ ; Lewinski *et al.* 2008⁶⁰ ; Stone 2007⁶¹ ; Hussain *et al.*, 2005⁶²).

Il n'existe pas actuellement de test de référence *in vitro* permettant de prédire les effets toxiques potentiels des nanoparticules, en particulier la génotoxicité pour laquelle les études donnent des résultats contradictoires (Balbus *et al.* 2007⁶³) (Landsiedel 2008⁶⁴ ; Kim 2008⁶⁵ ; Gonzales 2008⁶⁶).

Les études expérimentales sur animaux de laboratoire portent essentiellement sur la toxicité par inhalation de particules ultra-fines et plus rarement de nanoparticules manufacturées. Après administration par voie respiratoire (principalement instillation intra-trachéale), certaines nanoparticules peuvent passer dans la circulation sanguine et se distribuer dans de multiples organes notamment les reins, les testicules, le thymus, les poumons, le foie, le cerveau (Kwon 2008⁶⁷ ; Yu 2007⁶⁸). Les effets toxiques pulmonaires observés après instillation respiratoire de nanotubes de carbone sont les plus documentés et de type inflammation, granulomes épithélioïdes et fibrose (Donaldson 2005 ; Oberdörster 2005⁶⁹ ; Lam C W 2004⁷⁰).

⁵⁷ Hong, S., Leroueil, P. R., Janus, E. K., Peters, J. L., Kober, M. M., Islam, M. T., Orr, B. G., Baker, J. R., Jr. and Banaszak Holl, M. M. 2006. Interaction of polycationic polymers with supported lipid bilayers and cells: nanoscale hole formation and enhanced membrane permeability. *Bioconjug Chem* 17 (3): 728-34.

⁵⁸ Xia T, Kovochich M, Brant J, Hotze M, Sempf J, Oberley T, Sioutas C, Yeh JI, Wiesner MR, Nel AE. 2006. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. *Nano Lett.*;6(8):1794-807.

⁵⁹ Beck-Speier I, Dayal N, Karg E, Maier KL, Schumann G, Schulz H, Semmler M, Takenaka S, Stettmaier K, Bors W, Ghio A, Samet JM, Heyder J. 2005. Oxidative stress and lipid mediators induced in alveolar macrophages by ultrafine particles. *Free Radic Biol Med.* 15;38(8):1080-92.

⁶⁰ Lewinski N, Colvin V, Drezek R.2008. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small.* 4(1):26-49

⁶¹ Stone V, Johnston H, Clift MJ. 2007. Air pollution, ultrafine and nanoparticle toxicology: cellular and molecular interactions. *IEEE Trans Nanobioscience*;6(4):331-40.

⁶² Hussain SM, Hess KL, Gearhart JM, Geiss KT, Schlager JJ. 2005. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicol In Vitro.* 2005 Oct;19(7):975-83.

⁶³ Balbus JM, Maynard AD, Colvin VL, Castranova V, Daston GP, Denison RA, Dreher KL, Goering PL, Goldberg AM, Kulinowski KM, Monteiro-Riviere NA, Oberdörster G, Omenn GS, Pinkerton KE, Ramos KS, Rest KM, Sass JB, Silbergeld EK, Wong BA. 2007. Meeting report: hazard assessment for nanoparticles--report from an interdisciplinary workshop. *Environ Health Perspect*;115(11):1654-9.

⁶⁴ Landsiedel R, Kapp MD, Schulz M, Wiench K, Oesch F, 2008 Nov 11. Genotoxicity investigations on nanomaterials: Methods, preparation and characterization of test material, potential artifacts and limitations-Many questions, some answers. *Mutat Res.* [Epub ahead of print]

⁶⁵ Kim, Y. S., Kim, J. S., Cho, H. S., Rha, D. S., Kim, J. M., Park, J. D., Choi, B. S., Lim, R., Chang, H. K., Chung, Y. H., Kwon, I. H., Jeong, J., Han, B. S. and Yu, I. J. 2008. Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhal Toxicol* 20 (6): 575-83.

⁶⁶ Gonzalez, L., Lison, D. and Kirsch-Volders, M. 2008. Genotoxicity of engineered nanomaterials: A critical review. *Nanotoxicology* 2 (4): 252 - 273.

⁶⁷ Kwon, J. T., Hwang, S. K., Jin, H., Kim, D. S., Minai-Tehrani, A., Yoon, H. J., Choi, M., Yoon, T. J., Han, D. Y., Kang, Y. W., Yoon, B. I., Lee, J. K. and Cho, M. H. 2008. Body distribution of inhaled fluorescent magnetic nanoparticles in the mice. *J Occup Health* 50 (1): 1-6.

⁶⁸ Yu, L. E., Yung, L.-Y. L., Ong, C.-N., Tan, Y.-L., Balasubramaniam, K. S., Hartono, D., Shui, G., Wenk, M. R. and Ong, W.-Y. 2007. Translocation and effects of gold nanoparticles after inhalation exposure in rats. *Nanotoxicology* 1 (3): 235-242.

⁶⁹ Oberdörster G, Maynard A, Donaldson K, Castranova V, Fitzpatrick J, Ausman K, Carter J, Karn B, Kreyling W, Lai D, Olin S, Monteiro-Riviere N, Warheit D, Yang H; ILSI Research Foundation/Risk Science Institute Nanomaterial Toxicity Screening Working Group, 2005. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Part Fibre Toxicol.* 6;2:8

⁷⁰ Lam CW, James JT, McCluskey R, Hunter RL, 2004. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation. *Toxicol Sci.* 77(1):126-34

Les particules sont retrouvées dans les mêmes organes après administration par voie intra-veineuse et pourraient même traverser la barrière placentaire (De Jong 2008⁷¹ ; Sadauskas 2007⁷² ; Tsuchiya, 1996⁷³ ; Semmler-Behnke *et al* 2007⁷⁴ ; Singh 2006⁷⁵).

Les caractéristiques physico-chimiques des nanoparticules ne sont cependant pas décrites précisément dans les études actuellement disponibles dans la littérature alors qu'elles sont essentielles pour comprendre leur toxicité.

3.1. Propriétés des nanoparticules, interaction avec la matrice alimentaire

Les propriétés fonctionnelles des nanoparticules dépendent essentiellement de leurs caractéristiques physico-chimiques : taille, forme (nanotubes, feuillets, sphères, agrégats, bâtons ...), composition chimique et solubilité, structure cristalline ou non, charge de surface, surface par unité de masse... (Nel 2006⁷⁶).

Dans le domaine agroalimentaire, des applications intéressantes (formation de micelles, d'émulsions...) peuvent être envisagées du fait de la très grande surface et de la réactivité des nanoparticules ; en revanche, les phénomènes d'agglomération, d'adsorption, d'interaction avec les bio-polymères de la matrice alimentaire, de catalyse des réactions d'oxydation peuvent être à l'origine d'effets encore mal maîtrisés. En particulier, le vieillissement des particules peut favoriser leur agrégation et l'agglomération et conduire à des modifications de propriétés au sein de la matrice alimentaire et des tissus biologiques. Les nanoparticules peuvent également réagir avec les protéines, les lipides, les carbohydrates, les acides nucléiques, les ions et minéraux, l'eau dans la matrice alimentaire (Lynch 2006⁷⁷ et 2008⁷⁸).

3.2. Toxicocinétique des nanoparticules après administration par voie orale

Il n'y a pas aujourd'hui de méthode validée et applicable en routine permettant de détecter, quantifier et caractériser les nanoparticules dans les matrices alimentaires ni dans les liquides biologiques ou les tissus.

⁷¹ De Jong, W., Hagens, W., Krystek, P., Burger, M., Sips, A. and Geertsma, R. 2008. Particle size-dependent organ distribution of gold nanoparticles after intravenous administration. *Biomaterials* 29 (12): 1912-1919.

⁷² Sadauskas, E., Wallin, H., Stoltenberg, M., Vogel, U., Doering, P., Larsen, A. and Danscher, G. 2007. Kupffer cells are central in the removal of nanoparticles from the organism. *Part Fibre Toxicol* 4: 10.

⁷³ Tsuchiya, T., Oguri, I., Yamakoshi, Y. N. and Miyata, N. 1996. Novel harmful effects of [60]fullerene on mouse embryos in vitro and in vivo. *FEBS Lett* 393 (1): 139-45.

⁷⁴ Semmler-Behnke, M., Fertsch, S., Schmid, O., Wenk, A. and Kreyling, W. 2007. Uptake of 1.4 nm versus 18nm Gold particles by secondary target organs is size dependent in control and pregnant rats after intratracheal or intravenous application. *Proceedings of Euro Nanoforum - Nanotechnology in Industrial Applications*: 102-104.

⁷⁵ Singh, R., Pantarotto, D., Lacerda, L., Pastorin, G., Klumpp, C., Prato, M., Bianco, A. and Kostarelos, K. 2006. Tissue biodistribution and blood clearance rates of intravenously administered carbon nanotube radiotracers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103 (9): 3357-62.

⁷⁶ Nel, A., Xia, T., Madler, L. and Li, N. 2006. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science* 311 (5761): 622-7.

⁷⁷ Lynch, I., Dawson, K. A. and Linse, S. 2006. Detecting cryptic epitopes created by nanoparticles. *Sci STKE* 2006 (327): pe14.

⁷⁸ Lynch, I. and Dawson, K. A. 2008. Protein-nanoparticle interactions. *Nano Today* 3 (1-2): 40-47.

On ne connaît pas précisément les modifications que subissent les nanoparticules dans le tube digestif, en particulier si elles restent libres ou si elles s'agrègent, si elles adsorbent des bio-molécules présentes dans la matrice alimentaire ou elles sont transformées par les enzymes digestifs (Cedervall 2007⁷⁹ ; Simon 2008⁸⁰). Ces modifications des nanoparticules peuvent influencer leur charge de surface, leur hydrophobicité ou leur lipophilie, leur diffusion dans le mucus et l'eau et leur transport cellulaire et paracellulaire. L'absorption des nanoparticules pourrait entraîner celles de bio-molécules adsorbées à leur surface. Dans les liquides biologiques, l'interaction des nanoparticules avec les protéines pourrait favoriser le franchissement des membranes cellulaires et nucléaires (Hong 2006⁸¹). Certaines nanoparticules passent à travers la barrière digestive essentiellement par transcytose à travers les entérocytes ou les cellules M des plaques de Peyer, avec une vitesse inversement proportionnelle à leur taille (Hillyer JF 2001⁸²) Des études suggèrent que les nanoparticules pourraient provoquer une inflammation du tractus digestif (Lomer 2002⁸³).

Dans la littérature, la distribution des nanoparticules après ingestion orale, est très différente d'un modèle à l'autre et selon les nanoparticules. Après absorption digestive, certaines nanoparticules sont éliminées dans les fécès et dans l'urine (Nefzger M 1984⁸⁴) et d'autres pénétreraient dans la circulation portale et le foie ou dans le système lymphatique. Le foie et la rate seraient des organes cible, mais certaines nanoparticules sont retrouvées dans les reins, le poumon, la moelle osseuse et le cerveau.(Jani *et al.* 1990⁸⁵ et 1994⁸⁶, Wang 2007⁸⁷)

3.3. Toxicité *in vivo* par administration orale

Seules quelques études ont abordé la toxicité des nanoparticules après ingestion orale ; ces études ont été menées essentiellement avec des métaux ou des oxydes de métal comme le sélénium, le cuivre et le zinc. Quelques exemples sont donnés en illustration :

Nanoparticules de Zinc ou d'oxyde de Zinc : dans une étude de toxicité aiguë par gavage chez la souris, comparant des particules de zinc de 58 nm et de 1 µm , en solution et en dose unique de

⁷⁹ Cedervall, T., Lynch, I., Lindman, S., Berggard, T., Thulin, E., Nilsson, H., Dawson, K. and Linse, S. 2007a. Understanding the nanoparticle-protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104 (7): 2050-2055.

⁸⁰ Simon, P. and Joner, E. 2008. Conceivable interactions of biopersistent nanoparticles with food matrix and living systems following from their physicochemical properties. *Journal of Food and Nutrition Research* 47 (2): 51-59.

⁸¹ Hong, S., Leroueil, P. R., Janus, E. K., Peters, J. L., Kober, M. M., Islam, M. T., Orr, B. G., Baker, J. R., Jr. and Banaszak Holl, M. M. 2006. Interaction of polycationic polymers with supported lipid bilayers and cells: nanoscale hole formation and enhanced membrane permeability. *Bioconjug Chem* 17 (3): 728-34.

⁸² Hillyer, J. F. and Albrecht, R. M. 2001. Gastrointestinal persorption and tissue distribution of differently sized colloidal gold nanoparticles. *J Pharm Sci* 90 (12): 1927-36.

⁸³ Lomer, M. C., Thompson, R. P. and Powell, J. J. 2002. Fine and ultrafine particles of the diet: influence on the mucosal immune response and association with Crohn's disease. *Proc Nutr Soc* 61 (1): 123-30.

⁸⁴ Nefzger, M., Kreuter, J., Voges, R., Liehl, E. and Czok, R. 1984. Distribution and elimination of polymethyl methacrylate nanoparticles after peroral administration to rats. *J Pharm Sci* 73 (9): 1309-11.

⁸⁵ Jani, P., Halbert, G. W., Langridge, J. and Florence, A. T. 1990. Nanoparticle uptake by the rat gastrointestinal mucosa: quantitation and particle size dependency. *J Pharm Pharmacol* 42 (12): 821-6.

⁸⁶ Jani, P., McCarthy, D. and Florence, A. T. 1994. Titanium dioxide (rutile) particle uptake from the rat GI tract and translocation to systemic organs after oral administration. *International journal of pharmaceuticals* 105 (2): 157-168.

⁸⁷ Wang, J., Zhou, G., Chen, C., Yu, H., Wang, T., Ma, Y., Jia, G., Gao, Y., Li, B., Sun, J., Li, Y., Jiao, F., Zhao, Y. and Chai, Z. 2007. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicol Lett* 168 (2): 176-85.

5g/kg.pc (Wang *et al.* 2006⁸⁸), une inflammation du tube digestif a été observée pour les 2 types de particules avec pour les nanoparticules, une mortalité attribuée à leur agrégation. Les signes cliniques les plus sévères à type de léthargies, vomissements, diarrhées, anémie et atteinte rénale ont été observées avec les nanoparticules, mais une atteinte hépatique est observée pour les microparticules de zinc.

Dans la deuxième étude (Wang *et al.* 2008⁸⁹), les mêmes auteurs ont comparé la toxicité de nanoparticules d'oxyde de Zinc de 20 et 120 nm et du matériau conventionnel, en dose unique de 1 à 5g/kg.pc. Cette étude confirme la complexité des effets toxiques observés : effets non dose-dépendants au niveau de l'estomac, du foie, de la rate ; effets plus sévères avec les nanoparticules de 120nm qu'avec les nano particules de 20 nm et qu'avec le matériau conventionnel ; effets sur le pancréas avec les seules nanoparticules de 20 nm.

Nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂) : plusieurs études montrent des résultats contradictoires. Jani *et al.* (1994) n'observent pas de toxicité après une administration quotidienne pendant 10 jours de particules de TiO₂ de 500 nm. Warheit *et al.* (2007)⁹⁰ montrent des résultats similaires avec une seule administration de nanoparticules de TiO₂ de 140 nm à des doses variant de 175 à 5000 mg/kg pc. Au contraire, Wang *et al.* (2007)⁹¹ observent une toxicité hépatique, rénale et cardiaque avec des nanoparticules de TiO₂ mais les anomalies biologiques et histologiques varient avec la taille des nanoparticules (25, 80 et 155nm).

Nanoparticules de Sélénium : deux études de toxicité subaiguë et aiguë (Zhang *et al.* 2001⁹², 2005⁹³) ont montré chez la souris que, en administration à la dose de 6 mg/kg pc./jour pendant 1 ou 12 jours, le sélénite a une toxicité plus importante que les nanoparticules de sélénium, toxicité qui se traduit par un retard de croissance et une atteinte hépatique. Ces résultats ont été confirmés par une étude de Jia *et al.* (2005)⁹⁴ avec une administration subchronique (13 semaines), à dose croissante (2 à 5 mg/kg) dans l'alimentation, de nanoparticules de sélénium (20 et 60nm) et de sélénite.

Nanoparticules d'argent : une étude de Kim *et al.* (2008)⁹⁵ de toxicité subchronique (28 jours) chez les rats par voie orale de nanoparticules de 60nm, montre que les anomalies des paramètres

⁸⁸Wang B., Feng WY., Wang TC., Jia G., Wang M., Shi JW., Zhang F., Zhao YL., Chai ZF. (2006). Acute toxicity of nano- and micro-scale zinc powder in healthy adult mice. *Toxicol Lett.* Feb 20;161(2):115-23. Epub 2005 Sep 13.

⁸⁹ Wang, B., Feng, W. Y., Wang, M., Wang, T. C., Gu, Y. Q., Zhu, M. T., Ouyang, H., Shi, J. W., Zhang, F., Zhao, Y. L., Chai, Z. F., Wang, H. F. and Wang, J. 2008. Acute toxicological impact of nano- and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice. *Journal Of Nanoparticle Research* 10 (2): 263-276.

⁹⁰ Warheit DB, Hoke RA, Finlay C, Donner EM, Reed KL, Sayes CM. 2007. Development of a base set of toxicity tests using ultrafine TiO₂ particles as a component of nanoparticle risk management. *Toxicol Lett.* 2007 Jul 10;171(3):99-110. Epub 2007 Apr 27.

⁹¹ Wang, J., Zhou, G., Chen, C., Yu, H., Wang, T., Ma, Y., Jia, G., Gao, Y., Li, B., Sun, J., Li, Y., Jiao, F., Zhao, Y. and Chai, Z. 2007. Acute toxicity and biodistribution of different sized titanium dioxide particles in mice after oral administration. *Toxicol Lett* 168 (2): 176-85.

⁹² Zhang, J. S., Gao, X. Y., Zhang, L. D. and Bao, Y. P. 2001. Biological effects of a nano red elemental selenium. *Biofactors* 15 (1): 27-38.

⁹³ Zhang, J., Wang, H., Yan, X. and Zhang, L. 2005. Comparison of short-term toxicity between Nano-Se and selenite in mice. *Life Sci* 76 (10): 1099-109.

⁹⁴ Jia, X., Li, N. and Chen, J. 2005. A subchronic toxicity study of elemental Nano-Se in Sprague-Dawley rats. *Life Sci* 76 (17): 1989-2003.

⁹⁵ Kim, Y. S., Kim, J. S., Cho, H. S., Rha, D. S., Kim, J. M., Park, J. D., Choi, B. S., Lim, R., Chang, H. K., Chung, Y. H., Kwon, I. H., Jeong, J., Han, B. S. and Yu, I. J. 2008. Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhal Toxicol* 20 (6): 575-83.

biologiques hépatiques sont les seuls signes de toxicité alors que des particules d'argent sont détectées dans tous les organes analysés incluant le cerveau.

Nanoparticules de cuivre : la toxicité aiguë de nanoparticules (23,5 nm), de microparticules (17 micromètres) et d'ions cuivre solubles a été comparée (Chen *et al.* 2006⁹⁶) ; la toxicité des ions cuivre est la plus élevée et celle des microparticules la plus faible . Des anomalies, doses dépendantes, sont observées dans le foie, le rein et la rate avec les nanoparticules. Meng (2007)⁹⁷ relie la toxicité orale des nanoparticules de cuivre à leur très haute réactivité de surface.

En dehors des études avec des nanoparticules dérivées de métaux, l'administration unique du **fullerène polyalkylsulfuré** par voie orale (Chen *et al.*, 1998⁹⁸) n'entraînerait pas de toxicité ; ceci peut s'expliquer par une absence d'absorption des fullerènes qui formeraient des agrégats dans le tractus digestif.

De même, il n'a pas été objectivé de toxicité subchronique (42 jours) avec un **nanocomposite d'argile** ajouté dans l'alimentation de poulets (Shi *et al.* 2006⁹⁹), ni de toxicité aiguë chez le rat avec des **nanoparticules de chitosan amphilyque** (Yoksan et Chirchanchai, 2008¹⁰⁰) Enfin, aucune toxicité n'a été observée après l'administration d'une dose unique (1; 25 ou 5 mg/kg pc) de nanotubes de carbone (Carrero-Sanchez, 2006¹⁰¹), mais ces résultats restent à confirmer au vu des résultats de toxicocinétique et de toxicité des nanotubes de carbone *in vivo* après inhalation.

En conclusion, les études de toxicité des nanoparticules par voie orale sont lacunaires, le plus souvent limitées à des conditions d'ingestion par gavage sur une période courte ; les caractéristiques physico-chimiques des nanoparticules testées et leur interaction avec la matrice alimentaire sont insuffisamment documentées. Les quelques résultats rapportés sont souvent discordants et ne permettent pas de conclure à un effet dose, à un effet taille, à une relation entre les caractéristiques physico-chimiques de la particule et la toxicité. Les rares données de toxicocinétique montrent que le tube digestif puis tous les organes sont des cibles potentielles des nanoparticules.

⁹⁶ Chen, Z., Meng, H., Xing, G., Chen, C., Zhao, Y., Jia, G., Wang, T., Yuan, H., Ye, C., Zhao, F., Chai, Z., Zhu, C., Fang, X., Ma, B. and Wan, L. 2006. Acute toxicological effects of copper nanoparticles *in vivo*. *Toxicol Lett* 163 (2): 109-20.

⁹⁷ Meng H, Chen Z, Xing G, Yuan H, Chen C, Zhao F, Zhang C, Zhao Y. 2007. Ultrahigh reactivity provokes nanotoxicity: explanation of oral toxicity of nano-copper particles. *Toxicol Lett* 10;175(1-3):102-10.

⁹⁸ Chen H H., Yu C., Ueng TH., Chen S., Chen BJ., Huang KJ. and Chiang LY. (1998). Acute and subacute toxicity study of water-soluble polyalkylsulfonated C60 in rats. *Toxicol Pathol* 26(1): 143-51.

⁹⁹ Shi, Y., Xu, Z., Feng, J. and Wang, C. 2006. Efficacy of modified montmorillonite nanocomposite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology* 129 (1-2): 138-148.

¹⁰⁰ Yoksan, R. and Chirachanchai, S. 2008. Amphiphilic chitosan nanosphere: studies on formation, toxicity, and guest molecule incorporation. *Bioorg Med Chem* 16 (5): 2687-96.

¹⁰¹ Carrero-Sanchez JC, Elías AL, Mancilla R, Arrellín G, Terrones H, Lacleite JP, Terrones M. 2006. Biocompatibility and toxicological studies of carbon nanotubes doped with nitrogen. *Nano Lett.* Aug;6(8):1609-16.

Chapitre IV : Conclusion

La revue des données de la littérature sur l'utilisation des nanoparticules en alimentation humaine et animale amène à souligner les points suivants :

- l'essentiel des applications est à l'état de projet de recherche, certaines feraient déjà l'objet de commercialisation, même s'il est difficile d'en objectiver la réalité technologique ou commerciale,
- les quatre étapes de l'évaluation des risques (identification du danger, caractérisation du danger, exposition et caractérisation du risque) sont applicables aux nanoparticules et nanocomposés,
- la toxicocinétique (absorption, distribution, métabolisme, élimination) et la toxicité des nanoparticules, très peu documentées par voie orale, différent de celles des matériaux conventionnels correspondants ; elles semblent dépendre de leur composition chimique, de leur taille, de leur forme, de leur réactivité de surface... ; ce qui conduit à envisager des évaluations de risque au cas par cas,
- l'évaluation des risques liés aux nanoparticules est limitée par l'absence de méthodes validées et applicables en routine permettant la détection, l'identification et la quantification des nanoparticules, dans les différentes matrices (aliments, eau, air...), dans les liquides biologiques et les tissus,
- en raison des propriétés physico-chimiques spécifiques des nanoparticules, les essais toxicologiques conventionnels nécessiteront des adaptations et d'autres modèles seront à développer.

En l'absence de caractérisation précise des dangers, d'outils métrologiques et de connaissance des usages alimentaires potentiels, il n'est pas possible, aujourd'hui, d'évaluer l'exposition du consommateur ni les risques sanitaires liés à l'ingestion de nanoparticules.

Le développement de travaux de recherche doit être soutenu¹⁰² et, dans l'attente de données pertinentes notamment sur l'absorption digestive, la prudence s'impose à l'égard de l'utilisation de nanotechnologies et/ou nanoparticules en alimentation humaine et animale.

En conséquence, l'Afssa estime que l'évolution du dispositif réglementaire devrait exiger une déclaration systématique de ces substances ou produits dans l'alimentation et conduire à des autorisations de mise sur le marché.

¹⁰²Exemples de projets collaboratifs de recherche financés par la Commission européenne dans le cadre du 7^{ème} PCRD :
NMP-2008-1.3-2 Impact of engineered nanoparticles on health and the environment
KBBE-2009-2-4-01 Analytical tools for the characterisation of nano-particles in the food matrix

Annexe

EFSA

7th liste de substances dans les matériaux au contact de l'aliment (adoptée le 29 mars 2005)

Réf. N°: 86437

*Argent Zéolite A (Argent zinc sodium ammonium alumino silicate) – contenu en argent : 2 à 5 %
- contenu maximum dans le polymère : 10 % (p/p)*

Réf. N° : 86437/50

Argent-zinc-aluminium-bore-verre de phosphate, mixé avec 5 – 20% sulfate de baryum ; contenu en argent : 0,35 à 0,6 % - contenu maximum en plastique : 1 % p/p

Réf. N° : 86438 and 86438/50

Argent zinc zéolite A ; contenu en argent : 1 à 1,6 %

Argent zinc zéolite A ; contenu en argent : 0,34 à 0,54 %
