



## Foire Aux Questions


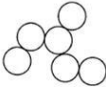
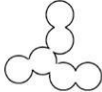
### WEBINAR



## Comment caractériser et mesurer les nanoparticules dans les produits alimentaires ?

**Février 2017**

## Comment caractériser et mesurer les nanoparticules dans les produits alimentaires ?

<b>Q</b>	Quelle est la définition des particules primaires ?
<b>R</b>	<p>On différencie les particules primaires des agglomérats/agrégats. Ces derniers ne sont rien d'autres que des particules primaires assemblées les unes aux autres soit par des liaisons faibles de type Van der Waals (on parle alors d'agglomérats) ou par des liaisons fortes de type covalent (on parle alors d'agrégats). Des nanoparticules peuvent donc se trouver selon les conditions du milieu dans lequel elles se trouvent (pH, T°C, ...), soit sous la forme de particules primaires libres, soit sous la forme de particules primaires agglomérées ou agrégées. Si tant est que les particules ne soient pas solubles, la particule primaire constitue donc le plus petit motif sous lequel on pourra observer les nanoparticules. C'est la raison pour laquelle il convient de caractériser la distribution des tailles de ces objets, comme mentionné au point 12 de la recommandation de définition 2011/696/CE.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center; text-align: center;"> <div style="margin: 10px;">  <p><b>Particule primaire</b></p> </div> <div style="margin: 10px;">  <p><b>Agglomérat</b> Particules primaires liées entre elles par des forces faibles</p> </div> <div style="margin: 10px;">  <p><b>Agrégat</b> Particules primaires fortement liées entre elles</p> </div> </div>

<b>Q</b>	Qu'est-ce que la BET ?
<b>R</b>	<p>La technique BET tient son nom de ses inventeurs, Brunauer–Emmett–Teller. Elle constitue la technique de référence pour la mesure de la surface spécifique de nanoparticules, exprimée en <math>m^2/g</math>. Son principe est fondé sur l'adsorption physique d'un gaz inerte (<math>N_2</math>) sur la surface du solide et sur le calcul de la quantité de gaz adsorbé correspondant à une monocouche sur la surface des particules. Cette information permet d'accéder à la surface de l'échantillon exposée, dont on peut tirer :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- un diamètre moyen des particules via l'application de modèles donnés dans la littérature scientifique et la connaissance de la densité des particules considérées, si tant est que les particules soient sphériques et non poreuses (<i>cf. point 5 de la recommandation 2011/696/UE mentionnant que tout matériau est à considérer comme relevant de la définition dès lors qu'il présente une surface spécifique en volume supérieure à <math>60 m^2/cm^3</math></i>),</li> <li>- des indications sur le caractère aggloméré ou agrégé des particules constituant l'échantillon via la comparaison du diamètre moyen obtenu à celui mesuré par microscopie.</li> </ul> <p>Cette mesure se réalise uniquement sur des poudres et la norme ISO 9277:2010 donne un protocole de caractérisation.</p>

## Comment caractériser et mesurer les nanoparticules dans les produits alimentaires ?



Instrument BET du LNE, installé sur la plate-forme CARMEN (à Trappes)

**Q** Que sont les "ingrédients secondaires" ?

**R** Les ingrédients secondaires ou composés correspondent aux ingrédients entrant dans la composition d'un ingrédient lui-même utilisé pour formuler un produit alimentaire.  
Exemple : l'additif E551 utilisé en tant qu'anti-mottant dans un arôme naturel vendu sous forme de poudre pour être utilisé par un fabricant de biscuits

**Q** Quelle est la différence entre des agrégats et particules liées ?

**R** La notion de particules liées peut avoir deux significations selon le contexte. Si on s'intéresse uniquement aux particules, des agrégats sont bien des particules liées entre elles par des liaisons fortes de type covalent quasiment impossible à casser (à différencier des agglomérats pour lesquels les liaisons entre particules sont de type électrostatiques et donc facile à casser). En revanche le Décret n° 2012-232 relatif à la déclaration obligatoire française (R-Nano) mentionne le caractère non lié des particules vis-à-vis de la matrice dans lesquelles elles sont incorporées. Cela témoigne du fait que les particules puissent être extraites ou libérées dans des conditions normales ou raisonnablement prévisibles d'utilisation (Chapitre IV du Décret n° 2012-232).

**Q** Si on retient la définition des nanomatériaux donnée dans le règlement Novel Food, doit-on tout de même se soumettre à l'étiquetage comme le demande INCO ?

**R** La définition des nanomatériaux manufacturés donnée dans le Règlement Novel Food était portée jusqu'en 2015 par le Règlement INCO 1169/2011. Le législateur a décidé de la transférer dans le règlement Novel Food par souci de cohérence et pour veiller à ce qu'une seule définition des nanomatériaux manufacturés existe dans le domaine de la législation relative aux denrées alimentaires. Aujourd'hui même si le Règlement Novel Food exclut les additifs alimentaires de son champ d'application car ils dépendent directement du règlement (CE) no 1333/2008, le règlement INCO demande bien à ce que le consommateur soit informé

## Comment caractériser et mesurer les nanoparticules dans les produits alimentaires ?

de la **présence de tout ingrédient sous forme de nanomatériaux manufacturés** via un étiquetage systématique (*article 18 point 3*). Il est par ailleurs de la responsabilité de l'utilisateur d'ingrédients d'évaluer avec soin le caractère nano des substances utilisées dans ses produits alimentaires finaux afin de prévenir tout étiquetage inadéquat.

**Q** Est-ce qu'un nanomatériau néoformé (formé lors du process) est un nanomatériau manufacturé ?

**R** Un matériau à l'échelle nanométrique formé pendant le procédé de fabrication d'un produit alimentaire sera considéré comme incidentel. Il ne rentre donc pas dans la définition d'un nanomatériau manufacturé donnée dans le Règlement Novel Food.

**Q** Est-il prévu que les définitions soient harmonisées? Si oui, sous quel délai?

**R** La Recommandation de définition 2011/696/CE a été mise en place par la Commission Européenne dans le but de définir de façon univoque ce qu'est un nanomatériau et éviter que des substances n'aient pas le même statut selon le secteur d'application considéré. Le règlement Cosmétique, antérieur à la recommandation de définition de 2011, avait par exemple donné sa propre définition en 2009. Il était prévu initialement que la recommandation de définition soit figée en 2014 avec quelques adaptations. Après de multiples reports, il est annoncé que la Commission Européenne doit proposer une définition révisée au cours du premier semestre 2017. A noter que tous les textes législatifs issus depuis 2011 et prenant en compte le cas des nanomatériaux ont repris la recommandation de 2011 ou s'en sont fortement inspirés (*Règlement Biocides n°528/2012, Règlement Dispositif Médicaux 2012, Décret Français n°2012-232*). Seul le règlement Novel Food n'a pas suivi cette tendance. Il y est cependant prévu que la Commission puisse ajuster et adapter, par voie d'actes délégués, la définition des nanomatériaux manufacturés au progrès scientifique et technique ou aux définitions convenues au niveau international (Article 31). Reste à savoir dans quel texte la définition sera-t-elle modifiée en premier : dans le règlement Novel Food ou dans la recommandation de 2011?

**Q** Comment doit-on gérer les ingrédients des ingrédients, c'est-à-dire comment déclarer de la silice introduite dans une matière constituant une formule fabriquée par nos soins ?

**R** Le cas des ingrédients composés et des auxiliaires technologiques dont une partie ou la totalité des particules sont de taille nanométrique posent en effet question. L'article 20 du Règlement INCO mentionne effectivement que certains constituants, dont les additifs présents dans une denrée alimentaire uniquement du fait qu'ils étaient contenus dans un ou plusieurs ingrédients de cette denrée et les auxiliaires technologiques, peuvent être omis sur la liste des ingrédients. Mais ce même règlement INCO demande à l'article 18.3 **un étiquetage systématique de tout ingrédient sous forme de nanomatériaux manufacturés**. Pour rappel, un ingrédient est défini comme toute substance ou tout produit, y compris les

## Comment caractériser et mesurer les nanoparticules dans les produits alimentaires ?

arômes, les additifs alimentaires et les enzymes alimentaires, ou tout constituant d'un ingrédient composé, utilisé dans la fabrication ou la préparation d'une denrée alimentaire et encore présent dans le produit fini, éventuellement sous une forme modifiée (INCO, article 2.2.f).

Q

La déclaration annuelle des nanomatériaux n'est pas applicable pour les utilisateurs finaux ?

R

La déclaration annuelle R-Nano concerne l'ensemble des acteurs manipulant des nanomatériaux depuis le fournisseur (*producteur, importateur et distributeur*) jusqu'à l'intégrateur qui peut être l'utilisateur final. Les critères à vérifier pour savoir si vous êtes concernés concernent la quantité annuelle de la substance visée (+ de 100 g / an) et le caractère non lié de cette substance (*substance à l'état nanoparticulaire incorporée intentionnellement dans un mélange dont elle est susceptible d'être extraite ou libérée dans des conditions normales ou raisonnablement prévisibles d'utilisation* / Chapitre IV du Décret n° 2012-232). Un numéro de déclarant doit vous être communiqué par votre fournisseur (Article 3 II.de l'Arrêté du 06 août 2012).

Q

Que pouvons-nous faire quand on constate la présence d'un nanomatériau (dioxyde de titane) dans un emballage ?

R

Le dioxyde de titane (TiO<sub>2</sub>) est couramment utilisé comme colorant blanc dans des matériaux plastique d'emballage (PE, PET, ...). Cette substance apparaît d'ailleurs dans la liste de l'Annexe 1 du Règlement n°10/2011 sous le n° MCDA 610 et le n° CAS 0013463-67-7. Cette classification regroupe cependant toutes les formes possibles du TiO<sub>2</sub>, que la part de nanoparticules (c'est-à-dire < 100 nm) soit minime (seulement quelques %) ou plus importantes (jusqu'à 36-40 %) selon le fournisseur considéré comme une étude l'a montré (*Weir et coll., 2012*). Or le Règlement n°10/2011 mentionne dans son article 9.2 que « *Les substances se présentant sous une forme nanométrique ne peuvent être utilisées que si elles sont expressément autorisées et mentionnées dans les spécifications figurant à l'annexe I.* ». Neuf substances sont ainsi considérées sous un angle nano (c'est-à-dire avec des restrictions sur la taille des particules) et acceptées sous certaines conditions. Cela concerne notamment le Nitrure de Titane (MCDA n°807), la Silice Amorphe de Synthèse (MCDA n°504) ou encore le noir de carbone (MCDA n°411), mais pas le TiO<sub>2</sub>. Cette situation ambiguë vient du fait que le Règlement n°10/2011 ne définit pas le terme nanomatériau, ni ce que signifie « *se présenter sous une forme nanométrique* » puisqu'aucun seuil n'est donné. Donc aujourd'hui pas d'obligation réglementaire, mais des interrogations sur l'impact des nanoparticules de TiO<sub>2</sub>.

## Comment caractériser et mesurer les nanoparticules dans les produits alimentaires ?

Q	Comment différencier les nanomatériaux naturels ou manufacturés ?
R	Le terme « nanomatériaux » désigne en fait à la fois des substances naturelles ( <i>poussières volcaniques, ...</i> ), anthropogéniques ( <i>transport, chauffage, ...</i> ) ou fabriquées intentionnellement pour tirer parti de nouvelles propriétés spécifiques. Dans ce dernier cas de figure, il peut parfois être intéressant de traiter la surface des particules ( <i>greffage de fonction chimique, revêtement d'une nature chimique différente, ...</i> ) pour améliorer les propriétés du produit. Si tel est le cas, une caractérisation de la surface des particules peut permettre d'identifier le caractère intentionnel de la fabrication. Cela ne peut en revanche pas être réalisé dans tous les cas et reste complexe à mettre en œuvre.
Q	Comment mesurer l'état d'agglomération? Y a-t-il des méthodes standardisées pour évaluer l'agglomération?
R	Mesurer l'état d'agglomération de façon représentative reste un exercice complexe car ce paramètre peut varier de façon importante en fonction des conditions dans lesquelles les particules se trouvent. Il n'y a ainsi aujourd'hui aucune méthode/protocole normalisé pour mesurer l'état d'agglomération. En revanche différentes techniques, dont la microscopie ou certaines techniques indirectes (sp-ICPMS, DLS, ...), peuvent apporter des éléments d'informations complémentaires.
Q	Existe-t-il des méthodes reconnues pour rechercher des nanoparticules dans un aliment ?
R	Aujourd'hui il n'y a pas de méthodes/protocoles normalisés pour rechercher des nanoparticules dans un aliment. Cela reste très complexe à faire si on ne sait rien des particules que l'on cherche, à savoir quelle nature chimique, quelle gamme de taille attendue,... ? Plusieurs méthodes d'analyse peuvent cependant apporter des informations sur la taille des particules présentes, chacune ayant ses avantages et ses limitations (MEB, sp-ICPMS, A4F, ...). Le choix de la meilleure technique dépend de l'information que l'on souhaite obtenir. Est-ce la taille ou la distribution de taille des particules primaires ? Est-ce la distribution granulométrique des particules et agglomérats/agrégats présents ?
Q	Quelles sont les différentes visions de ce qu'est un nanomatériau ?
R	Deux points de vue s'opposent pour définir ce que couvre le terme « nanomatériau ». La position européenne est de ne retenir qu'un critère de taille ( <i>limite des 100 nm &amp; seuil de 50% de particules &lt; 100 nm dans la plupart des définitions dont la recommandation de définition 2011/696/CE</i> ), alors que la plupart des pays anglo-saxon (Canada, USA, Australie, ...) y ajoute la nécessaire apparition de nouvelles propriétés typiques des matériaux à cette échelle nanométrique.

## Comment caractériser et mesurer les nanoparticules dans les produits alimentaires ?

Q	Par rapport à la part nano (1-100 nm), est-ce que cela veut dire que seules les particules inférieures à 100 nm présentent aujourd'hui un risque ?
R	<p>L'échelle nanométrique a été définie au niveau international comme allant approximativement de 1 à 100 nm (ISO/TS 80004-1 – 2013) et cette limite haute de 100 nm a été reprise dans les différentes définitions réglementaires en Europe. Mais ce seuil de 100 nm n'a aucune signification scientifique. Des propriétés typiques des nanomatériaux peuvent être observées pour des objets dont la taille fait quelques centaines de nanomètres et les biologistes cherchent des effets toxiques nano-spécifiques jusqu'à des tailles voisines de 600 nm.</p> <p><b>Un point important à avoir en tête est que des particules de taille inférieures à 100 nm ne sont pas forcément toxiques !</b> Les performances des nanomatériaux et les risques qui leurs sont potentiellement associés dépendent d'un grand nombre de paramètres (<i>taille, distribution de tailles, forme, composition, charge de surface, ...</i>) comme cela est décrit dans le document ISO/TR 13014 de 2012. Des particules peuvent avoir une taille inférieure à 100 nm et ne présenter aucun risque ou avoir une taille supérieure à 100 nm et s'avérer toxique. C'est là toute la complexité du sujet car il faut pour cela être en capacité de caractériser correctement l'ensemble des 8-9 paramètres décrivant un nanomatériau.</p>
Q	Comment être sûr que l'état d'agglomération observé au microscope est représentatif de l'état d'agglomération dans l'aliment?
R	<p>L'état d'agglomération observé au microscope ne sera pas représentatif de l'état d'agglomération dans l'aliment car ce paramètre dépend de multiples facteurs difficiles à maîtriser. La matrice alimentaire rend par ailleurs assez complexe l'accès à ce type d'information.</p> <p>Ce n'est en revanche pas l'état d'agglomération dans l'aliment qu'il est important de connaître, mais bien les informations sur les particules primaires constitutives de ces agglomérats. Ces dernières peuvent en effet se détacher d'un agglomérat ou d'un agrégat, du fait des différentes conditions auxquelles va être soumis le produit (T°C, pH, usure, ...) au cours de son cycle de vie et se retrouver de fait à l'état libre.</p>
Q	Comment évolue les nanomatériaux en milieu aqueux (solubilisation)?
R	<p>Le comportement des nanomatériaux en termes de solubilisation est différent d'un nanomatériau à l'autre. Le caractère soluble ou insoluble d'un nanomatériau va dépendre de ses différentes caractéristiques, mais également du milieu considéré. Certaines nanoparticules seront ainsi totalement insolubles en milieux aqueux, d'autres seront partiellement solubles et d'autres enfin totalement solubles. Les questions de risques potentiels dépendent donc fortement de ce critère puisqu'une fois dissoutes, une éventuelle toxicité observée ne serait plus due au caractère nano de la substance, mais uniquement à la nature chimique.</p>

## Comment caractériser et mesurer les nanoparticules dans les produits alimentaires ?

Q	Est-ce que les nanoparticules ajoutées dans les denrées alimentaires se limitent aux additifs E171 et E551 ?
R	Il est important de préciser que les additifs E171 et E551 ne sont pas des nanoparticules en tant que tels, mais des substances sous forme particulaire, dont une partie ou la totalité des particules sont de taille nanométrique et donc des nanoparticules. D'autres additifs sont dans une situation similaire, comme par exemple le carbonate de calcium $\text{CaCO}_3$ (E170), les hydroxydes de fer (E172), l'argent (E174), ...
Q	Est-il pertinent de d'ores et déjà intégrer l'analyse des nanos dans nos plans de contrôles?
R	Lorsqu'on parle par exemple de $\text{TiO}_2$ alimentaire, cela recouvre en fait un grand nombre de substances, une nanoparticule étant décrite par de nombreux paramètres physiques ( <i>taille, distribution en taille, forme, surface spécifique, ...</i> ). Dans le cas des nanomatériaux, il y a donc pour une même nature chimique autant de substances que de fournisseurs comme l'a montré une étude de 2012 ( <i>Weir et coll., 2012</i> ) dans laquelle différentes référence de $\text{TiO}_2$ ont été caractérisées. Cela a permis d'identifier des fractions nanométriques très différentes pouvant aller de quelques % à presque 40%. De façon générale, cette grande variabilité peut avoir un impact sur les performances attendues, mais également sur les quantités de nanoparticules auxquelles le consommateur sera exposé. Un contrôle de vos matières premières quant à la fraction de particules primaires inférieures à 100 nm est donc pertinent pour mieux connaître vos produits.
Q	Dans quels types de matrices pouvez-vous mesurer les populations de nanoparticules (poudres uniquement ou solides organiques, liquides etc...) ?
R	Le LNE a développé une expertise depuis plusieurs années pour caractériser les propriétés de nanoparticules ( <i>taille, distribution de taille, forme, charge, ...</i> ) dans la plupart des matrices ( <i>poudre, liquide, solide organique, aérosol, surface de matériaux</i> ). Différentes techniques sont accessibles (MEB, AFM, sp-ICPMS, BET, DLS, A4F-MALS, SMPS, ...) et le choix de la technique à privilégier se fait en fonction de l'information attendue (particules primaires ? distribution granulométrique incluant les agglomérats et agrégats ?) et de la matrice considérée.
Q	Le développement et l'harmonisation de protocoles pour la détection de nanoparticules dans les denrées alimentaires fait-elle partie des travaux du LNE ?
R	Parmi ses activités de R&D, le LNE a effectivement des actions en cours pour développer des protocoles permettant la détection de nanoparticules dans les produits alimentaires. Les techniques privilégiées sont la microscopie électronique à balayage (MEB), la spectrométrie de masse en mode comptage individuel (sp-ICPMS) ou encore le fractionnement flux force couplé à différents détecteurs (A4F-MALS).



**Comment caractériser et mesurer les nanoparticules dans les produits alimentaires ?****Q**

Quelle approche le LNE met-il en œuvre vis-à-vis de la migration potentielle de nanoparticules depuis des matériaux d'emballage ?

**R**

Le LNE propose une approche en deux étapes :

- dans un premier temps une analyse de migration spécifique est réalisée. Cela consiste à vérifier si l'élément constituant les nanoparticules présentes dans l'emballage se retrouve dans la denrée ou le simulant alimentaire (par exemple Ti dans le cas de particules de  $\text{TiO}_2$ ). Si aucune trace de l'élément n'est observée, cela signifie qu'il n'y a pas eu migration des nanoparticules depuis l'emballage ;
- en revanche si c'est le cas, il faut alors déterminer si l'élément se trouve une forme dissoute ou particulaire. Une caractérisation de la distribution granulométrique est alors réalisée sur la denrée alimentaire ou le simulant.

## CONTACT

**Service clients**

1, rue Gaston Boissier

75724 Paris Cedex 15

+(33) 1 40 43 38 13

[info@lne.fr](mailto:info@lne.fr)

[www.lne.fr](http://www.lne.fr)