

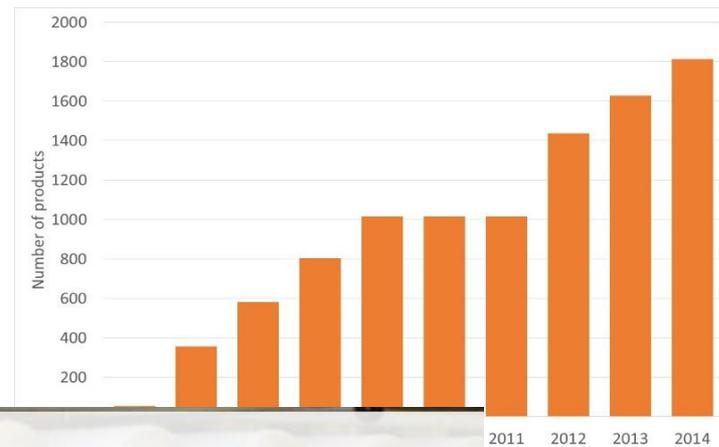
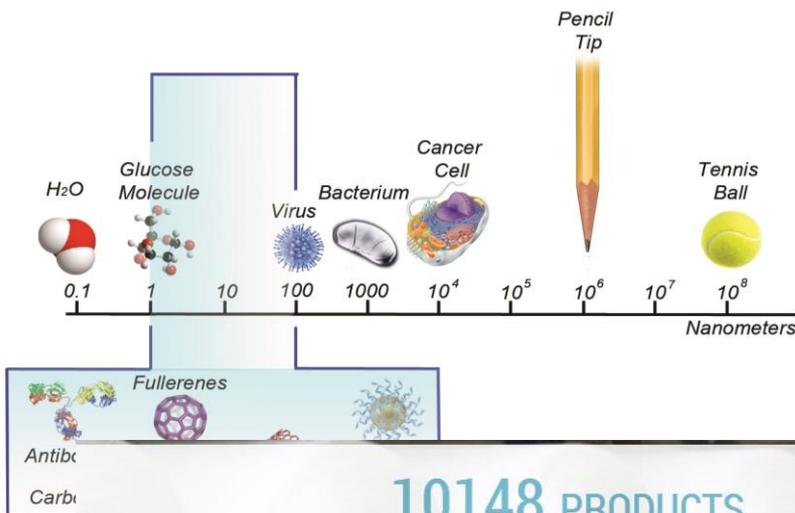
NANOCULTURE

Évaluation des risques et atténuation de la présence de NANOMatériaux manufacturés dans l'aquaCULTURE Atlantique



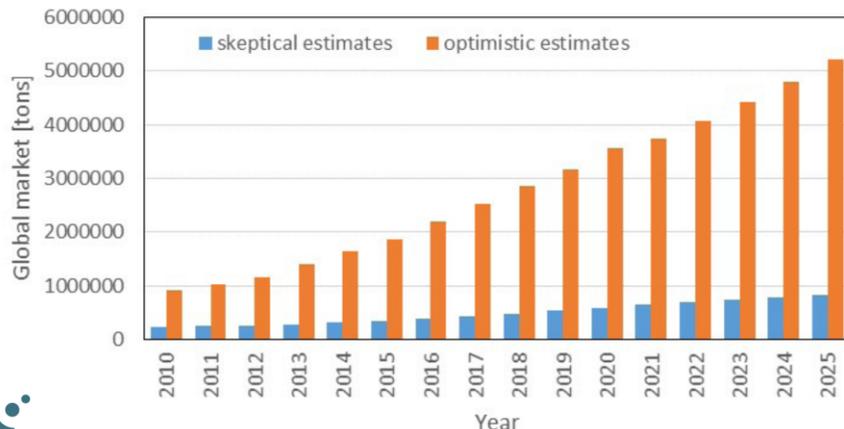
18/10/2022

Un mètre correspond à un milliard de nanomètres (10^{-9} m).



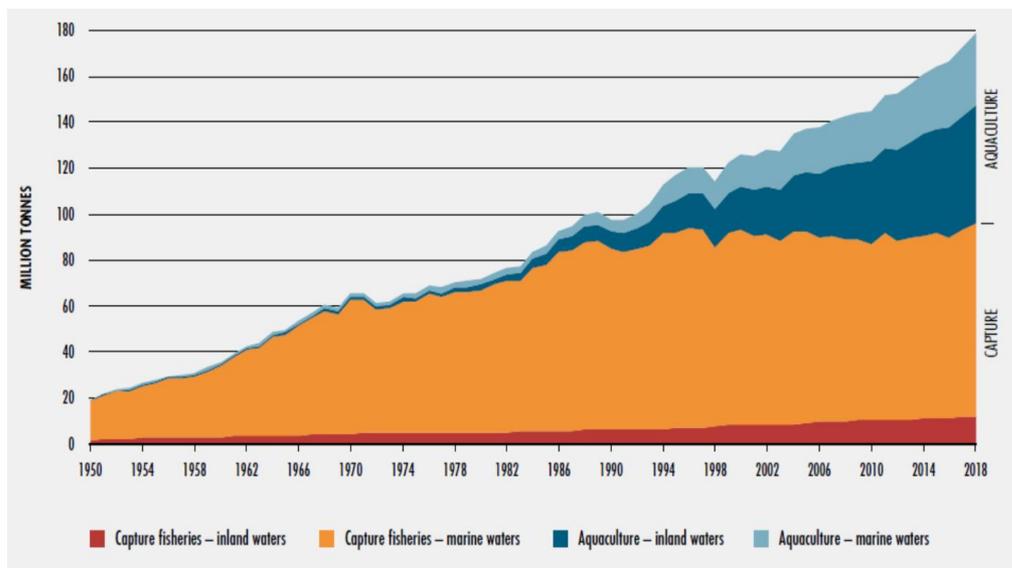
10148 PRODUCTS **3244 COMPANIES** **64 COUNTRIES**

Search in Products, Companies, Nanomaterials, Countries, Industries, Properties and ... **GO**



Number of products containing nanomaterials. Vance, M.E., Kuiken, T., Vejerano, E.P., McGinnis, S.P., Hochella Jr., M.F., Rejeski, D. & Hull, M.S. (2015) Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory J. Nanotechnol., 6, 1769–1780.

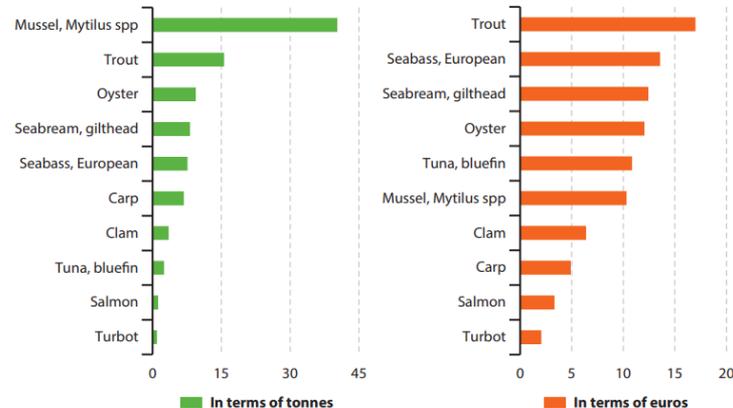
Introduction et contexte de recherche



Evolution of fish extraction and production in the world.

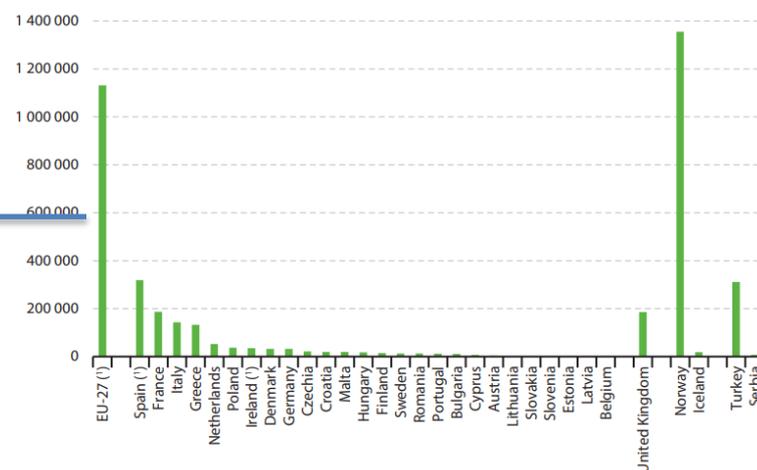
FAO. 2020. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action.* Rome.

Figure 6.2.5: Main species in aquaculture production, EU-27, 2018 (% shares of total aquaculture production)



Source: Eurostat (online data code: fish_aq2a)

Figure 6.2.4: Aquaculture production, 2018 (tonnes of live weight)



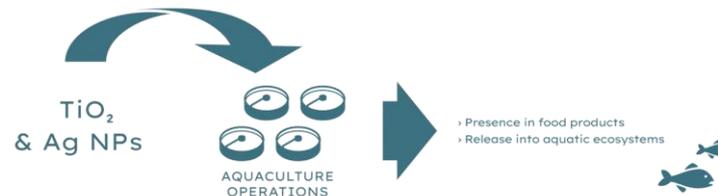
L'utilisation des NPs métalliques connaît une croissance exponentielle

&

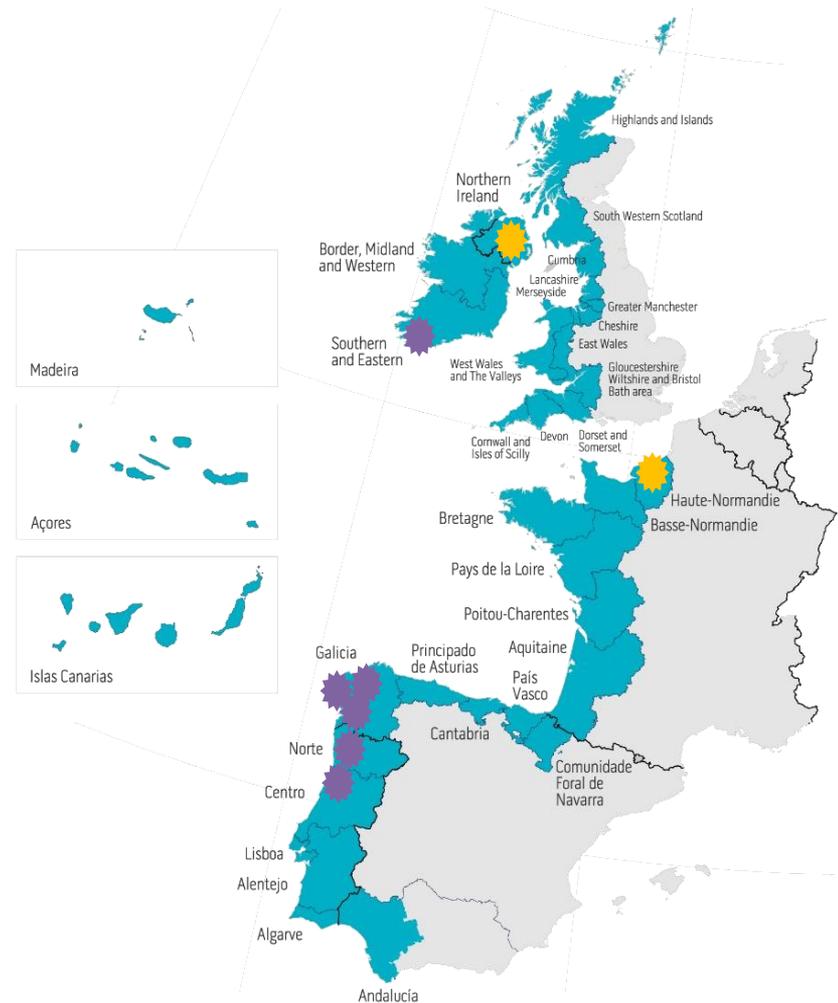
Les études sur les risques et l'atténuation de la présence de NPs dans l'environnement sont à la traîne.

Évaluation de la sécurité environnementale et humaine

1. Évaluation de la **présence**, de la **transformation**, de la **bioaccumulation** et des **effets** des NPs d'Ag et de TiO₂ dans les produits de l'aquaculture
2. Évaluation du **risque humain d'exposition par ingestion orale** de produits aquacoles
3. Développement de **capteurs** pour l'**identification** et la **quantification rapides** des NP d'Ag et de TiO₂ dans les installations d'aquaculture.



Nom	Role	Pays
International Iberian Nanotechnology Laboratory	Coordinateur	PT
Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental	Partenaire	PT
Clúster de Acuicultura de Galicia	Partenaire	ES
Universidad de Vigo	Partenaire	ES
Universidad de Santiago de Compostela	Partenaire	ES
Indigo Rock Marine Research Station	Partenaire	IR
AgriFood and Biosciences Institute	Partenaire ass.	UK
Pole Aquimer	Partenaire ass.	FR



ATLANTIC AREA PROGRAMME 2014-2020

Calendrier : Mai 2019 - ~~Mai 2022~~ Octobre 2022

Budget total : 1.470.040,88€



TOTAL BUDGET
1,470,040.88€

ERDF FUNDS (75%)
1,102,530.66€

Objectif général du programme : Renforcer la résilience du territoire face aux risques d'origine naturelle, climatique et humaine

Prévention et gestion des risques naturels non liés au climat (i.e. les tremblements de terre) et des risques liés aux activités humaines (i.e. les accidents technologiques), y compris la sensibilisation, les systèmes et infrastructures de protection civile et de gestion des catastrophes.

A. Développement de nouvelles méthodes analytiques pour l'étude de la présence de NPs dans différents milieux

(A1) Méthodes d'instrumentation permettant de connaître la forme physique des NPs, leur taille, leur capacité à interagir avec les autres substances présentes, etc.

(A2) Capteurs de détection rapide des NP développés pour effectuer des contrôles de routine des NP métalliques en aquaculture.

B. Savoir-faire lié à la présence de NPs métalliques dans l'aquaculture

(B1) Devenir, transformation, bioaccumulation et effets des NP d'Ag et de TiO_2 en aquaculture.

(B2) Altérations du métabolisme des organismes et des protéines

(B3) Impacts sur la nutrition humaine.

C. Fondement des solutions de politique publique, y compris les réglementations sur la sécurité alimentaire

A. Développement de nouvelles méthodes analytiques pour l'étude de la présence de NPs dans différents milieux

(A1) Méthodes d'instrumentation permettant de connaître la forme physique des NPs, leur taille, leur capacité à interagir avec les autres substances présentes, etc.

(A2) Capteurs de détection rapide des NP développés pour effectuer des contrôles de routine des NP métalliques en aquaculture.

B. Savoir-faire lié à la présence de NPs métalliques dans l'aquaculture

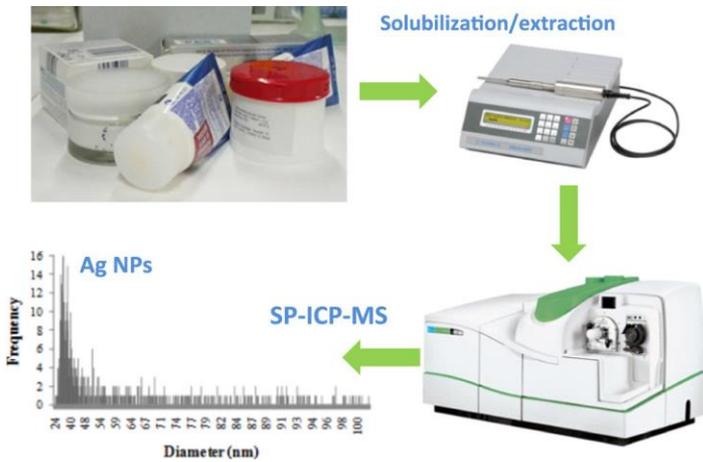
(B1) Devenir, transformation, bioaccumulation et effets des NP d'Ag et de TiO₂ en aquaculture.

(B2) Altérations du métabolisme des organismes et des protéines

(B3) Impacts sur la nutrition humaine.

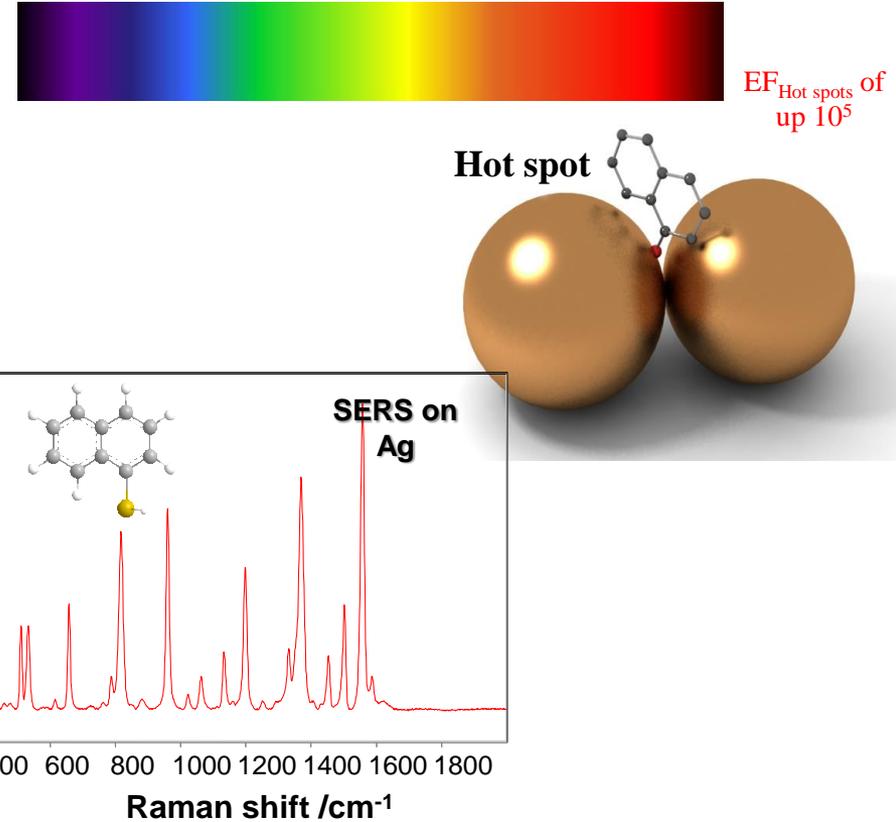
C. Fondement des solutions de politique publique, y compris les réglementations sur la sécurité alimentaire

NOUVELLES ANALYSES EN LABORATOIRE POUR LES NANOPARTICULES



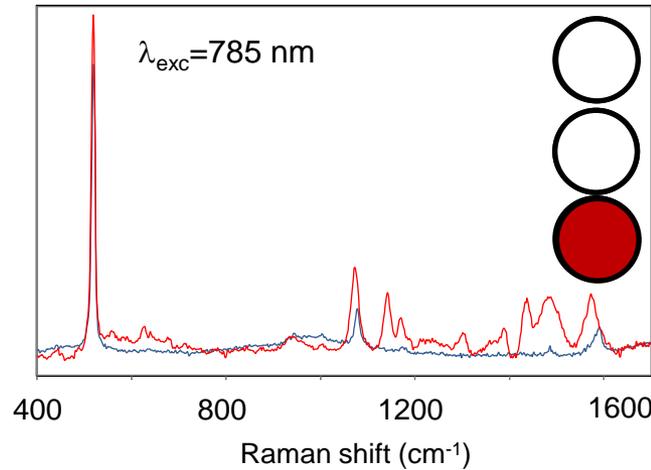
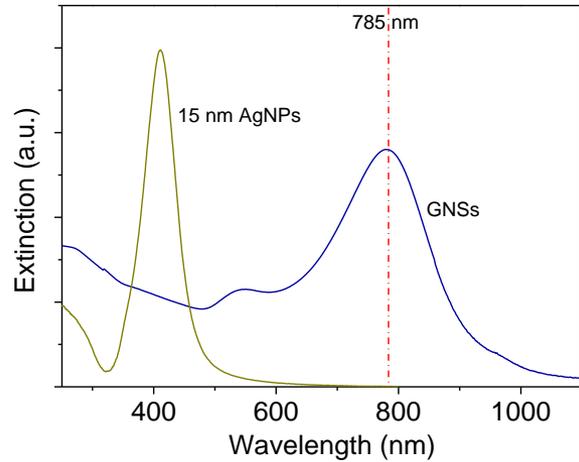
Talanta. Volume 197, 15 May 2019, Pages 530-538

CAPTEURS POUR L'ANALYSE *IN SITU* DES NANOPARTICULES

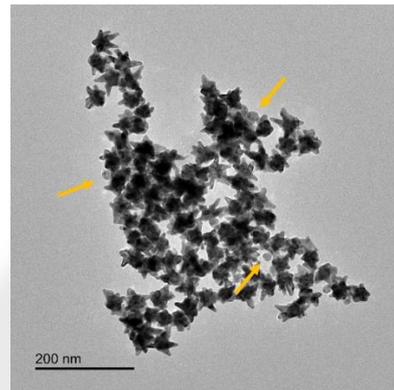
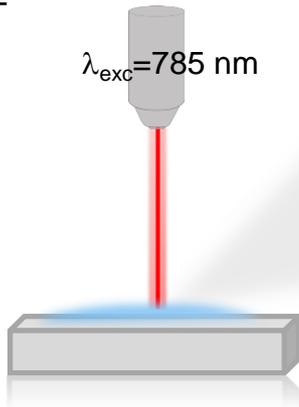
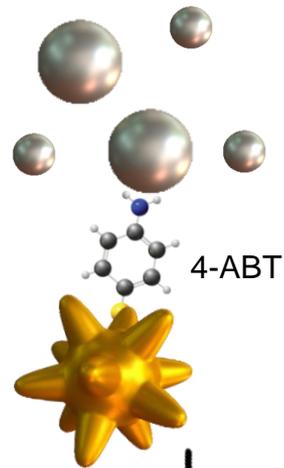


Aroca, R., Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy, Wiley (2006)

Détection des NPs Ag en fonction de leurs propriétés plasmoniques



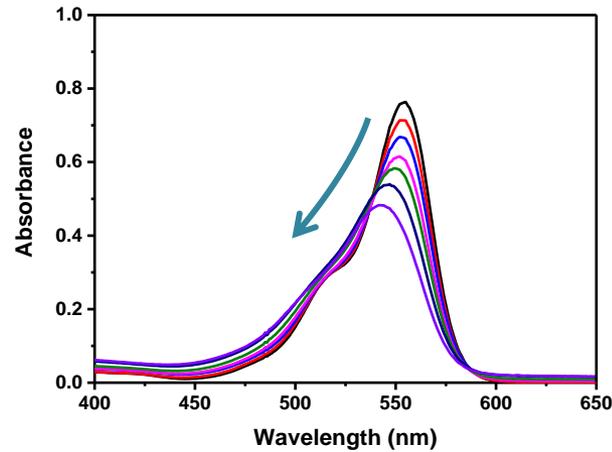
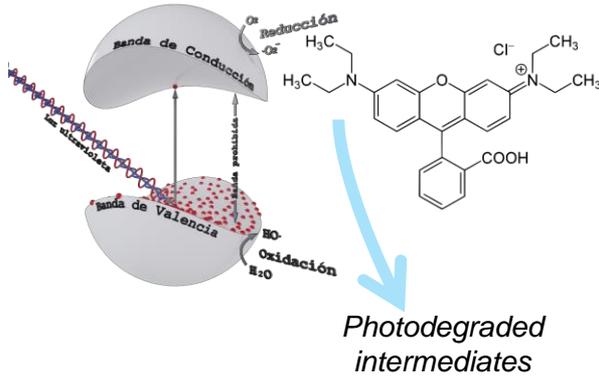
Détection des NPs Ag : à la concentration du **niveau environnemental** (ng/L) → immobilisation du substrat.



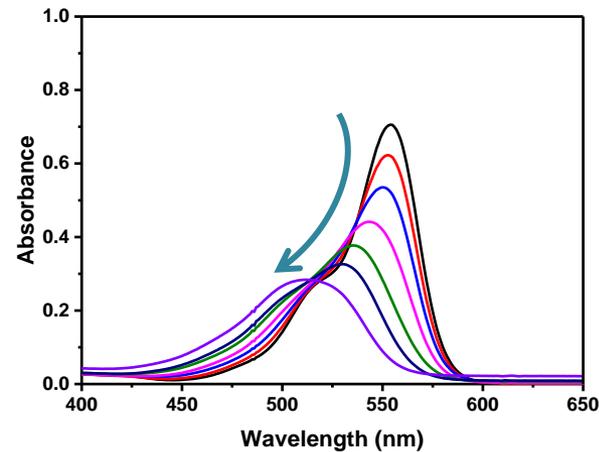
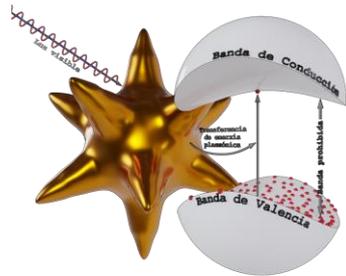
Dispositif microfluidique : ↗ **sélectivité** et **sensibilité** de détection et **quantification**, + sa portabilité.

Validation du capteur évaluée en utilisant des échantillons d'eau naturelle.

Détection des NPs TiO₂ en fonction de leurs propriétés photocatalytiques



Détection de NPs de TiO₂ : à une **concentration de niveau environnemental** (mg/L) → filtration de l'eau de mer à travers des nanofils de titanate anisotropes en forme de membrane.



Meilleurs résultats → **photodégradation** réalisée en **suspension**.

La portabilité devrait être améliorée en incluant une "étape de redispersion".

A. Développement de nouvelles méthodes analytiques pour l'étude de la présence de NPs dans différents milieux

(A1) Méthodes d'instrumentation permettant de connaître la forme physique des NPs, leur taille, leur capacité à interagir avec les autres substances présentes, etc.

(A2) Capteurs de détection rapide des NP développés pour effectuer des contrôles de routine des NP métalliques en aquaculture.

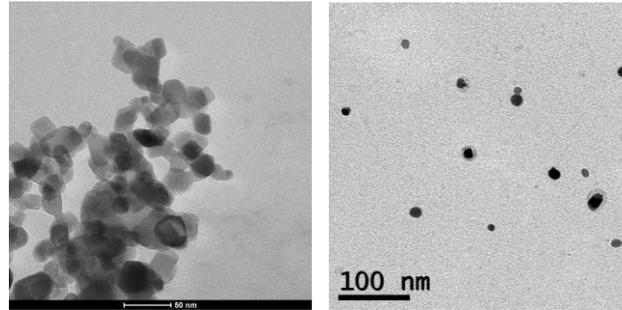
B. Savoir-faire lié à la présence de NPs métalliques dans l'aquaculture

(B1) Devenir, transformation, bioaccumulation et effets des NP d'Ag et de TiO_2 en aquaculture.

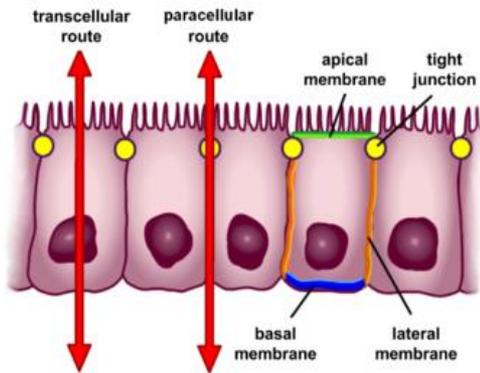
(B2) Altérations du métabolisme des organismes et des protéines.

(B3) Impacts sur la nutrition humaine.

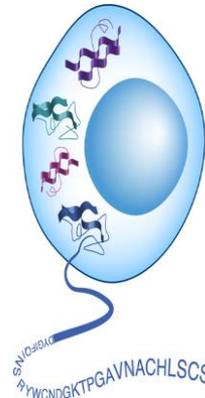
C. Fondement des solutions de politique publique, y compris les réglementations sur la sécurité alimentaire



BIODISPONIBILITÉ, TRANSPORT,
TRANSFORMATION



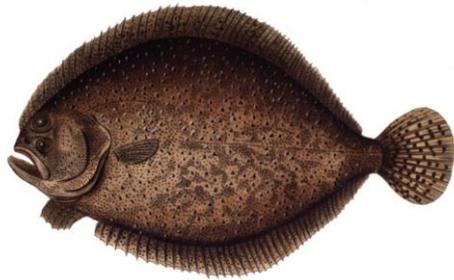
PROTEOMIQUE



GENOMIQUE



Turbot



Psetta maxima

Moule



Mytilus sp.

Algues

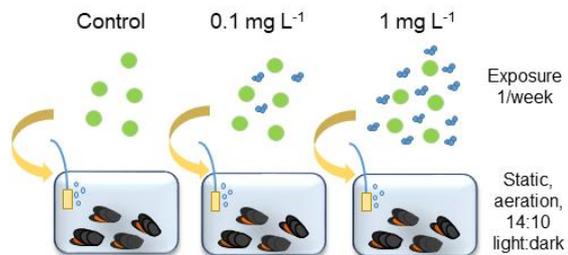


Palmaria sp.



Ulva sp.

DIETARY EXPOSURE



Day 1, 7, 14, 21 and 28

Independent sample processing



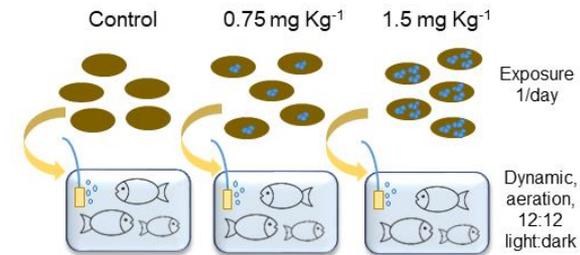
Accumulation quantification (ICP-MS and sp-ICP-MS)



Ultrastructure and biodistribution (TEM)

● Microalgae ● NPs ● Mussel / Clam

DIETARY EXPOSURE



Day 15, 30, 45, 60, 75 and 90

Independent sample processing



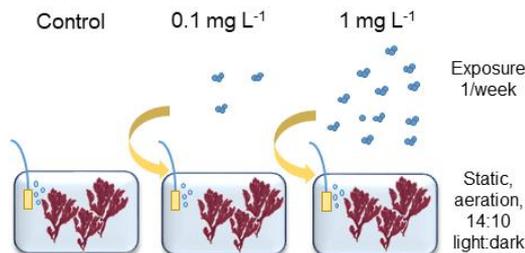
Accumulation quantification (ICP-MS and sp-ICP-MS)



Ultrastructure and biodistribution (TEM)

● Food pellets ● NPs ● Seabream / Seabass / Turbot

AQUEOUS EXPOSURE



Day 1, 7, 14, 21 and 28

Independent sample processing



Accumulation quantification (ICP-MS and sp-ICP-MS)



Ultrastructure and biodistribution (TEM)

● NPs ● seaweed

Analyses

Total Ti et Ag



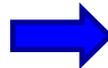
Digestion acide assistée par micro-ondes
Plasma à couplage inductif – spectrométrie de masse (LCP-MS)

NPs TiO₂ et Ag



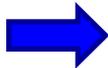
Extraction par hydrolyse enzymatique/ Extraction par hydrolyse
basique
Plasma à couplage inductif à particule unique – spectrométrie
de masse (spLCP-MS)

Extraction par hydrolyse enzymatique



Moules et turbot

Extraction par hydrolyse alcaline



Algues (extraction NPs TiO₂)

J.J. López-Mayán et al., Titanium dioxide nanoparticles assessment in seaweeds by single particle inductively coupled plasma – Mass spectrometry, 236, Talanta, 2022, 122856

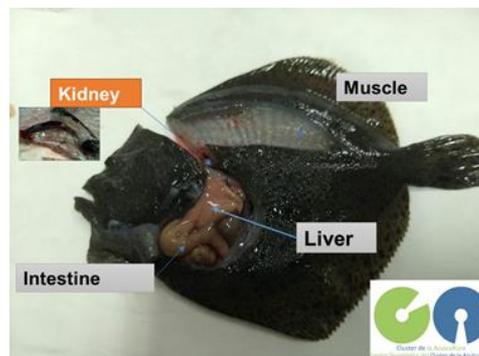
Extraction par hydrolyse enzymatique



Algues (extraction NPs Ag)

J.J. López-Mayán et al., Ultrasonication followed by enzymatic hydrolysis as a sample pre-treatment for the determination of Ag nanoparticles in edible seaweed by SP-ICP-MS, 247, Talanta, 2022, 123556

Scophthalmus maximus



Ag NPs
(15 nm)

Muscle

négligeable

Reins

négligeable

Foie

bioaccumulation élevée sous forme d'Ag ionique

TiO₂ NPs
(5 nm and 25 nm)

Muscle

négligeable

Reins

négligeable

Foie

faible bioaccumulation (NPs de TiO₂ non détectées)

Présence de NPs de TiO₂ dans les feaces



Mytilus spp.

Ag NPs
(15 nm)

Accumulation modérée :

Tissu mou entier Teneur totale maximale en Ag ($1,4 \mu\text{g.g}^{-1}$) et concentration en NPs d'Ag ($2,5 \cdot 10^8 \text{ NP.g}^{-1}$) après le 14e jour d'exposition pour les deux doses d'exposition.

Présence de NPs d'Ag dans l'écume expulsée

TiO₂ NPs
(5 nm and 25 nm)

Tissu mou
entier

Accumulation modérée à élevée :

Teneur totale maximale en Ti ($6,0 \mu\text{g.g}^{-1}$) et concentration en NPs de TiO₂ ($1,2 \cdot 10^9 \text{ NP.g}^{-1}$) après le 28e jour d'exposition pour la dose d'exposition élevée

Présence de Ti dans les coquilles de moules

Palmaria palmata



Ag NPs
(15 nm)

Tissu entier

Accumulation modérée :

Teneur totale maximale en Ag ($0,9 \mu\text{g.g}^{-1}$) et concentration en NPs d'Ag ($1,0 \cdot 10^9 \text{ NP.g}^{-1}$) après le 21e jour d'exposition pour les deux doses d'exposition.

TiO₂ NPs
(5 nm and 25 nm)

Tissu entier

Forte accumulation :

Teneur totale maximale en Ti (35 et $14 \mu\text{g.g}^{-1}$) et concentration en NPs de TiO₂ ($1,2 \cdot 10^{10}$ et $4,0 \cdot 10^9 \text{ NP.g}^{-1}$) après le 14ème jour d'exposition pour la dose d'exposition élevée

Ulva spp.



Ag NPs
(15 nm)

Tissu entier

Accumulation modérée :

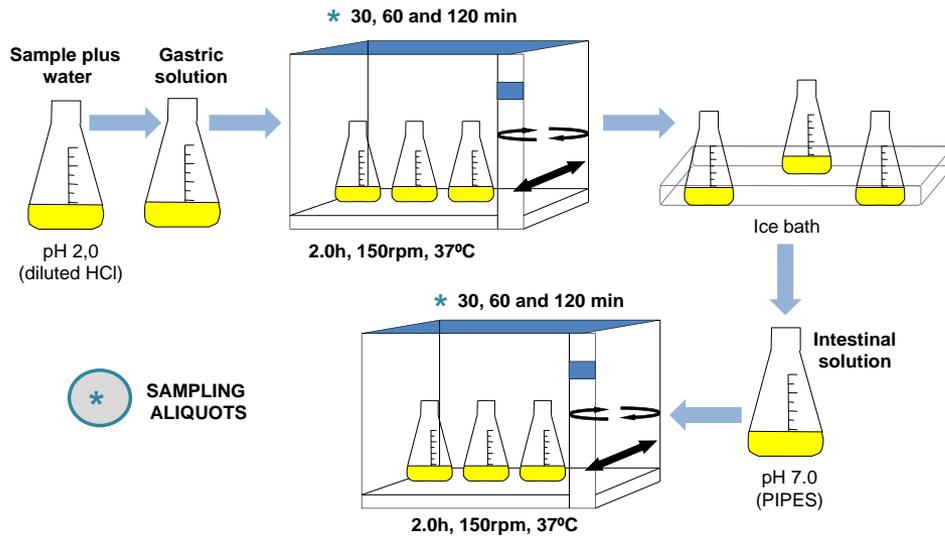
Teneur totale maximale en Ag ($0,5 \mu\text{g.g}^{-1}$) et concentration en NPs d'Ag ($2,5 \cdot 10^9 \text{ NP.g}^{-1}$) après le 14e jour d'exposition pour les deux doses d'exposition.

TiO₂ NPs
(5 nm and 25 nm)

Tissu entier

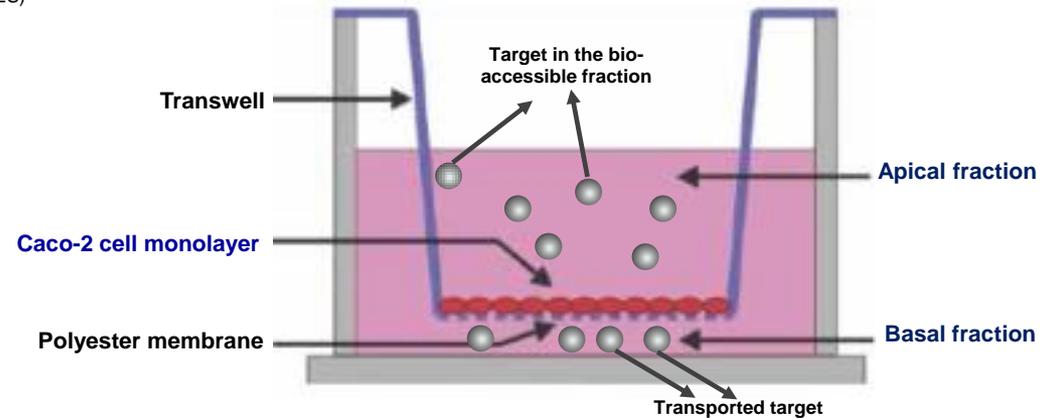
Forte accumulation :

Teneur totale maximale en Ti ($50 \mu\text{g.g}^{-1}$) et concentration en NPs de TiO₂ ($8,0 \cdot 10^9$ et $4,0 \cdot 10^9 \text{ NP.g}^{-1}$) après le 14ème jour d'exposition pour la dose d'exposition élevée



Digestion gastro-intestinale *in vitro*
Bio-accessibilité *in vitro*

Analyses en cours



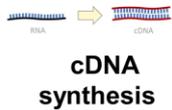
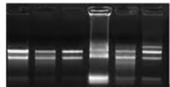
Transport cellulaire *in vitro*

M.V. Taboada-López et al., *Caco-2 in vitro model of human gastrointestinal tract for studying the absorption of titanium dioxide and silver nanoparticles from seafood*, 233, *Talanta*, 2021, 122494

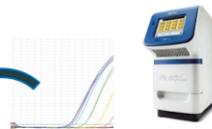
Méthodologie

Expression génétique

Extraction of RNA



qPCR: Amplification and quantification of gene segments



Statistical analysis

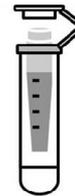
Kidney and liver samples



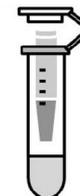
Protein extraction



FASP

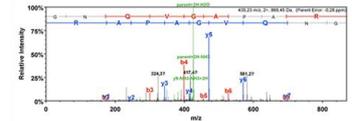
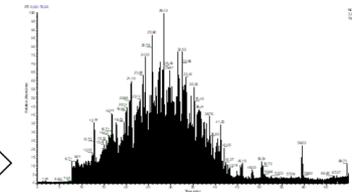


Detergent removal
Buffer exchange
Chemical modification
Protein digestion



Elution of tryptic peptides

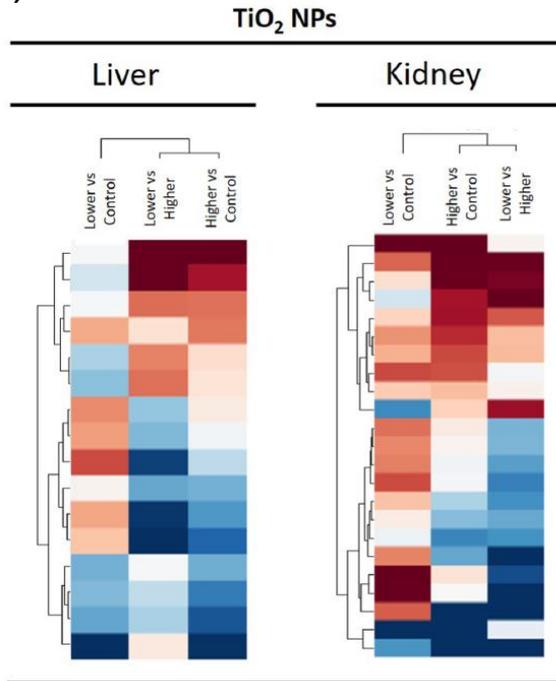
Shotgun Proteomics



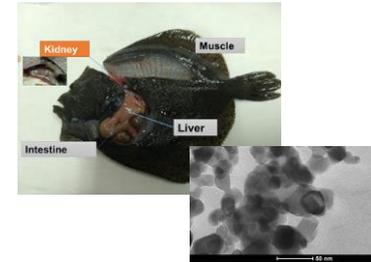
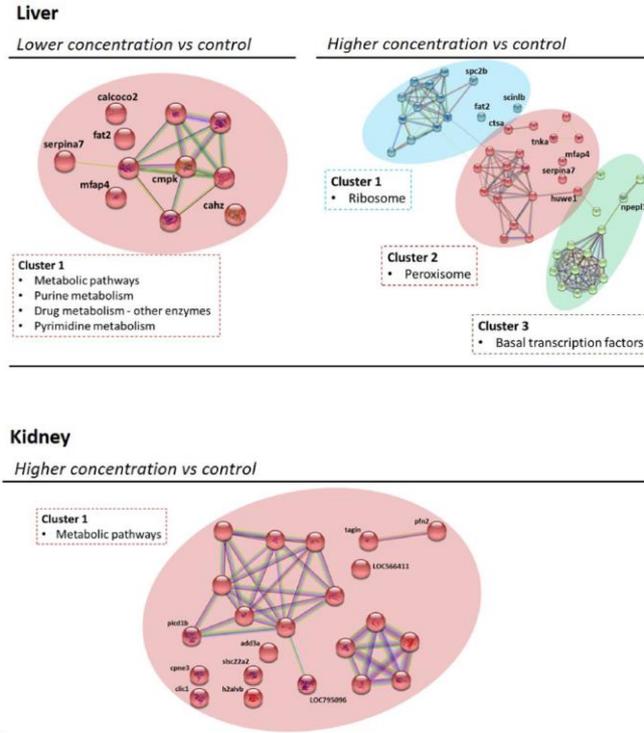
Scophthalmus maximus
and *Danio rerio* DBs

Résultats : Protéomique (P25 NPs TiO₂)

A)



B)



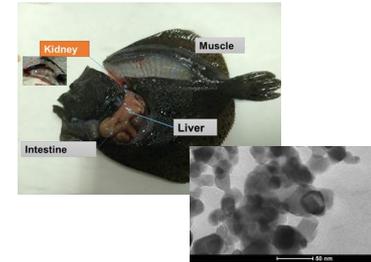
P25 NPs de TiO₂
0,75 et 1,5 mg NPs /kg par jour

Catabolisme des lipides
Transport du cholestérol
Signalisation cellulaire

Araujo *et al.* Chemosphere 308 (2022).

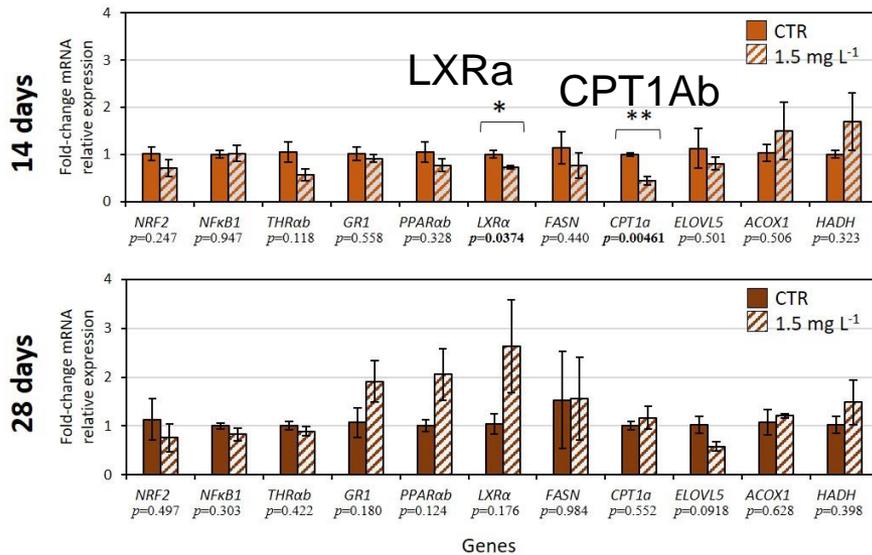
Résultats : qPCR (5 nm vs 25 nm TiO₂ NPs)

Effets les plus pertinents

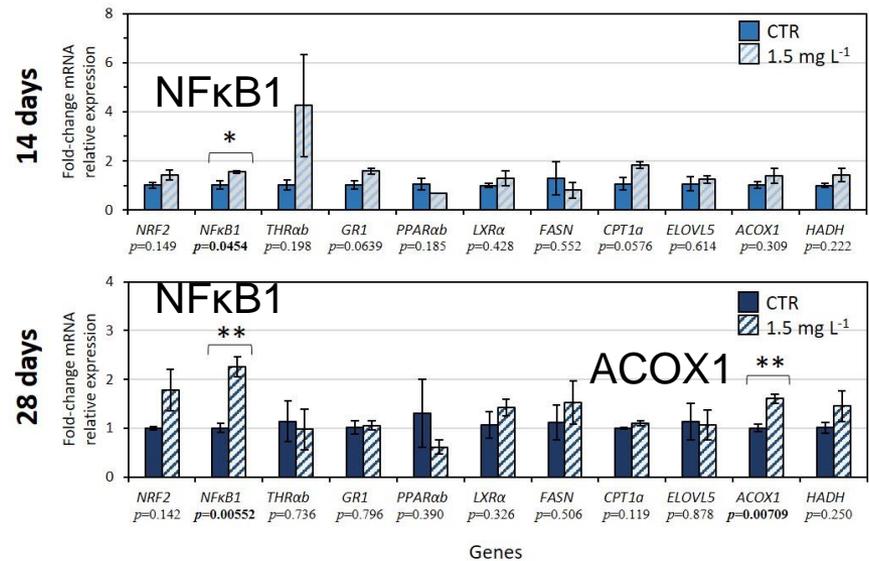


NPs de TiO₂ de 5 et 25 nm
1,5 mg de NPs /kg par jour

TiO₂ 5nm



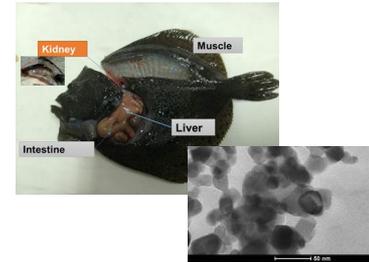
TiO₂ P25



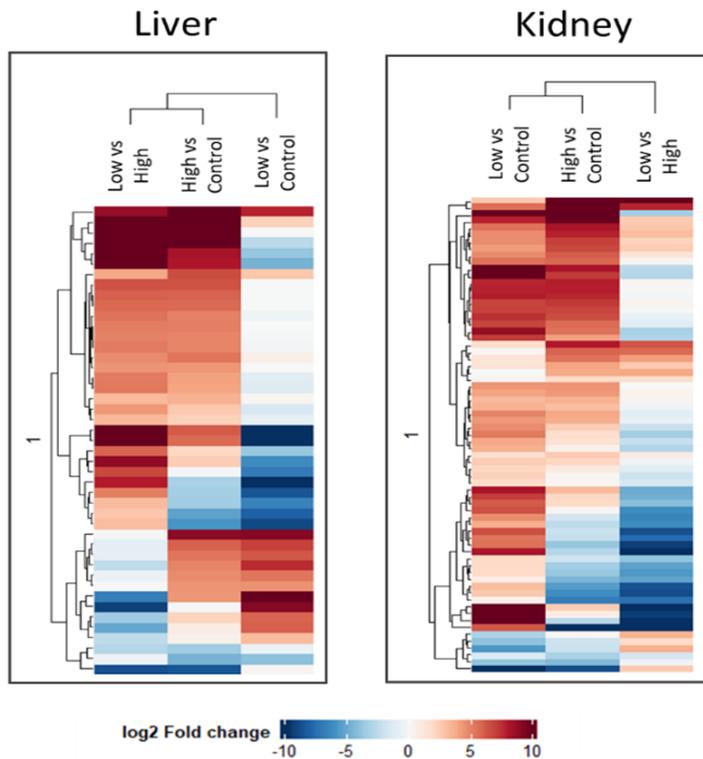
* p<0.05, ** p<0.01

Résultats : Protéomique (NPs Ag)

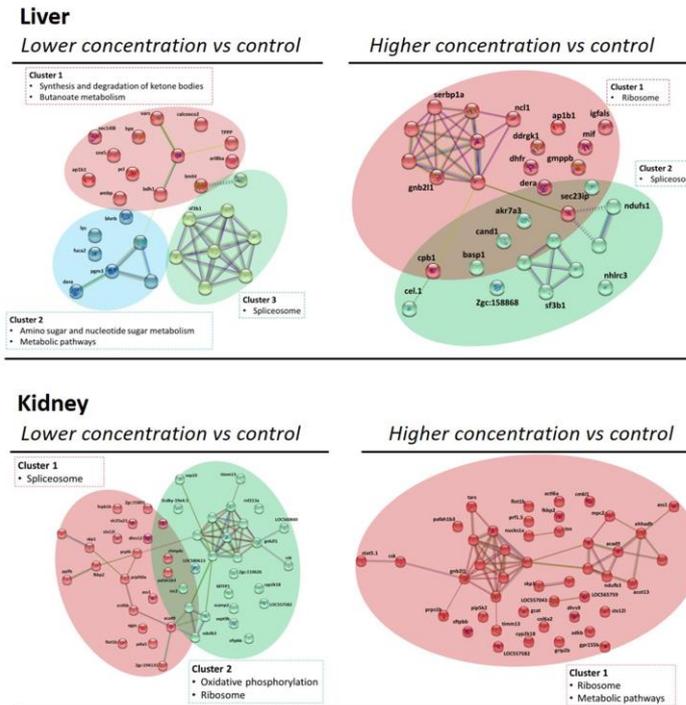
15 nm Ag NPs
0,75 et 1,5 mg NPs /kg par jour



A)



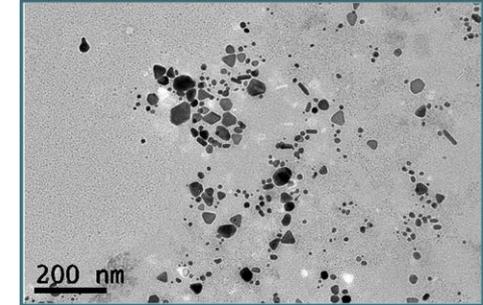
B)



Conclusions

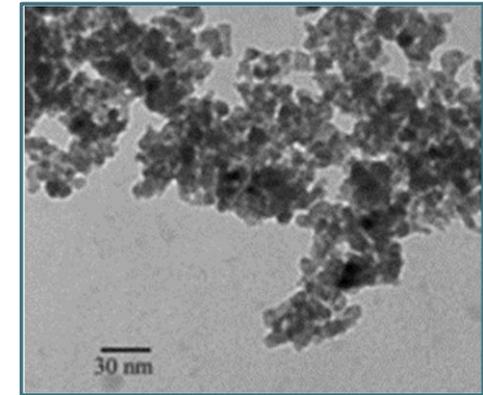
NPs de dioxyde de titane

- Dépense énergétique extraordinaire
- Respiration cellulaire basale
- Dommages aux mitochondries
- Stress oxydatif accru



NPs d'argent

- Interaction des NPs d'Ag avec la structure et le fonctionnement des protéines
- Effets sur la respiration cellulaire
- ROS et stress oxydatif
- Inhibition de la synthèse des protéines par dénaturation des ribosomes
- Toxicité dépendante de la dose



A. Développement de nouvelles méthodes analytiques pour l'étude de la présence de NPs dans différents milieux

(A1) Méthodes d'instrumentation permettant de connaître la forme physique des NPs, leur taille, leur capacité à interagir avec les autres substances présentes, etc.

(A2) Capteurs de détection rapide des NP développés pour effectuer des contrôles de routine des NP métalliques en aquaculture.

B. Savoir-faire lié à la présence de NPs métalliques dans l'aquaculture

(B1) Devenir, transformation, bioaccumulation et effets des NP d'Ag et de TiO_2 en aquaculture.

(B2) Altérations du métabolisme des organismes et des protéines

(B3) Impacts sur la nutrition humaine.

C. Fondement des solutions de politique publique, y compris les réglementations sur la sécurité alimentaire

- Procédures opérationnelles standard (analyse des NPs avec sp-ICP-MS, essais de bioaccumulation)
- Données dans des référentiels ouverts : Zenodo, autres.
- Lignes directrices pour les activités académiques : manuels d'enseignements pratiques
- Rapport final sur la bioaccumulation et ses effets
- « White paper » basé sur les résultats de la recherche et les conclusions des études de cas

Avez-vous des questions ?



The screenshot shows the NANOCULTURE website homepage. At the top, there is a navigation menu with links for HOME, PROJECT, TEAM, ARTICLES/EVENTS, CONTACTS, and PUBLISHER. Below the menu, there are logos for NANOCULTURE, Interreg ATLANTIC AREA, and the European Union. The main content area features a large blue background with a pattern of white circles of varying sizes, resembling a microscopic view of cells or nanoparticles. The text on the page includes: "NANOCULTURE Risk assessment and mitigation of the presence of engineered NANOMaterials in Atlantic aquaCULTURE", "Welcome to NANOCULTURE website!", "NANOCULTURE, an Interreg Atlantic Area project, will provide knowledge (and tools) on the presence and effects of the most-used nanoparticles (TiO₂ and Ag) in the most common Atlantic Area aquaculture products (turbot, mussel, sea-bass) and will assess the human risk of exposure by oral intake of these products.", and "REGISTRATIONS FOR NANOCULTURE WEBINARS ARE NOW OPEN! Click here for more information and registrations:". At the bottom, there is a banner for "NANOCULTURE Nanoparticles in aquaculture: Is it something to worry about? webinars" featuring an illustration of two green fish.

<http://nanoculture.ciimar.up.pt/>



twitter.com/nanoculture1



www.linkedin.com/company/nanoculture/

info.nanoculture@ciimar.up.pt

Marie Bruaut
Chargée de mission – projets pêche et aquaculture

aquimer
Le pôle des produits aquatiques

16 rue du Commandant Charcot
62200 Boulogne-sur-Mer
Tél : +33 (0)3 21 10 78 98
contact@poleaquimer.com
www.poleaquimer.com



Région
Hauts-de-France

LES PÔLES DE  COMPÉTITIVITÉ
AUTOUR DE CROISSANCE ET D'EMPLOI