

Pour des aliments sains :

Savoir maîtriser les risques en alimentation

► Mercredi 28 novembre 2012



Nanoparticules et barrière intestinale :

comprendre les mécanismes de franchissement

- ▮ **Eric Houdeau**
Neuro-Gastroentérologie & Nutrition,
UMR 1331 Toxalim, Toulouse



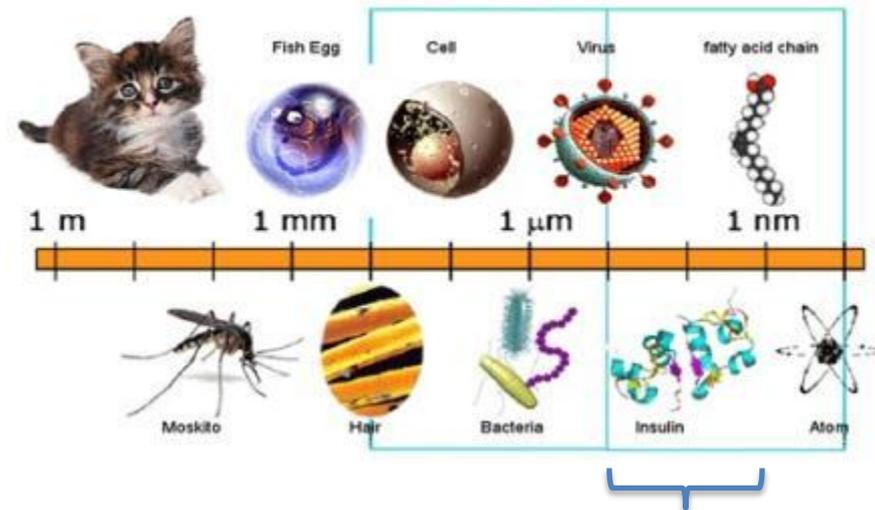
Nanoparticules : définition



COMMISSION EUROPÉENNE, OCTOBRE 2012 :

« on entend par **nanomatériau** un **matériau naturel**, formé accidentellement ou manufacturé contenant des **particules libres**, sous forme d'agrégat ou d'agglomérat, **dont au moins 50 % des particules**, dans la répartition numérique par taille, **présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm** ».

Ce seuil de 50% peut cependant être inférieur « pour des raisons tenant à la protection de l'environnement, à la santé publique, à la sécurité ou à la compétitivité ».



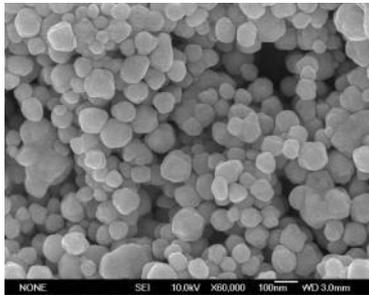
Nanomatériaux
(gamme de taille allant de 1 à 100 nm)

Nanoparticules : une métrologie sur trois dimensions (1)

Nano-objets

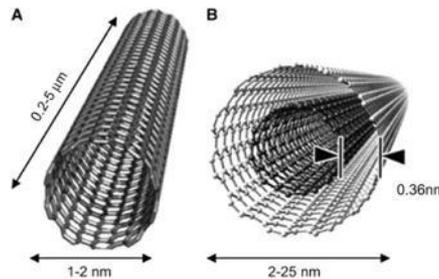
Éléments dont une, deux ou trois dimensions externes sont à l'échelle du nanomètre (1-100)

3D



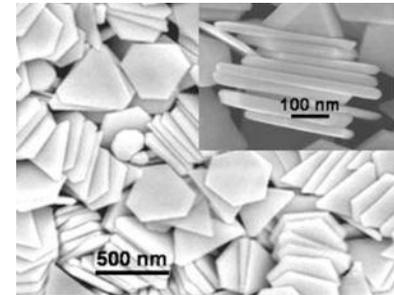
Nanoparticules
(ex. Argent colloïdal)

2D



Nano-tube/fibre
(ex. nanotubes Carbone)

1D



Nano-feuillet
(ex. Montmorillonite)

Nanoparticules : une métrologie sur trois dimensions (2)

Nano-matériaux

Matériau dont au moins une dimension est à la nano-échelle
Ou ayant une structure à la nano-échelle interne ou en surface

Nano-objets

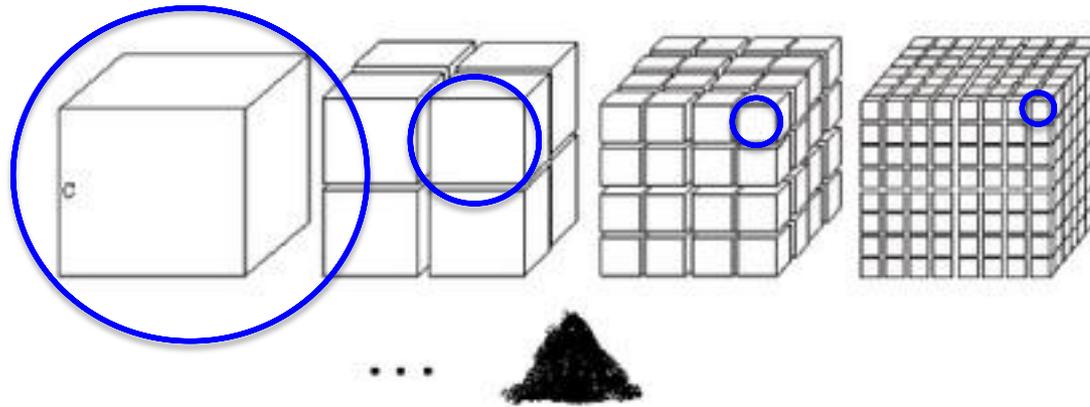
Ex. nanoparticules /
nanotubes / nanofeuillets **primaires**

Matériaux nano-structurés

Ex. **agrégats et agglomérats**
de nano-objets
(**diamètre final souvent > 100 nm**
e.g. additifs alimentaires)

Nanoparticules : des caractéristiques physico-chimiques spécifiques (1)

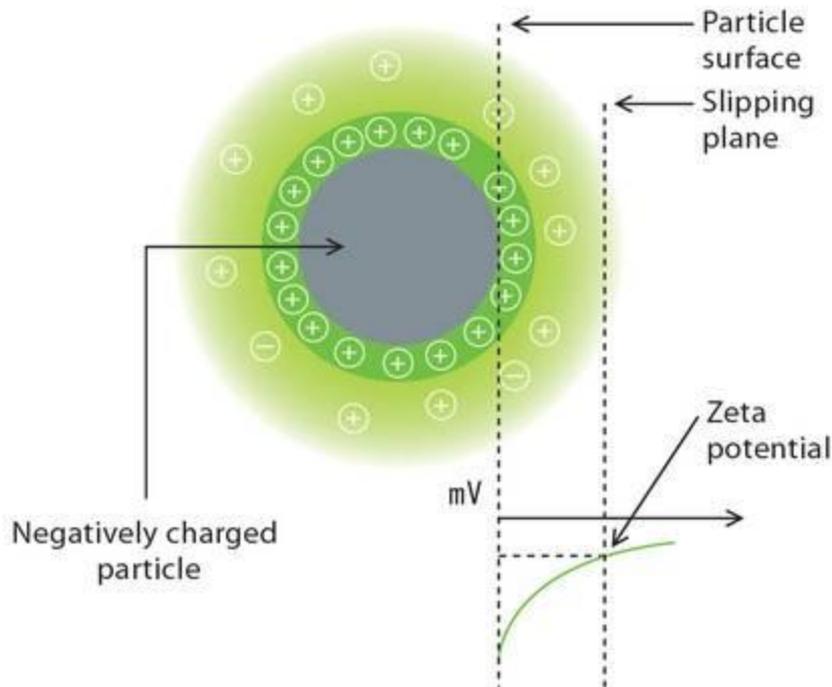
 Aire surfacique



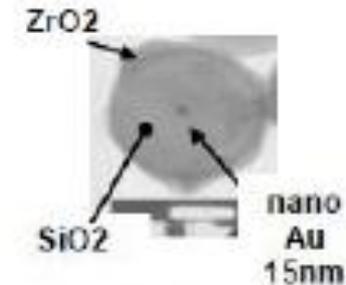
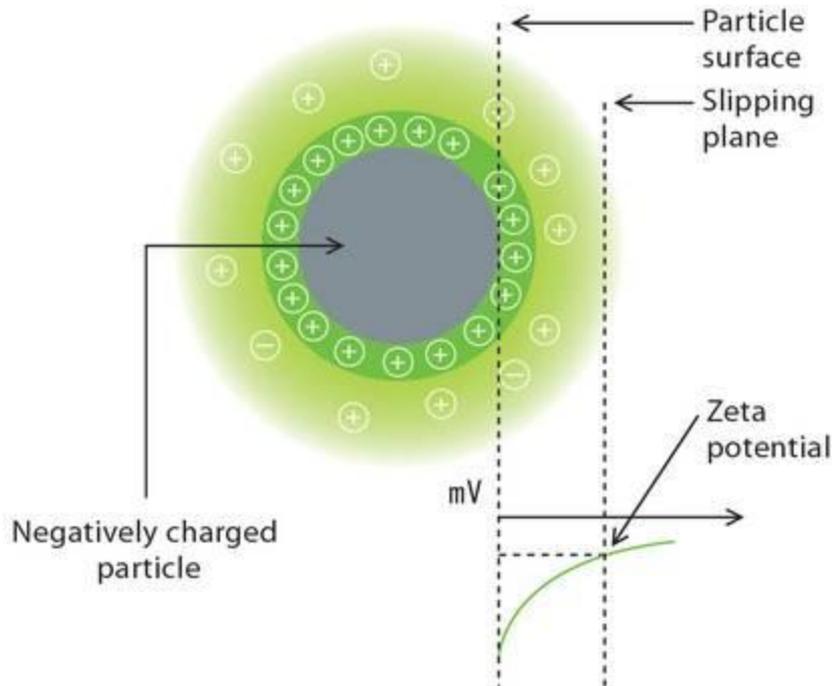
A volume donné, **plus les particules constituant une poudre sont petites, plus l'aire totale est grande**. Cet effet de taille **intéresse les nanotechnologies**, nombre de réactions se déroulant à la surface de catalyseurs. **Plus celle-ci est importante, plus les réactions chimiques sont rapides... et plus les interactions dans les matrices biologiques sont importantes.**

Nanoparticules : des caractéristiques physico-chimiques spécifiques (2)

Le **potentiel zêta** est la charge sur une particule à la surface dite de « de cisaillement ». Cette valeur de charge de surface est utile pour comprendre et **prévoir les interactions entre les particules en suspension... et les matrices biologiques.**



Nanoparticules : des caractéristiques physico-chimiques spécifiques (3)



Vectorisation
(encapsulation de
composés organiques)

On peut **manipuler le potentiel zêta pour améliorer la stabilité de la suspension de NPs lors de leur formulation** (e.g. **coating** en cosmétique, galénique, pour vecteur thérapeutique...).

Nanoparticules : quelles utilisations dans l'alimentation?



Comment définit-on le terme nano-aliments ?

Le terme **nano-aliments** décrit les aliments qui ont été **cultivés, produits, transformés** ou **emballés en employant les outils ou les techniques des nanotechnologies**, ou **auxquels ont été ajoutés des nanomatériaux manufacturés**.

Des **exemples de nano-composants et de nano-additifs manufacturés comprennent les nanoparticules d'argent** (bactéricide de surface) **de fer** (colorant E172* ou CL77491**), **de titane/ TiO_2** (colorant E171 ou CL77891) **ou de silice/ SiO_2** (anti-mottant E151) [...] ... **et des nano-capsules contenant des composants comme le** coenzyme Q10 **ou l'Omega 3** [...].

* nomenclature des **additifs alimentaires** (aussi autorisés au contact des denrées)

** lexique des **ingrédients cosmétiques** (nomenclature **INCI**, e.g. dentifrices, baumes à lèvres...)

Titanium dioxyde, TiO_2 : exposition humaine (dose quotidienne estimée)/ voie orale

Adulte : 50-100 $\mu g/kg$ poids corporel/jour

Enfant : 1 à 2 mg/kg/j

Powell *et al* 2012 ; Weir *et al* 2012

Table 3. Major food sources of dietary microparticles*

Food	TiO_2		Food	Psil	
	mg/person per d	%		mg/person per d	%
Coffee whitener	0.52	18	Salt	1.30	29
Sponge cake, with butter icing	0.52	18	Drinking chocolate powder	1.26	28
Hard-coated candies	0.32	11	Chewing gum†	0.92	20
Chewing gum†‡	0.28	10	Instant pot savoury snacks	0.40	9
Marshmallows	0.27	10	Sugar, icing	0.30	7
Low-fat or fat-free dressings	0.22	8	Chilli powder	0.18	4
Horseradish sauce	0.18	6	Potato or maize and starch snacks	0.04	1
Tartar sauce	0.15	5	Artificial sweeteners	0.03	<1
Thousand island dressing	0.14	5	Pork sausages	0.03	<1
Iced ring doughnuts	0.06	2	Malted milk drink powder	0.02	<1
Total	2.66	93	Total	4.48	99

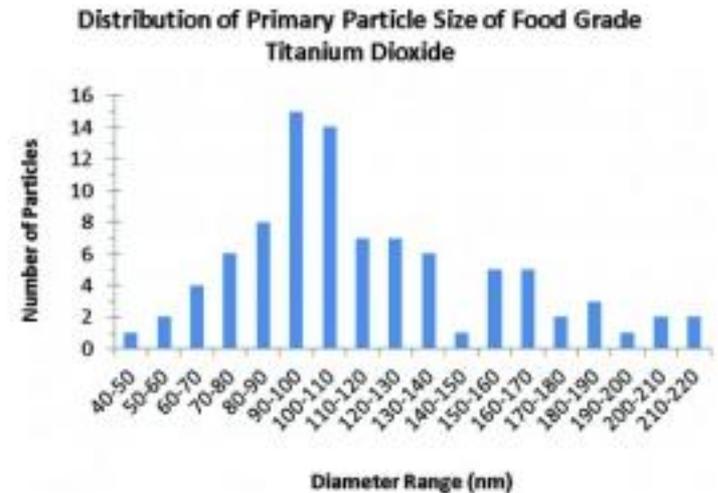
Psil, mixed silicates (for a detailed definition, see p. 948).

* The average daily intakes of TiO_2 and Psil from the ten most common food sources for subjects in either group. Percentages are the contribution to the total TiO_2 or Psil intakes.

† Assuming all microparticles within the product are ingested.

‡ Crispy shelled chewing gum only.

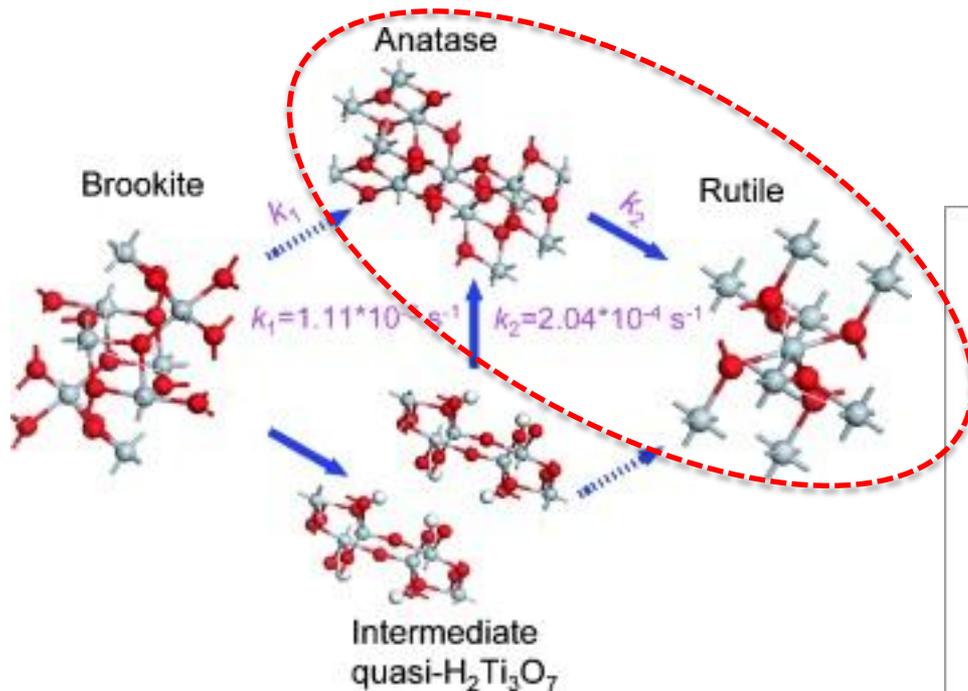
Lomer *et al* 2004



5% des NPs de TiO_2 sont $<0,45 \mu m$ (Weir *et al* 2012)...
donc 95% échappent à l'appellation « nanos » ?

Titanium dioxyde, TiO_2 : colorant blanc alimentaire E171 (nomenclature INCI : CL77891)

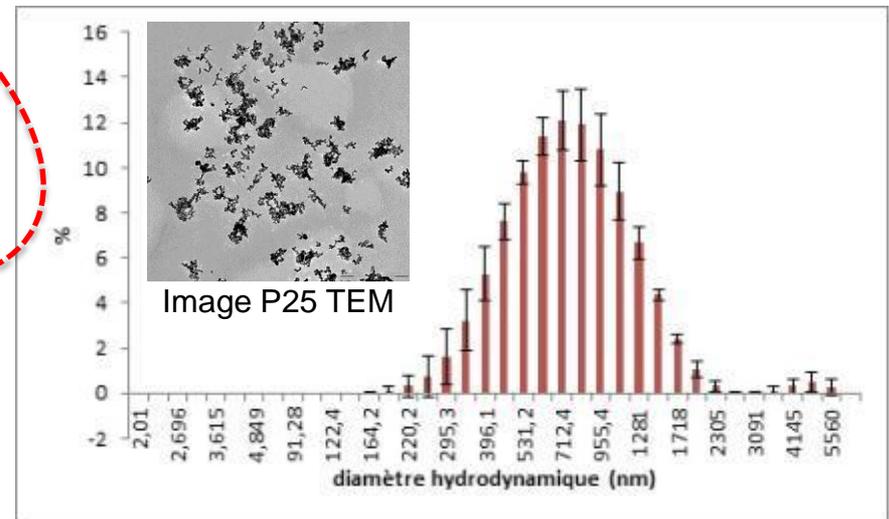
P25 (ref NM105 OCDE)



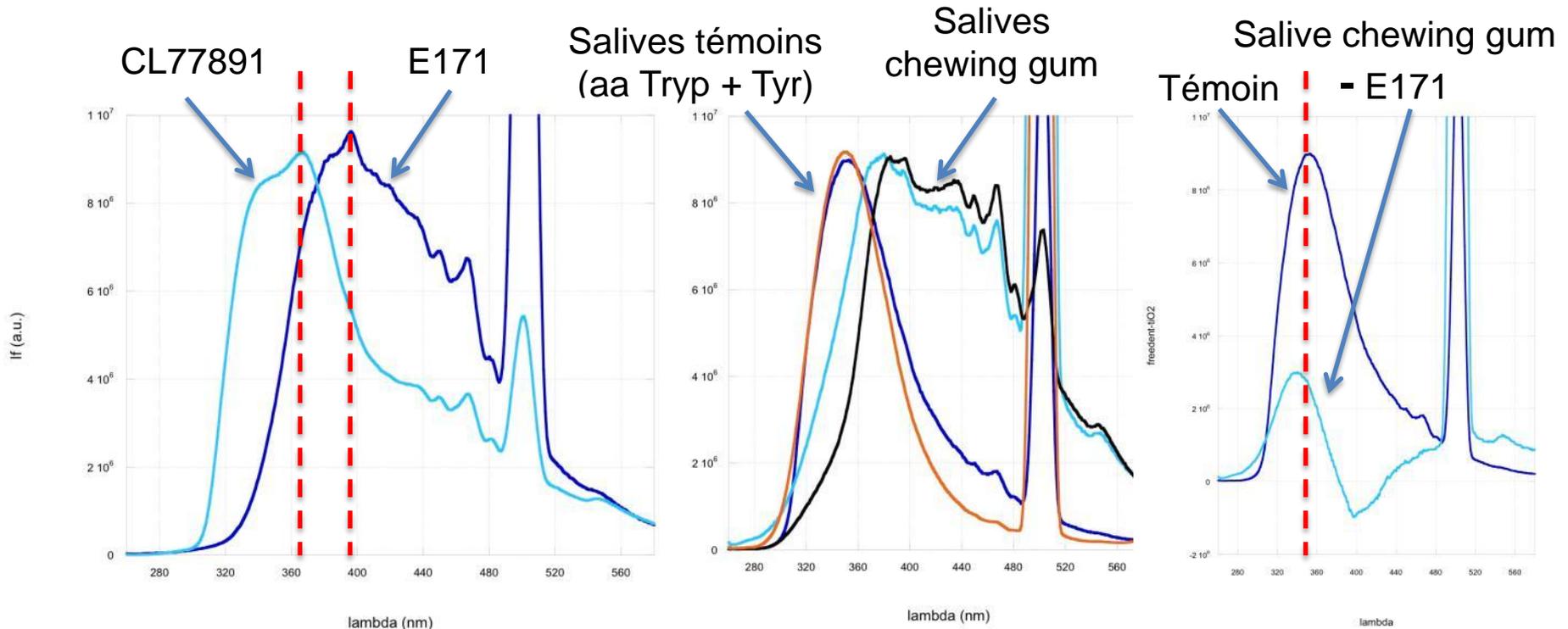
Dans produits alimentaires (ex. chewing gum)
DLS (*Dynamic Light Scattering*)

diamètre hydrodynamique TiO_2

Agrégats / Agglomérats de :
 $160 \text{ nm} < \mathbf{0,6} \text{ } \mu\text{m} < 2 \text{ } \mu\text{m}$



Titanium dioxide, TiO_2 : colorant blanc alimentaire E171 (nomenclature INCI : CL77891)

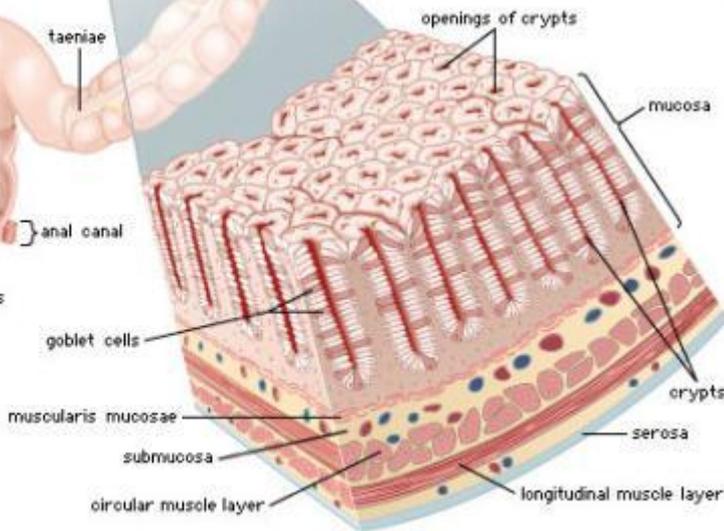
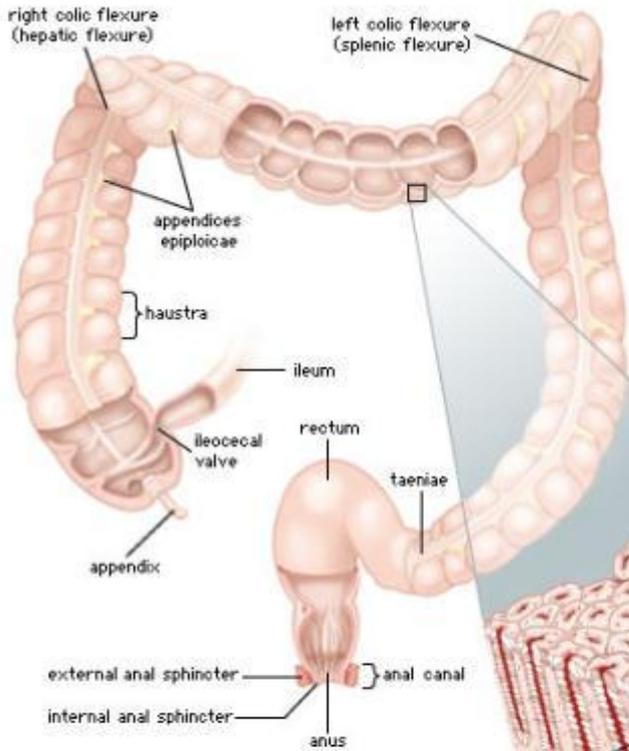


Deux fomulations différentes
(alimentaire \neq cosmétique)

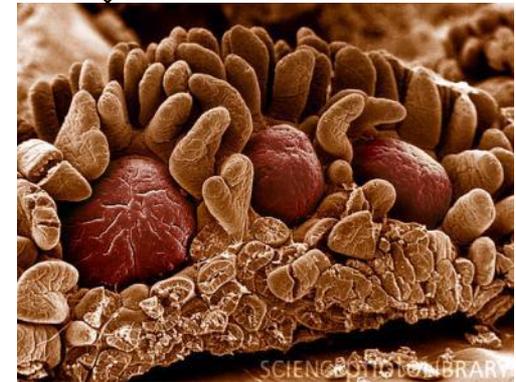
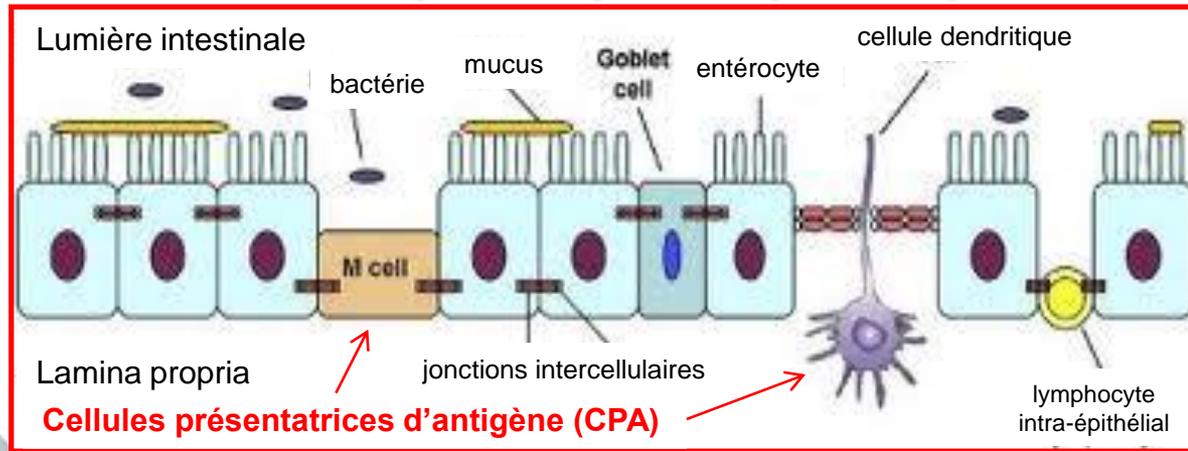
Spectres UV dans salives
(TiO_2 P25 OCDE = E171)

Soustraction
spectre UV P25 pur
dans salive

Barrière intestinale

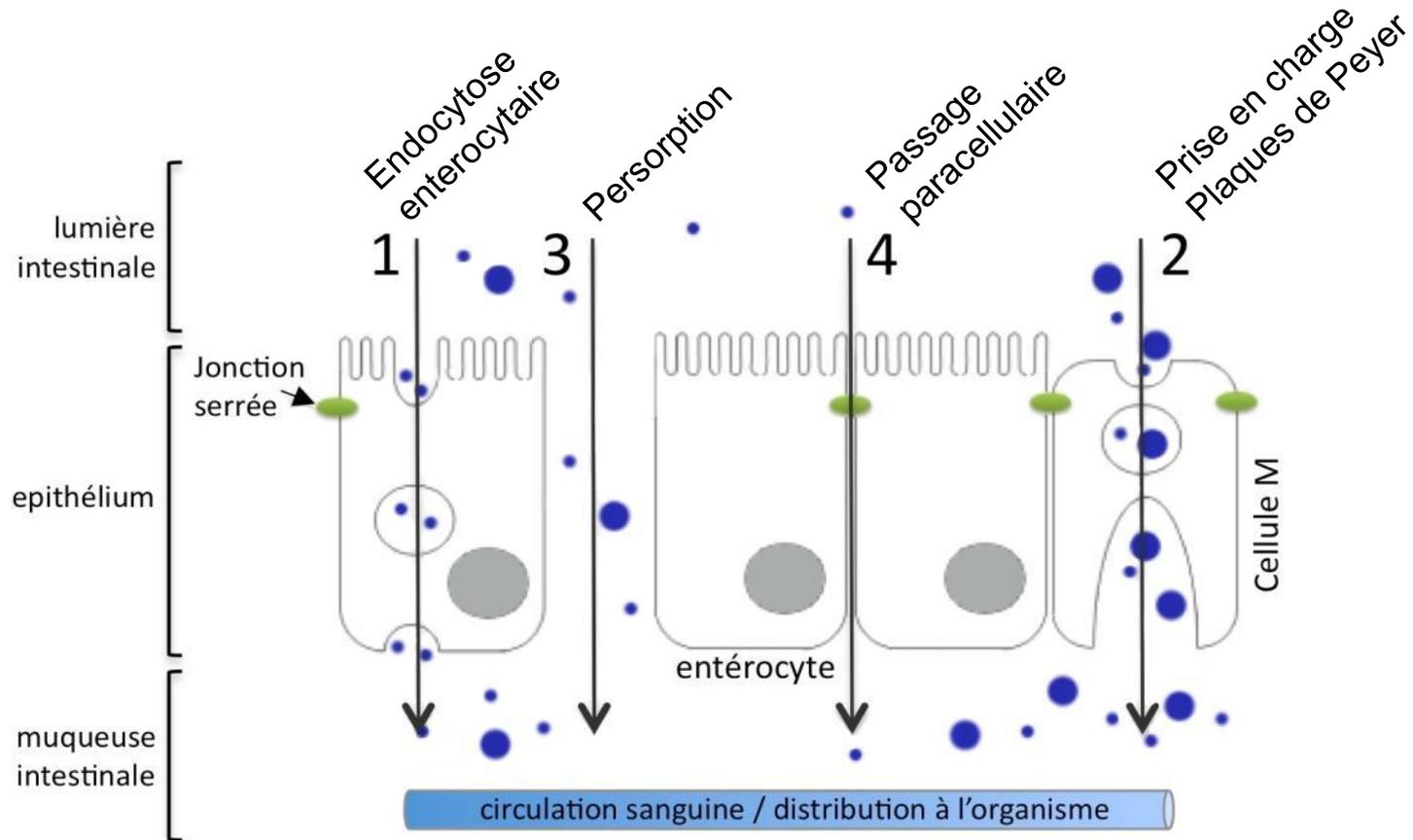


© 2003 Encyclopædia Britannica, Inc.



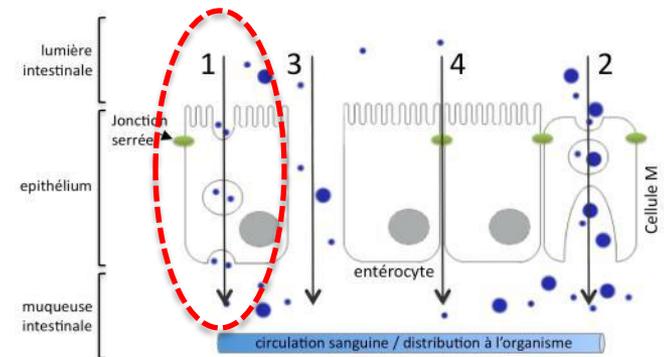
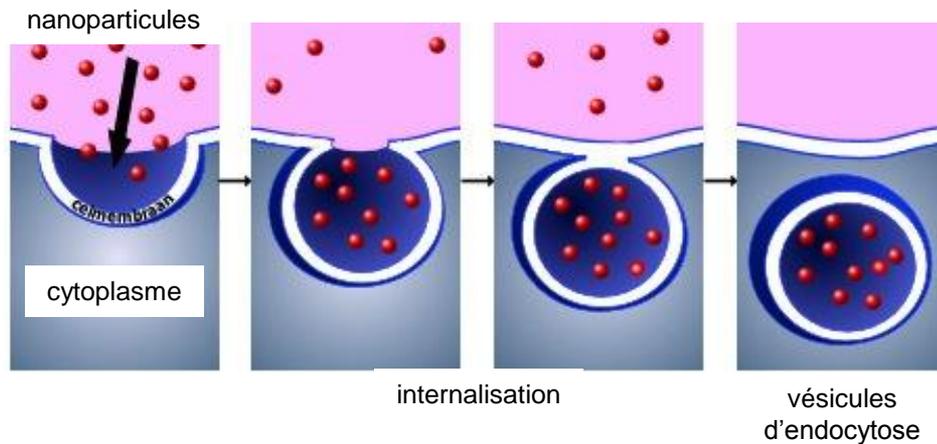
Plaques de Peyer (intestin grêle)

Nanoparticules : voies de translocation trans-épithéliales (avérées et suspectées)



Franchissement barrière (1) : voie transcellulaire (entérocytes) par endocytose

1/ Voie *princeps* pour l'**absorption des nutriments**



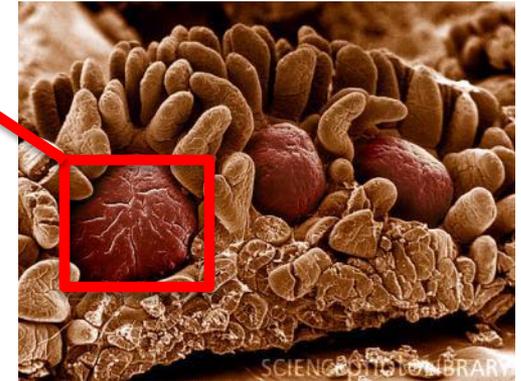
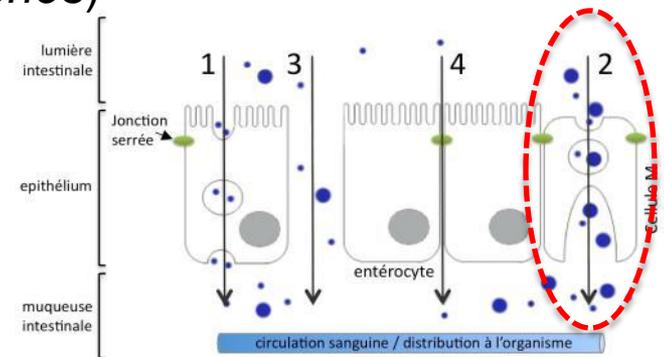
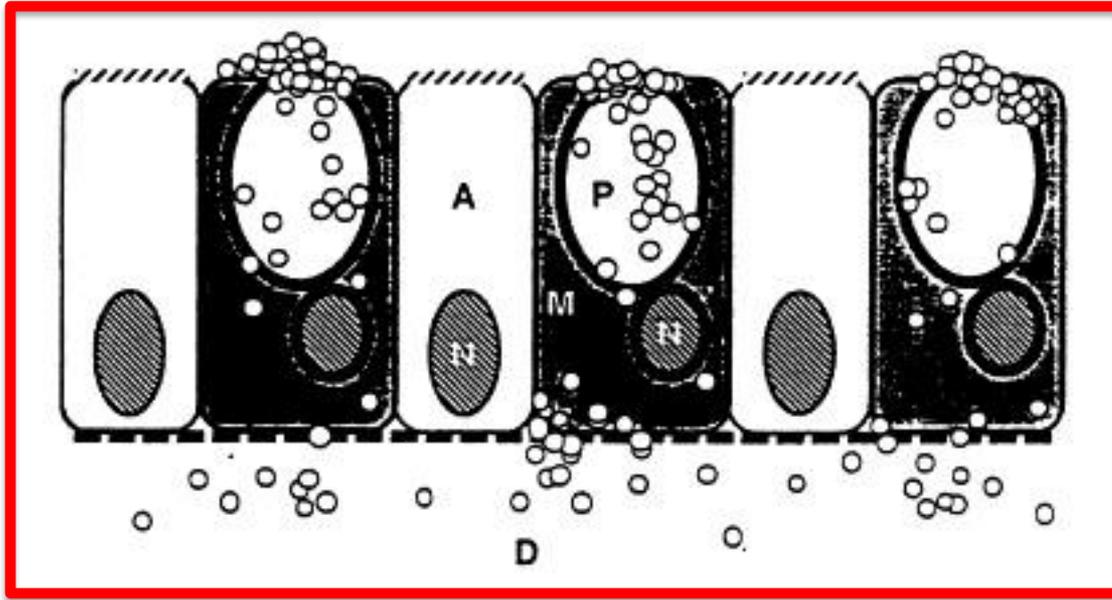
Passage de NPs de faibles dimensions:

Possible absorption de Fer (E172 / CL77491) *via* la Ferritine (récepteur Fe)

Kalgaonkar et Lönnerdal 2009

Franchissement barrière (2) : voie transcellulaire *via* cellules M (plaques de Peyer)

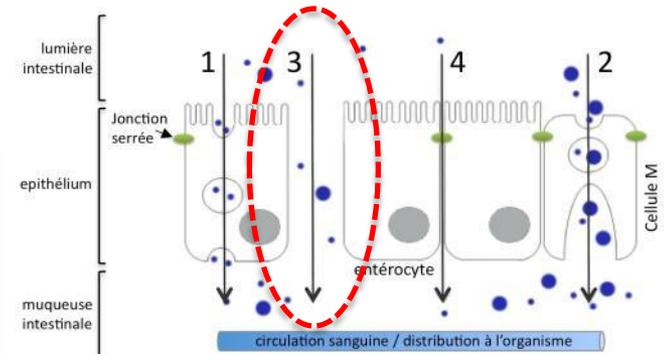
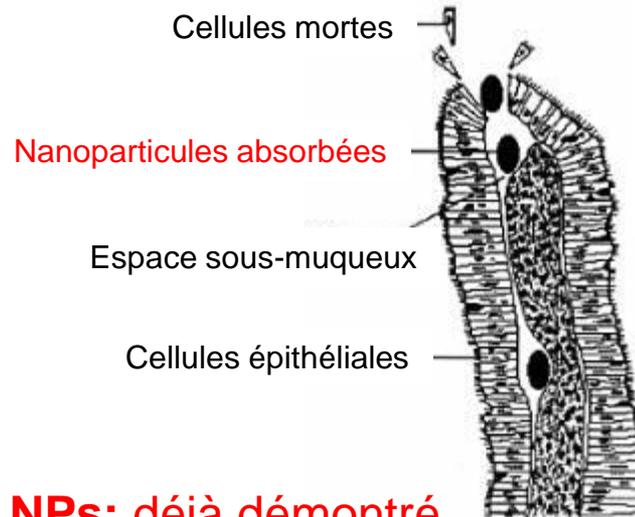
2/ Absorption **cellules M** (dites *présentatrices d'antigènes*)



Passage « facilité » : NPs jusqu'à 500 nm
(10^5 NPs agrégés en 45 minutes: Jepson *et al* 1993)

Franchissement barrière (3) : voie opportuniste *via* persorption (lacunes épithélium)

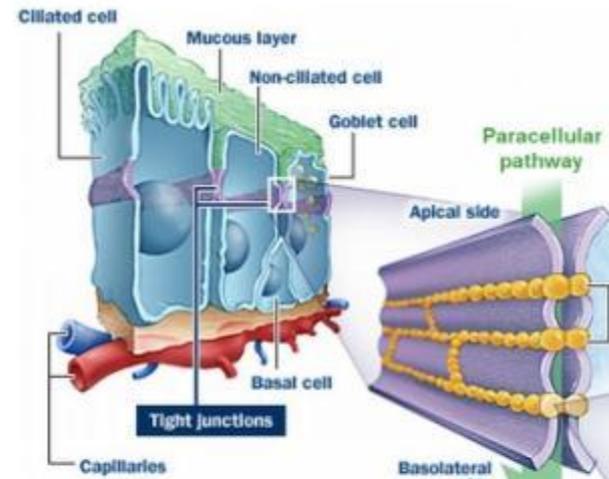
3/ **Translocation de particules** lors de l'élimination de cellules épithéliales en fin de vie laissant des « **lacunes** » dans la couche d'entérocytes



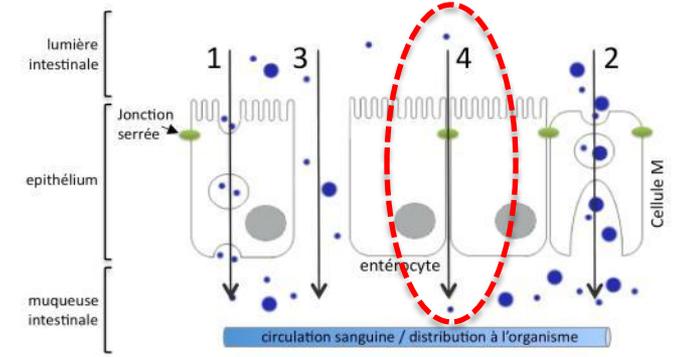
Passage de « larges » NPs: déjà démontré pour NPs d'or colloïdal (10 nm)
Hillyer & Albrecht 2001

Franchissement barrière (4) : voie paracellulaire (complexes apicaux jonctions serrées)

4/ Voie d'échanges **hydro-électrolytiques**



Principales protéines transmembranaires:
 -- Occludine
 -- JAM-A, JAM-C
 -- Claudines (24 types)

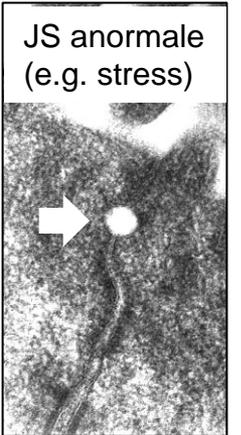
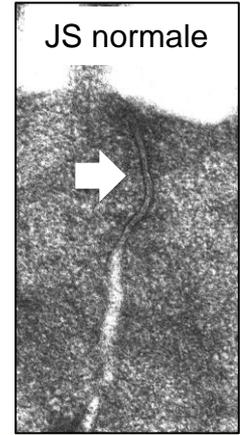


NPs inertes <20nm

?????

Passage « exacerbé » chez individu en « situation pathologique »

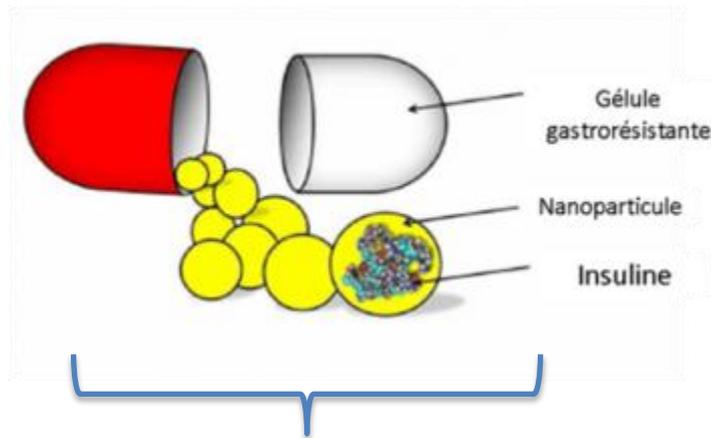
Ou selon l'âge (e.g. intestin du nouveau-né: perméabilité x2 / adulte)



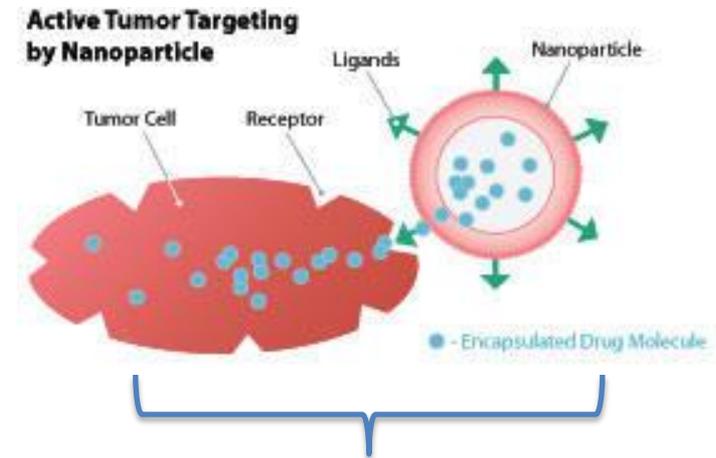
Très théorique : pores de 8-9 Angström à l'état basal (≈1 nm)

Nanoparticules : déterminants du passage épithélial / une seule question de taille?

1/ **Cosmétique** : NPs « **coatées** » (e.g. anti-UV)- **Nanomédecine**: encapsulation de drogues en « **micelles** »



Vectorisation **simple**
dans micelles de NPs organiques
(facilite l'absorption aux sites muqueux)



Vectorisation **complexe**
dans NPs pour reconnaissance
cellulaire « stricte » et libération
sur « site » du principe actif

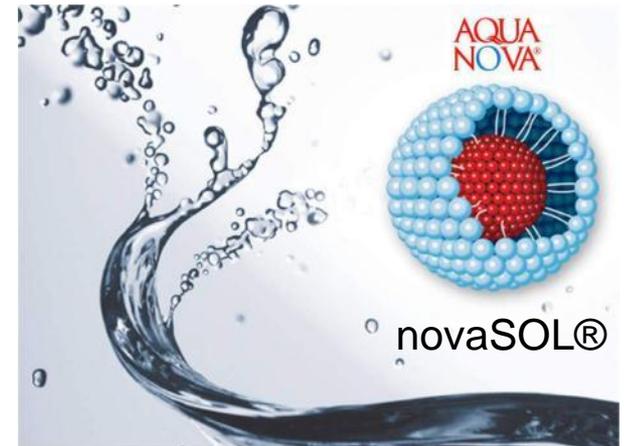
Nanoparticules : déterminants du passage épithélial / une seule question de taille?

2/ **R&D agro-alimentaire** : micelles NPs organiques (formule liquide) pour l'encapsulation d'**additifs alimentaires** :

- Colorants biocompatibles (E171, E172...)
- Coenzyme Q10
- Acides gras ω -3
- Conservateurs [...]

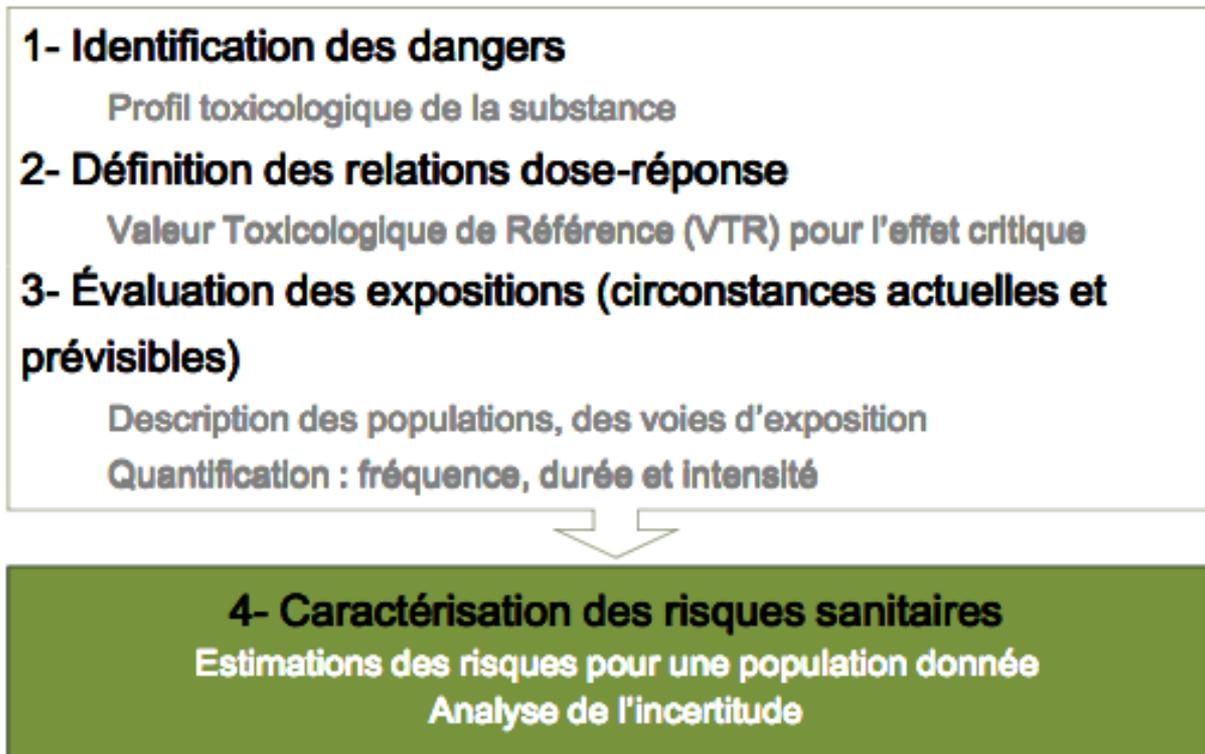
3/ ... mais **la plupart** des NPs utilisées dans le secteur Agro-alimentaire restent « **brutes** » et « **inorganiques** »: **problème du suivi dans l'organisme** (bioaccessibilité / effets) :

- Oxydes métalliques *ou* métal (TiO_2 , ZnO , Ag ...)
- Silice amorphe (dite *colloïdale*: SiO_2 /E151)
- [...]



Nanoparticules : réglementation (Commission Européenne, REACH, ANSES) actuelle et à venir

1/ **Evaluation du risque** : croiser « **danger** » avec « **exposition** » de l'homme



Document N. Thieriet, ANSES 2010

Nanoparticules : réglementation (Commission Européenne, REACH, ANSES) actuelle et à venir

2/ **Réglementation REACH** (enregistrement, évaluation, autorisation des produits chimiques) :

- Ne s'applique qu'aux substances chimiques produites **au-delà d'1 tonne par an**
- Ne tient pas compte de la **métrologie**, donc **ne distingue pas la forme « nano »** (franchissement des barrières biologiques, propriétés spécifiques) **des autres substances chimiques traditionnelles**

3/ **L'évaluation du risque doit prendre en compte** dans l'exposition orale :

- **Durée et période d'exposition** (adulte *versus* enfant)
- Concentration en produits et **susceptibilité individuelle** (e.g. stress de vie augmentant la perméabilité intestinale aux xénobiotiques),
- **Interactions** des NPs avec les **composantes biologiques** (mucines, protéines, membranes) et leur **devenir biologique**.

Nanoparticules : réglementation (Commission Européenne, REACH, ANSES) actuelle et à venir

4/ **REACH** difficilement applicable au domaine des « **nanos** » (en 2012) :

- Pas de **définition** et de **terminologie(s)** encore abouties
- Pas de **protocole standard** pour les tests de toxicologie (en considérant la voie digestive en plus de l'aérienne) et d'écotoxicologie
- Des techniques et instruments de mesures à **développer et normalisés**
- (en particulier pour la caractérisation métrologique)
- Nécessité de « **nanomatériaux** » **de référence** (OCDE)
- Définir des **scenari d'exposition pertinents** sur tout le cycle de vie des NPs
- Problème du **suivi des NPs inorganiques** (dénuées de sites antigéniques) : TEM, Synchrotron...

5/ En **Europe** et en **France** :

- 2006 : l'**OCDE** crée le **Groupe de Travail** sur les **Nanomatériaux Manufacturés**
- **Loi du 10 juillet 2010 (Grenelle II)** : déclaration **obligatoire** des substances à l'état nanoparticulaire (**Nano Décret**)

Merci de votre attention



Département **Alimentation Humaine**