

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة سعيدة د. مولاي الطاهر

Université de SAIDA Dr MOULAY Tahar



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

N° d'Ordre

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Contribution à l'étude d'attribution des nano-vecteurs biologiques pour la conservation d'un aliment

Présenté par :

- Mme: NASRI Messaouda
- Mme: FETTOUHI Hadjer

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Président	Mr. BENREGUIEG Mokhtar	MCA Université de Saida
Examineur	Mr. ZIANI kadour	MCA Université de Saida
Rapporteur	Mr. BELLIL Yahia	MCA Université de Saida

Année universitaire 2021/2022

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة سعيدة د. مولاي الطاهر

Université de SAIDA Dr MOULAY Tahar



N° d'Ordre

كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Contribution à l'étude d'attribution des nano-vecteurs biologiques pour la conservation d'un aliment

Présenté par :

- Mme : NASRI Messaouda
- Mme : FETTOUHI Hadjer

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Président	Mr. BENRÉGUIEG Mokhtar	MCA Université de Saida
Examineur	Mr. ZIANI Kadour	MCA Université de Saida
Examineur	Mr. BELLIL Yahia	MCA Université de Saida

Année universitaire 2021/2022

Dédicaces :

À ma chère **mère** : Quoi que je fasse ou dise, je ne pourrai pas vous remercier comme il se doit. Votre amour me protège, votre compassion me conduit et votre présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les nombreux obstacles.

Que Allah leur prête bonheur et longue vie.

À mon cher père : Vous avez toujours été avec moi pour me soutenir et m'inspirer. Ce travail peut-il refléter mon appréciation et mon amour. Je dédie ce travail à **Ma mère** Que ce travail soit pour toi le témoignage de mon infinie reconnaissance pour ton aide précieuse et toutes ces années de compréhension **Mon père** Tu es un pilier solide et incontournable pour ma personne et mon parcours, **que Dieu te donne santé et longue vie.**

A ma sœur **Chaima** et **Hanane** et leur petit Jalal Dine et mon frère Toufek, Pour ta compréhension et ton aide précieuse dans les moments difficiles.

À mon meilleur ami **Abd El karim** pour l'aide et le soutien dans les moments difficiles et l'encouragement toujours.

À **Messaouda** chère amie avant d'être binôme et sa famille, Pour son soutien À tout adorable mes amies À tout ma chère familles.

Après la grâce **d'Allah**, en cette vie j'ai les (quels et quelles) qu'ils ont des grâces à moi, c'est pour ça je dédie ce travail aux:

A mon pour avoir toujours cru en moi et pour ses nombreux sacrifices pour son soutien, son amour, sa tendresse et ses encouragements J'espère qu'un jour, je pourrai leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi. A mon professeure **Mr Bellil** ne vais jamais oublier vos biens, conseils et vos encouragements, Aux toutes mes adorables amis, surtout **:Aymen, Dalila, Hafida, Hanan, Bouchra, Lamia, Nour El Houda, Zahra, Fatima** Sans oublier mon chère binôme **Nasri Messauda** pour son soutien moral, sa patience tout au longue d'étude.



Avant de dédier ce travail nous remercions **Dieu** le clément, le miséricordieux pour le courage, la patience et la santé qu'il m'a donné pour venir à bout de ce travail après Cinq ans d'étude.

Je dédie ce modeste travail : A la lumière de mes jours, la flamme de mon cœur, la source de mes efforts, ma vie et mon bonheur, ma pilule pour le cœur, ma mère, qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi. Que Dieu la garde pour moi. **Je t'aime maman et merci encore !**

A mon très cher père, la prunelle de mon œil papa, qui sera toujours présent dans mon cœur. J'ai éprouvé un profond respect Ton amour, ton soutien, ta patience, ta compréhension et le réconfort que tu m'as apporté auront été irréprochables.

Mama, papa Que Dieu vous gardes et vous donne santé, longue vie et que de bonheur

A mon soutien, ma force et mon refuge, à ceux qui m'ont préféré à eux, mes sœurs **Aicha, Mona, Fatima** et aux **femmes de mes frères** et mes frères **Mehamed , Abass**, surtout **Ahmed** mon grande frère qui je lui dois énormément, mon frère qui m'a soutenu et m'a donné la force.

Aux meilleurs de ceux que le destin m'a présentés, à ceux qui se distinguent par leur loyauté, **Bouchra, Maroua, Lamia, Hanane, Khaoula, Sara, Yakhout, Samira, Malika, Michou, Nour el houda, Fatima, Zahra** surtout mon professeur **khadidja arabi**.

A mes petits Samira, Kltoume, Rihab, Inass, Maysa, Mariem, Sanaa, Sirin

A mon chère copine mon binome **Hadjer Fettouhi** pour son soutien moral, sa patience tout au longue d'étude. A toute ma grande famille **Nasri et Elbare**.

Il a remercié l'honorable professeur **Yahia Bellil** pour soutien et sa présence a nos cotés tout au long de la réalisation de se mémoire et ses précieux conseils

Finalement, je remercie tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.



Remerciements

Les Avant tout nous remercions «**ALLAH**» le tout puissant qui nous a donné le courage, la santé, la volonté et la force, l'amour du savoir et surtout la patience pour réaliser ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite, atteindre notre but et réaliser ainsi un rêve.

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements et notre profonde gratitude à : **Notre promoteur Monsieur BELLIL Yahia**, qui nous a honoré en acceptant de diriger ce travail, pour son encadrement rigoureux et méthodique et les compétences dont il nous a fait bénéficier le long de ce travail, ses orientations, son aide précieuse et son optimisme à toute épreuve, ses conseils fructueux, son soutien continu et ses encouragements permanents. Merci pour votre supervision et vos corrections multiples au cours de la rédaction du manuscrit, On a eu vraiment un grand honneur de travailler sous votre direction.

A vous, un grand Merci Monsieur **BENABBOU Taha Ahmed** pour ces précieux conseils et son inlassable énergie pour terminer ce travail. Nos vifs remerciements s'adressent à **Mr BENREGUIEG Mokhtar et Mr ZIANI Kadour** pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant pour évaluer ce travail, vous trouvez ici l'expression de notre profond respect et notre profonde reconnaissance.

Nos vifs remerciements s'adressent aux personnels praticiens du laboratoire surtout **Mr Ahmed, Mme Mahboubi Hadjer** pour leur patience et leurs précieuses aides, pendant la réalisation de ce travail Nos remerciements s'adressent également à: **A tous les enseignants du département de biologie de la faculté des Sciences, université de Saida Dr Moulay Taher**. Et surtout de la spécialité de Microbiologie appliquée et à tous les collègues de la promotion 2021 /2022, et Nos remerciements tous ceux qui nous ont rendu service et qui ont contribué de près ou de loin pour accomplir ce travail.

Liste des abréviations

% : Pourcentage	pH :Potentiel d'Hydrogène
°C : Degré Celsius	R : résistantes.
µg : micro gramme	S : sensibles
µl : micro litre	UFC : Unité formant colonie
ATB : Antibiotiques	Zi :zone d'inhibition
AW : Activité water	
BN : Bouillon nutritif	
DM : Diamètre de masse	
DMSO : diméthylsulfoxyde	
DV : Diamètre équivalent en volume	
FAO : Food and agriculture organization	
GN : Gélose nutritive	
gr : gramme	
H : heure	
LDPE : Low density polyéthylène	
min : minute	
Mm : millimètre	
MRS : Milieu de Man, Rogosa et Sharpe	
NaCl : Chlorure de sodium	
nm : nanomètre	
PBS : Tampon phosphate	
PDA : Potato dextrorse agar	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les différentes techniques de pasteurisation	6
Tableau 2 : Les différentes techniques de stérilisation.....	7
Tableau 3 : Origine de souches sélectionnées	53
Tableau 4 : Les souches indicatrices.....	64
Tableau 5 : Diamètres des zones d'inhibitions des souches lactiques (mm).....	66
Tableau 6 : Tolérance à l'acidité des souches candidates	68
Tableau 7 : Tolérance au mucus intestinal simulé additionné de pepsine à pH :2.....	70
Tableau 8 : Tolérance au mucus intestinal simulé additionné de pepsine à pH :3.....	70
Tableau 9: Tolérance au mucus intestinal simulé additionné de pepsine à pH :7	70
Tableau 10 : Antibiogramme des souches sélectionnées vis-à-vis les antibiotiques.....	73
Tableau 11 : Test Hydrophobicité des souches sélectionnées envers xylène.....	75

Liste des figures

Figure 1 : Test de catalase	55
Figure 2 : L'aliment modèle après et avant le salage	59
Figure 3 : L'inoculation de l'aliment modèle par les nanoparticules renfermant les souches.....	60
Figure 4: Observation macroscopique des colonies de la souche 73 cultivée sur milieu solide MRS	63
Figure 5: Observation microscopique des colonies des souches 48 et 73.....	63
Figure 6: Activité hémolytique des souches lactiques.	72
Figure 7 : Antibiogramme des souches lactiques	73
Figure 8 : Dénombrement des cellules viables de <i>Listeria ivanovii</i> ATCC 19119 co-cultivé avec les souches bioactives dans l'aliment modèle.....	76

Résumé

Les Nanotechnologies offrent des perspectives intéressantes sur le plan de la sécurité alimentaire. L'implication des nanoparticules dans les denrées alimentaires est marginalisée malgré leur capacité à pénétrer dans l'emballage. C'est le cas notamment en agriculture ou dans l'industrie alimentaire. Elle est donc toujours à la recherche de nouvelles technologies pour améliorer la conservation, le goût, la saveur et la texture. Dans ce présent travail 16 souches lactiques déjà isolées à partir des produits fermentés ont été sélectionnées pour cribler leur potentiel probiotique avec la maîtrise de la croissance d'un pathogène dans une matrice alimentaire modèle (La viande de bœuf fraîche) après encapsulation dans des nanoparticules à base d'amidon. Les résultats obtenus montrent que trois souches présumées d'être de potentiel candidates probiotique, ces dernières renfermées dans les nanoparticules peuvent contrôler la croissance de *Listeria ivanovii* dans la viande après quatorze jours de stockage à 4°C. Les nanoparticules peuvent être plus réactives chimiquement et plus bioactives que de grandes particules. Les nanotechnologies risquent de renforcer la dépendance d'agriculture à des techniques basées sur la chimie et une forte consommation d'énergie. Il y a de l'intérêt général de réduire les distances entre consommateurs et producteurs.

Mots clés : Bactéries lactique, conservation, denrées alimentaires, Nanotechnologie, Nanoparticule, viande de bœuf.

Abstract

Nanotechnologies offer interesting perspectives in terms of food safety. The involvement of nanoparticles in foodstuffs is marginalized despite their ability to penetrate packaging. This is particularly the case in agriculture or in the food industry. It is therefore always on the lookout for new technologies to improve preservation, taste, flavor and texture. In this present work, 16 lactic strains already isolated from fermented products were selected to screen their probiotic potential with the control of the growth of a pathogen in a model food matrix (fresh beef) after encapsulation in nanoparticles at starch base. The results obtained show that three strains presumed to be potential probiotic candidates, the latter contained in the nanoparticles can control the growth of *Listeria ivanovii* in the meat after fourteen days of storage at 4°C. Nanoparticles can be more chemically reactive and more bioactive than large particles. Nanotechnology threatens to reinforce the dependence of agriculture on techniques based on chemistry and high energy consumption. It is in the general interest to reduce the distances between consumers and producers.

Keywords: Lactic acid bacteria, conservation, foodstuffs, nanotechnology, nanoparticles, meat.

تقدم تقنيات النانو وجهات نظر مثيرة للاهتمام فيما يتعلق بسلامة الغذاء. يتم تهميش مشاركة الجسيمات النانوية في المواد الغذائية على الرغم من قدرتها على اختراق التعبئة والتغليف. هذا هو الحال بشكل خاص في الزراعة أو في صناعة الأغذية. لذلك فهي تبحث دائماً عن تقنيات جديدة لتحسين الحفظ والمذاق والنكهة والملمس. في هذا العمل الحالي ، تم اختيار 16 سلالة من اللاكتيك تم عزلها بالفعل من المنتجات المخمرة لفحص إمكانات البروبيوتيك مع التحكم في نمو العامل الممرض في مصفوفة الغذاء النموذجية (لحم البقر الطازج) بعد تغليفها في جزيئات نانوية في قاعدة النشا. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن ثلاث سلالات يُفترض أنها مرشحة محتملة للبروبيوتيك ، ويمكن للأخيرة الموجودة في الجسيمات النانوية التحكم في نمو *Listeria ivanovii* في اللحوم بعد أربعة عشر يوماً من التخزين عند 4 درجات مئوية. يمكن أن تكون الجسيمات النانوية أكثر تفاعلاً كيميائياً وأكثر نشاطاً بيولوجياً من الجسيمات الكبيرة. تهدد تقنية النانو بتعزيز اعتماد الزراعة على التقنيات القائمة على الكيمياء والاستهلاك العالي للطاقة. من المصلحة العامة تقليص المسافات بين المستهلكين والمنتجين.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك ، الحفظ ، المواد الغذائية ، تكنولوجيا النانو ، الجسيمات

النانوية ، اللحم.

Table des matières

I.1. Introduction.....	2
II.1. Méthode classique de la conservation de l'aliments	5
II.1.1. Définition de la conservation d'aliments.....	5
II.1.2. Les différentes techniques de conservation	5
II.1.2.1. Techniques de conservation par la chaleur.....	5
II.1.2.2. Techniques de conservation par le froid.....	8
II.1.2.3. Techniques de conservation par séparation et élimination d'eau (déshydratation).....	9
II.1.2.4. Techniques chimiques de conservation.....	10
II.2. Nanotechnologie	12
II.2.1. Définition	12
II.2.1.1. Nanosciences	12
II.2.1.2. nanotechnologie	13
II.2.2. les nanomatériaux	14
II.2.2.1. Définition	14
II.2.2.2. Les différents types de nanomatériaux.....	15
II.2.2.3. Classification des nanomatériaux	17
II.2.3. Les principes nano-vecteurs biologiques.....	19
II.2.3.1. Nano vecteurs	19
II.2.4. Nanoparticule	24
II.2.4.1. Les Classes de nanoparticule.....	25
II.2.4.2. Application des nanoparticules	26
II.2.4.3. Propriétés physiques et physico-chimiques des nanoparticules.....	28
II.2.4.4. Paramètres caractéristiques physiques des nanoparticules :	28
II.2.5. Encapsulation et nano vecteurs	30
II.2.6. L'intérêt pour les nanotechnologie	31
II.2.7. Origine et compréhension de ces différences	32
II.2.8. Quelques exemples de nanomatériaux Parmi les plus utilisés. Erreur ! Signet non défini.	
II.2.9. Caractéristiques, intérêts et enjeux des nanotechnologies :	33

II.2.10. Domain d' applications et l'enjeux	34
II.2.10.1. Industrie pharmaceutique, biotechnologique et des soins de santé : ..	35
II.2.10.2. La cosmétologie	35
II.2.10.3. L'agroalimentaire	36
II.2.11. Application dans le domaine de l'agriculture et de l'alimentation (avérées et Potentielles).....	36
II.2.11.1. Production végétale	37
II.2.11.2. Transformation et modification des aliments	38
II.2.12. Emballage et conservation des aliments	39
II.3. Innovation et la nanotechnologie	40
II.3.1. Définition	40
II.3.1.1. Les applications de la nanotechnologie pour les matériaux.....	41
II.3.2. Migration des nanoparticules dans les denrées alimentaires.....	42
II.3.3. Systèmes de nano distribution par encapsulation	43
II.3.4. Utilisation des nanotechnologies dans le secteur agricole	44
II.3.5. Principes des emballages intelligents basés sur des nano senseurs.....	44
II.3.6. Emballages alimentaires contenant des nanoparticules	45
II.3.7. Emballage intelligent.....	46
II.3.8. Avantages des nanomatériaux pour applications d'emballages alimentaires	46
II.3.9. Ampleur, diversité des applications et enjeux	47
II.3.10. Méthodes de conservation traditionnelle.....	47
II.3.11. Nouvelles tendances dans la conservation des aliments.....	48
II.3.11.1. Définition de la bio conservation	48
II.3.11.2. Différentes méthodes utilisés pour la bio conservation des aliments ..	48
II.3.11.3. Utilisation des bactéries lactiques dans la bio conservation	49
II.3.11.4. Bio conservation et cultures protectrices.....	50
III.1. Revivification des souches	53
III.1. Vérification de la pureté des souches.....	54
III.2. Conservation de courte durée	54
III.3. Conservation de longue durée :	54
III.4. Test de la catalase	54

III.5. Origine des souches pathogènes	55
III.6. Activité antimicrobienne.....	55
III.6.1. Méthode directe	55
III.6.2. Méthode indirecte.....	56
III.7. Etude du potentiel probiotique	56
III.7.1. Tolérance à l'acidité	56
III.7.2. La survie dans un tractus gastro-intestinal simulé:	57
III.7.3. Test hémolytique.....	57
III.7.4. Test de sensibilité aux antibiotiques.....	58
III.7.5. Test d'hydrophobicité	58
III.8. La Bio conservation de la matrice alimentaire (la viande de bœuf).....	59
III.8.1. La préparation de la viande.....	59
III.8.1. Inoculation de la viande	60
III.8.1.1. Encapsulation des cellules dans des nanoparticules.....	60
IV.1. Examinations de la pureté des souches lactiques.....	63
IV.2. Examinations de la pureté des souches indicatrices.....	64
IV.3. Activité antimicrobienne	65
IV.4. Potentiel probiotique.....	Erreur ! Signet non défini.
IV.4.1. Tolérance à l'acidité :	68
IV.4.2. Tolérance au mucus intestinal simulé	69
IV.4.3. Teste Hémolytique	71
IV.4.4. Antibiogramme	72
IV.4.5. Hydrophobicité.....	75
IV.5. La discussion de la conservation de la viande	75
VII.1. Annexe 1 :Milieu de culture et solution.	101
VII.2. Protocole de la coloration de Gram	102

PARTIE I. INTRODUCTION

I.1. Introduction

Le monde des nanosciences et des nanotechnologies recouvre les objets de taille nanométrique dont certains phénomènes et effets sont inattendus. Ces spécificités leur ouvrent un large éventail d'applications et même si certaines sont déjà autour de nous, leur potentiel de développement est considérable, constituent-elles une rupture technologique, une révolution scientifique ou plus prosaïquement une étape de l'évolution vers la miniaturisation Associer le préfixe nano aux sciences, aux technologies, aux particules, aux matériaux, aux objets..., nécessite de distinguer chacun de ces termes dont la signification ne revêt pas le même sens. Par exemple, les propriétés des nanoparticules - qui peuvent s'introduire dans les cellules de l'organisme en raison de leur très petite taille - ne peuvent être assimilées à celles des nanotechnologies dont le vocable couvre notamment les instruments de mesure et d'observation à l'échelle nanométrique (**Cushen et al., 2012**).

Les nanotechnologies sont un domaine prometteur et un des domaines dont la croissance est la plus rapide au niveau de la recherche scientifique, du développement technologique et de l'innovation industrielle. Pour l'industrie alimentaire, les nanotechnologies offrent des nouvelles perspectives intéressantes, que ce soit sur le plan de la sécurité alimentaire et du contrôle de la qualité ou bien de nouveaux ingrédients et de l'utilisation plus efficace d'ingrédients constitue une innovation en rapide évolution et très prometteuse. Cette technologie consiste à développer des particules (nanoparticules) d'une dimension au moins inférieure à 100 nm (**Haccoun et al., 2019**)

De par leurs petites dimensions, ces particules possèdent des propriétés physicochimiques bien spécifiques telles que résistance, réactivité chimique, conduction électrique, magnétisme et effets optiques, qui donnent lieu à de nouvelles applications. Leur taille n'est pas la seule à jouer un rôle, comptent aussi la distribution de taille, la forme et la réactivité de surface, La majeure partie des applications des nanotechnologies ciblées au secteur agricole et au

secteur alimentaire. Les nanosciences et nanotechnologies peuvent être définies à minima comme l'ensemble des études et des procédés de fabrication et de manipulation de structures, de dispositifs et de systèmes matériels à l'échelle du nanomètre (nm). A cette échelle, les propriétés différentes significativement de celles obtenues à une plus grande échelle. Pourquoi les nanoparticules sont, elles uniques ?

Toutefois, les nanotechnologies suscitent également des questions auxquelles une réponse doit être donnée rapidement. Dans le présent avis, on fait le point sur la situation actuelle et les lacunes au niveau de la définition et de la classification des nanoparticules. On expose aussi l'état actuel des connaissances à propos des aspects toxicologiques, des applications et de l'évaluation des risques des nanotechnologies et des nanomatériaux dans la chaîne alimentaire (**Dobrucka, 2014**). Les problèmes posés par la communication vers les consommateurs et leur perception à propos de ces nouvelles technologies sont aussi abordés à côté des aspects stratégiques.

En fin, une communication transparente vers le consommateur, tant par les industries que par les autorités, est indispensable pour une implémentation réussie de ces "nouvelles" technologies. Les nanotechnologies consistent à concevoir, fabriquer et appliquer des structures, instruments et systèmes à l'échelle du nanomètre.

PARTIE II. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

II.1. Méthode classique de la conservation de l'aliments

II.1.1. Définition de la conservation d'aliments

La conservation est l'ensemble des procédés de traitement dont le but est de conserver des aliments, préserver leur comestibilité et leur propriété gustative et nutritive. Elle implique notamment d'empêcher la croissance de microorganismes et de retarder l'oxydation des graisses qui provoque le rancissement (**Darinmou, 2000**). La consommation d'aliments frais est toujours préférable car la conservation diminue la valeur nutritive des produits. Autrement dit, les aliments conservés sont moins bons pour la santé que les aliments frais (**Corlien, 2005**). Deux objectifs ambitionnés par la conservation sont :

- La stabilisation de l'aliment assurée par un traitement qui bloque ou freine le développement microbien. S'il s'agit d'un procédé différent de la conservation au froid, ou obtient des semi-conserves qui doivent être transportées et stockées à basse température.
- La stérilisation de l'aliment qui consiste à détruire les microorganismes et les enzymes de l'aliment. Elle débouche sur des conserves qui peuvent être transportées et stockées à température ambiante (**Guy, 2007**).

II.1.2. Les différentes techniques de conservation

Il existe plusieurs techniques qui permettent d'augmenter la durée de vie des aliments et les recherches dans ce domaine sont constantes (**Alexandra, 2001**).

II.1.2.1. Techniques de conservation par la chaleur

Le traitement des aliments par la chaleur est aujourd'hui la plus importante technique de conservation de longue durée (**Darinmou, 2000**). Ce type de conservation a pour but de dénaturer les enzymes susceptibles d'altération et détruire les micro-organismes présents dans les aliments (**Murielle, 2009**).

a) La pasteurisation

C'est un traitement thermique destiné à détruire des micro-organismes par la chaleur. Contrairement à la stérilisation qui détruit tous les micro-organismes susceptibles de se développer dans un produit par l'application d'une température supérieure à 100°C, l'objectif principal de la pasteurisation est de détruire la flore pathogène non sporulée et la majorité de la flore non pathogène d'altération des aliments (**Aquitaine, 2011**).

Tableau 1: **Les différentes techniques de pasteurisation (Murielle, 2009).**

Nom de la technique de pasteurisation	Traitement		Exemple
	Température appliquée	Durée de traitement	
	63-65 °C	Quelques minutes	Ovoproduits, bière, soda .
Pasteurisation basse	70-75 °C		Pasteurisation haute
Pasteurisation haute	+95 °C	Quelques secondes	Lait, jus de fruits.
Flash pasteurisation			

b) La stérilisation

de manière générale, consiste à un chauffage du produit à une température généralement entre 115 et 130 °C pendant une durée déterminée allant de quelques secondes à plusieurs minutes dépendamment du type de produit et du procédé utilisé. Ce procédé de stérilisation est opéré en plusieurs étapes soit : (i) la montée de température, (ii) le chauffage à température constante fixée selon le barème de stérilisation, et (iii) le

refroidissement du produit pour éviter de le sur-cuire (**Anderson et Friesen, 1974**). La stérilisation, connue également sous le nom d'appertisation, est le seul procédé thermique que lorsqu'il est appliqué à une conserve de légumes, elle assure l'élimination complète des formes végétatives et les spores des microorganismes pathogènes et d'altération. Cette stérilité, dite commerciale, peut s'étendre jusqu'à 5 années (**Chen et al, 2019**).

Tableau 2 : Les différentes techniques de stérilisation (**Murielle, 2009**).

Nom de la technique de stérilisation	Traitement		Exemples
	Température appliquée	Durée de traitement	
Stérilisation Classique	110 à 115 °C	Quelques minutes	Lait, viandes, légumes, poisson
Stérilisation par ultra haute température (UTH)	140 à 150°C par injection de vapeur	Quelques secondes	Lait, crèmes fraiche liquide, potage, jus de fruit

c) L'Ultra Haute Température

La haute pression (High Pressure Processing, HPP) est généralement considérée comme agissant sur les membranes en nuisant à leur intégrité, leur fluidité, leur capacité à échanger des ions et également sur la fonctionnalité de certains enzymes ou protéines vitales. L'inactivation bactérienne par HPP dépend de plusieurs paramètres comme le type de bactérie, le niveau de pression, la composition du milieu de traitement ou encore les modalités du couple temps-température pendant le traitement. La composition du produit

à décontaminer est aussi importante, certains composants comme les acides gras ayant un effet protecteur (**Cheftel, 1995**). L'effet pasteurisateur des HPP n'est cependant efficace que pour les milieux aqueux dû à la compressibilité de l'eau. De ce fait, l'utilisation des HPP n'est pas envisageable pour les Produits secs. Une récente étude montre cependant l'efficacité de la pression pour la décontamination de spores bactériennes sèches grâce à l'utilisation d'un gaz vecteur (**Colas de la Noue et al., 2012**).

d) L'appertisation

L'appertisation est un procédé de conservation qui consiste à stériliser par la chaleur des denrées périssables dans des contenants hermétiques (boîtes métalliques, bocaux) (**Darinmou, 2000**). Les aliments sont chauffés à +100°C. En fonction de la nature des produits et du temps de chauffage. Les germes, spores et les enzymes sont détruits, pour une conservation de longue durée, à l'abri de l'air et de la lumière (**Jean-Pierre, 2000**).

II.1.2.2. Techniques de conservation par le froid

Le froid est une technique de conservation des aliments qui arrête ou ralentit l'activité cellulaire, les réactions enzymatiques et le développement des microorganismes. L'abaissement de la température d'un produit permet de prolonger dans le temps sa conservation et de différer sa consommation (**Jeantet et al., 2006**).

a) La réfrigération

La réfrigération a pour but de refroidir le produit alimentaire jusqu'à une température comprise entre -1,5 et 8 °C. Ce refroidissement ralentira la croissance des microorganismes et la vitesse des changements biochimiques (réactions enzymatiques, sénescence des fruits et légumes, etc.) des aliments frais ou transformés. Lorsqu'un aliment est réfrigéré, il doit être associé à la chaîne du froid qui comprend l'entreposage, le système de distribution réfrigéré et la réfrigération au niveau des commerces de détail. Il est bien évident qu'une rupture de cette chaîne du froid affectera irrémédiablement la qualité du produit réfrigéré (**Bazinet et Castaigne, 2011**).

b) La congélation

Elle constitue la meilleure méthode qu'on utilise aujourd'hui de façon générale pour conserver durablement les aliments. Les aliments congelés conservent l'essentiel de leur qualité d'origine- goût, couleur et valeur nutritive. La conservation des aliments par congélation s'obtient en abaissant la température du produit à au moins -18°C , ce qui assure la cristallisation de toute l'eau contenue dans le produit. A ces températures basses, la croissance microbienne s'interrompt, tandis que l'activité des enzymes destructrices est ramenée à un niveau tolérable, sans toutefois disparaître entièrement (Genève, 1998).

c) La surgélation

Le terme « surgélation » est défini par le décret du 9 Septembre 1964 : il garantit que le produit est congelé le plus rapidement possible à une température égale ou inférieure à -18°C , puis maintenu à cette température pendant toute la durée de stockage (Jeantet et al., 2007).

II.1.2.3. Techniques de conservation par séparation et élimination d'eau (déshydratation)

a) La déshydratation

Techniques de conservation par séparation et élimination d'eau «déshydratation» La technique de déshydratation a pour but d'éliminer partiellement ou en quasi-totalité l'eau des aliments en vue d'y abaisser l'activité d'eau "aw". De plus, l'élimination quasi-totale de l'eau permet une conservation encore plus longue (Emilie, 2009). Le procédé présente deux intérêts principaux : l'activité de l'eau du produit ainsi traité atteint des valeurs suffisamment basses pour inhiber le développement des micro-organismes et stopper les réactions enzymatiques ; la diminution du poids et de volume est une économie importante pour le conditionnement, le transport et le stockage (Darinmou, 2000).

b) Le séchage

C'est une des méthodes de conservation les plus anciennes. Le taux d'humidité des produits agricoles baisse de 10 à 15 %, ce qui empêche les micro-organismes de se multiplier et neutralise les enzymes. On ne poursuit généralement pas la déshydratation plus loin parce que les produits deviendraient alors friables. Pour éviter que les aliments s'abîment une fois séchés, on les stocke à l'abri de l'humidité. Le séchage est en principe simple à réaliser. Les produits en perdant de l'eau deviennent plus légers, ce qui facilite leur transport. Mais il y a deux inconvénients : les aliments perdent des vitamines et changent d'aspect (**James et kuipers, 2003**).

c) La lyophilisation

Dans la technique dite de lyophilisation, l'eau est éliminée des aliments par passage de l'état solide (glace) à l'état gazeux (vapeur d'eau) sans passage par la phase liquide intermédiaire - transformation directe connue sous le nom de sublimation. La lyophilisation se fait sous vide, à très basse température. C'est la meilleure des méthodes de séchage ,principalement parce que le produit alimentaire ne subit aucune perte appréciable d'arôme ni de valeur nutritionnelle (**Genève, 1998**).

II.1.2.4. Techniques chimiques de conservation

a) Le fumage

Le fumage ou fumigation consiste à soumettre une denrée alimentaire à l'action des composés gazeux qui se dégagent lors de la combustion de végétaux (**Darinmou, 2000**). Il existe deux types de fumage : le fumage à froid et le fumage à chaud. Le premier consiste à exposer la viande à l'action de la fumée dont la température est comprise entre 18°C et 30°C. Le fumage peut durer de quelques heures à plusieurs jours selon le produit désiré. Ce procédé ne permet qu'une réduction partielle du risque de contamination bactériologique car la viande fumée à froid restant crue doit être réfrigérée et ne se conserve guère plus longtemps que la viande fraîche. Le fumage à chaud permet de conserver l'aliment grâce à la cuisson, la déshydratation et l'action

protectrice des composants de la fumée. Durant le fumage à chaud, selon les auteurs, les températures de la fumée varient entre 55 et 80°C même 130°C et les températures à cœur de la viande varient de 65°C à 80°C (**Knockaert, 1990; Ahmad, 2003; Woods, 2003**) afin de garantir la destruction des bactéries.

b) Le salage ou la salaison

Cette opération contribue à éliminer une partie de l'eau de constitution de la matière première. Elle provoque une déshydratation qui diminue la disponibilité de l'eau pour la croissance des germes. Le sel inhibe donc la multiplication de la plupart des bactéries intervenant dans l'altération, mais favorise la croissance des halophiles (**CEC 31, 1996**).

c) L'ionisation ou l'irradiation

L'irradiation des aliments a le même but que leur traitement par la chaleur, le froid (réfrigération ou congélation) ou certaines substances chimiques, à savoir tuer les insectes, les champignons et les bactéries qui provoquent la détérioration et peuvent causer des maladies ; ainsi, les Denrées alimentaires se conservent mieux et plus long temps dans les entrepôts, les magasins et à la maison (**Genève, 1998**).

II.2. Nanotechnologie

Le terme « Nanotechnologies » quant à lui, dont le préfixe « nano- » provient du grec *vávoç* « nain », est attribuable à un Professeur de l'université de Tokyo. Il a par la suite été popularisé par Eric Drexler en 1986 dans son livre « Engines of création The comminera of nanotechnology » (**Cachan, 2016**). Ce dernier proposait de s'inspirer des systèmes biologiques pour créer des assembleurs moléculaires encore plus perfectionnés que ceux que possèdent les cellules vivantes, et imaginait certaines applications ainsi que des conséquences, parfois catastrophiques, pour nos sociétés (**Cachan, 2016**).

II.2.1. Définition

II.2.1.1. Nanosciences

Ce sont les sciences fondamentales consacrées à l'étude des phénomènes observés dans les structures et les systèmes à l'échelle atomique, subatomique, moléculaire et macromoléculaire, et les nanotechnologies en sont l'application, qui permettent le design, la caractérisation, la production et l'application de structures, objets et systèmes par contrôle de la forme et de la taille à une échelle nanométrique (**Great, 2004**). La nanotechnologie selon l'Autorité européenne de sécurité des aliments, (**European Food Safety Authority ou EFSA**) est un « domaine des sciences appliquées et des technologies impliquant le contrôle de la matière à l'échelle atomique et moléculaire, normalement en deçà de 100 nanomètres ». Les propriétés de la matière à l'échelle nanométrique Ce qui rend les nanotechnologies si spéciales tant dans l'étendue des possibilités qu'elles offrent que dans les incertitudes qu'elles suscitent, ce sont les propriétés de la matière à l'échelle nanométrique. Le nanomètre est une grandeur frontière entre deux types de lois physiques : les lois « classiques » dont nous avons l'habitude à l'échelle humaine ou macroscopique, et les lois quantiques, majoritaires à l'échelle des particules élémentaires. Le fait de changer de taille de particules va donc entraîner une modification de leur comportement suivant les lois qui s'appliquent majoritairement, avec des conséquences

directes sur leurs propriétés de conductivité électrique, de perméabilité magnétique, de fluorescence, ou leur réactivité chimique en faisant varier le point d'ébullition, la solubilité, ou l'activité catalytique (**Dobrucka, 2014**).

II.2.1.2. Nanotechnologie

Plusieurs définitions sont données des nanotechnologies. Les premiers à s'y être intéressés, les États-Unis d'Amérique, ont lancé un programme de développement des nanotechnologies (**le National Nanotechnology Initiative dès l'année 2000**), dans le cadre duquel les nanotechnologies sont définies comme « la compréhension et le contrôle de la matière à l'échelle nanométrique, à des dimensions d'environ 1 à 100 nanomètres (nm), à laquelle des phénomènes uniques permettent de nouvelles applications. Comprenant les nanosciences, l'ingénierie et la technologie, les nanotechnologies incluent la mesure, l'imagerie, la modélisation et la manipulation de la matière à cette échelle de grandeur » (**Haccoun et al., 2019**)

Les nanotechnologies constituent un important secteur en émergence, qui selon certains experts constituera un important moteur de développement économique, tout comme l'informatique l'a été il y a quelques dizaines d'années (**Monfort et Lecomte., 2008**). D'autres s'inquiètent sur les impacts sur la santé et l'environnement des processus de production des nanomatériaux, des problèmes de transport, de stockage et de cycle de vie de ces matériaux et prévoient une catastrophe comme celle des OGM (**Ibid., 2016**) il n'y a toujours pas, de véritable consensus scientifique sur la définition des nanosciences et des nanotechnologies. Néanmoins, bien qu'elle soit encore l'objet de controverse.

➤ **La définition des nanotechnologies s'inscrit dans les balises suivantes :**

- **La taille :** Des éléments manipulés est de l'ordre du nanomètre (10⁻⁹) est constituée par l'ensemble des techniques utilisées pour concevoir, caractériser et produire des matériaux qui ont

au moins une dimension dans l'échelle nanométrique (**Beland et Patenaude, 2009**).

- « **L'émergence de ce champ** s'appuie sur la convergence avec d'autres champs apparemment éloignés et dissociés.
- Un mélange de deux logiques de constitution de la connaissance scientifique : d'un côté la miniaturisation et de l'autre l'assemblage atome par atome » (**Vinc et al., 2009**).

II.2.2. Les nanomatériaux

II.2.2.1. Définition

Parmi les définitions les plus élaborées, bien que non définitives, on peut retenir celles qui découlent des recommandations de la Commission européenne. D'autres définitions ont été proposées par le SCENIHR au niveau européen (**Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks**), ou sont précisées par des normes ISO en France. C'est d'abord le 18 octobre 2011 que la Commission européenne a publié ses recommandations quant à la définition des nanomatériaux (**2011/696/UE**). On entend par nanomatériaux, un matériau, formé accidentellement ou manufacturé contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat, dont au moins 50 %, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1nm et 100 nm. Cependant, dans des cas spécifiques, lorsque cela se justifie pour des raisons tenant à la protection de l'environnement, à la santé publique, à la sécurité ou à la compétitivité, le seuil de 50 % fixé pour la répartition numérique par taille peut être remplacé par un seuil compris entre 1 % et 50 %. Elle est également mentionnée dans cette recommandation, que tout matériaux est à considérer comme relevant de la définition mentionnée ci-dessus dès lors qu'il présente une surface spécifique en volume supérieure à 60 m²/cm³. Par dérogation, les fullerènes, les flocons de graphène et les nanotubes de carbone à paroi simple, présentant une ou plusieurs dimensions

externes inférieures à 1 nm, sont à considérer comme des nanomatériaux (Dobrucka, 2014).

➤ **Le document précise d'autre part qu'on entend par :**

- **"particule"** : Un minuscule fragment de matière possédant des contours physiques bien définis.
- **"agglomérat"** : Un amas friable de particules ou d'agrégats dont la surface externe globale correspond à la somme des surfaces de ses constituants individuels ; dans un agglomérat les nanoparticules sont faiblement liées entre elles et sont faciles à séparer.
- **"agrégat"** : Une particule constituée de particules soudées ou fusionnées. Dans un agrégat les particules sont fortement liées entre elles et sont difficiles à séparer. Ciliaire de la surface externe résultante peut être plus petite que la somme des aires des surfaces de chacun des composants.

Cette définition a été discutée, d'autant plus qu'il avait été précisé qu'elle serait amenée à éventuellement évoluer à partir de 2014. Malgré plusieurs initiatives en ce sens, aucune nouvelle définition n'a été proposée, en raison de la complexité des démarches tant scientifiques que politiques. Cependant une définition serait donnée en 2020.

II.2.2.2. Les différents types de nanomatériaux

A. Nano-objets

On désigne par nano-objets les matériaux nanostructures qui ont une, deux ou trois dimensions externes à l'échelle nanométrique :

- **Nanoparticules** si les 3 dimensions externes sont inférieures à 100 nm (Ex : NP de latex, de silice, d'oxydes métalliques, alumine, carbonate de calcium).
- **Nano-fibres**, si 2 dimensions externes sont inférieures à 100 nm.
- **Nanotubes**, si les nano fibres sont creuses, (nanotubes de carbone).

- **Nano-tiges**, si les nano fibres sont pleines, (nano fibres de polyesters).
- **Nano-conducteurs**, dans le cas de nano fibres électriquement conductrices ou semi-conductrices .
- **Nano-plaques**, si une dimension externe seulement est inférieure à 100 nm.
- **Nano-feuillets**, (nano feuillets d'argile).
- **Nano-couches**, nano revêtements.

B. Matériaux nano-structurés

Un matériau nano structuré est un matériau qui a une structure interne ou de surface à l'échelle nanométrique. Il existe 5 catégories de matériaux nanostructures :

- **Poudre nanostructure** : composée d'agglomérats ou d'agrégats nanostructures, ou d'une particule cœur-écorce nanostructure (diamètre nanométrique) + une ou plusieurs écorces d'épaisseur également nanométrique), ou encore d'une capsule nanostructure composée d'une coque d'épaisseur nanométrique capable d'accueillir d'autres substances (vide infra.).
- **Nano composite Solide** : composé d'un mélange de plusieurs matériaux de phases distinctes dont une ou plusieurs sont des nano phases.
- **Nano composite à matrice polymère** : contenant au moins une phase polymère majoritaire (équipements sportifs, modification des propriétés mécaniques).
- **Nano composite à argile polymère** : dont la matrice polymère contient une phase argileuse nano structurée.
- **Nano composite à matrice métallique** : contenant au moins une phase métallique majoritaire.

- **Nano composite à matrice céramique** : contenant au moins une phase céramique majoritaire Nano mousse solide Composée d'une matrice solide remplie d'une seconde phase, gazeuse ; il en résulte un matériau de densité plus faible, comprenant une matrice nanostructure.

C. Matériau nano-poreux

Un matériau nano poreux est un matériau solide contenant des nano pores : un nano pore est une cavité dont au moins une dimension est à l'échelle nanométrique. Cette cavité peut contenir un gaz ou un liquide. Des nano pores reliés entre eux donnent au matériau une certaine perméabilité permettant des déplacements à travers celui-ci.

- **Nano dispersion** fluide est un matériau hétérogène dans lequel des nano-objets ou une nano phase sont dispersés dans une phase fluide continue de composition différente. On distingue ainsi plusieurs situations
- **Nano suspension** : fluide à phase dispersée solide,
- **Nano-émulsion** : nano dispersion fluide contenant au moins une nano phase liquide.
- **Nano mousse liquide** : nano dispersion fluide remplie d'une seconde nano phase gazeuse ; comme dans le cas de la nano mousse solide, le matériau est généralement de densité plus faible
- **Nano-aérosol** : nano dispersion fluide composée d'une matrice gazeuse et d'au moins une nano phase liquide ou solide (**Krishna, 2015**).

II.2.2.3. Classification des nanomatériaux

Nous pouvons distinguer quatre familles de nanomatériaux, en fonction de leurs formes d'utilisation: les matériaux de dimension 0 sous forme dispersée, aléatoire ou organisée, les matériaux de dimension 1 sous forme de nano fils ou de nanotubes, les matériaux de dimension 2 sous forme de

couche mince, et enfin les matériaux de dimension 3 sous forme compacte comme dans les céramiques et les métaux nanostructures.

a) Matériaux de dimension 0 :

On désigne par nano capsules les nanostructures creuses, dans lesquelles on peut introduire des substances comme des catalyseurs, nanoparticules ou cellules biologiques. Ces structures peuvent donc permettre le transport de médicaments par exemple. Ces nano capsules ont une solubilité élevée et une résistance potentielle aux enzymes gastriques pour les applications médicales.

On désigne par fullerènes les formes de carbone pur dont la structure est constituée de pentagones et d'hexagones. La forme la plus courante des molécules de fullerène est constituée de 60 atomes de carbones et a un diamètre d'environ un nanomètre. Ces nanostructures sont antioxydant, ont une bonne résistance physique et possèdent des propriétés de supraconductivité à des températures très basses (absence de résistance électrique) (Afsset, 2006).

b) Matériaux de dimension 1

On désigne par nano fils les nano-objets longilignes dont les dimensions de la section vont d'un nanomètre à quelques dizaines de nanomètres et leur longueur de 500 à 10.000 nanomètres. Les nanotubes de carbone par exemple sont des nano fils aux nombreuses propriétés, constitués d'un ou de plusieurs tubes concentriques. Ils sont formés d'atomes de carbone disposés en réseau hexagonal ainsi que de deux demi-molécules de fullerène à chaque extrémité. Ces nanotubes de carbone sont flexibles, résistants, très bon conducteurs, et légers. Ils peuvent résister à de très grandes forces de tension et de compression.

c) Matériaux de dimension 2

Ces matériaux sont utilisés pour créer des revêtements, pouvant être réalisés à partir de nano-couches élémentaires ou de multi-nano couches. L'intérêt est de doter la surface de propriétés mécaniques (dureté), liées à

l'eau (hydrophobe, hydrophile, antiadhésif), chimiques (résistance à la corrosion), thermiques (résistance à la chaleur, isolation), biologiques, électroniques, magnétiques ou encore optiques (**Moret, 2006**).

d) Nanomatériaux de dimension 3

Les matériaux nano composites disposent de propriétés physiques particulières de par leur structure intrinsèque (porosité, présence d'un réseau nanocristallin, microstructure), et ont une grande surface d'échange de par leurs formes complexes. Les nanoparticules sont produites dans une matrice, ce qui permet de changer des propriétés mécaniques, thermiques, magnétiques ou optiques.

On distingue les composites à matrice organique, ceux à matrice polymère, à matrice métallique, ou encore à matrice céramique pour les hautes températures. Mais les propriétés sont aussi en fonction des renforts de différentes géométries contenus dans ces matrices (**Sargent, 2006**).

II.2.3. Les principe nano-vecteurs biologiques

II.2.3.1. Nano vecteurs

Le développement des systèmes d'administration contrôlée a été grandement influencé par la nanotechnologie. En effet, il est bien établi que les propriétés et les phénomènes propres à la matière à cette échelle peuvent être très particulier et fort différentes de l'état « bulk » (massif). En particulier, les chercheurs sont désormais capables de développer de nouveaux matériaux pour des applications telles que des microsystèmes (catalyseurs, nano senseurs) (**Tourne et al., 2003**).

Les systèmes de délivrance contrôlée de médicaments représentent un outil stratégique pour l'industrie pharmaceutique. En effet, cette technologie s'applique aussi bien à la relance du marché des principes actifs déjà créés en augmentant leur efficacité et en diminuant leurs effets secondaires mais, également dans la nécessité de tels systèmes pour les nouvelles molécules actives, très souvent hydrophobes et instables en environnement biologique (**Mal et al., 2003**).

a) Liposomes

Depuis le début des années 80, les liposomes ont été intensivement étudiés en tant que nano-vecteurs pour de nombreux principes actifs dans le traitement des cancers et des maladies infectieuses et auto-immunes. Les liposomes sont des systèmes colloïdaux vésiculaires de forme sphérique, biocompatibles et biodégradables, composés d'une bicouche (liposomes unilamellaires) ou de plusieurs bicouches (liposomes multi lamellaires) de phospholipides organisés en phase lamellaire, et délimitant un ou plusieurs compartiments aqueux. Du fait de leur taille, de leur double caractère hydrophile et hydrophobe et de leur biocompatibilité, les liposomes ont rapidement été considérés comme des candidats prometteurs en tant que systèmes de libération médicamenteux. Les propriétés des liposomes sont dépendantes de la composition des lipides, de la taille de ceux-ci, de leurs charges et de la méthode de préparation. Des principes actifs hydrophiles peuvent être encapsulés dans la phase aqueuse tandis que les molécules lipophiles se localisent dans la (les) bicouche(s). Cette association modifiera profondément le profil pharmacocinétique de la molécule en comparaison de la libération de celle-ci de manière classique en solution. **(Gabizo et al., 1998)**.

Cependant, pour certaines applications, les liposomes sont instables du fait de leur nature phospholipidique. C'est pour cette raison que les chimistes des polymères ont développé des systèmes synthétiques à l'échelle nanométrique. **(Allen et Drugs., 1997)**.

b) Nanoparticules polymériques biodégradables

L'intérêt porté aux développements de nanoparticules polymériques biodégradables comme système de délivrance médicamenteux n'a pas cessé de croître ces dernières années **(Panyam et al., 2003)**.

Les nanoparticules sont des systèmes colloïdaux, de taille variant entre 100 et 500 nm et dont la structure est constituée de polymères biodégradables incluant les bio polymères (Gélatine, Albumine, Polysaccharides,...) et les polymères synthétiques (polyacide lactique,

polyacide glycolique, poly méthacrylate de méthyle, polyuréthane, etc.) (Panyam et al., 2002).

Le principe actif qui nécessite un contrôle de son administration est soit dissout, emprisonné, adsorbé, attaché ou encapsulé au sein de la nanoparticule. En fonction de la méthode de préparation, des nanoparticules, des nano sphères ou encore des nano capsules peuvent être obtenues (David et Pharm., 2002).

Les nanoparticules peuvent être de type matriciel ; dans ce cas, le principe actif peut être dispersé ou dissout dans la matrice polymère et être libéré par simple diffusion du principe actif hors de la matrice ou à la suite de la biodégradation du polymère dans l'organisme. Les nanoparticules peuvent aussi être de type réservoir ; dans ce cas, elles sont constituées d'un noyau central généralement liquide (solution contenant le principe actif) entouré par une mince paroi de polymère dont l'épaisseur ne dépasse pas quelques nanomètres. Le choix du type de polymère dépendra de l'application thérapeutique du système, de la manière dont le principe actif doit être libéré et de la biocompatibilité.

L'avantage de l'utilisation de ce type de particules en tant que vecteurs de médicaments provient de leurs deux principales propriétés. Tout d'abord, leur petite taille leur permet de pénétrer au travers de petits capillaires et d'être pris en charge par les cellules et ainsi d'avoir une action efficace sur un site actif ciblé, de plus, l'utilisation d'un matériel biodégradable permet de délivrer le principe actif de manière soutenue pendant plusieurs jours voire plusieurs semaines (Panyam et al 2003).

c) Cyclodextrines

Elles se présentent sous forme d'oligomères cycliques du glucose et comportent de 6 à 12 unités. Les plus abondantes sont les hexamères (α -cyclodextrine), les heptamères (β -cyclodextrine) et les octamères (γ -cyclodextrine). L'ensemble des groupes polaires (hydroxyles OH) sont localisés à l'extérieur, délimitant ainsi une cavité relativement hydrophobe. Ce

caractère amphiphile permet aux *cyclodextrines* d'inclure (partiellement ou en totalité) dans leur cavité des molécules *hydrophobes* pour former des complexes d'inclusion solubles dans l'eau.

En effet, en solution aqueuse, la cavité des *cyclodextrines* est occupée par des molécules d'eau. Cette situation énergétiquement défavorable permet une substitution aisée par des molécules hôtes généralement hydrophobes. C'est non seulement les interactions faibles (interactions de Van der Waal, liaisons *hydrogènes*, interactions *hydrophobes*, etc.) se formant entre la *cyclodextrine* et la molécule, mais aussi la diminution d'enthalpie et l'augmentation d'entropie engendrées par l'expulsion des molécules d'eau qui sont à l'origine de la formation d'un complexe stable. Le caractère biodégradable de ces *oligosaccharides* cycliques les prédispose à des applications importantes dans le domaine pharmaceutique (**Uekama et al., 1998**).

L'encapsulation dans les *cyclodextrines* permet en effet de protéger des molécules fragiles et d'assurer leur libération lente et contrôlée. De plus, la solubilisation de molécules actives insolubles dans l'eau sous forme de complexes d'inclusion dans les *cyclodextrines* permet de disposer de préparations injectables. Ce processus s'applique à de très nombreux médicaments insolubles dans l'eau et dans les fluides physiologiques (*anti-inflammatoires, stéroïdes, anti-tumoraux, etc.*). La *cyclodextrine* peut être modifiée chimiquement pour optimiser les interactions entre la molécule encapsulée et la *cyclodextrine*, pour augmenter la solubilité aqueuse du complexe d'inclusion ou pour diriger celui-ci vers l'organe à traiter (**Djedaini et al., 1990**).

d) L'amidon

L'intérêt croissant pour les nanomatériaux d'origine naturelle et leurs propriétés uniques conduisent à une recherche intensive dans le domaine des nanoparticules de polymères de polysaccharides naturels comme la cellulose, la chitine et l'amidon. En particulier, l'extraction des particules nanométriques

à partir de ces polysaccharides naturels fait l'objet d'intenses recherches au cours de la dernière décennie (**Dufresne, 2010**). Parmi ces polysaccharides naturels, les nano cristaux d'amidon dont leur synthèse et leur utilisation ont fait l'objet de nombreuses études. L'approche principale adoptée pour produire des nano cristaux d'amidon est basée sur l'utilisation d'une hydrolyse acide pour dissoudre les régions amorphes et para cristallines des granules d'amidon (**Angellier et al., 2005**). Cette technique conduit à des microparticules cristallines qui vont se transformer en nanoparticules de moins de 100 nm à partir de 10 passages. **Chin et al, (2001)** ont rapporté la synthèse des nanoparticules d'amidon par précipitation de la solution d'amidon dissous dans l'éthanol absolu dans des conditions contrôlées. - D'autres auteurs utilisent un procédé basé sur l'extrusion réactive de l'amidon réticulé plastifié suivie d'un broyage et dispersion à grande vitesse dans l'eau (**Song et al.,2011**).

L'amidon est un polymère naturel, renouvelable et biodégradable synthétisé par les végétaux supérieurs à partir de l'énergie solaire. Il est l'un des matériaux de biomasse les plus abondants dans la nature, et il constitue une source énergétique indispensable à l'alimentation des êtres vivants et de l'homme en particulier. On le trouve dans les organes de réserves des plantes telle que les céréales (30-80% de la matière sèche (ms)), les tubercules (60-90% ms), et les légumineuses (25-50 ms). Dans le monde entier les principales sources d'amidon sont le maïs (82%), le blé (8%), les pommes de terre (5%) et le manioc (5%) à partir de laquelle l'amidon de tapioca est dérivé. En 2010, le marché de l'amidon du monde a été estimé à 68 millions de tonnes. L'amidon est un composé nutritionnel abondant, renouvelable, peu coûteux, qui se trouve dans les aliments de multiples fonctions comme épaississant, gélifiant, liant et matières sucrantes. Les diverses caractéristiques de l'amidon lui confèrent de nombreuses applications, plus au moins développées dans ces dernières années, dans les secteurs suivants : adhésifs et colles (fabrication des cartons ondulés, ...), textiles (préparation des chaînes de tissage et d'impression des tissus), industrie chimique (substrat de fermentation,

liant...), et quelques applications pharmaceutiques et cosmétiques, et il est devenu une matière première intéressante pour la production de matières plastiques renouvelables et biodégradables.(**Hube, 2010**)

Aujourd'hui, les principales utilisations de l'amidon n'ont pas beaucoup changé, avec près de 60% utilisé pour la nourriture et 40% pour les applications industrielles. L'amidon peut être utilisé comme extrait de la plante et est appelé «amidon natif», ou bien il subit une ou plusieurs modifications chimiques pour atteindre des propriétés spécifiques et est appelé «amidon modifié». Cependant, la plupart des amidons dans leur forme native ont des limitations qui les rendent moins idéaux pour la diversité des applications souhaitées. Pour cette raison, souvent l'amidon granulaire utilisé dans des applications alimentaires ou industrielles est d'abord modifié chimiquement et / ou physiquement pour accentuer leurs caractéristiques positives, diminuer leurs qualités indésirables (tels que la haute viscosité, la sensibilité à la rétrogradation, le manque de tolérance de processus), ou ajouter de nouveaux attributs (rétention, la formation du film, digestibilité, solubilité,...), tout dépend de leur utilisation finale prévue. L'amidon est un polysaccharide dont le monomère est le glucose, de formule $(C_6H_{10}O_5)_n$, présent sous sa forme cyclique appelée D-glucopyranose (ou D-glucose ou encore anhydroglucose). Ce cycle adopte la conformation chaise qui est la plus stable où les groupements hydroxyles C2, C3, C4 et C6 sont en position équatoriale. Les unités monomériques de glucose sont liées par des liaisons de type éther, appelées glycosidiques, en conformation (**Daniel., Whistler et al 2007**).

II.2.4. Nanoparticule

Il existe de nombreuses définitions du terme « nanomatériau ». La Commission européenne a proposé en octobre 2011, dans le cadre d'une recommandation, une définition pour le terme « nanomatériau ». Un nanomatériau est un matériau naturel, formé accidentellement ou manufacturé contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme 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. Est également mentionné dans cette recommandation, que tout matériau est à considérer comme relevant de la définition mentionnée ci-dessus dès lors qu'il présente une surface spécifique en volume supérieure à $60 \text{ m}^2/\text{cm}^3$. Selon la norme ISOTS 80004-1, un nanomatériau est un matériau dont au moins une dimension externe est à l'échelle nanométrique c'est-à-dire comprise approximativement entre 1 et 100 nm ou qui possède une structure interne ou de surface à l'échelle nanométrique (**Myriam et Olivier, 2012**).

II.2.4.1. Les Classes de nanoparticule

Il existe deux grandes familles de nanomatériaux, possible de distingué :

- a) **Les nano-objets:** qui sont des matériaux dont une, deux ou trois dimensions externes se situent à l'échelle nanométrique c'est-à-dire approximativement entre 1 et 100 nm (**Alessandrini et al., 2003**)
- b) **Les matériaux nanostructures:** qui possèdent une structure interne ou de surface à l'échelle nanométrique.
- c) **Les agrégats et agglomérats de nano-objets:** Les nano-objets peuvent se présenter soit sous forme individuelle (c'est-à-dire sous forme de particules primaires) ou soit sous forme d'agrégats ou d'agglomérats dont la taille est sensiblement supérieure à 100 nm.
- d) **Les nano-composites:** Ces matériaux sont composés pour tout ou partie de nano-objets qui leur confèrent des propriétés améliorées ou spécifiques de la dimension nanométrique. Les nano-objets sont incorporés dans une matrice ou sur une surface afin d'apporter une nouvelle fonctionnalité ou de modifier certaines propriétés mécaniques, magnétiques, thermiques, etc. Les polymères chargés de nanotubes de carbone utilisés dans le secteur des équipements sportifs, afin d'améliorer leur résistance mécanique et de diminuer leur poids, constituent un exemple de nano-composites.

- e) **Les matériaux nano-poreux:** Ces matériaux possèdent des pores de taille nanométrique. Les aérogels de silice sont des matériaux nano-poreux qui présentent d'excellentes propriétés d'isolation thermique. Les nanomatériaux produits de façon intentionnelle par l'Homme à des fins d'applications précises et possédant des propriétés spécifiques sont nommés «nanomatériaux manufacturés». Parmi ces nanomatériaux manufacturés, certains sont produits depuis déjà de nombreuses années dans des tonnages importants tels que le dioxyde de titane, le noir de carbone, l'alumine, le carbonate de calcium ou la silice amorphe. D'autres plus récents sont fabriqués dans des quantités moindres tels que les nanotubes de carbone, les quantum dots ou les dendromètres. Il existe également des nanomatériaux produits par l'homme de façon non intentionnelle, appelés parfois particules ultrafines, issus de certains procédés thermiques et mécaniques tels que les fumées de soudage ou de projection thermique, les émissions de moteurs à combustion (**Baggs et al., 1997**).

II.2.4.2. Application des nanoparticules

Toutes les grandes familles de matériaux sont concernées : les métaux, les céramiques, les diélectriques, les oxydes magnétiques, les polymères, les carbones, etc. Du fait de leurs propriétés variées et souvent inédites, les nanomatériaux recèlent de potentialités très diverses et leurs utilisations ouvrent de multiples perspectives. Les nanomatériaux permettent ainsi des innovations incrémentales et de rupture dans de nombreux secteurs d'activité tels que la santé, l'automobile, la construction, l'agroalimentaire ou encore l'électronique.

- a) **Automobile, aéronautique et aérospatial:** matériaux renforcés et plus légers ; peintures extérieures avec effets de couleur, plus brillantes, anti-rayures, anti-corrosion et anti-salissures ; capteurs optimisant les performances des moteurs ; détecteurs de glace sur les ailes d'avion ;

- additifs pour diesel permettant une meilleure combustion ; pneumatiques plus durables et recyclables...
- b) **Electronique et communications** : Mémoires à haute densité et processeurs miniaturisés ; cellules solaires ; bibliothèques électroniques de poche ; ordinateurs et jeux électroniques ultra-rapides ; technologies sans fil ; écrans plats...
- c) **Agroalimentaire** : Emballages actifs; additifs: colorants, antiagglomérants, émulsifiants...
- d) **Chimie et matériaux** : Pigments; charges; poudres céramiques; inhibiteurs de corrosion; catalyseurs multifonctionnels; textiles et revêtements antibactériens et ultra-résistants...
- e) **Construction** : Ciments autonettoyants et anti-pollution, vitrages autonettoyants et anti-salissures ; peintures ; vernis ; colles ; mastics...
- f) Pharmacie et santé : Médicaments et agents actifs ; surfaces adhésives médicales anti-allergènes ; médicaments sur mesure délivrés uniquement à des organes précis ; surfaces biocompatibles pour implants ; vaccins oraux ; imagerie médicale...Cosmétique : Crèmes solaires transparentes ; pâtes à dentifrice abrasives ; maquillage avec une meilleure tenue...
- g) **Énergie** : Cellules photovoltaïques nouvelle génération ; nouveaux types de batteries ; fenêtres intelligentes ; matériaux isolants plus efficaces ; entreposage d'hydrogène combustible...
- h) **Environnement et écologie** : Diminution des émissions de dioxyde de carbone ; production d'eau ultra pure à partir d'eau de mer ; pesticides et fertilisants plus efficaces et moins dommageables ; analyseurs chimiques spécifiques...
- i) **Défense** : Détecteurs d'agents chimiques et biologiques ; systèmes de surveillance miniaturisés ; systèmes de guidage plus précis ; textiles légers et qui se réparent d'eux-mêmes (**Barlow et al ., 2005**).

II.2.4.3. Propriétés physiques et physico-chimiques des nanoparticules

Bien que le présent avis porte sur les nanoparticules intentionnellement produites (nanoparticules manufacturées), il existe d'autres nanoparticules produites soit par des processus naturels soit à l'occasion d'activités d'origine humaine. L'ensemble des nanoparticules peut se décrire en fonction de différents paramètres :

- leurs sources (naturelles et/ou anthropiques) ;
- leurs dimensions et leurs formes

• leur composition chimique (particules carbonées, particules organiques, sulfates, nitrates, particules métalliques ou céramiques, polymères et autres). Les nanoparticules d'origine naturelle et/ou anthropique se retrouvent mélangées dans l'atmosphère. Celles-ci, appelées en général particules ultrafines, proviennent de combustion diverses, la plupart d'origine anthropique ou de réactions entre composés gazeux (réactions gaz-solide) avec par exemple formation de chlorure d'ammonium (suite à la réaction entre l'acide chlorhydrique et l'ammoniac), de sulfates, de nitrates, de constituants organiques, etc. Les nanoparticules atmosphériques correspondent en général à un aérosol avec un spectre granulométrique étendu, qui déborde celui des nanoparticules, qui constituent la partie inférieure du spectre. Les virus qui se trouvent à l'origine dans le domaine des nanoparticules, sont fixés sur d'autres particules en général plus grosses. Le dépôt actif du radon (ou de gaz de fission) a fait l'objet de nombreuses études en liaison avec la radioprotection dans les mines d'uranium. Non fixé sur l'aérosol atmosphérique, il correspond à des particules d'environ 1,5 nm (Alessandrini et al., 2003).

II.2.4.4. Paramètres caractéristiques physiques des nanoparticules :

a) Taille :

On appelle nanoparticules, ou particules ultrafines, les particules de dimension inférieure à 100 nanomètres (nm), en notant que cette valeur est

arbitraire, choisie par l'observation mais non représentative d'une quelconque barrière physique.

Les particules nano-structurées sont des agglomérats comportant des caractéristiques structurelles inférieures à 100 nm qui peuvent influencer ses propriétés physiques, chimiques et biologiques. Ce sont des groupes de particules liées par des forces relativement faibles, comme les forces de Van der Waal, les forces électrostatiques ou encore les forces provoquées par les tensions de surface. Leur dimension totale peut être supérieure à cette valeur de 100 nm mais c'est « leurs éléments constitutifs » qui sont de taille inférieure ou égale à 100 nm.

On considérera dans cette étude bibliographique à la fois les nanoparticules et les agglomérats (pouvant atteindre 10000 nm environ, tout du moins pour une des trois dimensions de l'espace) (**Herve et Bazin, 2007**).

b) **Diamètre équivalent**

Les nanoparticules sont rarement sphériques, mais plutôt de formes irrégulières. Il est donc nécessaire pour caractériser la taille de ces particules, de définir des diamètres qui seront associés à d'autres propriétés. Ces diamètres sont les suivants: diamètres équivalents en masse, en volume, optique, diamètre aérodynamique, de Stokes, thermodynamique, de mobilité électrique. Nous définissons ici les plus utilisés. Le diamètre équivalent en masse correspond au diamètre d'une sphère de même densité et de même masse que la particule étudiée. On le notera (d_m). Le diamètre équivalent en volume (d_V) correspond au diamètre d'une sphère de même volume que la particule, en incluant les cavités inaccessibles par le fluide environnant. On peut donc confondre diamètre équivalent en masse et en volume pour les particules non poreuses. Le diamètre aérodynamique correspond au diamètre d'une sphère de densité égale à 1, ayant pour vitesse de chute dans le gaz celle de la particule considérée. Ce paramètre, sans unité, relie force de traînée de la particule à la force de traînée d'une sphère de même volume que la particule (**Marchand, 2008**).

c) **Forme des particules**

Les diamètres équivalents ne suffisent pas toujours à caractériser complètement les nanoparticules. On définit également la forme des particules à l'aide de plusieurs facteurs. Facteur de forme dynamique, morphologie fractale des particules, diamètre des particules primaires, nombre de particules primaires, rayon de giration de l'agrégat... ces différents paramètres permettent de caractériser plus précisément les particules, mais surtout les agrégats de particules, pouvant prendre des formes complexes (CNRS, 2006).

d) **Propriétés de surface**

Les réactions ayant lieu entre les nanoparticules et le milieu environnant se produisent pour la majorité à la surface de ces particules. On pourra donc caractériser les nanoparticules en fonction de la surface exposée, ou tout du moins les comparer entre elles à surface exposée égale. Les nanoparticules réagissent aussi en fonction de la nature et de la composition de la surface : présence de sites actifs comme des ions métalliques ou des radicaux, caractère hydrophile/hydrophobe, charges superficielles (Sargent, 2006).

II.2.5. Encapsulation et nano vecteurs

Le terme « nano-vecteur » recouvre une gamme incroyablement large d'assemblages.

supramoléculaires utilisés pour véhiculer d'autres molécules et les isoler du milieu extérieur. Les premiers exemples sont les liposomes, connus depuis les années 60 et étudiés pour ce type d'applications depuis les années 90. D'autres nano-vecteurs reposent sur l'utilisation de capsules virales vidées de leur contenu, de nanotubes de carbone ou de nanoparticules de silice méso poreuse. La liste est longue et extrêmement variée, car l'imagination et l'ingéniosité des chercheurs sont les seules limites à l'élaboration d'un prototype de nano vecteur (Nagaoka et al., 2007).

- On peut diviser grossièrement les nano-vecteurs en trois catégories :

a) **Les nano capsules et les liposomes**, coquilles creuses pouvant contenir une solution ou suspension isolée du milieu extérieur. Il s'agit souvent d'une suspension aqueuse pour un médicament hydrophile (Yu et al., 2006).

b) **Les nano sphères, les nanoparticules et les micelles**, sans compartiment intérieur, de forme plus ou moins sphérique. Les interstices de la matrice peuvent accueillir des molécules, souvent hydrophobes, car le cœur de la nano sphère est souvent plus hydrophobe que sa coquille (Muller et al., 2000).

c) **Les dendromètres** : des molécules sphériques branchées répétitives à structure arborescente. L'intérêt des dendromètres vient de leur rigoureuse monodispersité, de leur symétrie extrêmement prévisible, et des propriétés des coquilles externes (la surface) et internes (entre le cœur du dendromètre et la coquille externe) : comme chaque « niveau » peut théoriquement être constitué de monomères différents, la personnalisation est infinie (Kesharwani et Lyre, 2015).

II.2.6. L'intérêt pour les nanotechnologie

Les nanotechnologies et les nanomatériaux représentent un nouveau « monde » où la matière possède des propriétés très différentes de ce qu'elle présente à une échelle plus grande ou à l'échelle macroscopique. Rappelons que la diminution de la taille des matériaux va se traduire par le fait que leur surface va occuper une place de plus en plus grande par rapport à leur volume : le ratio Surface/Volume est alors plus important. Cela va conduire à l'échelle nanométrique :

- a) à ce que la fraction des atomes sur la surface soit très importante, de l'ordre de 80% des atomes du matériau .

- b) à la prépondérance de la surface et des forces surfaciques par rapport aux forces volumiques .
- c) à une plus grande réactivité de la matière : les réactions chimiques se produisant à la surface, il va en résulter que les propriétés de surface (échanges, adhérence, réactions chimiques) vont dominer les propriétés du volume, et l'on va observer des comportements de la matière totalement différents.
- d) points d'ébullition et points de fusion différents aux deux échelles nanométrique et classique .
- e) le point de fusion n'est plus à une température identique à la température des solidification: le matériau va présenter une hystérésis centrée autour de la température de transition de phase du corps macroscopique, et cette hystérésis va dépendre de la taille de la nanoparticule .
- f) la solubilité va augmenter .
- g) la dureté et la durabilité seront différentes, généralement plus élevées pour les Nanos par rapport au matériau macroscopique.
- h) la couleur et la fluorescence vont changer : l'or est rouge à l'échelle nanométrique.

Il en sera de même pour de nombreuses autres propriétés, par exemple : la perméabilité magnétique, la conductivité électrique, la réactivité chimique (Ramesh et al., 2013).

II.2.7. Origine et compréhension de ces différences

Tous ces phénomènes peuvent être expliqués à partir des effets quantiques, des propriétés de surface et, pour les effets biologiques et les applications médicales, à partir de l'analogie entre l'échelle de ces réactions et celle à laquelle se produisent les processus biologiques :

- Les effets de surfaces et interfaces, comme nous venons de le montrer, vont jouer un rôle important dans des phénomènes comme la

catalyse, la fonctionnalisation, l'administration des médicaments, ou dans l'isolation thermique et l'imperméabilité pour les vêtements ; de ce fait, des membranes nanostructures seront très efficaces pour le traitement de l'eau ainsi que la désalinisation de l'eau salée ;

- Les effets quantiques vont dominer les propriétés des matériaux, et remplacer celles qui accompagnent la physique classique. On explique ainsi, à cette échelle, la coloration rouge de l'or, mais aussi la transparence du dioxyde de titane et du cuivre.

Il en est de même aussi de la possibilité d'ajuster les propriétés en fonction de la taille des objets ou encore d'utiliser l'effet tunnel pour réaliser des outils quantiques, comme le microscope à effet tunnel ou la mémoire flash pour l'informatique ;

- Les tailles des objets nanométriques étant de l'ordre de grandeur de celles des phénomènes biologiques, on peut disposer d'outils et de traitements mieux adaptés ces phénomènes et donc conçus de façon à conduire à une meilleure précision (**Glen et Guozhong., 2012**).

II.2.8. Caractéristiques, intérêts et enjeux des nanotechnologies :

Les nanoparticules possèdent des propriétés physicochimiques et électrostatiques très particulières, en raison de leur taille nanométrique et surtout en raison de leur surface puisqu'elles quittent «l'univers de la chimie et de la physique classique pour entrer dans celui de la mécanique quantique» (**Wiesner et Bottera, 2007**). La taille nanométrique, le ratio surface/volume élevé, la complexité chimique, la nature et l'expansion des faces minéralogiques leur confèrent des propriétés magnétiques, de réactivité chimique, de résistance mécanique et de conductivité thermique **.(Bhatt et Tripathi , 2011)** qui permettent de nombreuses applications dans des domaines très variés, allant du textile, aux cosmétiques, de l'alimentation à l'imagerie médicale, de la vectorisation de médicament à l'environnement, en passant par l'électronique, la chimie, le bâtiment, etc (**Bottera, 2006**).

II.2.9. Domaines d'applications et enjeux

Les domaines d'application sont très vastes et les effets de taille à l'échelle du nanomètre sont déjà exploités depuis fort longtemps. Le verre en est un bon exemple puisque dès le XVI^e siècle les verriers de Murano ont donné une couleur rubis à leurs produits en ajoutant un peu d'or. Les connaissances scientifiques récentes ont démontré que les atomes d'or par un traitement thermique approprié forment des agrégats nanométriques qui donnent cette fameuse couleur rubis. La plupart des produits verriers actuels, tels que les verres optiques photochromes devenant plus sombres au soleil - sont conçus sur le même principe par intégration d'agrégats nanométriques de sel d'argent à l'origine de la coloration foncée.

Les quelques domaines d'application présentés, le sont avec quelques unes de leurs données économiques, tout en essayant de distinguer ce qui relève des nanoparticules ou des systèmes qu'elles permettent de construire. Industrie de l'électronique et des communications La microélectronique a pour but de fabriquer des circuits intégrés, de semi-conducteurs, des transistors..., contenant des puces électroniques, véritables «cœur du système». En 2007, près de 500 milliards de puces ont été fabriquées pour un chiffre d'affaires total de 260 milliards de dollars. La maîtrise de la fabrication de ces composants se mesure à l'échelle atomique, l'électronique faisant ainsi partie intégrante des nanotechnologies. Dans les circuits intégrés, tels que ceux constituant les microprocesseurs les fabricants parviennent à assembler plusieurs centaines de millions de transistors de taille inférieure à 100 nanomètres. Cette miniaturisation des composants a suivi la logique de la loi de « Moore » - diminution de la taille et accroissement de la puissance d'un facteur 2 tous les 18 mois - qui s'est accélérée en passant à l'échelle nanométrique. Actuellement, les plus petits composants en fabrication industrielle atteignent une taille de 65 nm et descendront bientôt à 45 voire à 32 nm. Aller au-delà par la voie descendante n'est pas envisageable en l'état actuel des procédés de fabrication et se heurtera tôt ou tard aux limites de la matière. Cette miniaturisation permet d'accroître les fonctionnalités associées

au composant (puissance, volume de stockage des mémoires...) tout en diminuant sa taille et sa consommation électrique (**Académie des Technologie, 2004**).

II.2.9.1. Industrie pharmaceutique, biotechnologique et des soins de santé :

Le développement des nanotechnologies est à l'origine de plusieurs évolutions capitales dans le domaine de la santé tel le développement de bio puces et de biocapteurs, mesurant quelques centimètres. Les plus performants de ces dispositifs peuvent caractériser l'équivalent de 4 génomes humains à partir d'une seule goutte de sang ou de salive. Appliquées aux médicaments, les nanotechnologies permettent d'encapsuler une molécule biologiquement active dans un nano vecteur adapté pour se fixer spécifiquement au niveau ou à l'intérieur des cellules que l'on veut traiter évitant ainsi la toxicité à l'égard de certains organes vitaux ou la destruction par les cellules du foie. La miniaturisation permet également d'envisager des dispositifs biomédicaux *in situ* substitutifs aux organes défaillants. Le marché mondial des nanoparticules utilisées dans le secteur des bio médicaments et des produits pharmaceutiques, s'élève à 170 millions de dollars en 2005, il atteint à 205 millions de dollars en 2006. Il pourrait dépasser les 685 millions de dollars pour 2012, selon le rapport sectoriel « bcc Research » de novembre 2007 (**Afnor, 2006**).

II.2.9.2. La cosmétologie

Dans les produits cosmétiques, deux types de nanomatériaux -nano-émulsions et nano-pigments sont actuellement incorporés en raison de l'efficacité de leurs principes actifs principalement pour les crèmes solaires, de soins dermatologiques ou capillaires. Leur petite taille cumule plusieurs avantages, et une bonne tolérance cutanée des nanoparticules de dioxyde de titane étant inertes, insolubles et non toxiques.

L'application du principe de précaution doit permettre d'écarter toute nanoparticule dès lors que ses risques de toxicité ne sont pas analysés. Il doit

aussi s'appliquer aux personnes qui manipulent dans leur milieu professionnel des nanoparticules pour les incorporer aux différents produits : tenues de protection spécifique, salles de travail isolées et équipées d'une ventilation adéquate (**Jean et Dupuy, 2004**).

II.2.9.3. L'agroalimentaire

Les orientations actuelles de la recherche agroalimentaire dans le domaine des nanotechnologies, s'intéressent, entre autre, à la création d'aliments dits« intelligents » agissant interactivement en fonction du goût ou des besoins nutritifs du consommateur : changement de couleur, apport nutritif complémentaire...

D'autres applications pourraient être envisagées comme l'intégration de nanoparticules au sein des emballages alimentaires ayant pour effet d'augmenter le temps de conservation des produits ou le développement de nano-dispositifs de surveillance des aliments de leur lieu de production à travers toute la chaîne de transformation...

Il faut noter l'extrême sensibilité de ce domaine d'application des nanotechnologies, l'alimentation étant un sujet touchant à l'intégrité de la personne (**Jean et Dupuy, 2004**).

II.2.10. Application dans le domaine de l'agriculture et de l'alimentation

Mieux comprendre les applications actuelle set Potentielles des nanotechnologies à l'alimentation et à l'agriculture Plusieurs rapports d'organisations internationales et publications scientifiques permettent de décrire le paysage des applications alimentaires et, dans tous les cas, l'information est largement fondée sur la volonté commerciale de l'entreprise à communiquer sur l'originalité du produit et sur la contribution des nanotechnologies à son développement. Dans un avenir proche, l'autorisation de mise sur le marché européen conditionnée par une évaluation positive des risques par l'Autorité européenne de Sécurité des Aliments (**EFSA, pour European Food Safety Authority**) devrait ouvrir la voie à un enregistrement

plus rigoureux des produits destinés au marché de l'alimentation. Nous présentons quelques applications et produits selon l'ordre suivant: production végétale, transformation et modification des aliments, emballage et conservation des aliments, historique et traçage des aliments :

II.2.10.1. Production végétale

Un petit nombre d'intrants agricoles, engrais et pesticides, exploitent les nanotechnologies pour développer de nouvelles matières actives et formulations, dans le but de mieux cibler l'application, de maîtriser les doses, de favoriser le rélargie progressif des substances actives, leur prélèvement par les organismes cibles et leur mobilité dans ceux-ci, afin également de nano-encapsuler des groupes de substances actives et d'en favoriser les synergies. Les potentialités apparaissent importantes, mais le secteur de la production agronomique utilise peu une technologie qui développe ses concepts et ses techniques principalement dans les secteurs de la santé, de l'informatique et de l'énergie. Quelques fertilisants contiendraient des micronutriments nano-structurés (oxydes et carbonates de zinc, calcium, magnésium, molybdène, sulfates de fer, cobalt, aluminium, etc.). Les produits issus de nanotechnologies offrent également des potentialités en vue de la décontamination des sols, au moyen notamment de poudre ultrafine de fer nanostructure (**Tiju et Morrison, 2006**). Un autre secteur d'application important concerne l'assainissement des eaux par nano filtration, exploitant notamment des filtres à nano fibres d'oxyde d'aluminium éliminant jusqu'au plus petit agent biologique, ou à nanoparticules de lanthane absorbant les phosphates en solution dans les eaux, réduisant ainsi l'eutrophisation et les proliférations d'algues associées à ce phénomène dommageable pour la santé et l'environnement (**Tiju et Morrison, 2006**).

L'agriculture dite "de précision" vise à optimiser la productivité végétale en adaptant le traitement des plantes et des sols - application d'engrais et pesticides, travail du sol, irrigation et drainage, etc. aux variations locales et temporelles des besoins des plantes sur la parcelle agricole. Elle nécessite la mesure de multiples variables biologiques et environnementales, la

transmission et l'intégration des données dans des modèles d'élaboration du rendement qui optimisent la production en réduisant les coûts économiques et écologiques. Elles proposent également des systèmes de relargage ciblé et progressif de substances bioactives sur les cultures, indispensables aux fins de cette agriculture de précision, dont le concept, élaboré il y a plus de vingt ans, tarde à se traduire dans la pratique, faute des dispositifs techniques efficaces et économiquement justifiés (**Tiju et Morrison, 2006**).

II.2.10.2. Transformation et modification des aliments

Les produits et procédés issus des nanotechnologies devraient permettre de modifier les qualités nutritionnelles et fonctionnelles des aliments, mais les allégations des fabricants relatives aux produits sur les marchés sont actuellement peu étayées, et on peut attendre un rôle accru des autorités d'évaluation et de contrôle à ce niveau. En particulier, l'EFSA a pour objectif d'étendre ses missions d'évaluation des aliments en Europe à celle des bénéfices pour la santé des consommateurs, au-delà de la question des risques, ce qui devrait clarifier les effets attendus des nouveaux aliments, additifs et suppléments alimentaires, à relativement court terme, incluant ceux développés par nanotechnologies. Parmi les applications prometteuses des nanotechnologies à l'alimentation, les systèmes de nano-formulation de substances bioactives, permettant leur adressage ciblé dans l'organisme et augmentant leur biodisponibilité, sont mis en avant (**Bouwmeester et al., 2009**). Par exemple, différents systèmes de nano-encapsulation de nutriments et micronutriments, facteurs antimicrobiens et arômes, s'inspirant du secteur pharmaceutique, mais innovant par le développement de nanostructures dérivées de lipides et de polymères naturels (polysaccharidiques et protéiques), augmenteraient la stabilité des substances bioactives dans le système digestif et rendraient plus efficace leur administration orale, donc leur utilisation alimentaire (**Bouwmeester et al., 2009**). Concernant la transformation des aliments, c'est la protection antimicrobienne par l'utilisation de filtres (par exemple, nano-céramiques) et de revêtements nano-structurés (par exemple, argent nano particulaire) qui constitue le

débouché majeur des nanotechnologies à ce niveau, tel qu'on peut se le représenter aujourd'hui (EFSA JOURNA, 1673).

II.2.11. Emballage et conservation des aliments

Les emballages alimentaires utilisent des nanoparticules et des nanomatériaux composites afin de moduler et de renforcer leurs propriétés de perméabilité chimique, microbiologique et thermique, d'augmenter leur résistance et leur durée de vie, permettant du même coup une réduction d'épaisseur et de masse, de repousser les aérosols et les poussières, de séquestrer l'oxygène, freinant par ces effets la détérioration du produit. Ainsi, des polymères plastiques intègrent des argiles nano-structurées afin de réduire la perméabilité aux gaz, des nanoparticules d'argent et d'oxyde de zinc protègent contre les microorganismes pathogènes, des nanoparticules de dioxyde de titane filtrent les rayonnements ultra-violet, du nitrure de titane nano-structuré augmente la résistance mécanique, un revêtement à base de nano-silice développe une surface hydrophobe, donc à faible mouillabilité, etc. C'est au niveau des emballages dits "intelligents" que les nanotechnologies semblent innover le plus. On qualifie - un peu vite sans doute - "d'intelligent" un matériau dont les propriétés (optiques, magnétiques, chimiques, etc.) sont modifiées par un stimulus de l'environnement, lui permettant de réagir aux conditions du milieu ou d'informer un observateur ou un dispositif de régulation. Cette technologie utilise des nano-capteurs, incorporés à l'emballage ou posés en surface, qui permettent de détecter des variations de température ou d'humidité des produits stockés, ou encore des substances issues de la dégradation ou de la contamination microbiologique de la denrée alimentaire. Cette technique est également appliquée à la protection directe des denrées, en appliquant les nano capteurs à leur surface ou en les y intégrant. À titre d'exemple, une firme a développé un "spray de détection" de contaminants bactériens (salmonelles et colibacilles) (Tiju 2006).

II.3. Innovation et nanotechnologie

II.3.1. Définition

L'innovation a fait l'objet de plusieurs définitions, en voici quelques-unes :

- Dans le sens le plus strict, l'innovation technologique est la transformation d'une idée vers un produit vendable, soit nouveau soit amélioré, ou un processus opérationnel dans l'industrie ou le commerce **(Christensen, 2000)**.
- L'implémentation réussie des idées créatrices dans une organisation, par le biais de l'utilisation des ressources avec le but de satisfaire un besoin **(Belski, 1999)**.
- La création, l'évolution, l'échange et l'application de nouvelles idées pour créer des biens et des services commercialisables, en vue du succès d'une entreprise, de la vitalité économique d'une nation et du progrès de l'ensemble de la société **(Amidon, 2001)**.

Théoriquement, les nanoparticules ont le potentiel de migrer vers les produits alimentaires emballés, mais les évaluations des risques ne sont toujours pas concluantes **(Souza et Fernando, 2016)**. Les interactions entre les matériaux desdits emballages et les aliments peuvent entraîner un phénomène de migration de matières. Il est déjà prouvé que dans les emballages alimentaires conventionnels les polymères et les additifs chimiques (Bisphénol A, les phtalates) ont la possibilité de migrer de l'emballage vers les produits alimentaires . Il en résulte d'une part l'incorporation des nanoparticules dans les aliments destinés à la constituants des aliments par les emballages **(PIP/COLEACP, 2011)**. Peut détériorer alors la qualité des aliments et donc leur ingestion peut entraîner des troubles divers chez l'humain. Les sujets de préoccupation restent le potentiel et l'ampleur de la migration de ces nanoparticules et leur degré de toxicité **(FAO/OMS, 2011; Bumbudsanpharoke, 2015)**.

De plus, dans ce domaine alimentaire, une seule technique d'évaluation n'est pas suffisante pour fournir toutes les informations. Des procédures de fractionnement supplémentaires et des méthodologies de détection combinées sont nécessaires (Huang et al., 2015; Størmer et al., 2017). Dans les échantillons plus complexes, tels que les denrées alimentaires, la combinaison de plusieurs techniques sont fortement recommandées, et devraient comprendre au minimum la microscopie (microscopie à force atomique (AFM), électron à balayage (SEM) et microscopie électronique à transmission (TEM), la chromatographie, la spectroscopie, la centrifugation, ainsi que la filtration et les techniques connexes) (Duncan et Pillali, 2014).

II.3.1.1. Les applications de la nanotechnologie pour les matériaux

en contact avec les aliments et les emballages alimentaires représentent la plus grande part du marché actuel. Celles liées au conditionnement des aliments s'imposent rapidement comme une réalité commerciale. La majeure partie des applications sont actuellement au stade de recherche-développement (Chaudhry et al., 2008). matériaux en contact avec des aliments intégrant des nanomatériaux pour de meilleures propriétés d'emballage (flexibilité, barrière aux gaz, stabilité face aux températures ou à l'humidité);

- a) **matériaux «actifs»** en contact avec de la nourriture, intégrant des nanoparticules aux propriétés antimicrobiennes ou désoxygénâtes;
- b) **emballages alimentaires «intelligents»** qui intègrent des nano senseurs pour surveiller et rapporter l'état de la nourriture; et
- c) **nanomatériaux composites biodégradables** à base de polymères aux propriétés mécaniques et fonctionnelles améliorées.

Voici des exemples de matériaux en contact avec des aliments dérivés des nanotechnologies qui sont soit disponibles soit en recherche-développement:

- **La nano argile** dispose d'une structure naturelle en nano couche sur un polymères renforcés avec de petites quantités (jusqu'à 5 pour cent en poids) de particules à l'échelle nanométrique. Il s'agit des premiers composites polymériques améliorés pour les emballages, y compris le emballage alimentaire, et des matériaux améliorer les propriétés et performances du polymère (**Garland, 2004**).
- **Nano métaux** ou d'oxyde de métal sont principalement utilisés pour leur action contre les microbes, leur résistance au frottement et leur absorption des UV. Ils peuvent rivaliser ainsi avec les technologies traditionnelles d'emballages actifs comme les pièges à oxygène (**Garland, 2004**). Les nano revêtements fortement imperméables est un enrobage nano composite barrière avec une base aqueuse grâce à un revêtement de 1-2 microns.

II.3.2. Migration des nanoparticules dans les denrées alimentaires

La migration vers les denrées alimentaires est un processus de transfert de masse par lequel des constituants de faible masse moléculaire présents dans l'emballage sont libérés dans les denrées alimentaires (**Huang et al., 2015**).

Recherche de la migration potentielle est la recherche afin d'étudier si des substances indésirables ou même toxiques migrent vers le produit emballé (**Souza, 2016**). Ces tests de migration ont des limites établies par le règlement européen.

La limite de migration spécifique correspond à la quantité maximale d'une substance est autorisée dans les denrées alimentaires. La conformité des matériaux, objets et règles doivent être évaluée, lorsqu'ils seront mis en contact avec des denrées dans les pires conditions de contact prévisibles (**Commission européenne, 2011**).

II.3.3. Systèmes de nano distribution par encapsulation

La *nano-encapsulation* sous forme de systèmes de distribution basés sur des micelles, des liposomes ou de bio polymères a été utilisée pour mettre au point des systèmes de distribution d'additifs et de compléments dans les aliments et les boissons. La *nano-encapsulation* est le prolongement technologique de la *micro-encapsulation* dont se sert l'industrie depuis de nombreuses années pour les ingrédients et additifs alimentaires. Les avantages de la *nano-encapsulation* sont comparables à ceux de la *micro-encapsulation*, mais sont toutefois supérieurs en termes de préservation des ingrédients et des additifs lors de la transformation et de l'entreposage, de dissimulation des goûts et parfums désagréables et de contrôle de la libération des additifs; ce processus permet en outre une meilleure dispersion des ingrédients alimentaires et des additifs insolubles dans l'eau et plus grande acceptation des nutriments et des compléments encapsulés.

L'amélioration de l'acceptation et de la biodisponibilité permet, à elle seule, de multiples applications dans les produits alimentaires qui intègrent des vitamines, des nutraceutiques, des agents antimicrobiens, des antioxydants, etc. à l'échelle nanométrique. Après l'emballage alimentaire, la nano encapsulation est actuellement le domaine le plus important pour l'application de la nanotechnologie dans les secteurs alimentaires et de plus en plus de produits qui s'appuient sur la technologie des nano transporteurs sont déjà disponibles sur le marché.

Une autre technologie s'appuie sur un système de distribution d'agrégats nanométriques pour des aliments. Plusieurs produits sont disponibles sur base de ce système. Par exemple, un produit amincissant à base de nano agrégats de cacao enrobés à la surface d'un nano matériel manufacturé a fin d'accroître l'arôme de chocolat grâce à l'augmentation de la surface qui entre en contact avec les papilles gustatives. Récemment, des nanotubes auto assemblés ont été mis au point à partir de la protéine laitière hydrolysée-lactalbumine et montrent une bonne stabilité (**Graveland et Kruif, 2006**).

II.3.4. Utilisation des nanotechnologies dans le secteur agricole

Les avantages apparents du remplacement des principes ou des porteurs actifs par des équivalents à l'échelle nanométrique ont également ouvert la porte à des recherches sur des applications possibles de la nanotechnologie dans les pesticides, les médicaments vétérinaires et d'autres substances agrochimiques comme des engrais et des régulateurs de croissances des plantes. Les avantages anticipés de la recherche-développement dans ces domaines incluent la réduction possible de l'utilisation de certains produits agrochimiques (comme les pesticides) et une meilleure capacité de contrôle de l'application et du dosage des principes actifs sur le terrain. En dépit d'un fort intérêt commercial dans ce domaine, il n'existe que peu d'exemples de produits disponibles. La plupart semblent actuellement à l'étape de recherche-développement, et il est probable que certaines applications des nanotechnologies à grande échelle aient prochainement trait à l'agriculture. Si tel devait être le cas, cela augmentera l'exposition potentielle aux substances agrochimiques utilisées dans le secteur agricole (**Mackenzie, 2007**).

II.3.5. Principes des emballages intelligents basés sur des nano senseurs

La nanotechnologie a également permis le développement de nano senseurs qui peuvent être intégrés aux étiquettes ou aux revêtements pour ajouter une fonction intelligente aux emballages alimentaires, assurant l'intégrité de l'emballage grâce à la détection d'écoulements (pour les emballages alimentaires emballés sous vide ou atmosphère inerte) et à l'indication des variations de temps et de températures (par exemple, congélation-décongélation-recongélation) ou de la sécurité microbienne (détérioration des denrées alimentaires). C'est notamment le cas d'un indicateur qui, de transparent, devient bleu pour informer le consommateur que de l'air est entré dans l'atmosphère amodiée des matériaux emballés. Pour ce type d'application, des encres imprimables issues des nanotechnologies ont été créées (**Han et al., 2001**).

II.3.6. Emballages alimentaires contenant des nanoparticules

Les emballages se caractérisent par un contenu en innovation de plus en plus important. Leurs fonctionnalités vont dorénavant au-delà des objectifs principaux qui consistent à contenir, à transporter et à stocker les produits. Selon le **(Miller et Kinneer, 2008)** la micro-encapsulation, par exemple, a permis d'intégrer sur certains emballages, des absorbeurs d'oxygène ou d'humidité tandis que d'autres emballages utilisent des papiers indicateurs temps-températures (ITT). Ce type d'emballage peut fournir des renseignements sur le degré de respect de la chaîne du froid par exemple. En lien avec la demande du consommateur, les emballages contribuent à allonger la durée de vie du produit, à en assurer une meilleure traçabilité et à lui fournir une protection renforcée **(Miller et Kinneer, 2008)**.

La croissance de la nanotechnologie dans l'industrie de l'emballage a permis d'ouvrir plusieurs axes quant à l'amélioration des propriétés et caractéristiques des emballages **(CEST, 2011)**, qu'il «s'agisse d'une meilleure résistance aux contraintes mécaniques, d'une plus grande imperméabilité aux gaz, d'une augmentation de la résistance à la chaleur ou d'une amélioration de la qualité d'impression pour faciliter l'étiquetage» Depuis plusieurs années, on assiste au développement de nouvelles avancées concernant, principalement, les emballages actifs susceptibles de prolonger la durée de vie du produit, et les emballages dits intelligents contrôlent les conditions de transport et de stockage **(Miller et Kinneer, 2008)**.

Actuellement, une variété de nanomatériaux a été introduite dans l'emballage des aliments comme additifs fonctionnels y compris les nanoparticules d'argent, de nano argile, le nano-oxyde de zinc, le nano dioxyde de titane, et les nanoparticules de nitrure de titane **(Mohanty et al., 2009; Tager, 2014)**. À cause des différences dans la structure chimique et ses caractéristiques, chaque nanomatériau introduit des propriétés

distinctes dans la matière hôte qui mène à différentes applications d'emballages fonctionnels (**Rubilar et al., 2014**).

II.3.7. Emballage intelligent

Ce sont des emballages dans lesquels on ajoute divers nano senseurs qui ont la capacité de mesurer des variations de la température et de détecter le degré de détérioration des aliments (**CEST, 2011**). Ces emballages peuvent aussi gérer et contrôler les conditions de l'environnement entourant l'aliment (**Smolander et chaudhry, 2010**). Selon le Conseil National de l'Alimentation (**2009**): « les emballages intelligents contiennent des composés ou des systèmes capables d'enregistrer ou d'afficher divers indicateurs ou marqueurs de la qualité ou de la traçabilité, pendant la fabrication, le transport, l'entreposage ou la consommation du produit » (**CNA, 2009**).

Certains matériaux d'emballage intelligent sont déjà présents sur le marché. Ils ont la possibilité de détecter des défauts de scellage qui pourraient conduire à une exposition involontaire de l'aliment à l'oxygène et aux micro-organismes (**Adam, 2013**). D'autres fournissent aux consommateurs et aux distributeurs les caractéristiques des conditions dans lesquelles ont été gardés les aliments. Ils peuvent même déterminer le micro-organisme présent et dans quelle proportion (op. cit.). Les emballages intelligents ont la capacité d'établir la date exacte d'expiration du produit. Il est vrai que le producteur prendra en considération les conditions d'entreposage et de livraison programmée pour fixer la date limite de consommation apposée sur l'emballage (**Adam, 2013**).

II.3.8. Avantages des nanomatériaux pour applications d'emballages alimentaires

Jusqu'à présent, selon (**Ramachandriah et al., 2014**), l'emballage alimentaire compterait parmi les secteurs les plus prometteurs pour l'application des nanotechnologies, en raison, on l'a déjà indiqué, des grands avantages sur les propriétés mécaniques et chimiques obtenues avec

ces substances (la biodisponibilité améliorée, les effets antimicrobiens, l'acceptation sensorielle améliorée et la distribution ciblée de composés bioactifs). De nombreuses publications (**Chaudhry et al., 2008**) portent sur les avantages potentiels des nanomatériaux pour les applications d'emballages alimentaires.

II.3.9. Ampleur, diversité des applications et enjeux

Les connaissances scientifiques sur les interactions (physiques et moléculaires) des nanoparticules semblent encore bien insuffisantes. Selon (**Souza et al., 2016**), ni les scientifiques ni les utilisateurs de ces nanoparticules ne semblent maîtriser les propriétés spécifiques de celles-ci (**Sebbane, 2010**). Or, le secteur de l'emballage alimentaire semble constituer l'une des zones les plus actives de recherche et de développement de la nanoscience (**Duncan, 2011**), entraînant de forts investissements de la part des industriels, mais aussi des gouvernements (**Lowis, 2012**). Bien que la nanoscience dans l'emballage alimentaire offre des possibilités prometteuses (**Netpak, 2015; FAO/OMS, 2011**) les risques des nanomatériaux utilisés dans l'emballage alimentaire sont encore largement méconnus et leurs impacts potentiels sur la santé humaine et sur l'environnement sont de plus en plus une source de préoccupation (**Netpak, 2015**).

II.3.10. Méthodes de conservation traditionnelle

Actuellement, l'industrie de la transformation alimentaire se fie aux barrières physiques de celles-ci afin d'éviter les contaminations microbiennes. Ce concept est illustré par (**Leitsner et Gorris 1995**) qui propose la modulation des traitements de conservation, par la combinaison de plusieurs traitements différents. Ces barrières représentent les différentes techniques de conservation des aliments (pH, O₂, température, aw, etc.) qui permettent de réduire la charge bactérienne avec un effet bactéricide ou en limitant la croissance de ces micro-organismes avec un effet bactériostatique. La combinaison de plusieurs barrières permet d'augmenter leur efficacité sans

pour autant altérer l'aliment. Par exemple, la stérilisation représente la plus forte barrière permettant d'éliminer tout micro-organisme. Par contre, son application est très limitée dans l'industrie alimentaire. La pasteurisation est aussi un traitement thermique, mais qui représente une barrière moins élevée que la stérilisation. Dans le cas du lait, sa combinaison avec une conservation à 4°C permet d'avoir deux barrières efficaces et n'altérant pas le produit.

II.3.11. Nouvelles tendances dans la conservation des aliments

II.3.11.1. Définition de la bio conservation

La bio conservation (ou bio-préservation) est une nouvelle approche de conservation basée sur l'utilisation de méthodes impliquant des conservateurs naturels et/ou biologiques et qui est dorénavant préconisée dans l'industrie alimentaire. Ces conservateurs ont généralement une origine microbienne ou font partie des structures intrinsèques de l'aliment et contribuent à sa conservation (lysozyme de l'œuf, immunoglobulines et Lactoferrine du lait, etc.). Plus précisément, la bio-préservation utilise des microorganismes antagonistes et leurs métabolites (acides organiques, peroxyde d'hydrogène, diacétyl, bactériocines, etc.) pour prévenir ou tuer les microorganismes nocifs dans les aliments (**Rodgers., 2003**). Les aliments fermentés sont un bon exemple de produits utilisant la bio-préservation et ce, par la croissance et le métabolisme de bactéries lactiques et les conditions qu'elles imposent dans cette forme d'aliments (pH bas, compétition, etc.). Les bactéries lactiques sont donc les acteurs essentiels de cette bio-préservation (**Ray et Daeschel, 1992**).

II.3.11.2. Différentes méthodes utilisés pour la bio conservation des aliments

Il existe différentes voies permettant la bio-préservation :

- a) Il est possible d'utiliser des micro-organismes tels que les bactéries lactiques. Ce procédé est traditionnellement utilisé pour la conservation des aliments au travers de la fabrication des produits fermentés (saucissons, fromages, végétaux...) (**Garry et al., 2008**).

- b) Une autre méthode utilisée pour la bio conservation des aliments consiste en l'utilisation des substances du métabolisme des microorganismes (les acides organiques, les bactériocines...). Ces dernières peuvent également être utilisées afin de maîtriser le développement des bactéries indésirables (**Garry et al., 2008**).
- c) Des systèmes enzymatiques naturels tels que le système lactopéroxydase peuvent également être utilisés. Seule une application sur la gamme salades IV a reçu à ce jour un avis favorable de l'AFSSA.
- d) L'utilisation de l'huile essentielle issue de plantes. Dans ce contexte nous citons le travail qui a utilisé des extraits naturels contenant des huiles essentielles issues des végétaux pour la préservation de sardine contre *S.aureus*.
- e) L'utilisation de bactériophages semble être également prometteuse dans la bio préservation (**Garry, 2008**).

II.3.11.3. Utilisation des bactéries lactiques dans la bio conservation

Les bactéries lactiques sont généralement reconnues comme étant saines, de statut "GRAS" et jouent un rôle important dans la fermentation et la conservation des aliments, que ce soit sous forme de microflore naturelle ou de cultures ajoutées sous des conditions réglementées. Elles sont largement utilisées dans la préparation de nombreux aliments fermentés (yaourts, laits fermentés, fromages, etc.). En plus de leur rôle technologique, la contribution la plus importante de l'ajout de ces souches au produit est l'amélioration de sa qualité (saveur, texture) et son innocuité par l'intermédiaire de l'allongement de sa durée de vie et de l'inhibition de la flore compétitive d'altération et des bactéries pathogènes (**O'sullivan et al., 2002**).

Ces propriétés de conservation sont le résultat des propriétés inhibitrices des bactéries lactiques. Ces propriétés peuvent être:

- Une compétition pour les nutriments.

- Une modification physico-chimiques du milieu, tels que l'acidification et la production de métabolites antimicrobiens
- Une production de nombreux composés antimicrobiens telles que les acides organiques (acide lactique), du peroxyde d'hydrogène, du CO₂, du di acétyle, de l'acétaldéhyde et des bactériocines (**O'sullivan et al., 2002**).

II.3.11.4. Bio conservation et cultures protectrices

Le consommateur étant de plus en plus conscientisé par son alimentation, de nouveaux défis se rajoutent dans le domaine de la conservation. En effet, ce consommateur préfère des aliments ne contenant pas d'agents de conservation chimiques comme les nitrites. Évidemment, ce retrait des agents chimiques de l'alimentation ne doit pas se faire au détriment de son innocuité. Afin de contrôler les flores bactériennes pathogènes altérant les aliments, des bactéries inoffensives et productrices d'agents antimicrobiens sont souvent ajoutées aux aliments. C'est ce qui se nomme la bio conservation des aliments.

La bio conservation inclut aussi l'ajout de métabolites antimicrobiens sans la souche productrice . Les métabolites produits par ces bactéries servent d'agents antimicrobiens permettent l'inhibition de contaminants bactériens. Dans les aliments fermentés, l'acide lactique et acétique, le lactate de sodium, le peroxyde d'hydrogène, le CO₂, le di acétyle et l'acétaldéhyde produits par les bactéries lactiques permettent ce pouvoir inhibiteur. Ces composants causent la perméabilisations des membranes bactériennes (**Alakomi et al., 2000**). La production d'acides organiques, tels l'acide propénoïque, l'acide sobriquet, ainsi que des acides gras sont d'autres exemples d'agents permettant le contrôle de bactéries pathogènes (**Dolye et al., 2020**). La bio conservation ne mise pas seulement sur la production d'agents antimicrobiens par les souches protectrices ajoutées, mais aussi sur l'effet de compétition exclusive. Dans bien des produits fermentés comme les

saucisses, la flore lactique aura un avantage compétitif sur la flore pathogène et d'altération, ce qui protégera l'aliment d'une potentielle contamination .

La bio conservation par l'ajout de cultures protectrices permet d'ajouter une barrière de protection biologique, mais comprend aussi ces défis. En effet, l'ajout d'une flore protectrice qui est régulièrement composés de bactéries lactiques, va acidifier l'aliment. L'acidification et l'activité protéolytique de ces souches peut donc entraîner une altération de la matrice alimentaire. Par exemple, une étude de (Leroi et al., 2015) . démontre que l'application de plusieurs souches lactiques sur le saumon fumé à froid entraînaient la production d'odeurs non désirables. Il devient donc primordial d'identifier des souches ayant un faible potentiel acidifiant et protéolytique, mais produisant d'autres composés antimicrobiens.

Une autre méthode de bio conservation est l'ajout de bactériophages sur les aliments. Les bactériophages sont des virus qui se servent des bactéries afin de pouvoir se reproduire en utilisant le mécanisme cellulaire de la bactérie infectée. Suite à sa reproduction, le bactériophage entraîne la lyse cellulaire de la bactérie infectée. L'avantage de cette technique est de cibler précisément les pathogènes à éliminer de la matrice alimentaire. Il existe actuellement 5 produits à base de bactériophages permettant le contrôle de *Listeria*, *E. coli*, *Salmonella*. Plusieurs défis restent à surmonter avec cette technologie comme la production des phages qui nécessitent la croissance de souches pathogènes et le besoin de créer des mélanges de phages afin de contrer les différents variant de pathogène retrouvés dans l'industrie de la transformation alimentaire (Garcia et al, 2008).

PARTIE III. MATERIEL ET METHODES

III.1. Revivification des souches

Les 16 souches lactiques ont été obtenues à partir du laboratoire de Microbiologie appliquée -Université de Saida- dans des tubes eppendorfs contenant chacun une culture bactérienne conservée dans le bouillon MRS additionné de 30% de glycérol et maintenue à -20°C. Un volume de 100µl de chaque tube a été transféré dans le bouillon MRS puis incubé à 30°C. Après 24 à 48h, les souches lactiques se développent ce qui indique leur réactivation.

Tableau 3 : Origine de souches sélectionnées

Les souches lactiques	Origine
09	Jben de chèvre
12	Jben de chèvre
32	Jben de chamelle
42	Jben de chamelle
44	Jben de chamelle
48	K'lila de chèvre
55	Jben de chamelle
58	K'lila de chèvre
60	K'lila de vache
66	Concombre fermenté
72	Concombre fermenté
73	Concombre fermenté
74	Concombre fermenté
76	Concombre fermenté

77	Concombre fermenté
91	Choux fleur fermenté

III.1. Vérification de la pureté des souches

La pureté des souches bactérienne a été vérifiée par examens macroscopique et microscopique. Tout d'abord, chaque culture bactérienne a été ensemencée par stries sur le milieu MRS solide et incubée à 30°C pendant 24h. à l'aide d'une loupe binoculaire, une observation de l'aspect des colonies a été faite. L'homogénéité des colonies a été confirmée après description de la forme, le type de Gram ainsi que l'arrangement cellulaire de chaque souche par la coloration de Gram.

III.2. Conservation de courte durée

Les souches pures ont été ensemencées dans des tubes de gélose inclinée, après l'incubation à 30°C, les tubes ont été placés à +4°C et le renouvellement des souches se fait toutes les 7 semaines.

III.3. Conservation de longue durée :

Les cellules purifiées ont été congelée à -20°C dans un milieu contenant 70% de bouillon MRS et 30%de glycérol (Samelis et al., 1994) après ont été centrifugées à 6000 tour pendant 10min. La culture peut être conservée plusieurs mois.

III.4. Test de la catalase

Le test catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase servant à décomposer le peroxyde d'hydrogène .

L'activité catalytique consiste à prélever une colonie sur gélose MRS et dissociée dans une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) à 10 volumes ; l'apparition de bulles révélant le dégagement d'oxygène (**Ahmed et Irene, 2007**)

Seules les bactéries Gram positives et catalase négatives sont retenues et conservées pour une caractérisation phénotypique.

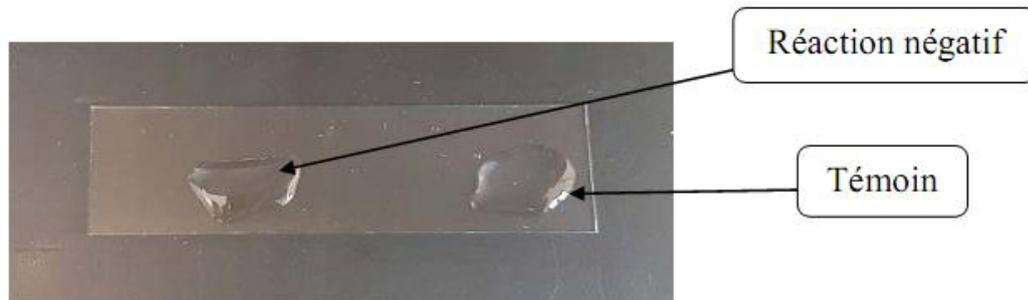


Figure 1 : Test de catalase

III.5. Origine des souches pathogènes

Les souches pathogènes sont des souches de référence appartenant à 06 espèces bactériennes pathogènes pour l'Homme : *Listeria ivanovii* ATCC 19119, *Enterococcus gilvus* LMG 13600, *Klebsiella oxytoca* ATCC13182, *Enterobacter cloacae* ATCC 10541, *Staphylococcus simulans* CECT 4538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13047.

Les souches utilisées font partie de la collection bactérienne du Laboratoire de Microbiologie Appliquée (université Oran1). Ces souches ont été conservées dans du bouillon nutritif additionné de glycérol à -18°C. Avant toute utilisation des souches, une revivification et une vérification de leur pureté se sont avérées indispensables. Après quelques repiquages successifs, des tests rapides ont été réalisés.

- Observation microscopique de l'aspect des souches et de leur mode de regroupement après coloration de Gram.

III.6. Activité antimicrobienne

III.6.1. Méthode directe 'Spot agar test'

Après avoir coulé les boîtes de Pétri avec de la gélose MRS (solidifiée et séchée), la suspension bactérienne de chaque souche lactique ont été déposés en spots. Les boîtes ont été séchées près du bec bunsen puis incubées à 30°C pendant 18 h (Fernández et al., 2007). Après la période

d'incubation, les boites ont été recouvertes de 8 ml d'une gélose GN semi solide en surfusionensemencée avec 1 ml des cultures fraîches des souches cibles ajustée à 0,5 Mc farland, puis incubées à 37°C pendant 24 h. Au terme de la période d'incubation, la présence ou l'absence de zones d'inhibition autour des spots a été notée. L'inhibition a été notée positive lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 1 mm (**Schillinger et Lucke, 1989**).

III.6.2. Méthode indirecte 'Well diffusion assay'

Nous avons confronté les 16 souches de bactéries lactiques de la collection avec les souches indicatrices. Cette méthode nous a permis de mettre les 16 souches lactique productrices de substances antimicrobiennes en contact avec les souches indicatrices.

Premièrement la couche de gélose MRS préalablement a été coulée et solidifiée, nous avons fait couler une deuxième couche du milieu GN semi-solide inoculé par une souche indicatrice ajustée à 0,5 Mc farland.

A l'aide d'un emporte-pièce, nous avons formé les puits qui ont été remplis par 50µl de surnageant des cultures lactique performantes. Ensuite, nous incubé les boites à 37°C pendant 24h.

Résultat : Les puits, entourés par une zone claire et ayant un diamètre supérieur ou égal à 2 mm, sont considérés comme positifs.

III.7. Etude du potentiel probiotique

A partir des 16 souches lactiques nous avons choisis les souches sous la base de leur activité antimicrobienne 42, 44, 72 pour évaluer leur potentiel probiotique qui survie durant son passage dans le tractus digestif

III.7.1. Tolérance à l'acidité

La résistance des bactéries aux pH acides a été déterminée selon la méthode décrite par **Bakari et al. (2011)** avec quelques modifications. Elle consiste à:

- Réactiver les souches bactériennes sur un volume de 10 ml de bouillon MRS stérile à 37°C pendant (18 à 24h);

- Centrifuger les cultures bactériennes à 6000 tour pendant 15min puis rincer deux fois avec le tampon PBS à pH 7 (Yateem et al., 2008). Les cellules ont été remises en suspension dans 1.5 ml du NaCl 0.5 %, ensuite 0.2 ml a été ajoutée dans 10 ml de bouillon MRS ajusté à pH: (2, 3 et 4). Les tubes ont été incubés à 37 °C pendant 0h ; 1h ; 4h.

III.7.2. La survie dans un tractus gastro-intestinale simulé :

Cette méthode a été réalisée selon Cordon à Huang et Adams, (2004).

Après 24 heures d'incubation dans le milieu MRS, les cellules bactériennes ont été récoltées par centrifugation (6000 g pendant 10 min), rincés deux fois avec (PBS=pH7) et en suspension dans une solution de NaCl 0,5%. Ensuite, 0,2 ml de suspension bactérienne a été à ajouter à 1ml de PBS à pH=7 additionné à 3mg de la pepsine (stérilisée par filtration à travers un filtre millipore 0,22µm).

Une autre même quantité (0.2ml: culot + 1.5ml du NaCl) de la suspension a été remises dans PBS à différent pH 2 et 3 additionnée de 3 mg/ml de pepsine. Les tubes ont été incubés à 37°C pendant 0h, 1h, et 4 heures et ont été les ensemencées sur milieu MRS solide.

III.7.3. Test hémolytique

L'hémolyse ou la lyse des hématies est due à la rupture de leur membrane plasmique, souvent sous l'action de molécule provoquant la formation des pores membranaire. Ce phénomène libère l'hémoglobine qui est ensuite plus ou moins digéré (FAO/WHO. 2002). A partir des cultures jeunes des souches des souche lactique, une touche en surface a été effectuée sur milieu Columbia contenant 5 % de sang humain. Les boites ont été incubées à 37°C pendant 48 heures.

Les zones au contour des colonies vont définir le type de l'hémolyse :

- zone verte pour α-hémolytique (hémolyse partiel)
- zone claire pour β-hémolytique (hémolyse complète)
- pas de zone pour γ-hémolytique (hémolyse incomplet)

III.7.4. Test de sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme des 03 souches lactique a été déterminé selon **Wang et al., (2018)**, pour étudier le comportement des souches vis-à-vis 12 antibiotiques en milieu MRS solide à l'aide de disques imprégnés d'antibiotiques (Bio-Rad, 92430, Marne-la Coquette, France), ces derniers ont été sélectionnés selon leur résistance au Gram positive, surtout les bactéries lactiques. Le tableau 12 représente les antibiotiques utilisés ainsi que leur concentration et leur mode d'action. A partir d'une culture de 18h ajustée à 0,5 Mc farland à l'aide d'un écouvillon stérile, la souche a été étalée à la surface de la gélose. Après séchage du milieu (15 min à 30°C), les disques d'antibiotiques ont été déposés stérilement à sa surface. Après 24 heures d'incubation à 30°C, des zones d'inhibitions peuvent être observées autour de certains disques. La lecture des résultats consistait à mesurer le diamètre de la zone d'inhibition de croissance provoquée par l'antibiotique.

- Les diamètres des zones d'inhibition observés autour des colonies classent les bactéries comme chimiquement sensibles (S) ou résistantes (R) à un antibiotique précis, selon (**Liasi et al., 2009**).

III.7.5. Test d'hydrophobicité

L'hydrophobicité bactérienne est considérée comme l'un des facteurs les plus importants qui influence l'adhésion des cellules à divers supports. Pour tester ce caractère chez les trois souches lactiques, le protocole proposé par (**Iyer et al., 2010**) a été suivi : une pré-culture bactérienne a été centrifugée, rincée deux fois et resuspendue dans du tampon phosphate (pH=7). L'absorbance initiale de la suspension a été ajustée à (A_0). La suspension bactérienne a été alors additionnée de 0,6 mL du xylène, incubée à 30 °C pendant 10 min et ensuite agitée au vortex pendant 2 minutes. Après un repos de 15 min à 30 °C, la phase aqueuse a été récupérée à l'aide d'une pipette Pasteur pour mesurer son absorbance (A_1). La différence de l'absorbance est considérée comme une mesure de l'hydrophobicité de la surface cellulaire (H%) calculé par l'équation suivante :

$$\text{Hydrophobicité (\%)} = (A_0 - A_1 / A_0) \times 100$$

III.8. La Bio conservation de la matrice alimentaire modèle (La viande de bœuf fraîche)

III.8.1. La préparation de la viande

La viande est par excellence la première source de protéines animales grâce à sa richesse en acide aminé indispensables qui la classe parmi les protéines noble. De puis long temps les consommateurs ou recherche des moyens de conservation de la viande pour pouvoir jouir de ses bienfaits pendant de longues périodes.

La préparation de l'aliment modèle stérile :

1. La viande a été rincée par différents solutions désinfectantes (Bicarbonate de sodium, formaldéhyde).
2. Ensuite, la viande a subi un salage à sec avec du sel stérilisé séché pendant 30min, et rincée par de l'eau distillée stérile pour se débarrasser des restes du sel, séché pendant 30 min (Figure 2).
3. Découpée la viande à des petits morceaux de 1cm³. Les morceaux de viande ont été distribués dans des sachets plastiques stériles de type LDPE (Low density polyéthylène) 50 gr par chaque sachet



Figure 2 : L'aliment modèle après et avant le salage



Figure 3: L'inoculation de l'aliment modèle par les nanoparticules renfermant les souches

III.8.1. Inoculation de la viande

Les cellules bactériennes des souches présumées d'être des candidates probiotiques ont été récupérée après centrifugation (6000 pendant 10 min).

III.8.1.1. Encapsulation des cellules dans des nanoparticules

Le matériel d'encapsulation utilise c'est les nanoparticules d'amidon a 15% dans l'eau distillée stérile, les souches bactériennes sélectionnées avec une charge 10^{11} Ufc/gr ont été mélange avec le matériel l'encapsulation a un ration de 1:4, dans l'eau physiologique additionnée de DMSO (7ml eau physiologie +490 μ l DMSO stérilisé par filtration 0.22 μ m).

La suspension de nanoparticules renfermant les cellules des souches candidates a été ajouté à l'échantillon de aliments modèle par pulvérisation, dans les différents paquets après inocula bien le malaxage a été effectué afin d'homogénéisée l'échantillon avec les cellules encapsulées.

Les cinq paquets ont été préparés selon les durée de conservation comme (3, 7, 11, 14 jour)

- Le premier paquet a été composé de 04 sachet pour le témoin négatif.
- Le deuxième paquet a été composé de 04 sachet pour le témoin positif.

- Le troisième paquet a été composé de 04 sachet ont été inoculés par 2.5 ml de la suspension des cellules encapsulées avec ***Listeria ivanovii***.
- Le quatrième paquet a été composé de 04 sachet ont été inoculés par 2.5 ml de la suspension des cellules encapsulées avec ***Listeria ivanovii***.
- Le cinquième paquet a été composé de 04 sachet ont été inoculés par 2.5 ml de la suspension des cellules encapsulées avec ***Listeria ivanovii***.
- Les paquets ont été conservés à 4°C et ils ont été répartis selon la période d'incubation 3, 7, 11, 14 jours.

Chaque incubation a été suivi par un dénombrement par dilution directe de la souche cible (***Listeria ivanovii* ATCC 19119**) sur milieu GN et a été incubée à °37C pendant 24h. Un contrôle microbiologique pour le témoin négatif a été réalisé pour la vérification de la qualité hygiénique des échantillons de viande sur milieu VRBG pour la détection des coliformes, sur milieu PCA pour détecter la présence des germes aérobies mésophiles totale et sur milieu PDA pour les levures et moisissures.

PARTIE IV. RESULTATS ET DISCUSSION

IV.1. Examen de pureté des souches lactiques

Après ensemencement des cultures bactériennes sur la surface sèche de la gélose MRS et incubation à 30°C pendant 24h, toutes les colonies apparaissent homogènes, de moyennes à grandes tailles, arrondies et blanchâtres; Ce qui indique leur pureté (figure 4). La confirmation de la pureté des souches lactiques a été faite après coloration de Gram. Toutes les souches sont des G+ (bacilles et cocci), leurs cellules sont arrangées par paire; en chaînette ou en amas (figures5).



Figure 4: Observation macroscopique des colonies de la souche 73 cultivée sur milieu solide MRS

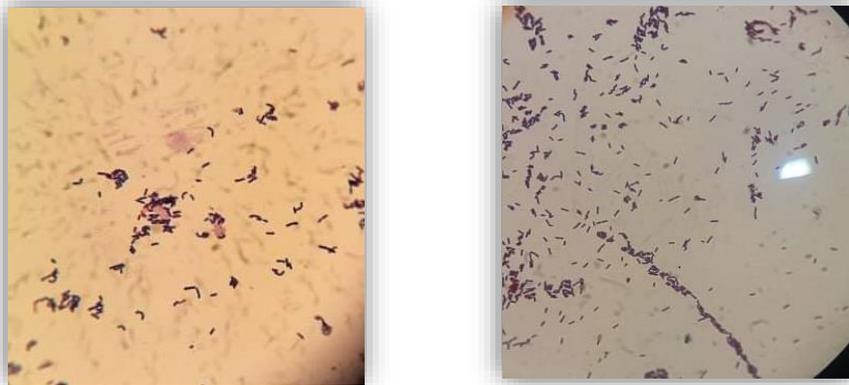


Figure 5: Observation microscopique des colonies des souches 48 et 73

IV.2. Examen de pureté des souches indicatrices

Tableau 4 : Les souches indicatrices

Les souches	Les codes	Gram
<i>Listeria ivanovii</i>	ATCC 19119	Positive
<i>Enterococcus gilvus</i>	LMG 13600	Positive
<i>Klebsiella oxytoca</i>	ATCC13182	Négative
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 10541	Négative
<i>Staphylococcus simulans</i>	CECT 4538	Positive
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 13047	Négative

IV.3. Activité antimicrobienne

Les résultats du test antimicrobien ont montrés que la majorité des souches de bactéries lactiques testées possèdent une activité inhibitrice contre (*Listeria ivanovii*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterococcus gilvus*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus simulans*, *Pseudomonas aeruginosa*) avec des diamètres de zones d'inhibition qui variant de 03 à 20 mm contre *Klebsiella oxytoca*, et atteint 28 mm contre *Listeria ivanovii*, et de 08 à 21 contre *Staphylococcus simulans*, et de 17 à 28 contre *Enterococcus gilvus*, et de 17 à 30 contre *Enterobacter cloacae* et 27 contre *Pseudomonas aeruginosa*. Les meilleures souches ont été sélectionnées (9, 12, 32, 42, 44, 48, 55, 58, 60), et les souches dont le surnageant n'a pas eu d'activité sauf chez *Enterococcus gilvus* (66, 72, 73, 74, 76, 77).

Contre *Klebsiella oxytoca*, les souches (55, 58) sont celles qui ont une meilleure activité des diamètres d'inhibition de 20mm. Alors que, elles atteignent des diamètres d'inhibition de 20 et 22mm respectivement avec les souches 42 et 32 sont celles dont le surnageant a une meilleure activité contre *Enterobacter cloacae* avec des diamètres d'inhibition de 26 et 28 mm respectivement les souche 42, 48, 74, 77 contre *Enterococcus gilvus* avec des diamètres d'inhibition de 21 et 28mm respectivement et les souches 42 et 44 sont ayant une meilleure activité contre *Listeria ivanovii* avec des diamètres d'inhibition de 20 et 21 mm respectivement les souche 48, 60 contre *Staphylococcus simulans* avec des diamètres d'inhibition de 21et 27 mm respectivement les souche 32, 91 contre *Pseudomonas aeruginosa*. de résultats positifs qui ont été obtenus contre les souches indicatrice, on peut noter l'apparition de zones d'inhibition autour des spots, de quoi confirmer que cette activité pourrait très probablement être due à une production d'acides organiques et/ou de bactériocines. La majorité des souches qui ont montré une bonne croissance. Les souches **42 et 44 et 72** qui ont montré une bonne croissance.

Tableau 5 : Diamètres des zones d'inhibitions des souches lactiques (mm).

Les souches	<i>Klebsiella Oxytoca</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Listeria Ivanovii</i>	<i>Staphylococcus simulans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Enterococcus gilvus</i>
9	17	Nd	09	15	Nd	20
12	11	Nd	15	17	Nd	22
32	Nd	22	28	Nd	21	21
42	Nd	20	21	Nd	18	25
44	Nd	17	20	Nd	13	18
48	03	Nd	00	Nd	20	26
55	20	Nd	10	Nd	10	24
58	20	Nd	10	Nd	08	17
60	17	Nd	18	Nd	21	25
66	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	24
72	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	21
73	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	28
74	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	25
76	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	26
77	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	28
91	Nd	30	Nd	Nd	27	Nd

Il est maintenant bien établi que les souches lactiques peuvent agir par l'intermédiaire de certains de leurs produits de métabolisme, capable d'inhiber le développement de flores bactériennes d'altération et/ou pathogènes (Morandi et al., 2013 ; Silva et al., 2018).

La production d'acide lactique est le caractère le plus exploité dans ce domaine (Anyogu et al., 2013 ; Bellil et al., 2014).

Comme nous l'avons évoqué dans l'introduction de ce travail, les bactéries lactiques sont par ailleurs susceptibles, si les conditions sont favorables, de synthétiser des peptides antimicrobiens ou bactériocines (Hwang et al., 2018 ; Wang et al., 2018). Ces molécules peuvent avoir une action antibactérienne spécifique vis-à-vis des genres ou des espèces taxonomiquement proches. Cependant, Lee & Chang, (2016) ont rapporté que les souches lactiques peuvent produire aussi des antifongiques efficaces contre plusieurs espèces (*Listeria ivanovii*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterococcus gilvus*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus simulans*, *Pseudomonas aeruginosa*)

Les souches lactiques par la méthode de Fleming et al. (1975) ont montré un antagonisme vis-à-vis des souches indicatrices référencées. Ceci se traduit par la présence d'une nappe de culture de l'indicatrice et des zones d'inhibition claires autour des souches testées.

Les souches sélectionnées sont entourées par des zones d'inhibition en milieu solide. Ces inhibitions renseignent sur les interactions en bactéries co-cultivées, comme il a été rapporté par plusieurs études (Benmechernene et al., 2013 ; Bellil et al., 2014 ; Tulini et al., 2016).

L'effet antagoniste des souches lactiques observé précédemment peut être attribué à n'importe quel facteur antibactérien produit par une bactérie lactique (acide organique, peroxyde d'hydrogène, dioxyde de carbone, diacétyl, phages, bactériocines, etc...), qui a été déjà constaté (Bendimred et al., 2012 ; Djadouni et al., 2012 ; Benmechernene et al., 2013 ; Bellil et al., 2014).

IV.4. Potentiel probiotique

IV.4.1. Tolérance à l'acidité :

Tableau 6 : Tolérance à l'acidité des souches candidates

Les souches	Log UFC/ml								
	pH=2			pH=3			pH=4		
	0h	1h	4h	0h	1h	4h	0h	1h	4h
42	2.77±0.45	00	00	2.57±0.45	2.75±0.14	2.49±1.02	2.89±1.02	2.80±1.1	2.26±0.62
44	2.40±0.89	00	00	2.82±1.19	2.77±0.54	2.78±1.19	2.98±1.07	2.88±0.14	2.75±0.62
72	00	00	00	2.74±1.02	0.80±1.05	2.59±0.54	2.90±3.84	2.75±1.17	2.67±0.96

Le pH de l'estomac varie de 1 pendant le jeun à 4 après un repas et le temps du passage à travers l'estomac est estimé de 3 heures (**Osmanagoaglu et al., 2010**)

Les souches montrent un taux de survie plus ou moins stable par rapport les autres souches.

Les différents tests ont permis de sélectionner les souches les plus intéressantes (42, 44, 72), Toutes les souches présentent une tolérance aux bas pH. Cette tolérance à l'acidité permet de prédire la capacité des souches isolées à résister au stress acide.

Tout comme l'acidité gastrique, les souches doivent conserver une certaine viabilité lors du transit gastro-intestinal. Les souches ont été d'abord mis en culture dans un milieu simulant les conditions gastriques et ceci pendant 0, 1, 4h à 37°C. Dans le tableau 05, il est bien visible que toutes les souches supportent bien ces conditions. Cependant dans les conditions plus

acides (pH=2) toutes les souches ne peuvent supporter le pH 2 pendant une longue durée (4h). À l'exception la souche (72) est incapable de survivre. D'autre part, les souches (44, 42, 72) ont besoin d'un temps d'adaptation à pH (3, 4) pour pouvoir croître.

Les résultats sont en accord avec des études précédentes trouvées par **Takahashi et al, (2013)** et **Andrian et al, (2013)** qui ont dévoilé que les espèces résistent au pH acide.

La survie des souches aux conditions gastriques du tube digestif représente un des caractères des probiotiques. Pour cela, l'étude de l'exposition prolongée des souches aux conditions acides similaires à celles de l'estomac a été réalisée par incubation de ces derniers à différents pH pendant 4h. D'après les résultats affichés dans le tableau 6, toutes les souches ont survie à pH 3,0. Les souches 42 et 44, 72 testées ont montré une basse tolérance à l'acidité respectivement. Tandis que la souche 44 a montré une tolérance plus élevée avec (**Tableau 6**). Les trois souches ont donné une bonne croissance sur le milieu témoin pH 4 qui atteint les 100% d'où l'élévation du nombre de cellules initial.

IV.4.2. Tolérance au mucus intestinal simulé

Le pH naturel d'un estomac vide est 1,5 a après un repas augmente le pH atteint (5, 6) pour empêcher l'entrée et la survie des bactéries indésirables dans tractus intestinales. Les souche présent une bonne variabilité a pH (2, 3, 7) pendant les 4 Heures, cette dure reflète la moyenne du temps passé par les aliments dans l'estomac (**Argyri et al., 2013**).

Tableau 7 : Tolérance au mucus intestinal simulé additionné de pepsine à pH :2

Les souches	Log UFC/ml		
	0h	1h	4h
42	1.78 ±1.78	1.66±0.75	0.47 ±0.47
44	2.68±1.32	00	00
72	2.89±1.04	nd	1.17 ±1.17

Tableau 8 : Tolérance au mucus intestinal simulé additionné de pepsine à pH :3

Les souches	Log UFC/ml		
	0h	1h	4h
42	2.74±0.55	1.3 ±0.3	1 ±0.22
44	2.75±1.025	2.14±0.30	1±0.12
72	2.89±1.22	00	00

Tableau 9: Tolérance au mucus intestinal simulé additionné de pepsine à pH :7

Les souches	Log UFC/ml		
	0h	1h	4h
42	2.30 ±2.30	2.61 ±1.26	2.30±0.75
44	2.78±0.58	2.43 ±1.43	2.53±1.33
72	2.18 ±1.15	2.49±1.15	2.74±0.75

Ainsi qu'à la fois en présence de la pepsine, ou on a remarqué une bonne viabilité des souches au pH=2 (souches 42, 72), au pH=3 (souches 42, 44) et au pH=7 (toutes les souches). A ce stade les souches devraient avoir la capacité de résister aux procédés de digestions. Il est rapporté que le temps a la première entrée prend 03 heures de l'estomac jusqu'au l'intestin. Les souches doivent résister au stress de l'intestin (**Chou & Weimer, 1999**). Les résultats illustrés dans les tableaux (**7, 8 et 9**) révèlent la tolérance au mucus intestinal simulé additionné de pepsine au pH (2, 3, 7). Cependant, une bonne croissance a été enregistrée au tant en milieu acide qu'en milieu basique.

La pepsine protège les cellules de bactéries lactiques (**Matsumoto et al., 2004; Matto et al., 2006**), L'association de l'acidité et de la pepsine à raison de 3 g/L, visant à simuler les conditions gastriques, La croissance en présence de l'enzyme gastrique, la pepsine, combiné avec abaissement du pH à 2 et à 3, est employée pour évaluer la capacité des trois souches à résister au passage au suc gastrique a permis de confirmer la résistance des souches à des pH encore plus bas (pH 3 et pH 2) et de désigner les bactéries les plus performantes par rapport à ce paramètre. Plusieurs auteurs reportent des résultats similaires par rapport à la capacité de résistance bactérie lactique à la pepsine (pH 3), voire même à des pH plus acides (pH 2).

IV.4.3. Teste Hémolytique

Une activité hémolytique est nécessaire pour évaluer les probiotiques et pour déterminer l'absence de pathogénicité. Dans la présente étude avec les souches (44, 72) on observe une zone verte autour des spots donc une hydrolyse partielle s'est révélée, d'autre part avec la souche (42) on observe l'absence de la zone donc pas hydrolyse de sang. L'absence de l'activité hémolytique est considérée comme une condition préalable de la sécurité pour la sélection d'une souche probiotique (**FAO/WHO, 2002**). A cet effet, ces caractéristiques devraient permettre à la souche (42), dont elle survive aux conditions rencontrées lors de leur transit à travers l'estomac, le duodénum et l'intestin, à être présumé comme la meilleur candidate probiotique.

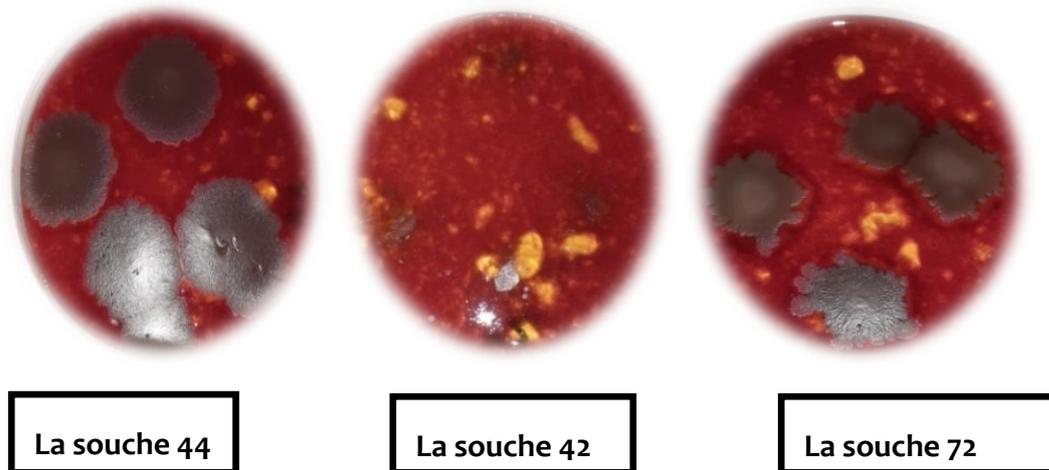


Figure 6: Activité hémolytique des souches lactiques.

IV.4.4. Antibiogramme

La résistance aux antibiotiques a été réalisée pour nos trois souches lactiques vis-à-vis douze antibiotiques (*Chloramphinecol*, *Oxacilline*, *Cefoperazone*, *Gentamicine*, *Gefoxitine*, *Erythromycine*, *L'amoxicilline*, *Levofloxacin*, *Céfazoline*, *Fosfomycine*, *Linezolid*, *L'amoxicilline Clavulanicacid*). La mesure du diamètre des zones d'inhibitions de chaque souche pour chacun des antibiotiques testés permet de définir les souches comme étant résistantes ou sensibles (Figure 7). Nous avons considéré que le diamètre de 15mm est la limite entre la résistance et la sensibilité (**Karam et Karam, 1994**) donc toutes les souches qui ont un diamètre inférieur à 15mm sont considérées comme étant des souches résistantes et celles qui possèdent un diamètre supérieur à 15mm sont considérées comme sensibles.

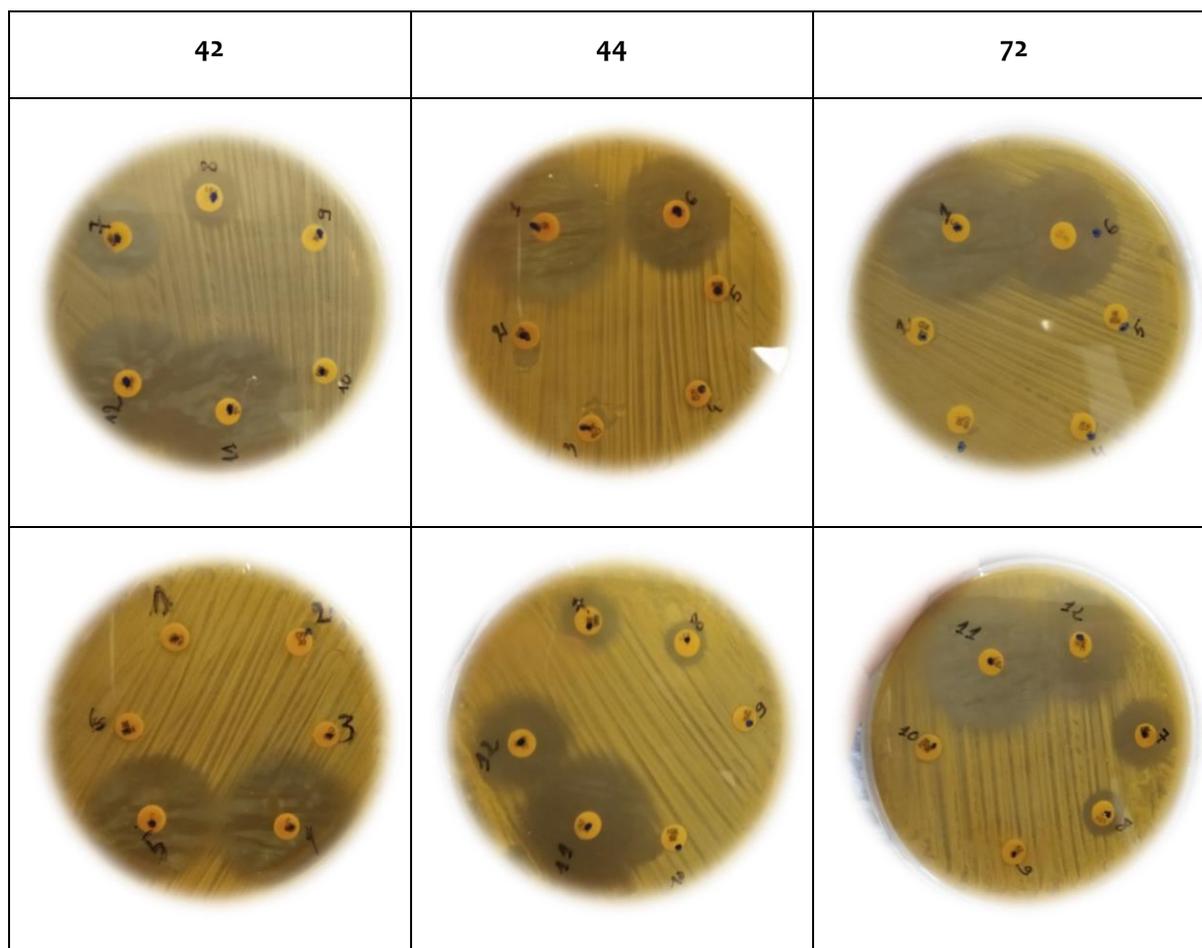


Figure 7 : Antibiogramme des souches lactiques

Tableau 10 : Antibiogramme des souches sélectionnées vis-à-vis les antibiotiques.

Antibiotique	Charge de disque (μg)	Symbole	Souche 42	Souche 44	Souche 72
Gentamicine	30 μg	GM	3.25 ^R	00 ^R	00 ^R
Cefoxicine	25 μg	Cx	2.95 ^R	00 ^R	00 ^R
Erythromycine	15 μg	E	00 ^R	2.55 ^R	3.1 ^R
Amoxicilline	25 μg	AMX	1.45 ^R	1.25 ^R	0.95 ^R

Levofloxacin	5µg	LVX	1.4 ^R	1.05 ^R	1.2 ^R
Cefazolin	30µg	Cz	00 ^R	00 ^R	0.55 ^R
Fosfomycine	20µg	FOS	00 ^R	00 ^R	0.65 ^R
Linezolid	30µg	LZD	3.5 ^R	3.1 ^R	3.2 ^R
Amoxicillin-clavulanic acid	20µg	AMC	2.95 ^R	2.1 ^R	1.45 ^R
Chloramphénicol	30µg	C	00 ^R	00 ^R	00 ^R
Oxacillin.	15µg	Ox	00 ^R	00 ^R	00 ^R
Cefopérazone	30µg	CFP	00 ^R	00 ^R	00 ^R

Les résultats obtenus de l'antibiogramme sont regroupés dans le tableau 09 ; La résistance et la sensibilité des souches aux antibiotiques représente une préoccupation majeure pour les chercheurs car ces propriétés peuvent limiter les applications des cultures probiotiques. Les trois souches mises en test ont montré une résistance aux antibiotiques testés, dont leur diamètre de zone d'inhibition était égal ou inférieur à 15 mm. Il faut signaler que cette résistance et sensibilité trouvées dans notre étude, peuvent être liées à la concentration de chaque antibiotique d'où la nécessité de tester plusieurs concentrations pour confirmer les résultats.

Certaines souches probiotiques, avec une résistance aux antibiotiques intrinsèques, pourraient être très utile pour restaurer la flore intestinale après un traitement d'antibiotique. Cependant, certains chercheurs craignent qu'elles puissent ainsi constituer un problème : car elles possèdent des éléments génétique mobiles résistantes aux antibiotiques spécifiques.

IV.4.5. Hydrophobicité

Ce test permet d'évaluer l'hydrophobicité de la surface cellulaire des bactéries employées vis à-vis du xylène qui peut refléter, d'une autre manière, le potentiel de leur colonisation aux mucus intestinale. Les résultats classés dans le Tableau 11, ont montré que les souches mises au test présentent une faible hydrophobicité, cela témoigne une faible sélectivité des surfaces membranaires. La valeur la plus élevée (60.87) est enregistrée avec la souche 42 et la plus faible est celle de la souche 44 (1.41%).

Tableau 11 : Test Hydrophobicité des souches sélectionnées envers xylène

Souche	OD test	OD control	Pourcentage
42	0.673	1.720	60.87
44	2.503	2.468	1.41
72	2.309	2.420	4.586

IV.1. La Bio-conservation de l'aliment modèle (viande de bœuf fraîche)

L'application des trois souches bioactives avec un potentiel probiotique 42, 44 et 72 dans la bioconservation de la viande de bœuf fraîche avec un protocole *in situ* a révélé une efficacité remarquable pour contrôler la croissance de *Listeria ivanovii* dans la matrice de viande, avec une réduction de 17.6% après trois jours de stockage à 4°C par la souche 42, et une réduction de 27.89% après 7 jours par la souche 44 et 34.46% après onze jours par la souche 42 et 42.57% après 14 jours de stockage à 4°C par la souche 42.

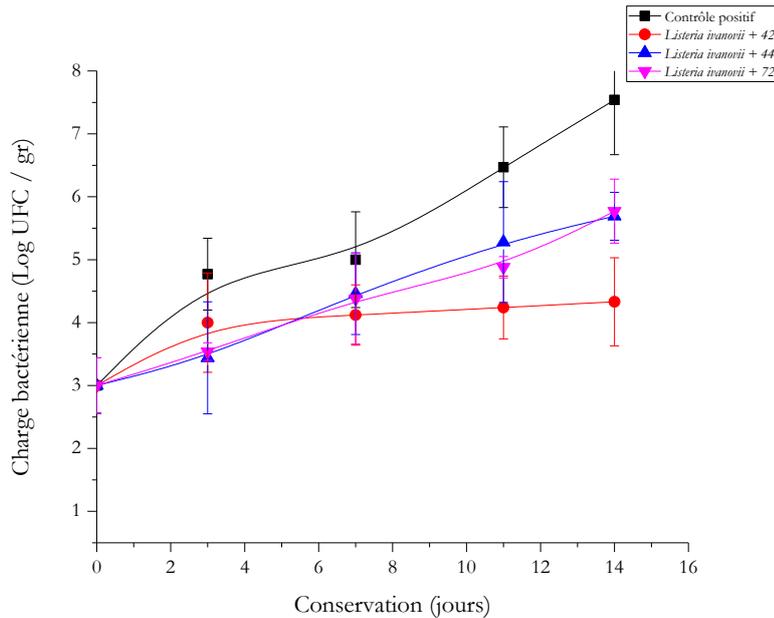


Figure 8 : Dénombrement des cellules viables de *Listeria ivanovii* ATCC 19119 co-cultivé avec les souches bioactives dans l'aliment modèle

L'analyse des résultats de la bioconservation de viande suggère les souches 42, 44 et 72 comme candidates de cultures bio-protectrices pour contrôler la croissance de *Listeria ivanovii* dans les viandes fraîches.

L'utilisation de diverses méthodes de conservation de la viande remonte à la salaison, dessiccation, suppression d'oxygène, addition d'additifs, étaient appliquées pour augmenter la durée de vie de ces aliments. La conservation des denrées alimentaires par l'emploi de la technique de réfrigération connaît un important essor. La réfrigération, qui est une conservation au froid des aliments périssables, notamment la viande, a pour effet la diminution de l'activité des bactéries en retardant leur prolifération. La majorité des microorganismes tels que les germes pathogènes responsables d'intoxications alimentaires ne sont plus capables d'activités métaboliques à des températures inférieures à 5°C. Cet abaissement de la température est aussi indispensable pour contrôler les propriétés organoleptiques post mortem de la viande (tendreté, flaveur, odeur et couleur). Ce mode de conservation ne peut en général excéder quelques jours, de l'ordre de deux à

trois jours pour les viandes fraîche. La présence des microorganismes peut être mise en évidence par des analyses microbiologique servant à limiter les risques d'altération et les intoxications alimentaires. Le but de notre travail est de comparer les caractéristiques microbiologiques à travers la flore lactique, et en particuliers la microflore de *Listeria* par leur nombre, dans la viande peut être des indicateurs de qualité. L'évolution de la flore bactérienne, au cours d'une conservation réfrigéré à 4 °C pendant 14 jours des viandes a été étudiée par un dénombrement bactérien.

Les résultats de dénombrement des germes représentés dans la figure 8 recherchés dans la viande réfrigérée :

- La population de *Listeria ivanovii* dans la viande (témoin (+)) non ensemencé par bactérie lactique évolue relativement jusqu'à 7 Log UFC/gr au cours de 14 jours.
- Contrairement la population de *Listeria ivanovii* co-cultivée avec les candidates lactiques encapsulés dans les nanoparticules d'amidon affiche respectivement :

***Listeria ivanovii* / souche 42 :** La charge bactérienne a été stable au cours du troisième jour jusqu'à 14 jours de 3.9 Log UFC/gr à la présence d'une phase stationnaire.

A l'inverse pour la souche **44 et 72** il y a une augmentation de la charge bactérienne de 5.5 Log UFC/gr jusqu'au 14 jours avec absence de phase stationnaire. Cependant il est aussi possible qu'il y ait une compétition entre la flore lactique et *Listeria* qui expliquerait le faible développement de ces deux flores.

L'assurance de la qualité et de la sécurité des aliments est vitale pour la santé des consommateurs. Un des problèmes de la qualité et de sécurité est la détérioration causée par les microorganismes, qui est empêché en ajoutant des conservateurs. Au cours dernières années, les nanoparticule entant que bio conservateur on été largement utilisé dans la viande avec un effet

antimicrobien approprié. Cependant, il a été rapporté que l'application de nanoparticules sous forme d'amidon bien que des produits de haute qualité, sans conservateur, sûrs et peu transformés avec une durée de conservation prolongé. Pendant de nombreux siècles, l'antagonisme microbien a été utilisé dans la transformation des aliments pour améliorer la sécurité alimentaire (**Field et al., 2018**). Les viandes, en raison de leur caractéristiques biologiques et de leurs compositions Chimiques sont fréquemment contaminées par les bactéries nuisibles et pathogènes. Les agents pathogènes d'origine alimentaire, y compris *Listeria ivanovii* peuvent causer des problèmes de santé tels que toxicité et infections graves chez l'homme (**Sparo et al., 2013**). Or, une conservation efficace est nécessaire pour inhibe les microorganismes pathogènes dans la viande. Les bactéries lactiques ont été traditionnellement utilisées dans la conservation de nombreux aliments.

Enfin les expérience conduite sur la viande par nanoparticules ont montrés l'activité protectrice des bactéries lactiques durant les 14 jours. *Listeria ivanovii* est incapable de se développer du fait de l'activité des bactériocines des souches lactiques qui possèdent une activité spécifique anti-*Listeria*. L'ajout de la culture lactique encapsulée dans les nanoparticules ou bien les nanovecteurs à base d'amidon pourrait donc apporter un complément intéressant pour la qualité de viande au cours de conservation ou stockage au froid en assurant une meilleure sécurité vis-à-vis de *Listeria*.

PARTIE V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion

Si Comme dans d'autres secteurs, l'émergence des nanotechnologies offre de multiples possibilités de développement d'applications et de produits novateurs, pour l'agriculture, ainsi que dans la production, la transformation, la conservation et l'emballage des aliments. Ses applications dans l'industrie de l'alimentation et des emballages alimentaires sont de plus en plus largement disponibles sur le marché. Selon **Bumbudsanpharoke, (2015)**, plus de 400 entreprises dans le monde développeraient déjà cette technologie pour ses applications potentielles dans les aliments et les emballages alimentaires.

Les applications de la nanotechnologie peuvent jouer un rôle majeur dans l'industrie alimentaire, mais suscitent de multiples interrogations relatives à la protection de la santé humaine. Plusieurs études, dont celles (**Cushen et al., 2012**), démontrent que les nanoparticules utilisées dans les emballages alimentaires du fait de leurs propriétés physico-chimiques (taille, la complexité chimique, propriétés magnétiques, de réactivité chimique, de résistance mécanique et de conductivité thermique) (**Wang et Ro, 2006**) peuvent migrer d'un compartiment à l'autre et altérer ainsi la qualité des aliments. La conservation des aliments est un combat constant contre les microorganismes d'altération ou les pathogènes de l'homme tel que Les bactéries lactiques sont principalement utilisées en tant que starter dans les produits alimentaires fermentés où elles permettent de développer certaines caractéristiques organoleptiques et d'augmenter la durée de conservation. L'un des utilisations des bactéries lactiques dans l'industrie alimentaire est la conservation des aliments. « Bioconservation » ou « Bio protection ». La capacité de compétition de ces avec les microorganismes d'altération dans les milieux de fermentation industrielle résulte de la production des composés antimicrobiens tels que les acides organiques, le H₂O₂, et des protéines antimicrobiennes tels que les bactériocines. Ces dernières sont des substances de nature totalement ou partiellement protéique, à activité bactéricide envers les espèces proches de la souche

productrice. Cette dernière est une bonne méthode de conservations car c'est une méthode de conservation des aliments faisant appel à des microorganismes ou à des substances antimicrobiennes produites par ces germes. Elle vise à l'augmentation de la durée de vie et une amélioration de la sécurité sanitaire des produits alimentaires. La bio conservation peut remplacer l'utilisation de conservateurs chimiques et des traitements thermiques. Elle permet une conservation naturelle des aliments en préservant leurs propriétés organoleptiques et nutritionnelles (**Settanni et Corsetti, 2008**).

A l'heure actuelle, la chaîne alimentaire est devenue plus complexe, multipliant les possibilités de contamination et de développement des agents pathogènes. Les techniques de décontamination sont très étudiées et présentent un intérêt central dans les industries agroalimentaires au niveau mondial. D'un autre côté, il faut faire face à une demande croissante des consommateurs de produits frais, sains et satisfaisants sur le plan organoleptique, avec une durée de conservation de plus en plus longue. Nous sommes tournés vers une alimentation qui allie qualités gustatives et nutritionnelles. C'est pourquoi l'industrie alimentaire est sans cesse à la recherche de nouvelles techniques de conservation, visant à préserver la qualité des aliments, tout en optimisant au maximum la durée de conservation. De nombreuses techniques sont étudiées, visant dans l'idéal l'obtention d'un produit microbiologiquement maîtrisé, sans altération de saveur, se rapprochant le plus possible du produit original. Il est cependant très difficile de concilier sécurité microbiologique et qualités organoleptiques, du fait de la grande variabilité existante, tant au niveau biologique. De nombreuses espèces microbiennes peuvent être à l'origine d'altérations des aliments ou encore de toxi-infections alimentaires. Parmi elles, les spores bactériennes sont souvent le problème le plus difficile à résoudre pour la conservation.

Dans la deuxième partie de cette recherche bibliographique, nous avons perlé de la viande précisément la viande consommée localement. Elle

constitue un milieu approprié pour la prolifération de micro-organismes pathogènes qui peuvent produire des substances toxiques. Pour cette raison, parmi les méthodes de conservation de viande, une méthode qui permette non seulement de maîtriser la croissance de la flore pathogènes ou d'altération, mais également de préserver la qualité organoleptique et nutritionnelle du produit tout au long de sa durée de conservation. C'est la bio conservation (ou bio-préservation) est une nouvelle approche de conservation basée sur l'utilisation des méthodes impliquant des conservateurs biologiques. La bio- préservation utilise des microorganismes antagonistes et leurs métabolites pour prévenir ou tuer les microorganismes nocifs dans les aliments. Les bactéries lactiques sont donc les acteurs essentiels de cette bio-préservation (**Bourgeois et Larpent, 1996**)

Pour le contrôle des microorganismes indésirables dans la viande (**Vermeiren, 2004**). L'arrivée de la nanotechnologie a permis d'étudier et de manipuler de façon systématique les propriétés des matériaux à l'échelle nanométrique avec une régularité et une précision jusqu'alors inconnues. À ce propos, l'attention s'est principalement portée sur les nanomatériaux spécifiquement manufacturés pour obtenir une propriété ou composition précise, Dans bon nombre de produits et d'applications, les emballages alimentaires, il est possible d'ajouter des nanomatériaux en les fixant, les liant ou les intégrant; ils ne constituent ainsi aucun nouveau risque ou menace supplémentaire pour la santé des consommateurs ou pour l'environnement Plusieurs études et rapports récents ont répertorié les applications des nanotechnologies actuelles et annoncées à court terme pour le secteur alimentaire (**Chaudhry et al., 2008**). Les principaux domaines d'application sont les emballages et les produits alimentaires qui contiennent des ingrédients et des additifs à l'échelle nanométrique ou nano encapsulés. Le principe clé qui sous-tend la mise au point d'ingrédients et d'additifs à l'échelle nanométrique semble être directement lié à une meilleure acceptation et biodisponibilité des nano substances dans l'organisme même si d'autres avantages, comme l'amélioration du goût, de la consistance, de la

stabilité, de la texture, etc. entreraient également en ligne de compte **(Chaudhry et al., 2008)**.

Les autres applications des nanotechnologies, actuelles et projetées à court terme, sont les ingrédients et les additifs à l'échelle nanométrique ou nano encapsulés qui pourraient avoir une multitude d'applications dans les secteurs de l'alimentation et de l'agriculture ;Voici les principales catégories d'applications connues et projetées pour les domaines de l'alimentation et des aliments diététiques récemment mises au jour par une étude de (Chaudhry et al.,2008):

- où des ingrédients alimentaires ont été transformés ou formulés pour former des nanostructures;
- où des additifs à l'échelle nanométrique ou nanoencapsulés ont été utilisés dans l'alimentation;
- où des nanomatériaux manufacturés ont été intégrés à des revêtements et à des matériaux d'emballage pour mettre au point de nouvelles surfaces et de nouveaux matériaux en contact avec des aliments, et des nano(bio)senseurs pour les emballages «intelligents»;
- où des nanomatériaux ont été utilisés lors de la nanofiltration pour retirer les composants indésirables des denrées alimentaires;
- où des applications de nanomatériaux manufacturés ont été proposées pour des pesticides, des médicaments vétérinaires et d'autres produits agrochimiques afin d'améliorer les systèmes de production alimentaire.

Il est donc essentiel de considérer la spécificité des nanoparticules, assimiler par des exemples suivant présent un grandement dans plusieurs domaines présente des propriétés très intéressantes, aussi divers et variés tels que les industries pharmaceutiques, électroniques, cosmétiques et médicales.

PARTIE VI. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

AFNOR, Fiche informative du Département - Services, Management et Consommation - Sur les enjeux de la normalisation. Ambassade de France en Allemagne, Les nanotechnologies - analyse comparative de l'état actuel des efforts institutionnels en Allemagne, en Europe et dans le reste du monde (21/04/2006).2.; 214 p.

Adam, M. (2013). Les nano-emballages, des risques environnementaux encore mal définis. Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (Afsset).

Adnan, A. F. M., & Tan, I. K. (2007). Isolation of lactic acid bacteria from Malaysian foods and assessment of the isolates for industrial potential. *Bioresource technology*, 98(7), 1380-1385.

AFSSET, Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail. Les nanomatériaux. Effets sur la santé de l'homme et sur l'environnement : Avis de l'AFSSET et rapport du groupe d'experts .- Saisine Afsset n° 2005/010 .- Juillet 2006 .- 248 p.

Ahmad, J. I. (2003). Smoked Foods, Applications of Smoking. In B. Caballero, L. Trugo & P.

Alakomi, H. L., Skytta, E., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T., Latva-Kala, K., & Helander, I. M. (2000). Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Applied and environmental microbiology*, 66(5), 2001-2005.

Alessandrini, F, Ziesenis, A, Takenaka S, Karg E, Heyder J, Ring J, Behrendt, H. Effects of inhaled CdO particles on the sphingolipidsynthesis of rat lungs. *Inhal Toxicol* 2003;15(4):343-56.

Alexandra, L. 2001. La conservation des aliments tout on jeu. *Savoir scientifique*.

Allen T. M, *Drugs*, 54 (1997) (suppl.4), 8

Amidon, D. M., & Amidon, D. M. (2001). Innovation et management des connaissances. Ed. d'Organisation. and protoplast/ sporoplast volume ratio. *Journal of bacteriology* 150(2), 870-877

Ammor Ammor, Académie des technologies (2004), Nanosciences - Nanotechnologies, rapport sur la science et la technologie n°18. Académie des technologies, Les nanotechnologies : enjeux et conditions de réussite d'un projet national de recherche - rapport du groupe de travail « Nanotechnologies » (24/11/2002).

Anderson, R. A., & Friesen, W. T. (1974). The thermal resistance of *Bacillus stearo thermophilus* spores. The effects of temperature and pH of the heating medium. *Pharm Acta Helv*, 49(9-10), 295-298.

Andriantsoanirina, Valérie. Solène., Allano, Marie. José., Butel, Julio., Aires. (2013). Tolerance of *Bifidobacterium* human isolates to bile, acid and oxygen, *Anaerobe*,21:39-42.

Angellier. H, Molina-Boisseau. S, Lebrun. L, & Dufresne. A, Processing and structural properties of waxy maize starch nanocrystals reinforced natural rubber, *Macromolecules*, 2005, 38(9), 3783-3792

Applications of Nanomaterials, Edited by Ramesh, S. Chaughule and Shrikant, C. Watawe (2013). American Scientific Publishers -ISBN: 1-58883-181
Nanotechnologies for biology and medicine ; G.A.Silva, Springer, 2012
Handbook of nanomaterials ; R.Vajtai, Springer, 2012.

Argyri, A. A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K-AG., Tsakalidou, E., Nychas, G-JE., Panagou, E. Z. & Tassou, C. C.(2013). Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by in vitro tests. *FoodMicrobiol*, 33 (2): 282_291.

Azlin-Hasim, S., Cruz-Romero, M. C., Cummins, E., Kerry, J. P., & Morris, M. A. (2016). The potential use of a layer-by-layer strategy to develop LDPE antimicrobial films coated with silver nanoparticles for packaging applications. *Journal of Colloid and Interface Science*, 461, 239-248.

Baggs, R. B., Ferin, J., Oberdorster, G. Regression of pulmonary lesions produced by inhaled titanium dioxide in rats. *Vet Pathol* 1997;34(6):592-7.

Baggs, R.B., Ferin, J., Oberdorster, G. 1997. Regression of pulmonary lesions produced by inhaled titanium dioxide in rats. *Vet Pathol* ;34(6):592-7.

Barlow, P. G., Donaldson, K., Maccallum, J., Clouter, A., Stone. V .2005. Serum exposed to nanoparticle carbon black displays increased potential to induce macrophage migration. *Toxicol Lett* ;155(3):397-401.

Barrett, E. G., Rudolph, K., Bowen, L. E., Muggenburg, B.A., Bice, D. E.2003. Effect of inhaled ultrafine carbon particles on the allergic airway response in ragweed-sensitized dogs. *Inhal Toxicol* ;15(2):151-65.

Bazinet, L., & Castaigne, F. (2011). Concepts de génie alimentaire: Procédés associés et applications à la conservation des aliments. Tec et Doc.

Béland, J.P. Patenaude, J. (2009). Les nanotechnologies: Développement, Enjeux Sociaux et défis Éthiques. Les presses de l'Université de Laval.

Belski, I. (1999). Solving problems with method of the ideal result. *TRIZ journal*.

Boeckel, T. P. V., Hounhouigan, J. D., & Nout, R. (2003). Les aliments: transformation, conservation et qualité. Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation.

Bottero, J. Y., Rose, J., & Wiesner, M. R. (2006). Nanotechnologies: tools for sustainability in a new wave of water treatment processes. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 2(4), 391-395.

Bourgeois, C. M. Et Larpent JP, 1996. *Microbiologie Alimentaire: Aliments Fermentés Et fermentations Alimentaires*. Tec & Doc, Lavoisier. Paris, 432-704.

Bourgeois, C. M., Mescle, J. F., & Zucca, J. (Eds.). (1996). *Microbiologie alimentaire: tome 1-Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. tome 2-Aliments fermentés et fermentations alimentaires*. Tec & Doc Lavoisier.

Bumbudsanpharoke, N., & Ko, S. (2015). Nano-Food Packaging: An overview of market, migration research, and safety regulations. *Journal of food science*, 80(5), R910-R923.

CEC 31,1996. « Rapport sur l'insertion à l'échelle industrielle de la technologie de déshydratation et imprégnation par douchage (DID) couplée au fumage électrostatique ».

Chaudhry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., Castle, L., & Watkins, R. (2008). Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food additives and contaminants*, 25(3), 241-258.

Cheftel JC. 1995. Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Sci. Technol. Int.* 1:75–90.

Chen, Y., Chen, G., Wei, R., Zhang, Y., Li, S., & Chen, Y. (2019). Quality characteri of fresh wet noodles treated with nonthermal plasma sterilization. *Food Chemistry*, 297, 124900

Chillet, P. (2011). *La pasteurisation*. CRDP d'Aquitaine: Bordeaux-Paris.

Chin, K. B., Han, S., & Ramachandraiah, K. (2015). Nanotechnology in Meat Processing and Packaging: Potential Application–A Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(2), 290-302.

Chin. S. F, Pang. S. C, &Tay. S. H. 2001. Size controlled synthesis of starch nanoparticles by a simple nanoprecipitation Method, *Carbohydrate Polymers*, 86, 1817–1819.

Christensen, C, A., and TAN, A. 2000. « Developing Ideas for Innovative Products », Masters Thesis Project, Technical University of Denmark, DT.

Cientifica. 2006. *Nanotechnologies in the food industry*, publié en août 2006. Disponible à l'adresse: www.cientifica.com/www/details.php?id=47.

Colas de la Noue A, Espinasse V, Perrier-Cornet JM, Gervais P. 2012. High gas pressure: An innovative method for the inactivation of dried bacterial spores. *Biotechnol. Bioeng.* 109:1996–2004

Commission Européenne. (2013). Food labelling- EU rules 2014. European Commission Website. Récupéré de: http://ec.europa.eu/food/food/labellingnutrition/foodlabelling/proposed_legislation_en.htm.

Corlien, H. 2005. La conservation du poisson et de la viande. Fonction Agromisa. Wageningen Agrodok 12. ISBN :90-9573-033-3.P6-8-14-15.

Costa, P. 2006."Introduction aux nanomatériaux et nanotechnologies," Techniques dell'ingénieur, vol. NM 110, 10-10-2006 2006.

Cushen, M., Kerry, J., Morris, M., Cruz-Romero, M., & Cummins, E. (2012). Nanotechnologies in the food industry—Recent developments, risks and regulation. *Trends in food science & technology*, 24(1), 30-46.

Daeschel, M. A., & Ray, B. E. (1992). Food biopreservatives of microbial origin. *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria*. Ray B, Daeschel MA, eds. CRC Press Inc, London. p, 323-342.

Daniel. J. R, Whistler. R. L, Röper. H, Starch. In *Ullmann's Encyclopedia Industrial Chemistry 2007*, Wiley, Ed. VCH Verlag GmbH & Co: 2000.

Daoudou, B., Leopold, T. N., Augustin, M., & Moses, M. C. (2011). Assessment of physiological properties of some lactic acid bacteria isolated from the intestine of chickens use as probiotics and antimicrobial agents against enteropathogenic bacteria. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, (8), 33-40.

Darinmou, 2000.Conseil pour le consommateur. Laboratoire darinmoub. Site [darinmoub.com /conseils.pdf](http://darinmoub.com/conseils.pdf).

Davda, J. *Int. J. Pharm.*, 233 (2002), 51.

Djedâini-Pilard, F .S .Z. Lin, B. Perly, D. Wouessidjewe, *J. Pharm. Sci.* , 79 (1990), 643 I.2.d Polymères inorganiques et hybrides organiques – inorganiques dérivésEn 1983 déjà, K. Unger, K. Unger⁴³ et ses collaborateurs proposaient d'utiliser la silice pour la libération contrôlée de médicaments préalablement incorporés dans le réseau poreux d'un xérogel silicé. Les

résultats obtenus montrent que la silice se présente comme un vecteur très prometteur pour la délivrance In Vivo contrôlée de molécules médicamenteuses. 28

Dobrucka, R. (2014). Application of nanotechnology in food packaging. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 3(5), 353.

Doyle, M. P., Diez-Gonzalez, F., & Hill, C. (Eds.). (2020). *Food microbiology: fundamentals and frontiers*. John Wiley & Sons.

Duncan, T. V. (2011). Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of colloid and interface science*, 363(1), 1-24.

Duncan, T. V., & Pillai, K. (2015). Release of engineered nanomaterials from polymer nanocomposites: diffusion, dissolution, and desorption. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 7(1), 2-19.

EFSA (Autorité européenne de sécurité des aliments) 2009. Scientific Opinion on 'The Potential Risks Arising from Nanoscience and Nanotechnologies on Food and Feed Safety', Scientific Opinion of the Scientific Committee, adopté le 10 février 2009, *EFSA J.*, 958: 1–39.

ETC Group. 2004. Food Packaging Using Nanotechnology Methods: an Overview of 'Smart Packaging' and 'Active Packaging'. <http://www.azonano.com/Details.asp?ArticleID=1317>

FAO/WHO (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a Joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in foods. FAO/WHO, London.

Fernández, M., Martínez-Bueno, M., Martín, M. C., Valdivia, E., & Maqueda, M. (2007). Heterologous expression of enterocin AS-48 in several strains of lactic acid bacteria. *Journal of applied microbiology*, 102(5), 1350-1361.

Ferrari, M. Nanovector therapeutics. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 9, 343–346 (2005).

Field, D., Ross, R.P., Hill, C. (2018). Developing bacteriocins of lactic acid bacteria into next generation biopreservatives. COFS.

Flingas (Eds.), Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. (2nd ed., 5309-5316). Cambridge, Mass. : Academic Press.

Gabizon, D.A. Goren, R. Cohen, J. Control. Release, 53 (1998), 275

Garcia, P., Martinez, B., Obeso, J. M., & Rodriguez, A. (2008). Bacteriophages and their application in food safety. Letters in applied microbiology, 47(6), 479-485.

Garland, A. (2004). Nanotechnology in Plastics packaging, 14-63. Leatherhead, UK. Pira International. Commercial Applications in Nanotechnology.

Garry, P., Christeans, S., & Cartier, P. (2008). Procédes de bio-preservation. viandes, 2003

Geremew, T. T. (2012). Physicochemical fate of metallic nanoparticles in aquatic environments (Doctoral dissertation, GHENT UNIVERSITY).

Graveland-Bikker, J. F., & De Kruif, C. G. (2006). Unique milk protein based nanotubes: food and nanotechnology meet. Trends in Food Science & Technology, 17(5), 196-203.

Greco, F., Coll•biere, B., Rose, J., Orsiere, T., Sari-Minodier, I., Bottera, J. Y., & Perrin, J. (2015). Reprotox icite des nanoparticules . Gynécologie Obstétrique & Fertilité, 43(1), 49-55. propriétés. Journal of Nanoparticle

Guy, Elizabeth. 2007. Microbiologie et toxicologie des aliments. Hygiène et sécurité alimentaires. Doin éditeur, Centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine, 4^{ème} édition.

Haccoun, J., Théron, D., Tournier, A. (2019). Les cahiers de l'ANR - Les nanotechnologies : un nouveau paradigme [Internet]. Agence Nationale de la Recherche; 2012 juill [cité 17 janv 2019] p. 121. (Les cahiers de l'ANR). Report No.:5. Disponiblesur: <http://www.agence-nationale>.

recherche.fr/fileadmin/user_upload/documents/2012/Cahier-ANR-5
nanotechnologies.pdf.

Han, M., Gao, X., Su, J. Z., & Nie, S. (2001). Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules. *Nature biotechnology*, 19(7), 631-635.

Hervé, Bazin .B. 2007.Les nanoparticules. Un enjeu majeur pour la santé au travail ? .-Lavoisier, .- 700 p.

Huang, J. Y., Li, X., & Zhou, W. (2015). Safety assessment of nanocomposite for food packaging application. *Trends in Food Science & Technology*, 45(2), 187-199.

Huber. K. C, BeMiller. J. N, Modified starch: Chemistry and Properties. In *Starches: Characterization, Properties and Applications*, Bertolini, A. C., Ed. CRC Press: Boca Raton,2010, 145-203.

Isayev, A. I et al., "Ultrasound assisted twin screw extrusion of polymer-nanocomposites containing carbon nanotubes," *Polymer*, vol. 50, pp. 250-260,

James, I. F., & Kuipers, B. (2003). *AD03F La conservation des fruits et des légumes*. Agromisa Foundation.

Jean-Pierre Dupuy, ingénieur général des Mines et Françoise Roure, inspecteur général des Postes et télécommunications, *Les nanotechnologies : éthique et prospective industrielle*, Conseil général des Mines - Conseil général des technologies de l'information (15/11/2004).

Jeantet, R., Croguennec T., Schuck P., Brulé.(2006). *science des aliments* .27.p224.volume 1.

Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P., Brulé. (2007). *Science des aliments* volume.

Journée de sensibilisation CNRS- Nanoparticules : nanorisques ? .- Meudon, 13 janvier (2006).

K. Uekama, F. Hirayama, T. Irie, *Chem. Rev.* , 98 (1998), 2045

Keller. A., Wang H. , Zhou D., Lenihan H.-S ., Cherr G., Cardinale, B.-J. , Miller, R. Ji , Z. (2010). Stability and aggregation of metal oxide nanoparticles in natural aqueous matrices . *Environ. Sei. Technol.* 44, 1962-1967.

Kesharwani, P. & Iyer, A. K. 2015 Recent advances in dendrimer-based nanovectors for tumor-targeted drug and gene delivery. *Drug Discov. Today* 20, 536–547 .

Knockaert, C. (1990). *Le fumage du poisson*. Brest, France : Ifremer.

Leistner, L., & Gorris, L. G. (1995). Food preservation by hurdle technology. *Trends in food science & technology*, 6(2), 41-46.

Leroi, F., Cornet, J., Chevalier, F., Cardinal, M., Coeuret, G., Chaillou, S., & Joffraud, J. J. (2015). Selection of bioprotective cultures for preventing cold-smoked salmon spoilage. *International journal of food microbiology*, 213, 79-87.

Liasi, S. A., Azmi, T. I., Hassan, M. D., Shuhaimi, M., Rosfarizan, M., & Ariff, A. B. (2009). Antimicrobial activity and antibiotic sensitivity of three isolates of lactic acid bacteria from fermented fish product, Budu. *Malaysian Journal of Microbiology*, 5(1), 33-37.

Liu, M., Bayjanov, J. R., Renckens, B., Nauta, A., & Siezen, R. J. (2010). The proteolytic system of lactic acid bacteria revisited: a genomic comparison. *BMC Genomics*, 11(36), 1-15

Liu. D, Wu. Q, Chen. H, & Chang. P. R, (2009) Transitional properties of starch colloid with particle size reduction from micro to nanometer, *Journal of Colloid and Interface Science*, 339(1), 117–124.

Mackenzie, A.A. (2007). Perspectives d'avenir: les applications potentielles des nanotechnologies en santé animale. *Bulletin OIE*, 4: 11–14.

Mal, N. K. M. Fujiwara, Y. Tanaka, *Nature*, 421 (2003), 350.

Marchand, M. (Page consultée le 3 janvier 2008). Mickaël Marchand. [en ligne] <http://lpmcn.univ-lyon1.fr/~marchand/> .

Matto, J., Alakomi, H. L., Vaari, A., Virkaja, rvi, I., & Saarela, M. (2006). Influence of processing conditions on bifidobacterium animalis subsp, lactis functionality with a special focus on acid tolerance and factors affecting it .International Dairy Journal,16,1029-1037.

Miller, G. Kinnear, S. (2008). La nanotechnologie, la nouvelle menace alimentaire. Récupéré le 01 octobre 2014 de : <http://sos-crise.over-blog.com/article-la-nanotechnologie-la-nouvelle-menace-alimentaire-107580528.html>

Mohanty, A. K. Misra, M. Nalwa, H.S. (2009). Packaging nanotechnology. Los Angeles, Calif. : American Scientific Publishers.

Monfort-Windels, F. Lecomte, J. (2008). Les applications des nanotechnologies. Récupéré de:<http://www.minatuse.eu/pdf/Nanotechnologies-version-francaise.pdf>

Moret, R. (2006) .Nanomonde. Des nanosciences aux nanotechnologies. Paris : CNRSéditions, 2006 .- 95 p.

Müller, R. H., Mäder, K. & Gohla, S. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drugdelivery – a review of the state of the art. Eur. J. Pharm. Biopharm. 50, 161–177 .

Murielle, M. (2009). Nutrition humain et sécurité alimentaire. Edition Lavoisier, ISBN : 987-2-7430-1072-0.

Myriam Ricaurd, Olivier Witschger. les nano-matériaux, Définitions, risques toxicologiques, caractérisation de l'exposition professionnelle et mesures de prévention, Revues, Institu national de recherche et de sécurité (INRS), Septembre 2012.,

Nagaoka, T. et al. (2007). Characterization of bio-nanocapsule as a transfer vector targeting human hepatocyte carcinoma by disulfide linkage modification. J. Controlled Release 118,348–356 .

nanocrystals, Molecules, 2010, 2(5), 605–611.

Nanomaterials and its Potential Applications K. Arivalagan, S. Ravichandran, K. Rangasamy. Rapport du comité Comité de la prévention et de la précaution en 2006, février 2020, Nanotechnologie – Nanoparticules :Quels dangers, quels risques?, and E.Karthikeyan, International Journal of ChemTech Research CODEN(USA): IJCRGG ISSN: 0974-4290 Vol. 3, No.2, pp 534-538, April-June 2011.

Nanomaterials: A Guide to Fabrication and Applications édité par Sivashankar Krishnamoorthy (2015), by CRC Press -ISBN 9781466591257 - CAT# K20504; Le Safe by design, ou la volonté de limiter les risques liés aux Nanos ; dossier nanomatériaux, entre défis et précaution, la science avance. Environnement et Technique, N° 325, du 13/05/2013. Décryptage sur Veillenanos.fr, 2012-2013.

Netpak. (2015). Les Nanotechnologies dans les emballages alimentaires: menace ou révolution? Récupéré le 10/03/2015 de: <http://netpak.com/blog/les-nanotechnologies-dans-les-emballages-alimentaires-menace-ou-revolution> I NIOSH. (2012). General safe practices for working with engineered nanomaterials in research laboratories. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH, 42 p.

O'sullivan, L., Ross, R. P., & Hill, C. (2002). Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie*, 84(5-6), 593-604.

Obadia, A. (2008). Les nanotechnologies. Rapport du conseil économique et social, France. Récupéré de: <http://www.ionfrancaise.fr/var/storage/rapports-publics/084000408/0000.pdf>

Osmanagaoglu, Ozlem., Fadaime, Kiran., Haluk, Ataoglu. (2010). Evaluation of in vitro probiotic potential of *pediococcus pentosaceus* OZF Isolated from Human Breast Milk, *Probiotics & Antimicro . Prot*, 162-174.

Panyam, V. J, Labhasetwar, *Int. J. Pharm.* , 262 (2003), 1

Panyam, V.J, Labhasetwar, *FASEB J.* 16 (2002), 1217

Panyam, V.J. Labhasetwar, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 55 (2003), 329

Plana, R. (2013). Les nanotechnologies, une filière entre promesses et interrogations. Récupéré de: http://www.les-monde.fr/sciences/article/2013/04/10/les-nanotechnologies-une-filiere-entre-promesses-et-interrogations_3151370_1650684.html

Rajeev, R. S. et al., 2009."Studies on the effect of equi-biaxial stretching on the exfoliation of nanoclays in polyethylene terephthalate," *European Polymer Journal*, vol. 45, pp. 332-340, 2009. *Research*, 3(2), 141-147.

Riehemann, K. et al. 2009. Nanomedicine – challenge and perspectives. *Angew. Chem. Int. Ed Engl.* 48, 872–897.

Ringø, E., & Gatesoupe, F. J. (1998). Lactic acid bacteria in fish: a review. *Aquaculture*, 160(3-4), 177-203.

Rodgers, S. (2003). Potential applications of protective cultures in cook-chill catering. *Food control*, 14(1), 35-42.

Royal Society (Great Britain). *Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties*. London: The Royal Society; 2004.

Rubilar, O. Diez, M.C. Tortella, GR. Briceno, G. Marcato:-D. Duran, N. (2014). New strategies and challenges for nanobiotechnology in agriculture. *Biobased Mater Bioenergy* 8 (1): 1- 12.

Samelis, J., Maurogenakis, F., & Metaxopoulos, J. (1994). Characterisation of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami. *International Journal of Food Microbiology*, 23(2), 179-196.

Sánchez, C., Hortal, M., Aliaga, C., Devis, A., & Cloquell-Ballester, V. A. (2014). Recyclability assessment of nano-reinforced plastic packaging. *Waste Management*, 34(12), 2647-2655.

SARGENT, T. (2006). *Bienvenue dans le nanomonde*. Paris: Dunod. 201 p.

Schillinger, U. (1989). Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Applied and environmental microbiology*, 55(8), 1901-1906.

Sebbane, M. (2010). L'émergence des nanotechnologies dans un contexte de développement durable (Doctoral dissertation, Université de Sherbrooke.).

Settanni, L., & Corsetti, A. (2008). Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *International journal of food microbiology*, 121(2), 123-138.

Singleton, P. (1999). Spore heat Resistance Correlated with water content, wet density,

Singleton, P. 1999. Bactériologie. 4eme Edition. Dunod, Paris. 317pages.

Smolander, M. (2008). Freshness indicators for food packaging. *Smart packaging technologies for fast moving consumer goods*, 111-127.

Smolander, M., Hurme, E., Koivisto, M. & Kivinen, S. (2004). PCT International Application WO 2004/102185 A1, 2004.

Song. D, Thioc. Y. S, & Deng. Y, Starch nanoparticle formation via reactive extrusion and related mechanism study, *Carbohydrate Polymers*, 2011, 85, 208–214

Souza, V. G. L., & Fernando, A. L. (2016). Nanoparticles in food packaging: Biodegradability and potential migration to food—A review. *Food Packaging and Shelf Life*, 8, 63-70.

Sparo, M.D., Confalonieri, A., Urbizu, L., Ceci, M., & Bruni, S. F. (2013). Biopreservation of ground beef meat by *Enterococcus faecalis* CECT7121. *Br J Microbiol*, 44:43-49.

Tager, J. (2014). Nanomaterials in food packaging: FSANZ fails consumers again. *Chain Reaction*, (122), 16-17.

Tiju, J. and Morrison M. (2006). Nanotechnology in Agriculture and Food - A nanoforum report. (<http://www.nanoforum.org>).

Tourné-Péteilh, D.A. Lerner, C. Charnay, L. Nicole, S. Bégu, J-M. Devoiselle, *Eur. J. Chem. Phys. and Phys. Chem.*, 3 (2003), 281.

Towards a review of the EC Recommendation for a definition of the term "nanomaterial"-Part1: Compilation of information concerning the experience with the definition, JRC, mars 2014.

Towards a review of the EC Recommendation for a definition of the term "nanomaterial": Part 3: Scientific-technical evaluation of options to clarify the definition and to facilitate its implementation, JRC, juillet 2015 Scientific and Technical Research Reports ; kjna29647enn.pdf Publications Office of the European Union (2019) ISBN: 978-92-79-99660-3 (online) ;ISSN: 1831-9424 (online) DOI: 10.2760/459136 (online).Usages et applications.

Vermeiren, L., Devlieghere, F., & Debevere, J. (2004). Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. *International journal of food microbiology*, 96(2), 149-164.

Vinck, D. (2009) . Les Nan.otechnologies. France: Le cavalier bleu édition. 128p.

Wang, C. T., & Ro, S. H. (2006). Surface nature of nanoparticle gold/iron oxide aerogel catalysts. *Journal of non-crystalline solids*, 352(1), 35-43.

Wang, Y., Li, A., Jiang, X., Zhang, H., Mehmood, K., Zhang, L., & Li, J. (2018). Probiotic potential of *Leuconostoc pseudomesenteroides* and *Lactobacillus* strains isolated from yaks. *Frontiers in microbiology*, 9, 2987.

Woods, L. (2003). Smoked foods, principles. In B. Caballero, L. Trugo & P. Flingas (Eds.), *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (2nd ed., 5296-5301). Cambridge, Mass :Academic Press.

World Health Organizatio. (1998). L'Irradiation des produits alimentaires: une technique pour conserver et améliorer la salubrité des aliments Genève: Organisation mondiale de la Santé.

World Resources Institute, 2002. «Innovation for Sustainability» dans www.pathways.wri.org.

Yateem, A., Balba, M.T., Al-Surrayai, T., Al-Mutairi, B., Al-Daher, R. (2008). Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *International Journal of Dairy Science*, 3: 194-199.

Yu, D. et al. 2006. Engineered bio-nanocapsules, the selective vector for drug delivery system. *IUBMB Life* 58, 1-6.

PARTIE VII. ANNEXES

VII.1. Annexe 1 : Milieux de culture et solutions.**Milieu de culture MRS**

Peptone	10g
Extrait de levure	4g
Extrait de viande	8g
Tween80	1ml
Citrate d'ammonium	2g
Acétate de sodium	5g
Glucose	20g
Hydrogénophosphate de potassium	2g
Sulfate de magnésium	0.2g
Sulfate de manganèse	0.05g
Agar	10g
pH	6.2
Eau distillée	1000 mL
Autoclavage 120°C pendant 20 minutes	

Gélose nutritive

Gélose nutritive	20 g
Agar	15g
Eau distillée	1000 ml

pH	7.4
Autoclavage 120 °C pendant 20 minutes	

Bouillon nutritif

Bouillon nutritif	20g
Eau distillée	1000ml
pH	7.4
Agar	15
Autoclavage 120 °C pendant 20 minutes	

Tampon phosphate PBS

Na ₂ HPO ₄	1,44 g
KH ₂ PO ₄	0.24g
NaCl	8g
KCl	0.2g
Eau distillée	1000ml
pH	7.4
Autoclavage 120°C pendant 20 minutes	

VII.2. Protocole de la coloration de Gram**➤ Principe :**

-Réaliser un frottis sur une lame en verre propre et préalablement dégraissée .

-Colorer le frottis avec du violet de gentiane durant 2 minutes.

-Rejeter le colorant et ajouter le Lugol 2× 45secondes;

-Rincer à l'eau.

-Décolorer à l'alcool 96° durant 10 seconde.

-Rincer abondamment à l'eau.

-Faire une contre-coloration avec de la fuchsine diluée à 1/10 durant 2 minutes.

-Rincer à l'eau et observer à l'immersion ×100.

Lecture : Les bactéries Gram positives apparaissent en violet alors que les Gram négatives apparaissent en rose (**Singleton, 1999**).