

LISTE DES ABREVIATIONS

AOAC : Association of Official Analytical Chemists

AFSSA : Agence française de sécurité sanitaire des aliments

CAC : *Codex Alimentarius* Commission

CAS : Chemical Abstract Service

CDA : Chaîne de Distribution Alimentaire

CFR : Code of Federal Regulations

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer

CNO : Composés N-nitrosés

DJA : Dose Journalière Admissible

DMA : Diméthylamine

DO : Densité Optique

DSENO : Dose Sans Effet Nocif Observé

EFSA : European Food Safety Authority (Autorité européenne de sécurité des aliments)

EISMV : Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar

FAO : Food and Agriculture Organization (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture)

FDA : Food and Drug Administration

HPLC : High Pressure Liquid Chromatography (chromatographie en phase liquide à haute performance)

JECFA : Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (Comité mixte FAO / OMS d'experts sur les additifs alimentaires)

kg : kilogramme

LOD : Limite de détection

LOQ : Limite de quantification

mg : milligramme

min : minute

mL : millilitre

mM : millimole/L

nm : nanomètre

NORMCERQ : Secrétariat Régional de la Normalisation, de la Certification et de la Promotion de la Qualité

NPIP: Nitrosopipéridine

OEHHA: Office of Environmental Health Hazard Assessment

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCSCV : Produits de Charcuterie, de Salaison et Conserves de Viandes

ppm : Partie par million

SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique

SIN : Système International de Numérotation

SOAC : Système Ouest Africain d'Accréditation

SOAME : Secrétariat Ouest Africain de Métrologie

SOFIEX : Société de Fabrication et d'Import-Export

UCAD: Université Cheikh Anta Diop de Dakar

UEMOA : Union Economique et Monétaire Ouest-Africaine

USA: United States of America

UV: ultraviolet

V : volt

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Propriétés physico-chimiques des nitrates et nitrites.....	6
Tableau II : Composition nutritionnelle de la viande	17
Tableau III : Importations en 2014.....	18
Tableau IV : Importations en 2015	20
Tableau V : Importations en 2016.....	21
Tableau VI : Emplacement du nitrate et du nitrite dans le SIN	61
Tableau VII : Limites maximales de nitrate autorisées dans les produits carnés selon le JECFA.....	63
Tableau VIII : Limites maximales de nitrite autorisées dans les produits carnés selon le JECFA.....	64
Tableau IX : Limites maximales et quantités résiduelles autorisées de nitrate et de nitrite dans les produits à base de viande	66
Tableau X : Valeurs résiduelles de nitrate et nitrite autorisées dans les produits carnés.....	67
Tableau XI : Préparation de la gamme d'étalonnage de nitrite.....	88
Tableau XII : Absorbances des étalons.....	93
Tableau XIII : Absorbances des échantillons de saucisson	94
Tableau XIV : Absorbances des échantillons de jambon	95
Tableau XV : Concentrations des échantillons de saucisson.....	97
Tableau XVI : Concentrations des échantillons de jambon.....	98

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Cycle d'azote	9
Figure 2 : Part des différents importateurs de produits de charcuterie au cours de l'année 2014	19
Figure 3 : Part des différents importateurs de produits de charcuterie au cours de l'année 2015	20
Figure 4 : Part des différents importateurs de produits de charcuterie au cours de l'année 2016	22
Figure 5 : Diagramme de fabrication du jambon cuit	27
Figure 6 : Salaison dans un bac contenant la saumure.....	31
Figure 7 : Injection manuelle de la saumure	32
Figure 8 : Nitrosation en milieu aqueux.....	35
Figure 9 : Nitrosamines les plus importantes retrouvées dans les denrées alimentaires.....	37
Figure 10: Effets du nitrate et du nitrite sur la diminution des Entérobactéries présentes dans le saucisson sec	38
Figure 11: Evolution du goût du bacon en fonction de la concentration en nitrite de la saumure.....	39
Figure 12 : Concentrations en composés volatils selon la teneur en nitrate et nitrite.....	40
Figure 13 : Effets du nitrate et du nitrite sur la couleur des produits carnés	41
Figure 14 : Métabolisme du nitrate et du nitrite chez l'homme.....	46
Figure 15 : Mécanisme de la méthémoglobinémie	48
Figure 16 : Composés N-nitrosés et cancérogénèse.....	55
Figure 17 : Risque relatif de cancer colorectal en cas de consommation croissante de viande rouge et transformée	56
Figure 18: Incidence et mortalité des cancers les plus répandus dans le monde	58
Figure 19 : Courbe d'étalonnage	96
Figure 20 : Teneurs en nitrite (mg/kg) des échantillons de saucisson à l'ail.....	98
Figure 21 : Teneurs en nitrite (mg/kg) des échantillons de jambon de bœuf	99

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : Spectrophotomètre	78
Photo 2 : Centrifugeuse	78
Photo 3: Homogénéisateur Vortex	79
Photo 4 : Bain ultra-son.....	79
Photo 5: Nitrate/Nitrite Assay Kit Libios.....	81
Photo 6 : Tubes après centrifugation.....	85
Photo 7: Réactifs colorés 1 (à gauche) et 2 (à droite)	87
Photo 8 : Tubes après ajout des réactifs colorés	90

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	4
Chapitre I : Généralités sur les nitrates et les nitrites	5
I.1. Identité et propriétés physico-chimiques	5
I.2. Utilisations	6
I.3. Sources	8
CHAPITRE II : Nitrate et nitrite dans les produits de charcuterie, de salaison et les conserves à base de viande	15
II.1. Définitions	15
II.1.1. Les charcuteries	15
II.1.2. Les salaisons	16
II.1.3. Les conserves	16
II.2. Importance des PCSCV	17
II.2.1. Importance alimentaire	17
II.2.2. Importance hygiénique	17
II.2.3. Importance économique	18
II.3. Classification	22
II.3.1. Classification générale	22
II.3.2. Etude spécifique	25
II.4. Généralités sur la salaison	28
II.4.1. Types de salaison	29
II.4.2. Techniques de salaison	30
II.5. Fonctions des nitrates et nitrites dans les PCSCV	32
II.5.1. Fonctions physico-chimiques des nitrates et nitrites dans les PCSCV	32
II.5.2. Fonctions microbiologiques des nitrates et nitrites utilisés dans les PCSCV	37
II.5.3. Fonctions organoleptiques des nitrates et nitrites utilisés dans les PCSCV	38

Chapitre III : Impacts du nitrate et du nitrite sur la santé humaine.....	43
III.1. Pharmacocinétique et biotransformation du nitrate et du nitrite.....	43
III.2. Effets toxiques aigus	47
III.3. Effets toxiques chroniques	50
Chapitre IV : Règlementations relatives au nitrate et au nitrite.....	60
IV.1. La dose journalière acceptable (DJA) (OMS, 1995)	60
IV.2.Règlementations relatives au nitrate et au nitrite dans les produits à base de viande	60
IV.2.1. Cas de la Commission du Codex Alimentarius	60
IV.2.2. Cas du comité mixte FAO/OMS d'experts sur les additifs alimentaires (JECFA).....	61
IV.2.3. Cas de l'Union Economique et Monétaire Ouest Africaine (UEMOA) 64	
IV.2.4. Cas de l'Union Européenne (UE)	65
IV.2.5. Règlementation par pays.....	67
Chapitre V : Méthodes de dosage des nitrates et nitrites	69
V.1. Phase d'extraction	69
V.2. Phase de dosage proprement dit	69
V.2.1. Généralités.....	69
V.2.2. Conversion du nitrate en nitrite	70
V.2.3. Méthodes de dosage du nitrite.....	71
CONCLUSION PARTIELLE.....	75
DEUXIEME PARTIE: ETUDE EXPERIMENTALE	76
Chapitre I : Matériel	77
I.1. Matériel d'analyse.....	77
I.2. Matériel biologique.....	81
Chapitre II : Méthodes.....	82
II.1. Echantillonnage	82
II.2. Dosage du nitrite.....	83
II.2.1.Préparation des échantillons	84
II.2.2. Préparation des réactifs.....	86

II.2.3. Préparation des solutions étalons.....	87
II.2.4. Détermination de la teneur en nitrite	89
II.3. Expression des résultats.....	90
Chapitre III : Résultats	93
III.1. Les absorbances.....	93
III.2. Courbe d'étalonnage.....	96
III.3. Concentrations en nitrite des échantillons.....	96
Chapitre IV : Discussion et recommandations.....	101
IV.1. Discussion	101
IV.1.1. Discussion du matériel	101
IV.1.2. Discussion des méthodes	103
IV.1.3. Discussion des résultats	106
IV.2.. Recommandations	112
IV.2.1. Aux autorités étatiques.....	112
IV.2.2. Aux fabricants	112
IV.2.3. Aux consommateurs.....	113
CONCLUSION	114
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	114

INTRODUCTION

Au Sénégal, l'élevage est un secteur stratégique qui occupe près de 60% des ménages agricoles. Il représente 4% du Produit Intérieur Brut (PIB) et son poids dans la valeur ajoutée totale du secteur primaire est estimé à 28% (ANSD 2015). La production nationale de viande et d'abats s'élève à 235,5 mille tonnes en 2015 contre 208,5 mille tonnes en 2014 (Sénégal MEPA, 2016) soit une hausse de 13%.

Dans le but de satisfaire la demande en protéines animales, le marché sénégalais offre, en plus de la viande fraîche, des produits de charcuterie, de salaison et des conserves de viande (PCSCV). Les PCSCV à base de viande de bœuf sont les plus consommés du fait de la présence d'une population à 95% musulmane.

La salaison est l'un des procédés technologiques les plus importants dans le traitement et la transformation des produits carnés. Parmi les adjuvants de salaison, le nitrate et le nitrite sont les plus utilisés. Le nitrite ajouté ou provenant de la réduction du nitrate est la molécule active. Son spectre d'action est très large. Il contribue aux propriétés sensorielles (rubéfaction, arôme) et à la préservation de la sécurité microbiologique des produits saumurés, notamment vis-vis des bactéries sporulantes du genre *Clostridium botulinum* (Agroscope, 2006 ; Vendeuvre, 2006 ; Talon et al., 2015)

Cependant, l'utilisation du nitrate et du nitrite dans les PCSCV n'est pas exempte de risque. En effet, le nitrite absorbé peut oxyder le fer de l'hémoglobine qui perd alors sa capacité à transporter l'oxygène. Il en résulte un défaut d'oxygénation tissulaire (Levallois et Phaneuf, 1992). Au-delà de cette affection appelée méthémoglobinémie, l'effet le plus redouté des nitrites est lié à leur réaction avec les amines endogènes et exogènes pour former des nitrosamines (Grosse et al., 2006) dont la carcinogénicité a été largement démontrée. Des études épidémiologiques ont permis d'établir une association positive entre l'ingestion d'agents nitrés et la survenue de cancers notamment le

cancer du côlon, de l'estomac, de la vessie et du cerveau (**Santé Canada, 2013 ; Jakszyn et al., 2006b**).

Eu égard à tous ces risques, l'incorporation des nitrates et nitrites dans les produits carnés est rigoureusement réglementée et contrôlée dans les pays développés.

Au Sénégal, malgré la présence d'entreprises spécialisées dans les PCSCV (**Sangaré, 2016**), l'utilisation de ces additifs alimentaires ne fait pas l'objet de contrôle des exigences spécifiques dans la mesure où aucun texte réglementaire n'a été élaboré à cet effet (**Bamba, 2011**).

L'objectif général de la présente étude est de contribuer à la sécurité sanitaire des aliments commercialisés au Sénégal.

De façon spécifique, il s'agira de :

- ✓ déterminer les teneurs en nitrite dans le jambon de bœuf et le saucisson à l'ail commercialisés sur le marché dakarois;
- ✓ comparer les teneurs en nitrite des deux matrices analysées ;
- ✓ comparer les concentrations en nitrite obtenues aux normes internationales.

Notre étude est structurée en deux parties :

- ✓ la première partie représente la synthèse bibliographique avec les généralités sur les nitrates et nitrites, leur impact sur la santé, leurs réglementations et leurs méthodes de dosage ;
- ✓ la deuxième partie est consacrée à notre travail personnel portant sur le dosage du nitrite dans le saucisson à l'ail et le jambon de bœuf commercialisés sur le marché dakarois. Dans cette partie figurent le matériel et les méthodes, suivis des résultats, de la discussion et enfin des recommandations.

**PREMIERE PARTIE :
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE**

Chapitre I : Généralités sur les nitrates et les nitrites

I.1. Identité et propriétés physico-chimiques

Le nitrate (NO_3^-) et le nitrite (NO_2^-) sont des ions ubiquistes présents naturellement dans la biosphère. Ils sont tous les deux inclus dans le cycle de l'azote qui est un processus indispensable à tous les organismes pour produire des molécules organiques complexes telles que les protéines et les enzymes (Environnement Canada, 2003; CIRC, 2010).

I.1.1. Le nitrate

Le nitrate possède la propriété d'être chimiquement inerte et d'être la plus stable parmi les formes d'azote combinées à l'oxygène (OMS, 2007). C'est cette stabilité qui explique que les autres formes azotées présentes dans l'environnement se transforment tendanciuellement en nitrate. Dans le répertoire du Chemical Abstracts Service, le nitrate porte le numéro 14797-55-8 et sa masse moléculaire est de 62,00 (U.S. EPA, 2011).

I.1.2. Le nitrite

L'ion nitrite quant à lui contient l'atome d'azote à l'état oxydé mais cette oxydation est relativement instable. Divers processus chimiques ou biologiques peuvent conduire à la réduction de l'ion nitrite en plusieurs autres composés ou peuvent l'oxyder en nitrate (Chébékoué, 2008). En ce qui concerne le répertoire du Chemical Abstracts Service, le nitrite y porte le numéro 14797-68-0. Sa masse moléculaire est de 46,01 (U.S. EPA, 2011).

Tableau I : Propriétés physico-chimiques des nitrates et nitrites (OMS, 2007)

	Nitrate	Nitrite
Formule chimique	NO_3^-	NO_2^-
N° CAS	14797-55-8	14797-65-0
Poids moléculaire	62	46
Propriétés acido-basique	Base conjuguée d'acide fort : HNO_3 (pKA=1,3)	Base conjuguée d'acide faible : HNO_2 (pKA=3,4)
pH en solution aqueuse	5 à 8	9
Solubilité dans l'eau	Sels très solubles	Sels très solubles
Volatilité	Non volatile	Non volatile

I.2. Utilisations

I.2.1 Nitrate

I.2.1.1. Utilisation agricole

Le nitrate est couramment utilisé comme fertilisant inorganique. En effet les plantes ont besoins d'azote pour assurer leur synthèse protéique. Cet azote est essentiellement prélevé sous forme de nitrate qui constitue ainsi un élément indispensable à la croissance des plantes (OMS, 2007).

I.2 .1.2. Utilisation industrielle

Le nitrate est utilisé comme agent oxydant pour la synthèse de dérivés nitrés, de l'oxyde nitreux ou encore de ciments spéciaux. Il intervient également pour la coagulation des latex mais aussi dans l'industrie nucléaire et dans la fabrication d'explosifs (OMS, 2007). Le nitrate de potassium purifié est très souvent utilisé dans l'industrie de la verrerie (Santé Canada, 2013).

I.2.1.3. Utilisation alimentaire

En alimentation humaine, le nitrate est très prisé comme colorant et agent de conservation dans le fromage et les produits de salaisons. Il est retrouvé sous forme de nitrate de potassium ou de sodium (Da Riz et Guillard, 2000).

I.2.1.4. Autres utilisations

Dans le secteur hydraulique, le nitrate peut être utilisé comme un indicateur de corrosions dans les circuits de distribution d'eau potable (IPCS, 1999).

I.2.2. Nitrite

I.2.2.1. Utilisation alimentaire

Le nitrite est utilisé pour la coloration et la conservation des aliments. Les produits carnés sont les plus soumis à cette adjonction de nitrite sous forme de sel. Il permet d'une part d'améliorer la qualité organoleptique des viandes transformées en termes de goût et de couleur (Dietrich et al., 2005). D'autre part, le nitrite permet d'inhiber la prolifération bactérienne notamment des germes sporulants de type *Clostridium botulinum* (ACIA, 2016).

I.2.2.2. Utilisation industrielle

Le nitrite est utilisé dans la manufacture des teintures et du caoutchouc ainsi que dans l'industrie textile et photographique. Il peut aussi être incorporé pour synthétiser des colorants organiques par sa capacité à transformer les amines en sels de diazonium (IPCS, 1999).

I.2.2.3. Autres utilisations

L'effet antagoniste du nitrite vis-à-vis d'autres substances justifie son utilisation comme inhibiteur de corrosion mais aussi comme antidote en cas d'empoisonnement au cyanure (IPCS, 1999).

I.3. Sources

Le nitrate et le nitrite peuvent se retrouver aussi bien dans l'organisme que dans l'environnement. Leurs sources peuvent être naturelles ou anthropiques.

I.3.1. Dans l'environnement

Le nitrate et le nitrite présent dans l'environnement peuvent avoir une origine naturelle ou une origine anthropique. L'origine naturelle renvoie à l'ensemble des métabolites inclus dans le cycle naturel de l'azote.

I.3.1.1. Cycle de l'azote

L'azote représente 78% de l'atmosphère gazeux (Terje et *al.*, 2010). L'ensemble des processus biologiques de croissance requiert la présence de l'élément azote. Le cycle de l'azote comprend plusieurs phases qui se résument comme suit : la fixation, l'assimilation, l'ammonification, la nitrification et la dénitrification (Ratel, 1992).

✓ La fixation

Divers microorganismes du genre *Azobacter* et *Rhizobium* vivant en symbiose avec les plantes vont assurer la fixation de l'azote gazeux afin de le minéraliser (Jego, 2008).

✓ L'assimilation

L'assimilation correspond à la conversion de l'azote ammoniacale (NH_3) en matière organique ($-\text{CNH}_3-$) (Ratel, 1992).

✓ L'ammonification

L'ammonification correspond à la minéralisation de la matière organique azotée en ammonium (NH_4^+). Elle est effectuée par de nombreux animaux et micro-organismes hétérotrophes (Jego, 2008).

✓ La nitrification

La nitrification correspond à la transformation de l'ammonium en nitrate. Elle se fait en deux étapes à savoir la nitrification et la nitrification. La nitrification correspond à l'oxydation de l'ammoniac en nitrite et elle est assurée par des bactéries du genre *Nitrosomonas*. Quant à la nitrification, elle consiste en l'oxydation du nitrite en nitrate et dans ce cas, ce sont les bactéries du genre *Nitrobacter* qui entrent en jeu (Terje et al., 2010).

✓ La dénitrification

La dénitrification est une réduction du nitrate (NO_3^-) en azote moléculaire gazeux (N_2). Cette réaction passe par des intermédiaires dissous (nitrites) et gazeux (oxyde nitreux, protoxyde d'azote) (Curie, 2006). Même si certains eucaryotes comme les champignons et les foraminifères (Risgaard-Petersen et al., 2006) sont capables de dénitrifier, ce processus est principalement assuré par les bactéries telles que *Pseudomonas*, *Thiobacillus denitrificans*, *Micrococcus denitrificans*.

Le schéma de la figure 1 résume le cycle de l'azote.

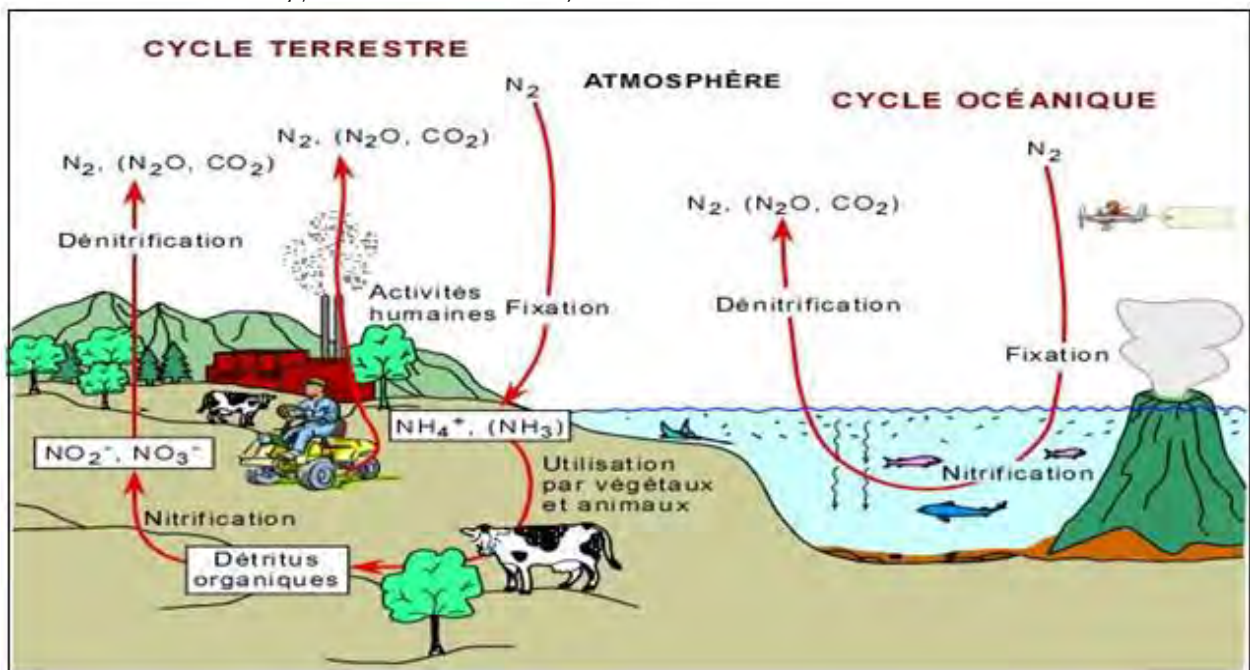


Figure 1 : Cycle d'azote (Hauck, 1981)

I.3.1.2. Sources naturelles

I.3.1.2.1 Sources naturelles de nitrate

Le nitrate présent dans le sol peut provenir de la fixation de l'azote atmosphérique par certaines plantes. L'urine et les déjections des animaux contiennent de l'ammoniac et de l'urée qui peuvent être rapidement oxydés en nitrate (**Jego, 2008**).

I.3.1.2.2 Sources naturelles de nitrite

Le nitrite est un intermédiaire des processus de nitrification et de dénitrification intervenant dans le cycle de l'azote comme nous l'avons vu précédemment. Ainsi, il peut être retrouvé dans les plantes mais également dans l'eau (**Chébékoué, 2008**).

I.3.1.3. Sources anthropiques

Diverses activités humaines peuvent générer directement ou indirectement l'accumulation de nitrate et de nitrite dans l'environnement. Les milieux les plus atteints sont les sols cultivés et les circuits de distribution d'eau potable (**OMS, 2004**).

I.3.1.3.1. Sources anthropiques de nitrate

Les activités agricoles intensives nécessitent l'apport de nitrates sous forme d'engrais. Ces engrais constituent la principale source de nitrate dans l'environnement (**OMS, 2004; Fields, 2004**) notamment dans l'eau. Les teneurs en nitrate dans les eaux peuvent être accrues suite à la chloramination qui est un processus de traitement des eaux usées (**Weyer et al., 2006**).

Les activités industrielles et les automobiles génèrent des émissions d'oxydes d'azote. La photolyse de ces oxydes va conduire à la formation de nitrate (**Ward et al., 2007**).

Il faut noter que les mauvaises installations septiques peuvent également être des sources de nitrate dans l'eau sachant que les déjections humaines sont riches en substances azotées (**Chébékoué, 2008**).

I.3.1.3.2. Sources anthropiques de nitrite

Le nitrite se forme facilement dans les réseaux de distribution d'eau potable lorsque l'eau est mal traitée. Un excès d'ammoniac par chloramination tout comme une oxygénation insuffisante de l'eau peuvent conduire à l'apparition de nitrite (**Weyer et al., 2006**).

I.3.2. Dans l'organisme

Le nitrate et le nitrite présents dans l'organisme peuvent soit provenir d'un apport exogène soit être synthétisés par l'organisme lui-même.

I.3.2.1. Sources endogènes

Des études ont démontré que l'homme possède naturellement des nitrates dans son organisme. En effet dès 1916, Mitchel a observé que la quantité de nitrate ingérée est bien inférieure à la quantité de nitrate dans les urines (**Lespine A., 2001**).

I.3.2.1.1. Synthèse endogène du nitrate

Il existe une synthèse endogène de nitrate, estimée à 1 mg/kg/jour pour un adulte en santé d'environ 60 kg (**Santé Canada, 2014**). Actuellement, il est retenu que la principale voie de synthèse du nitrate chez les mammifères est la voie L-arginine-NO-synthase. Cette voie correspond à la conversion de la L-arginine en 1-citrulline par l'enzyme NOS (monoxyde d'azote synthase). Il en résulte une libération de monoxyde d'azote (NO) qui va subir une oxydation en anhydride nitreux. Ce dernier va ensuite réagir avec l'eau pour former du nitrite

qui sera rapidement oxydé en nitrate sous l'effet de l'hémoglobine **(OMS, 2004)**.

Le NO intervient dans le fonctionnement neuromusculaire et vasculaire **(Mirvish, 1995)**. Dans les conditions normales, le NO plasmatique provient de cette voie dite L-Arg-NOS qui permet d'assurer un niveau basal de nitrate dans l'organisme. Cependant, lors des processus inflammatoires ou infectieux, les macrophages vont exprimer une NOS inductible qui entraîne la production d'une quantité importante de nitrate plasmatique. Ce phénomène explique les niveaux élevés de nitrate dans les urines lors d'inflammations et d'infections gastro-intestinales que de nombreuses études ont démontrés **(Gangolli et al., 1994;INSPQ, 2003)**.

I.3.2.1.2. Synthèse endogène du nitrite

La formation endogène de nitrite représente plus de 90% de l'apport total en nitrite **(Gangolli et al., 1994)**. Plus précisément, c'est le nitrite salivaire qui représente la principale source de nitrite chez l'homme **(Combet et al., 2007)**. Les bactéries localisées dans la région dorsale de la langue convertissent environ 5% du nitrate salivaire en nitrite. Cette conversion du nitrate représente 70 à 80% de l'exposition totale aux nitrites.

La formation du nitrite salivaire dépend de la quantité de nitrate ingérée mais aussi des variations individuelles **(IPCS, 1999)**. En effet, la synthèse endogène de nitrite s'accroît avec l'âge **(Turek et al., 1980)** et lors des infections bactériennes à expression diarrhéique **(Santé Canada, 1987)**.

Au niveau de l'estomac, il est également possible d'observer une réduction du nitrate en nitrite si le pH est favorable à la croissance bactérienne ($\text{pH} > 5$) **(IPCS, 1999)**. C'est le cas chez les patients atteints d'atrophie gastrique mais aussi chez les nourrissons. En effet, le pH gastrique des nourrissons est normalement élevé

et c'est pourquoi les enfants de moins de 3 mois constituent la population la plus vulnérable à la toxicité du nitrite (U.S.EPA, 2002).

I.3.2.2. Sources exogènes

I.3.2.2.1. Sources exogènes de nitrate

I.3.2.2.1.1 Alimentation

Les principaux aliments sources de nitrate sont les légumes, les produits à base de viande (saumurés), les produits céréaliers et dans une moindre mesure les poissons et les produits laitiers (Grosse et *al.*, 2006). Les légumes les plus riches en nitrate sont : la laitue, la betterave, les épinards (environ 4259 mg/kg) et les légumes racines (environ 5150 mg/kg) (Chung et *al.*, 2003). Il faut noter que les teneurs en nitrate dans les légumes varient selon la technique de fertilisation et selon l'intensité d'ensoleillement (Gangolli et *al.*, 1994).

I.3.2.2.1.2. Eau

Le nitrate peut être ingéré suite à la consommation d'eau potable des réseaux de distribution. Les eaux de puits constituent également une importante source de nitrate (Nolan et *al.*, 2002). Les puits individuels sont les plus contaminés car ils ne sont pas réglementés (OMS, 2007).

I.3.2.2.2. Sources exogènes de nitrite

I.3.2.2.2.1. Alimentation

Les principaux aliments qui participent à l'exposition au nitrite sont les produits carnés, les céréales, les légumes (betterave, épinard, etc.) et les fruits (Jakszyn et *al.*, 2006a). Cependant les teneurs dans les fruits et légumes sont en général négligeables sauf lorsque ces derniers sont avariés ou mal conservés. En effet des niveaux atteignant 400 mg/kg ont été rapportés dans de pareils cas (OMS, 2007). Les produits à base de viande représenteraient jusqu'à 70% des apports en nitrite alimentaire (Dietrich et *al.*, 2005).

I.3.2.2.2 Eau

Le nitrite peut être ingéré à travers l'eau de consommation. C'est la deuxième source d'ingestion de nitrite après les aliments. Bien que les concentrations de nitrate puissent être élevées dans l'eau potable, les concentrations de nitrite y sont cependant plus faibles. En effet, dans la plupart des pays, les taux de nitrite dans l'eau potable sont habituellement de l'ordre de quelques milligrammes par litre ou moins (**OMS, 2007**).

I.3.2.2.3. Autres sources exogènes de nitrate et nitrite

L'exposition au nitrate et nitrite peut être associée à certains médicaments. Des cas d'intoxication ont été rapportés pour les dérivés de la quinine (antipaludéen), les sous-nitrates de bismuth (anti-diarrhéique), le dinitrate d'isosorbide (vasodilatateur). Certains tranches vulnérables telles que les enfants et les nourrissons sont également exposés lors du traitement des brûlures avec du nitrate d'argent (**ATSDR, 2007**). Par ailleurs, les produits ménagers contiennent du nitrite d'amyle ou de butyle pouvant être inhalé au moment de leur utilisation (**Santé Canada, 2013**).

En résumé, le nitrate et le nitrite sont des ions très répandus dans l'environnement et utilisés dans divers domaines industriels. Dans l'organisme, ils peuvent soit être synthétisés de façon endogène soit être ingérés via l'eau de boisson et les aliments. Leur utilisation comme additifs alimentaires dans les produits carnés sera abordée dans le chapitre qui suit.

CHAPITRE II : Nitrate et nitrite dans les produits de charcuterie, de salaison et les conserves à base de viande

II.1. Définitions

Les produits de charcuterie, de salaison et les conserves à base de viande (PCSCV) appartiennent au grand groupe des produits à base de viande. Ils sont caractérisés par le fait qu'ils ont subi un processus de transformation. Cette transformation peut être la salaison, la maturation ou le séchage. Ils sont souvent mélangés à des additifs, des ingrédients et des épices (**Union professionnelle suisse de la viande, 2014**). Chacun des termes de ce sigle mérite d'être défini pour un meilleur discernement.

II.1.1. Les charcuteries (Union professionnelle suisse de la viande, 2014)

Les charcuteries constituent une famille de produits obtenus après broyage de la viande. Il existe trois types de charcuterie :

II.1.1.1. Les charcuteries crues

Elles sont fabriquées à partir d'une viande réfrigérée ou congelée pendant environ 48 h. Elles sont séchées à l'air ou fumées à froid. Elles peuvent être fermes à la coupe, à chair tartinable ou à maturation interrompue.

II.1.1.2. Les charcuteries échaudées

Les charcuteries échaudées sont fabriquées à partir d'une viande capable de retenir une grande quantité d'eau (viande obtenu immédiatement après l'abattage ou viande congelée après ajout de phosphate). Elles peuvent être fumées ou non mais ont, dans tous les cas, subi un traitement thermique. Elles sont fermes à la coupe et croquantes.

II.1.1.3. Les charcuteries à chair cuite

Les charcuteries à chair cuite sont fabriquées à partir d'une viande cuite au préalable à plus de 65 °C. Elles peuvent être cuites au four, échaudées ou cuites

à l'eau. A l'état frais, elles sont soit fermes à la coupe soit facile à tartiner. Il est nécessaire de les conserver au froid.

II.1.2. Les salaisons (Agroscope, 2006)

Les salaisons sont des produits à base de viande ayant subi l'adjonction de sel et d'additifs tels que les nitrates et les nitrites.

II.1.2.1. Les salaisons crues

Ce sont des produits fabriqués suivant le principe de la salaison à sec. Les morceaux de viande sont frottés avec un mélange de sel, d'additifs (nitrate, nitrite) et un mélange d'épices. Elles peuvent être consommées crues ou cuites.

II.1.2.2. Les salaisons cuites

Ce sont des produits fabriqués selon le principe de saumurage. L'adjonction de la saumure peut se faire par injection ou par trempage. Les produits sont ensuite chauffés pour permettre une coagulation des protéines.

II.1.3. Les conserves

Les conserves à base de viande sont des denrées alimentaires périssables qui sont conservées suivant deux techniques :

- ✓ elles sont conditionnées dans un récipient qui est étanche au gaz, aux liquides, aux micro-organismes et à toute température inférieure à 55°C ;
- ✓ elles ont été traitées par la chaleur en vue de détruire ou d'inhiber totalement les enzymes, les micro-organismes et leurs toxines.

Les semi-conserves sont des denrées alimentaires périssables qui sont conservées dans un récipient étanche aux liquides et qui ont subi un traitement autorisé permettant une conservation plus limitée que les conserves.

II.2. Importance des PCSCV

II.2.1. Importance alimentaire

L'importance des PCSCV est essentiellement liée à la richesse nutritionnelle de la viande. Cette importance nutritionnelle s'explique par la grande qualité des protéines de la viande qui contiennent tous les acides aminés essentiels. De plus, la viande est un aliment riche en sels minéraux et en vitamines. Le tableau II présente la composition nutritionnelle de la viande.

Tableau II : Composition nutritionnelle de la viande (Jacotot et Parco, 1983)

	Teneurs en %
Eau	75
Protéines	18,5
Lipide	3
Substances azotées non protéiques	1,5
Glucides	1
Minéraux	1

II.2.2. Importance hygiénique

Les PCSCV peuvent renfermer divers pathogènes à l'origine de désordres biologiques voire d'accidents graves chez le consommateur. Les maladies transmissibles à l'homme via les produits carnés peuvent être contractées suite à l'inhalation, au contact ou à l'ingestion de matières virulentes. Ces différentes affections peuvent être classées en trois groupes (Lo, 1983) :

- ✓ les parasitoses,
- ✓ les accidents alimentaires d'origine bactérienne,
- ✓ les maladies virales.

II.2.3. Importance économique

Au Sénégal, l'importation des produits de charcuterie a connu une évolution croissante de 2012 à 2015 allant de 70,558 tonnes en 2012 à 378,213 tonnes en 2015. L'année 2016 a connu une légère baisse d'importation avec une valeur de 310,537 tonnes. Parmi les plus grands importateurs, la Chaîne de Distribution Alimentaire(CDA) et la Société de Fabrication et d'Import-Export (SOFIEX) figurent en tête de liste. Ils ont réalisés à eux seuls 54,15% des importations de charcuteries entre 2014 et 2016 soit 25,09% pour la CDA et 29,06% pour SOFIEX.

II.2.3.1. Importation en 2014

Les importations en 2014 se sont élevées à 332,699 tonnes de viande de charcuterie. SOFIEX figure en première position avec 84,556 tonnes soit 25,42% des importations. Elle est suivie par la CDA et Saprolait qui ont importés respectivement 47,142 tonnes et 41,191 tonnes (**Tableau III**).

Tableau III : Importations en 2014

Numéro	Importateur	Quantité en tonnes
1	CDA	47,14
2	CSNA	0,06
3	DAMAG	8,78
4	Domaine de Nianing	0,23
5	GIE JOIMEX	9,14
6	HIKMAT RIHAOUI	29,79
7	Maky Tall	10,01
8	MH FOODS	1,53
9	Nassir/Alberts	12,49
10	Planet Kebab	27,07
11	Poultrade	18,28
12	Saprolait	41,19
13	Serge Alexis	1,94
14	SIPCO	4,19
15	SOFIEX	84,57
16	SoProdal	36,26
Total		332,69

Source : Service vétérinaire du port autonome de Dakar (2014)

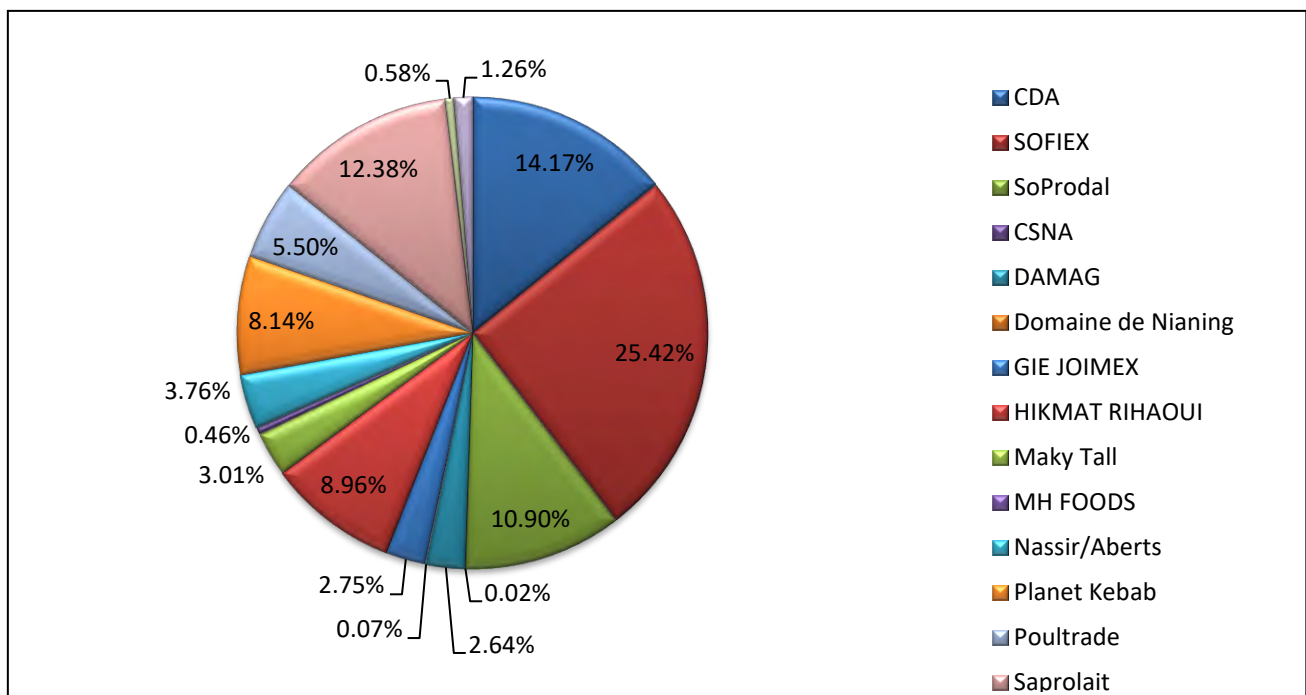


Figure 2 : Part des différents importateurs de produits de charcuterie au cours de l'année 2014

II.2.3.2. Importation en 2015

Les importations de produits de charcuterie de l'année 2015 ont été moyennement plus élevées que celles de 2014. En effet, il a été constaté une hausse de 13,68% avec 378,213 tonnes importées. La CDA à elle seule a réalisé 36,34% des importations parmi les douze importateurs. La SOFIEX vient en seconde position avec 63,454 tonnes soit 16,77% du total des importations (Tableau IV).

Tableau IV : Importations en 2015

Numéro	Importateur	Quantité en tonnes
1	Abibatou Faye	15,13
2	CDA	137,47
3	CSNA	15,26
4	DAMAG	9,21
5	HIKMAT RIHAOUI	46,48
6	GIE JOIMEX	10,78
7	Gainde Distribution	38,09
8	Maky Tall	19,77
9	Saprolait	19,96
10	SENAS	0,001
11	Serge Alexis	2,61
12	SOFIEX	63,45
Total		378,21

Source : Service vétérinaire du port autonome de Dakar (2015)

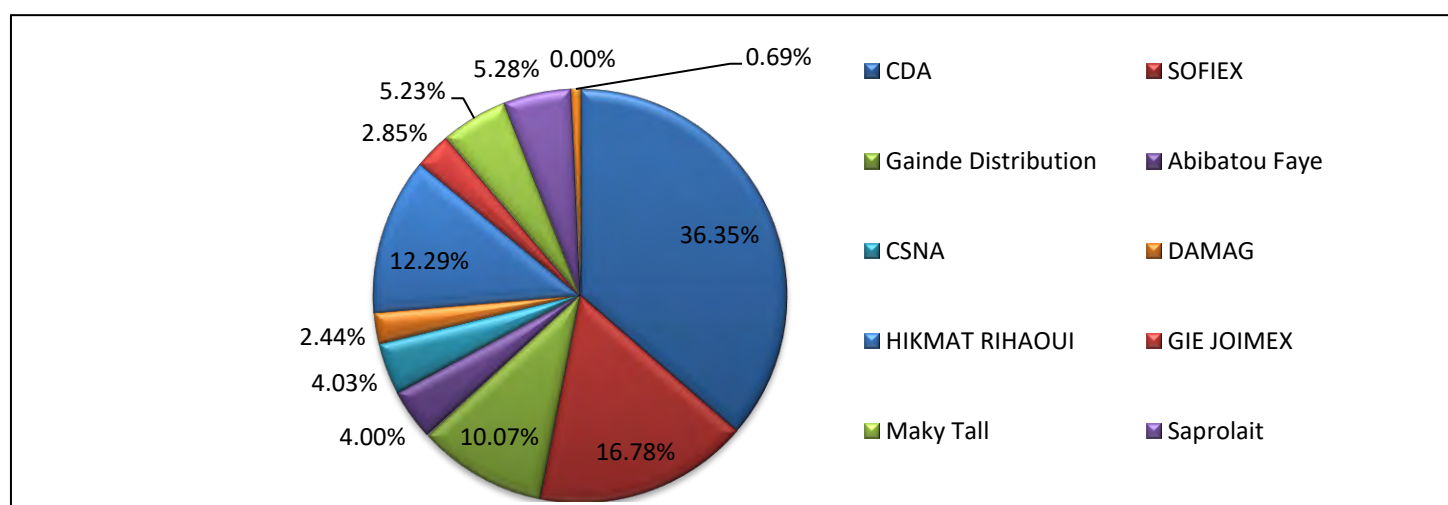


Figure 3 : Part des différents importateurs de produits de charcuterie au cours de l'année 2015

II.2.3.3. Importation en 2016

Les importations de produits de charcuterie de l'année 2016 s'élèvent à 310,537 tonnes. Comparativement à l'année 2015, les importations ont connu une régression de 17,89%. Ce qui n'est pas négligeable. Cette année encore,

SOFIEX et CDA sont les importateurs majoritaires avec respectivement 122,232 tonnes et 44,734 tonnes. Le cumul de leurs importations représente 53,76% du total des 15 importateurs de l'année 2016 (**Tableau V**).

Tableau V : Importations en 2016

Numéro	Importateur	Quantité en tonnes
1	CDA	44,73
2	CSNA	0,03
3	DAMAG	6,14
4	ETS RIHAOUI	3,14
5	GIE JOIMEX	8,44
6	Gainde Distribution	35,14
7	HIKMAT RIHAOUI	12,68
8	Idrissa SAMBOU	7,91
9	MakyTall	7,22
10	Planet Kebab	1,4
11	SaProlait	29,39
12	Serge Alexis	4,89
13	Seye Import-Export	17,70
14	SODIAC	9,48
15	SOFIEX	122,23
Total		310,54

Source : Service vétérinaire du port autonome de Dakar (2016)

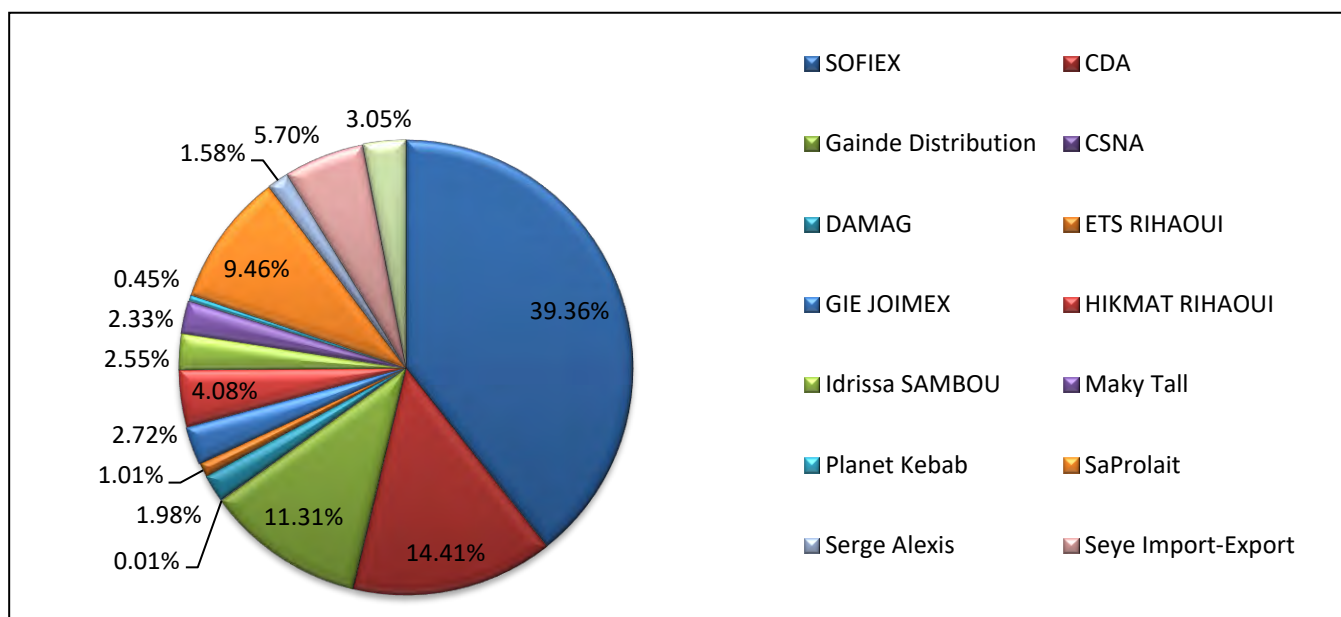


Figure 4 : Part des différents importateurs de produits de charcuterie au cours de l'année 2016

Les PCSCV sont d'une grande importance aussi bien sur le plan alimentaire, hygiénique que sur le plan économique. Nous allons alors mieux les étudier en déterminant leur classification.

II.3. Classification

II.3.1. Classification générale

Les produits de charcuterie, de salaison et les conserves à base de viande sont classés en neuf familles dans le Code des usages de la charcuterie.

II.3.1.1. Pièces

II.3.1.1.1. Pièces crues ni étuvées ni fumées

- ✓ échine,
- ✓ côtes,
- ✓ demi-sel,
- ✓ petit-salé,
- ✓ etc.

II.3.1.1.2 Pièces crues, étuvées, fumées ou non

- ✓ poitrine fumée,
- ✓ bacon.

II.3.1.1.3. Pièces crues ayant subi une maturation-dessiccation

- ✓ jambon sel sec.

II.3.1.1.4. Pièces cuites

- ✓ jambon,
- ✓ épaules cuits.

II.3.1.2. Pâtes de viandes

II.3.1.2.1. Produits crus distribués et consommés rapidement

- ✓ chair à saucisse,
- ✓ chipolatas,
- ✓ crépinettes,
- ✓ farces,
- ✓ pâtes fines.

II.3.1.2.2. Produits crus, étuvés, fumés ou non

- ✓ saucisses ou cervelas,
- ✓ soubressade,
- ✓ merguez,
- ✓ chorizo.

II.3.1.2.3. Produits crus ayant subi une maturation-dessiccation

- ✓ saucissons secs,
- ✓ salami,
- ✓ saucisse sèche, mi-sèche.

II.3.1.2.4. Produits cuits ayant subi un traitement thermique à cœur

- ✓ saucisson à l'ail,
- ✓ saucisson à pâte fine,
- ✓ saucisses contenant abats,
- ✓ mortadelle.

II.3.1.2.5. Produits cuits ou confits dans leur graisse

- ✓ rillettes,
- ✓ rillons.

II.3.1.3. Pâtes de viandes et d'abats (pâtés et gélamines)

- ✓ pâtés à trancher (de chair, du chef, de campagne ; fricandeau),
- ✓ pâtés à tartiner,
- ✓ galantine, ballotines,
- ✓ pâtés en croute, friands.

II.3.1.4. Produits à base de tête

- ✓ fromage de tête,
- ✓ museau.

II.3.1.5. Produits à base d'estomacs et d'intestins

- ✓ andouilles,
- ✓ andouillettes.

II.3.1.6. Produits à base de sang

- ✓ boudins noirs.

II.3.1.7. Spécialités

- ✓ boudin blanc,
- ✓ quenelles de viandes.

II.3.1.8. Conserves de viande et plats cuisinés

II.3.1.9. Saindoux

Le saindoux est une substance blanche, brillante, moelleuse et soyeuse, obtenue en faisant fondre la graisse de porc.

II.3.2. Etude spécifique

II.3.2.1. Saucisson cuit

Les saucissons sont des produits de charcuterie constitués de boyaux remplis de viande hachée assaisonnée. Ils peuvent être constitués de viande bœuf, de mouton ou de volaille mais la viande de porc est la matière première la plus utilisée.

II.3.2.1.1.Ingrédients et additifs

Les ingrédients et additifs admis dans la préparation du saucisson cuit sont (Sangaré, 2016) :

- ✓ sel ;
- ✓ sucre : saccharose, lactose, dextrose ;
- ✓ ail ;
- ✓ aromates, épices, vins, liqueurs, alcools, condiment ;
- ✓ arômes : substances aromatisantes naturelles, préparations aromatisantes ;
- ✓ blanc d'œuf ;
- ✓ nitrate, nitrite ;
- ✓ acide érythorbique (E315), érythorbate de sodium (E316) ;
- ✓ acides organiques, acétique (E260), lactique (E270), citrique (E330), tartrique (E334) ;
- ✓ acétate de sodium (E262), de potassium (E261), calcium (E263) ;
- ✓ lactate de sodium (E325), potassium (E326);
- ✓ cochenille, acide carminique, carmins (E120).

II.3.2.1.2. Diagramme de fabrication (Sangaré, 2016)

La viande maigre et le gras sont découpés en morceaux puis finement hachés. Il s'ensuit la préparation de la mêlée. Il s'agit de mettre la viande maigre et le gras hachés dans un cutter accompagnés de tous les ingrédients et additifs. Une fois que la pâte devient homogène, elle est remplie dans des boyaux cellulosiques. Cette étape est appelée embossage.

Les saucissons sont alors ficelés et mis à égoutter à l'étuve. Les étapes se poursuivent par une cuisson à 75°C pendant 15 à 30 mn. Les saucissons sont ensuite refroidis et conditionnés au frais entre 0 et 4°C.

II.3.2.1.3. Caractéristiques organoleptiques du produit fini

Les saucissons cuits doivent avoir une texture tendre et moelleuse. Ils sont ainsi très appréciés par les personnes ayant des problèmes de mastication. Contrairement aux saucisses, les saucissons doivent avoir au moins 60 % de morceaux et/ou de gras apparents. Ce sont des aliments prêts à être consommés et ne nécessitent qu'une remise en température (CTCSCV, 1980).

II.3.2.2. Jambon cuit

Le jambon est la cuisse entière d'un animal destinée à être préparée crue (après salaison, séchage et parfois fumage) ou cuite (rôtie, grillée, braisée ou, comme le jambon blanc, bouillie). Nous allons ici nous appesantir sur le jambon cuit.

II.3.2.2.1. Les ingrédients et additifs

Les ingrédients et additifs incorporés dans la fabrication du jambon cuit sont assez divers. Ceux qui sont admis conformément au Code des usages de la charcuterie sont (CTCSCV, 1980):

- ✓ le sel ;
- ✓ l'eau ;
- ✓ les sucres : saccharose, lactose, dextrose ;
- ✓ les aromates et épices ;

- ✓ les arômes : substances aromatisantes naturelles et préparations aromatisantes ;
- ✓ le nitrite de sodium, le nitrite de potassium ;
- ✓ l'acide érythorbique (E315), l'érythorbate de sodium (E316) ;
- ✓ les ferments.

II.3.2.2.2. Diagramme de fabrication (Frentz et Zert, 1990)

Pour la fabrication du jambon cuit, la viande est d'abord dégraissée et dénervée. Ensuite, elle va subir un traitement à la saumure puis un malaxage en baratte. Le malaxage va ainsi permettre une meilleure répartition de la saumure et un assouplissement des muscles. La viande est ensuite mise dans une moule pour donner au jambon sa forme caractéristique. Après le moulage, la cuisson est effectuée à une température de $+70^{\circ}\text{C}$. Le produit est alors refroidi et mené au conditionnement. L'ensemble de ces étapes est résumé dans la figure suivante (Figure5).



Figure 5 : Diagramme de fabrication du jambon cuit (Foret, 2011)

II.3.2.2.3. Caractéristiques organoleptiques du produit fini (Goutefongea et al., 1978)

La présentation d'un produit avec la dénomination jambon cuit nécessite que le consommateur puisse y retrouver un certain nombre de caractéristiques organoleptiques qui lui sont spécifiques. Il s'agit de :

- ✓ une tenue de tranche suffisante,
- ✓ une couleur rose uniforme,
- ✓ une absence de goût acide ni âcre,
- ✓ un goût non masqué par les assaisonnements,
- ✓ une texture moelleuse.

La couleur peut néanmoins présenter des variations dans certains types de produits tels que le jambon braisé et le jambon bruni. Le jambon braisé est caractérisé par un aspect brun doré tandis que le jambon bruni a un aspect noir avec des tranches roses.

Les PCSCV varient largement selon leurs technologies de fabrication et selon leurs caractéristiques organoleptiques. Nous allons maintenant nous appesantir sur une étape essentielle dans la fabrication des produits carnés à savoir la salaison.

II.4. Généralités sur la salaison (Durand P., 2002)

L'élaboration de PCSCV nécessite l'adjonction de divers ingrédients et additifs en plus de la matière première de base (maigre, gras, abats). Le plus ancien de ces additifs est le salpêtre qui est composé de sel de nitrate. L'effet du nitrate n'est pas direct mais est plutôt lié à sa transformation en nitrite qui constitue la forme active. L'emploi du nitrite est autorisé en Allemagne dès 1913. La France n'autorisera l'utilisation du nitrite qu'en 1964 sous forme de sel nitrité à 0,6%. Ainsi, le nitrate, le nitrite et le sel constituent les éléments fondamentaux de la salaison. Il existe trois types de salaison.

II.4.1. Types de salaison (Durand P., 2002 ; Agroscope, 2006)

II.4.1.1. Salaison nitratée ou salaison au salpêtre

La salaison nitratée est une salaison au nitrate seul sans nitrite. Elle n'est utilisée que pour le traitement au sel sec c'est-à-dire en absence de saumure. Ce type de salaison est appliqué pour les charcuteries crues à longue maturation et pour les salaisons crues. Dans ce cas, l'utilisation de l'acide ascorbique, de l'acide érythorbique et de leurs sels est prohibée. En effet, ces molécules constituent un frein à la transformation du nitrate en nitrite et leur incorporation peut causer un défaut de conservation du produit fini.

II.4.1.2. Salaison au nitrite

La salaison au nitrite est constituée d'un mélange de chlorure de sodium et de nitrite de sodium qui est incorporé à des doses inférieures à 1%. Elle est utilisée pour les charcuteries crues à maturation courte, les charcuteries échaudées (sans les saucisses blanches), les charcuteries à chair cuite, les produits de salaison cuits et d'autres produits carnés. La salaison nitritée est généralement accompagnée d'addition d'acide ascorbique ou d'acide érythorbique et de leurs sels. Il faut noter que ce type de salaison doit se faire à des températures modérées.

II.4.1.3. Salaison mixte

La salaison mixte est constituée d'un mélange de nitrate et de nitrite. Elle est utilisée pour les produits assez peu cuits et commercialisés en tranches présentant une large surface au contact de la lumière avec risque de décoloration. En effet, dans les produits peu cuits, l'activité enzymatique n'est pas totalement inhibée. Par conséquent, au cours du stockage, le nitrate peut être réduit en nitrite. La conservation du produit sera alors prolongée. Ce type de salaison s'applique également pour certains saucissons secs.

II.4.2. Techniques de salaison

Il existe deux principales techniques de salaison pour la formulation des PCSCV :

II.4.2.1. Traitement à sec

La salaison à sec consiste à mettre en contact les morceaux de viande avec un mélange de sel sec et d'adjuvants. Ces adjuvants peuvent être du nitrate, du nitrite et des épices (**Agroscope, 2006**). Afin d'automatiser et de standardiser le procédé de salaison, une technique d'aspersion mécanique du sel a été développée. Cette aspersion de sel peut être réalisée sous pression via l'utilisation d'appareils tels que les canons à sel (**Deumier, 2000**).

II.4.2.2. Traitement en saumure

Le saumurage consiste à mettre en contact les morceaux de viande avec une saumure d'une concentration de 10 à 20 % (**Agroscope, 2006**). La saumure est une solution aqueuse dans laquelle sont dissous les ingrédients de salaison : chlorure de sodium (de l'ordre de 20 kg pour 100 litres d'eau), nitrite, nitrate, sucres (saccharose, dextrose, lactose et sirop de glucose), acides organiques (acides lactique, acétique, citrique...), sels d'acides organiques (lactate de sodium, acétate ou de diacétate de sodium), acide érythorbique, alcools (vin, liqueur) et épices (**Frentz et Juillard, 2003**). Les procédés de saumurage sont de trois types :

II.4.2.2.1. Saumurage par immersion

Il consiste à entreposer les morceaux de viande dans des bacs ou des cuves contenant la saumure (**Agroscope, 2006**) comme l'illustre la figure 6.



Figure 6 : Salaison dans un bac contenant la saumure (Agroscope, 2006)

II.4.2.2.2. Saumurage par douchage

Dans ce procédé, les morceaux de viande sont aspergés de la saumure dans laquelle ils sont trempés pendant un certain temps. Ce type de saumurage est réalisé avec des appareils sous pression afin que la saumure imprègne mieux la viande (**Deumier, 2000**).

II.4.2.2.3. Saumurage par injection

L'injection de la saumure directement dans le produit est le procédé le plus développé en industrie. Elle peut être réalisée par voie artérielle ou par voie musculaire (**Deumier, 2000**). L'injection peut se faire manuellement comme le montre la **figure 7**. Cependant une technique d'injection automatique a également été développée. Elle est moins fastidieuse et plus homogène notamment lorsque la production est très importante.



Figure 7 : Injection manuelle de la saumure (Agroscope, 2006)

II.5. Fonctions des nitrates et nitrites dans les PCSCV

Les fonctions des nitrates et des nitrites sont classées en trois groupes à savoir :

- ✓ des fonctions physico-chimiques,
- ✓ des fonctions microbiologiques,
- ✓ des fonctions organoleptiques.

II.5.1. Fonctions physico-chimiques des nitrates et nitrites dans les PCSCV

II.5.1.1. Transformation du nitrate en nitrite (Durand, 2002)

Une fois additionné à la viande, le sel nitraté va se dissocier pour former l'ion nitrate. Sous l'effet des nitrates réductases, les ions nitrates vont alors être réduits en ions nitrites. Ces enzymes réductrices sont synthétisées par des germes présents au niveau de la viande. Ces germes peuvent être des lactobacilles, des entérobactéries, des vibrions et des microcoques.

II.5.1.2. Réaction avec les lipides

Dans les produits de charcuterie, 15% des nitrites se trouvent fixés dans la fraction lipidique du tissu adipeux. La fixation du nitrite est en relation avec le

nombre de doubles liaisons présentes au niveau des lipides (**Goutefongea et al., 1977**). **Guingamp et Linden (1983)** ont montré que les nitrites réagissent plus facilement avec les lipides qu'avec les amines. Les viandes grasses sont ainsi moins exposées à la formation de nitrosamines.

II.5.1.3 Réaction avec les protéines

Le nitrite peut réagir avec la partie hémique des protéines ou avec leurs groupements sulfhydryles. Cependant, cette réaction du nitrite avec les groupements sulfhydryles donnent des composés instables (**Kubberod et al., 1974**). La réaction du nitrite avec les protéines peut également se faire au niveau de liaisons peptidiques qui interviennent comme site de fixation (**Guingamp et Linden, 1983**).

II.5.1.4. Réaction avec les glucides

Le nitrite ne réagit pas directement avec le glucose. Il faut au préalable que le glucose réagisse avec des acides aminés, des peptides et des protéines. Cette réaction s'appelle la réaction de Maillard. Les substances qui se forment à l'issue de cette réaction sont appelées composés d'Amadori (**Guingamp et Linden, 1983**). Il s'agit des pyrazines, des furanes, des mélanoïdines qui sont des composés se nitrosant facilement (**Bittel, 1987**).

II.5.1.5. Réaction avec la vitamine C et la vitamine E

Le nitrite ajouté dans la viande lors de la salaison va se transformer en acide nitreux. Cette conversion du nitrite est due au pH acide de la viande. L'acide ascorbique va alors réagir avec l'acide nitreux pour former l'oxyde d'azote. Ainsi, il y aura moins d'acide nitreux libre pour réagir avec les amines d'où la limitation de la nitrosation. La réactivité de l'acide ascorbique est cependant limitée à cause de sa faible solubilité dans les tissus adipeux (**Vendeuvre, 2006**).

Contrairement à la vitamine C qui est hydrosoluble, l' α -tocophérol qui est le principal constituant de la vitamine E est très lipophile. L' α -tocophérol libre

réduit le nitrite en oxyde d'azote comme le fait l'acide ascorbique. Elle constitue aussi un excellent inhibiteur de la nitrosation (**Mirvish, 1986**).

II.5.1.6. Formation de composés N-nitrosés

II.5.1.6.2. Mécanisme de formation

Les composés N-nitrosés (NOC) sont une large famille de substances essentiellement caractérisées par un groupement nitro ($-N=O$). Ils sont formés suite à la réaction entre certaines substances nitrosables (amines, amides) avec des oxydes d'azote qui sont des dérivés du nitrite. Il existe deux grandes sous-familles de composés N-nitrosés à savoir les nitrosamines et les nitrosamides (**Chébékoué, 2008**).

Les composés N-nitrosés les plus retrouvés dans les aliments sont les nitrosamines car les nitrosamides sont très instables. La formation des nitrosamines se fait suite à une réaction appelée nitrosation. Au cours de cette réaction, les dérivés du nitrite, notamment l'oxyde d'azote, vont réagir avec les amines secondaires de la viande pour former des nitrosamines. Ces amines secondaires proviennent de la décarboxylation des amines primaires telles que le tryptophane, la proline, l'hydroxyproline, l'histidine et l'arginine (**Vendeuvre, 2006**).

Les principales étapes de la nitrosation sont (**INERIS, 2014**) :

II.5.1.6.2.1. Première étape

La première étape est la formation de l'agent nitrosant. Cet agent est obtenu par conversion du nitrite en acide nitreux (HNO_2). Cette réaction a lieu en milieu acide compris entre 2 et 4 (Réaction 1).

II.5.1.6.2.2. Deuxième étape

La deuxième étape est la formation de l'espèce nitrosante active suite à la conversion de l'acide nitreux. L'espèce nitrosante peut être l'anhydride nitreux

(N_2O_3), le nitrosylthiocyanate (ON-NCS), des halogénures nitreux (NOX) ou l'ion acidium nitreux (H_2NO_2^+). La formation de l'agent nitrosant peut être facilitée par certains catalyseurs tels que les halogénures, les thiocyanates, les acétates et phtalates. Cependant, l'acide ascorbique, les tannins et les tocophérols inhibent cette réaction (Réaction 2).

II.5.1.6.2.3. Troisième étape

La troisième étape correspond à la formation de la nitrosamine. Elle est effectuée suite à la réaction entre l'espèce nitrosante et une amine secondaire. Cette réaction ne se déroule que dans des conditions de pH propre à l'amine (Réaction 3).

Les trois réactions aboutissant à la formation de composés N-nitrosés sont résumées dans la figure 8.

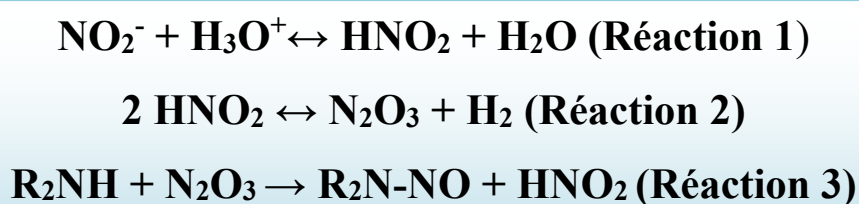


Figure 8 : Nitrosation en milieu aqueux (INERIS, 2014)

II.5.1.6.3. Conditions favorables à la formation des composés N-nitrosés

II.5.1.6.3.1. Flores microbiennes à activité décarboxylasique

Des nitrosamines peuvent être formées du fait de la présence d'amines biogènes issues de l'activité décarboxylasique de certaines flores microbiennes. Les germes les plus incriminés sont *Enterococcus*, certaines souches de

Carnobacterium, certaines souches de *Lactobacillus curvatus* (Vendeuvre, 2006).

II.5.1.6.3.2. pH

C'est à pH = 3,5 que la réaction de nitrosation entre une amine secondaire et l'acide nitreux se déroule la plus favorablement. Lorsque le pH dépasse 5,5, la réaction de nitrosation ne peut plus se produire (Vendeuvre, 2006).

II.5.1.6.3.3. Température

Le stockage prolongé des produits de salaison à température ambiante (entre 18 et 30°C) favorise le développement des flores à activité décarboxylasique donc la production de nitrosamines.

Certains modes de cuisson des produits de salaison tels que le rôti et la friture favorisent la production de nitrosamines. En effet, les températures supérieures à 150 °C catalysent la réaction de nitrosation (Vendeuvre, 2006).

II.5.1.6.3.4. La présence de poivre

Klein (1976) cité par Vendeuvre (2006) a mis en exergue la relation entre la présence de nitrosopipéridine (NPIP) et l'addition de poivre dans les aliments. En effet, il a démontré que le poivre moulu contient de très fortes concentrations de NPIP pouvant atteindre 23µg/kg. La NPIP est classée par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) dans la catégorie 2B. C'est par conséquent une substance pouvant être cancérigène pour l'homme (INERIS, 2014).

II.5.1.6.3.5. La présence de certaines molécules

Les molécules susceptibles de catalyser la N-nitrosation sont (Pignatelli, 2002) :

- ✓ le thiocyanate,
- ✓ le phosphate,
- ✓ le carboxylate,

- ✓ l'iodure,
- ✓ le bromure,
- ✓ le chlorure.

II.5.1.6.4. Les inhibiteurs de la N-nitrosation

La N-nitrosation peut être inhibée par la vitamine C et la vitamine E suivant le mécanisme décrit précédemment. Les polyphénols et certains composés soufrés agissent également comme inhibiteur de la N-nitrosation (**Montesano et Bartsch, 1976**).

Les principales nitrosamines retrouvées dans les denrées alimentaires sont représentées dans la figure 9.

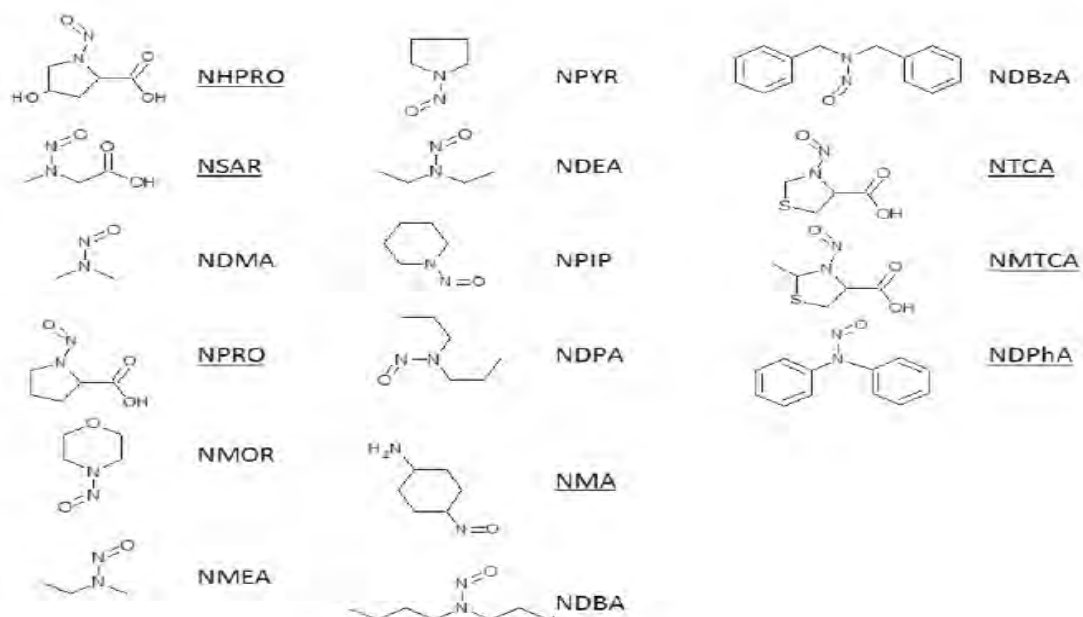


Figure 9 : Nitrosamines les plus importantes retrouvées dans les denrées alimentaires (Hermann, 2014)

II.5.2. Fonctions microbiologiques des nitrates et nitrites utilisés dans les PCSCV

Le nitrate à lui seul n'a pas d'action antimicrobienne. C'est plutôt le nitrite qui possède une action bactériostatique voire bactéricide notamment contre

Clostridium botulinum et contre les entérobactéries. L'action anti-microbienne du nitrite est potentialisée par le sel et l'acidité. L'ajout du nitrate se justifie par le fait qu'il constitue une réserve de nitrite. Il permet ainsi de prolonger la sécurité des produits de longue conservation tels que le saucisson sec (Agroscope, 2006). Les dérivés du nitrite interviennent en bloquant la chaîne respiratoire de la bactérie. Ils agissent via leur interaction avec les clusters fer-souffre des enzymes de la chaîne respiratoire. Bien que le mécanisme d'action des nitrites ne soit pas totalement élucidé, il semblerait que les molécules actives soient des dérivés de nitrite de type $[\text{Fe}_4\text{S}_3(\text{NO})_7]^-$ (Cammacket *al.*, 1999).

Cet effet bactéricide du nitrate et du nitrite est illustré par le schéma de la figure 10. Ce schéma montre l'évolution du nombre d'entérobactéries selon la teneur en nitrate et nitrite.

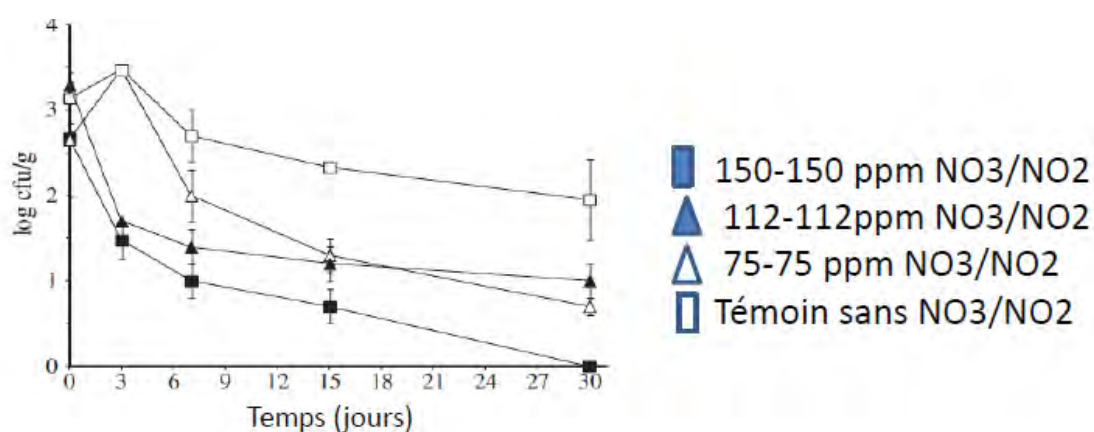


Figure 10: Effets du nitrate et du nitrite sur la diminution des Entérobactéries présentes dans le saucisson sec (Hospital et *al.*, 2012)

II.5.3. Fonctions organoleptiques des nitrates et nitrites utilisés dans les PCSCV

La salaison des produits à base de viande est un procédé technologique incontournable. Elle permet de donner au produit sa couleur caractéristique ainsi qu'une saveur adéquate (Rakansou, 2008).

II.5.3.1 Influence sur la flaveur

Les produits de salaison ont une flaveur assez particulière liée à la présence de nitrite. **Goutefongea et al., (1978)** ont montré que lorsque le bacon est préparé sans nitrite, les dégustateurs ne retrouvaient pas la flaveur du bacon classique mais percevaient plutôt un goût de porc prononcé. Ainsi, quand la teneur en nitrite augmente, ils ont noté une augmentation du goût de bacon et une diminution du goût de porc. Dans leurs travaux, **Peg et Shahidi (2000)** ont montré qu'une incorporation de 40 à 70 mg /kg de nitrite est nécessaire pour que les consommateurs puissent retrouver le goût caractéristique des salaisons.

La figure 11 montre l'évolution de la flaveur du bacon en fonction de la teneur en nitrite dans la saumure.

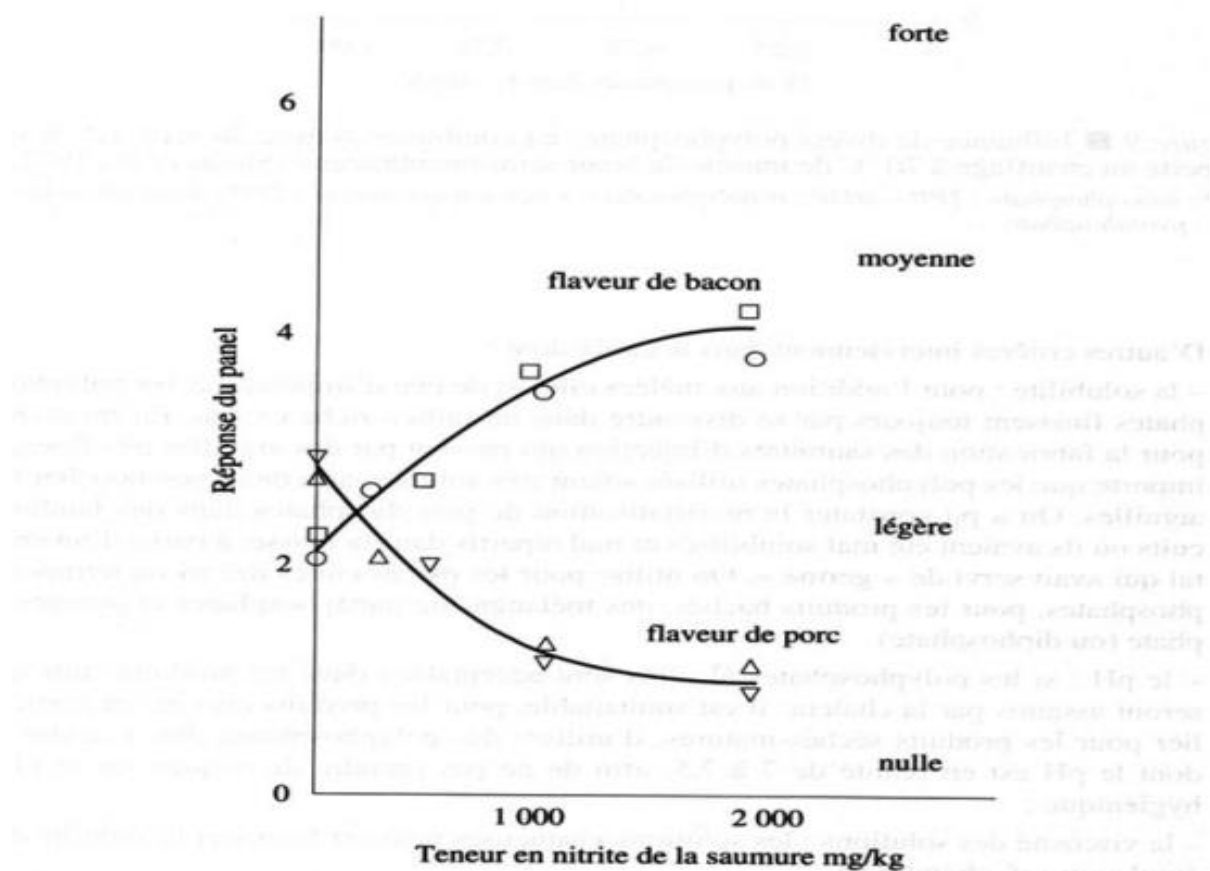
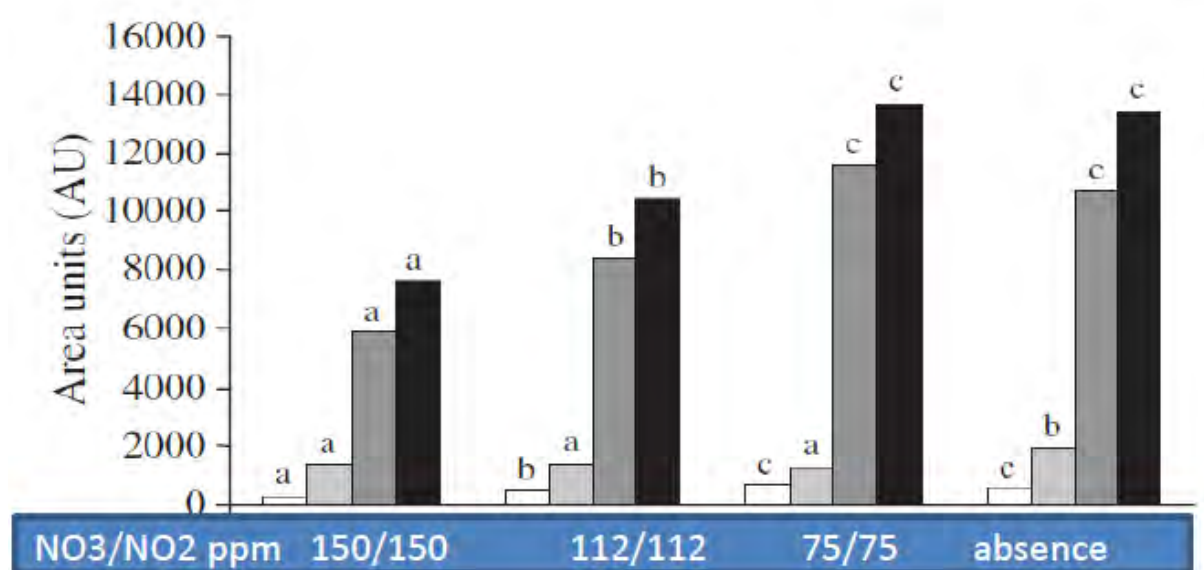


Figure 11: Evolution du goût du bacon en fonction de la concentration en nitrite de la saumure (Mottram et Rhodes,1973)

Les principaux dérivés du nitrite responsables de cette saveur sont la nitrosomyoglobine et la S-nitrosocystéine. Outre le goût de salaison caractéristique procuré par ces dérivés, ils ont en plus un effet anti-oxydant (Deumier, 2000). En effet, comme l'illustre la figure 12, la quantité de composés volatils issus de l'oxydation des lipides est inférieure dans les produits traités avec du nitrate/nitrite par rapport aux produits fabriqués sans nitrate/nitrite (Hospital et al., 2012).



- composés volatils issus de la dégradation des acides aminés
- composés volatils issus de l'oxydation des lipides
- composés volatils issus de la fermentation des glucides
- concentration totale en composés volatils

Figure 12 : Concentrations en composés volatils selon la teneur en nitrate et nitrite (Hospital et al., 2012)

II.5.3.2. Influence sur la couleur

La formation de la couleur dans les produits traités au nitrate passe d'abord par la transformation du nitrate en nitrite. Cette conversion est essentiellement due à l'activité de la nitrate réductase des bactéries (Talon et al., 2015).

La couleur des produits de salaison est liée à la réaction entre le bioxyde d'azote issu du nitrite et la myoglobine. L'oxyde d'azote va se fixer sur l'atome de fer de la myoglobine pour former la nitrosometmyoglobine (**Goutefongea et al., 1978**). Cette nitrosometmyoglobine est responsable de la couleur brune des produits de salaison crus (**Froehlichet al., 1983**).

Lorsque le produit se trouve dans des conditions réductrices et légèrement acides, la nitrosometmyoglobine va alors être transformée en nitrosomyoglobine. La nitrosomyoglobine donne aux produits de salaison une coloration rose mais qui n'est pas stable. Cependant la cuisson va permettre de stabiliser cette coloration. En effet, la chaleur va dénaturer la myoglobine et transformer la nitrosomyoglobine en nitrosomyochrome. C'est ce pigment stable qui est à l'origine de la couleur rose des produits de salaison cuits (**Deumier, 2000**).

La figure 13 présente les différents effets des dérivés du nitrite sur la couleur de la viande.

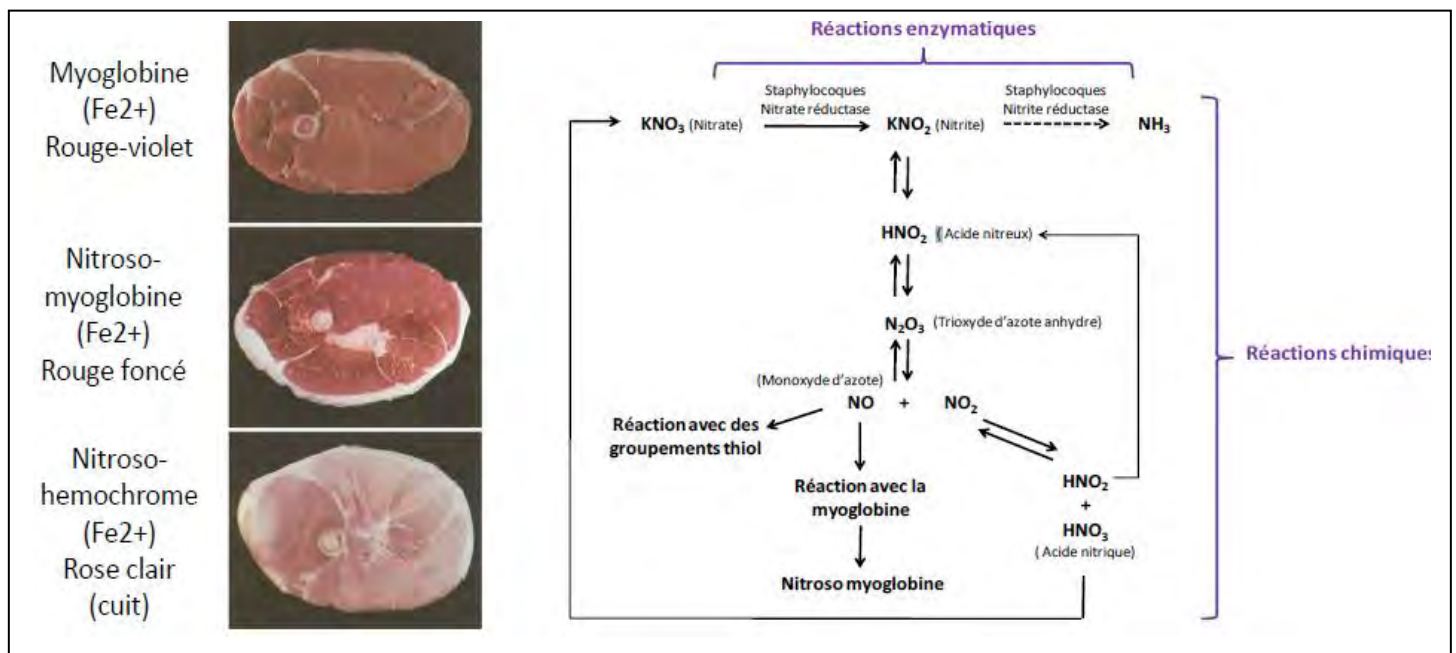


Figure 13 : Effets du nitrate et du nitrite sur la couleur des produits carnés
(Parthasarathy et Bryan, 2012)

Le nitrate et le nitrite sont des additifs alimentaires très importants dans la technologie des produits de salaison. Ils assurent leur sécurité microbiologique et leur confèrent un flaveur caractéristique et une couleur attrayante. Cependant, une ingestion excessive de nitrate et de nitrite peut causer des impacts négatifs sur la santé.

Chapitre III : Impacts du nitrate et du nitrite sur la santé humaine

Le nitrate et le nitrite sont largement répandus dans l'environnement. Les légumes, les salaisons à base de viande et l'eau potable en sont les principales sources alimentaires. Le nitrate en lui-même a très peu d'effets toxiques. C'est plutôt sa conversion en nitrite qui génère les effets toxiques les plus redoutés. La toxicité des nitrites peut se manifester sous diverses formes dont les plus fréquentes sont la méthémoglobinémie et la formation de composés nitrosés. Avant de développer ces impacts négatifs sur la santé, nous allons aborder le devenir du nitrate et du nitrite dans l'organisme.

III.1. Pharmacocinétique et biotransformation du nitrate et du nitrite

Chez l'homme, le cycle interne du nitrate et du nitrite peut se résumer en trois phases essentielles : l'absorption, la distribution endogène et l'excrétion qui se fait principalement sous forme de nitrate dans l'urine.

III.1.1. Pharmacocinétique et biotransformation du nitrate

III.1.1.1. Absorption

Le nitrate ingéré est rapidement absorbé au niveau de l'intestin grêle plus précisément dans la partie proximale (OMS, 2004). Cependant, cette absorption peut être différée lorsque les aliments sont riches en pectine. Dans ce cas, le nitrate sera plutôt absorbé dans la partie distale de l'intestin avec un risque de conversion du nitrate en nitrite sous l'action de la flore intestinale (IPCS, 1999). Il faut noter que dans une moindre mesure, le nitrate peut être absorbé par inhalation lors d'une exposition à la fumée de cigarette ou aux gaz d'échappement de véhicules (Santé Canada, 2013).

III.1.1.2. Distribution

Une fois dans l'organisme, le nitrate absorbé va alors se mêler au nitrate endogène. Il subit une distribution rapide dans les tissus et est activement sécrété au niveau buccal. Cette sécrétion se fait via un système de transport actif qui est

en compétition avec celui de l'iode et du thiocyanate (**OMS, 2004**). La flore microbienne buccale va alors convertir 20% du nitrate salivaire en nitrite. Il faut noter que seuls 25 % du nitrate absorbé sont sécrétés dans la salive (**Mirvish, 1994**).

Une fois le nitrite formé, le mélange nitrate/nitrite va être véhiculé dans le tractus gastro-intestinal par la salive. Ce mélange est alors absorbé au niveau de la partie proximale de l'intestin. Le nitrate entre dans la circulation sanguine générale pour entamer un nouveau cycle.

III.1.1.3. Elimination

La plus grande proportion du nitrate ingéré va être éliminée dans les urines sous forme de nitrate, d'ammonium ou d'urée ; l'excrétion fécale reste très négligeable (**OMS, 2007**). Chez l'adulte, 65 à 70% des nitrates sont éliminés dans les urines en 24 heures. Le reste est éliminé par la sueur (10%), les larmes et les sécrétions vaginales. Il n'a pas été rapporté d'accumulation de nitrate dans les glandes mammaires ni dans le lait (**INSPQ, 2003**). D'après l'**AFSSA (2004)**, cette incertitude reste à lever.

III.1.2. Pharmacocinétique et biotransformation du nitrite

III.1.2.1. Absorption

Le nitrite peut être ingéré directement ou formé suite à la transformation bactérienne du nitrate. Comme décrit précédemment, le mélange nitrate/nitrite va être véhiculé dans le tractus gastro-intestinal via la salive. Des études réalisées sur des rongeurs ont montré que le nitrite peut être absorbé aussi bien au niveau gastrique qu'au niveau intestinal (**OMS, 2004 ; INSPQ, 2003**).

III.1.2.2. Distribution

Une fois que le nitrite est absorbé et arrive dans le sang, il va subir une oxydation par l'hémoglobine et conduire à la formation de la méthémoglobine (IARC, 1998).

Le nitrite est facilement converti en composés N-nitrosés dans un milieu acide tel que l'environnement gastrique. Cette conversion se fait suite à la transformation du nitrite en espèces nitrosantes qui peuvent réagir avec divers composés tels que les amides, et les amines pour former ces composés nitrosés (Vermeer et van Maanen, 2001). La vitamine C, la vitamine E et d'autres polyphénols peuvent toutefois inhiber cette conversion du nitrite (Levallois et Phaneuf, 1992).

Le nitrite ne s'accumule pas dans les glandes mammaires (Fan et al., 1987). Cependant, des études menées chez le rat ont montré que les nitrites pouvaient traverser la barrière placentaire et causer une méthémoglobinémie fœtale chez le rat (OMS, 2007).

III.1.2.3. Elimination

L'essentiel du nitrite endogène est soit oxydé en nitrate soit transformé en molécules nitrosantes. Seule une très faible proportion est éliminée sous forme inchangée (OMS, 2004).

Ces différentes étapes de pharmacocinétique et biotransformation du nitrate et du nitrite sont résumées dans la figure 14.

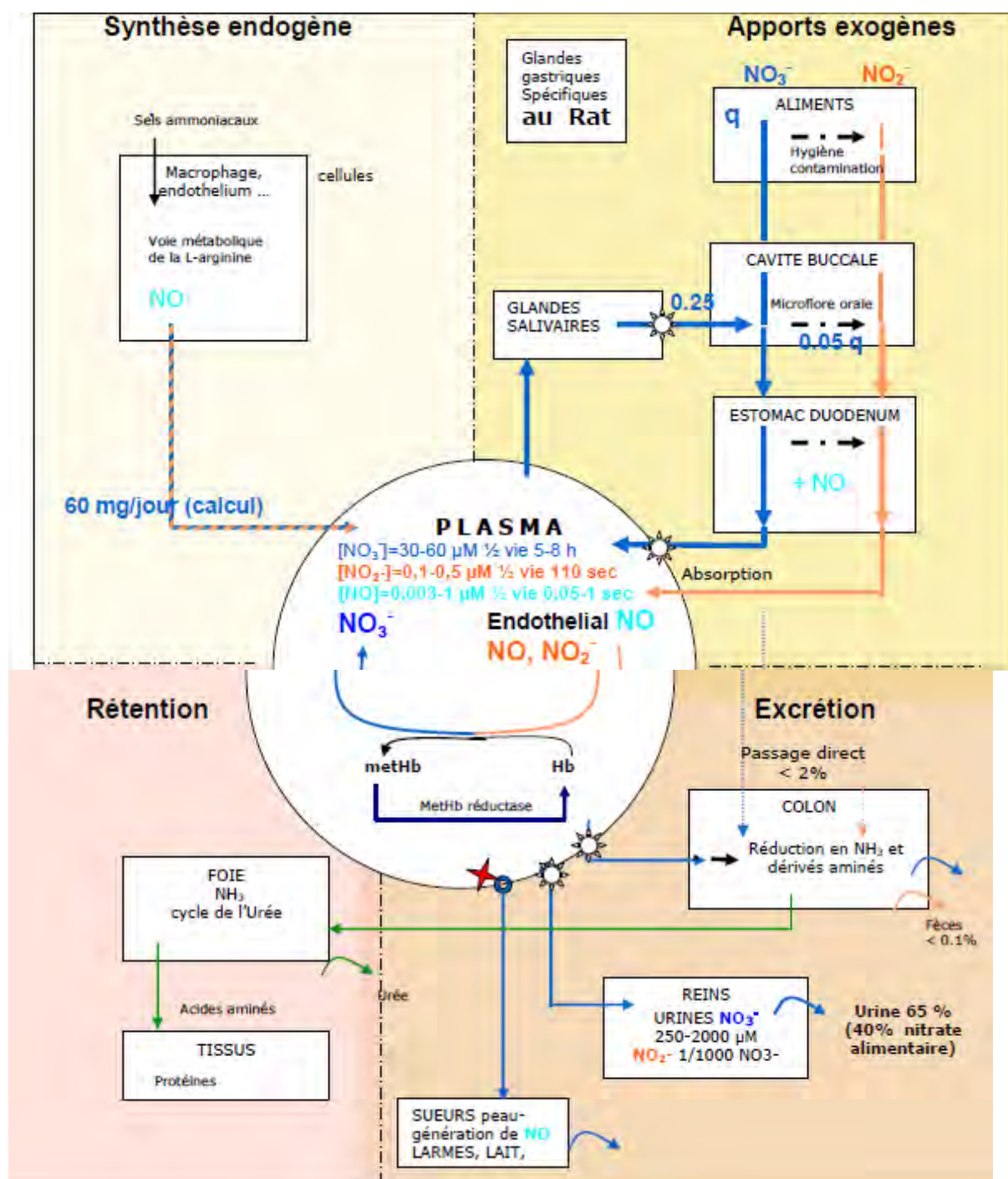


Figure 14 : Métabolisme du nitrate et du nitrite chez l'homme (AFSSA, 2004)

III.1.3. Taux de transformation du nitrate en nitrite

La transformation du nitrate en nitrite est essentiellement due à des bactéries logées tout au long du tractus bucco-gastro-intestinal. Le taux de transformation est fonction de la quantité de nitrate ingéré et des espèces bactériennes qui logent dans ce tractus.

Cependant, les niveaux de nitrite sont assez fluctuants. Ils varient selon le moment de la journée et l'âge des individus. En effet, le taux de nitrite endogène est plus élevé le jour que la nuit et les personnes âgées ont des teneurs plus importantes que les jeunes (**Siddiqi et al., 1992**).

Il existe également des variations individuelles du taux de conversion du nitrate en nitrite. Ces variations sont liées au débit de salive, au métabolisme hydrique et à l'hygiène buccale (**Eisenbrand et al., 1980 ; Siddiqi et al., 1992**) . Une étude menée par **Siddiqi et al. (1992)** a montré que le taux de conversion du nitrate en nitrite était de 25,2% et 17,4% respectivement dans des populations égyptiennes et allemandes.

Une fois dans l'organisme, les nitrates et nitrites peuvent avoir des effets divers selon la dose ingérée, l'état physiologique de l'individu et les particularités intrinsèques individuelles.

III.2. Effets toxiques aigus

III.2.1. Létalité

Il a été rapporté dans la littérature de nombreuses doses de nitrate et nitrite létales chez l'homme. Cette pluralité est certainement due à la sensibilité de chaque individu. D'après **Mirvish (1991)** cité par **Santé Canada (2013)**, les doses létales du nitrate fluctuent entre 4 et 5 g. Quant au nitrite, les doses létales chez l'homme varient entre 1,6 et 9,5 g. Selon **Boink et al. (1999)** cités par **Santé Canada (2013)**, les doses létales les plus faibles ont été notées chez les

enfants, les personnes âgées mais également les individus présentant un déficit en méthémoglobine réductase.

III.2.2.Méthémoglobinémie

III.2.2.1.Mécanisme (Levallois et Phaneuf, 1992)

L'intoxication aigüe au nitrite se manifeste principalement par la méthémoglobinémie. Dans le sang, l'ion fer de l'hémoglobine peut se présenter soit sous la forme réduite (fer ferreux Fe^{2+}) soit sous la forme oxydée (fer ferrique Fe^{3+}). L'hémoglobine à fer ferreux correspond à l'oxyhémoglobine et l'hémoglobine à fer ferrique correspond à la méthémoglobine.

Lorsque le nitrite parvient dans le sang, il va entraîner une oxydation de l'oxyhémoglobine en méthémoglobine. La résultante de cette réaction est dite méthémoglobinémie. Le principal effet toxique de la méthémoglobine est lié au fait qu'elle est incapable de fixer et de transporter l'oxygène. Il s'ensuit alors un défaut d'oxygénation des divers tissus.

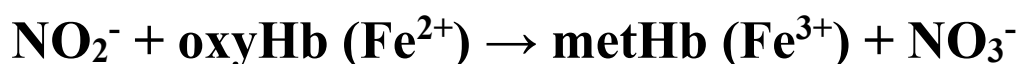


Figure 15 : Mécanisme de la méthémoglobinémie (Chébékoué, 2008)

III.2.2.2. Populations à risque

III.2.2.2.1. Les enfants

La population la plus touchée par la méthémoglobinémie est constituée par les enfants de moins de 3 mois (OEHHA, 1997). De nombreux cas de nourrissons intoxiqués ont été rapportés. Cela est observé lorsque les concentrations de nitrate dans l'eau sont supérieures à 25 mg /L (Levallois et Phaneuf, 1992). Ce risque de méthémoglobinémie est d'autant plus grave lorsque l'eau a une

contamination microbiologique très importante. En effet, les bactéries vont accroître la formation de nitrite dans le tractus gastro-intestinal.

La vulnérabilité des nourrissons face à la méthémoglobinémie peut s'expliquer par leur pH gastrique, leur faible capacité enzymatique et la qualité de leur hémoglobine (OEHHA, 1997):

III.2.2.2.1.1. Le pH gastrique

Le pH gastrique des nourrissons est favorable à la multiplication bactérienne car il est assez élevé. Cette présence bactérienne importante va accentuer la formation de nitrites.

III.2.2.2.1.2. La faible capacité enzymatique

Il existe dans l'organisme deux enzymes permettant la réduction de la méthémoglobine en hémoglobine. Ces méthémoglobine-réductases sont de deux types : l'une est NADH dépendant et l'autre est NADPH-dépendant. Chez les nourrissons, ce mécanisme enzymatique est peu développé d'où une plus grande sensibilité à la méthémoglobinémie.

III.2.2.2.1.3. La nature de l'hémoglobine

Les nourrissons de moins de 3 mois possèdent encore l'hémoglobine fœtale. Or l'hémoglobine fœtale est plus facile à oxyder que l'hémoglobine des adultes. Cela explique la plus grande prédisposition des nourrissons à être intoxiqués par la méthémoglobine.

Il faut noter que le nourrisson allaité n'est pas sujet au risque de méthémoglobinémie car le nitrate et le nitrite ne se retrouve pas dans le lait.

III.2.2.2.2. Les femmes enceintes

Les femmes enceintes constituent également une population à risque en matière de méthémoglobinémie. En effet dans la trentième semaine de grossesse, les niveaux de méthémoglobine physiologique peuvent augmenter jusqu'à 10%

alors que les normes sont comprises entre 0,5 et 2,5%. Cependant aussitôt après l'accouchement, le taux de méthémoglobine physiologique redevient normal (IPCS, 1999).

Les autres populations à risque sont représentées par les personnes déficientes en méthémoglobine-réductase et les adultes atteints de certaines pathologies gastriques telles que l'achlorhydrie ou l'atrophie gastrique (OMS, 2004).

III.2.2.3. Manifestations

La toxicité de la méthémoglobine se manifeste principalement par une cyanose lorsque le taux atteint 10%. C'est cette cyanose qui est l'origine de l'aspect bleuté des nourrissons à peau claire. Cette pathologie est communément appelée « syndrome du bébé bleu ».

Lorsque le taux de méthémoglobine dans le sang atteint 20%, l'individu va manifester des céphalées, des étourdissements et des difficultés respiratoires ; le tout marqué par une fatigue généralisée. A partir de 50%, l'individu va se retrouver dans un état convulsif voire comateux (Hall, 1986). Une prise en charge tardive peut être fatale.

III.3. Effets toxiques chroniques

III.3.1. Effets sur la thyroïde

L'ingestion de nitrate entraîne d'une part une inhibition de l'absorption de l'iodure par la thyroïde. La conséquence est une diminution de la sécrétion des hormones thyroïdiennes (triiodothyronine ou T3, thyroxine ou T4). D'autre part, il est noté une augmentation des hormones thyroïdiennes. Cette diminution des hormones thyroïdiennes va générer une perturbation du développement neurologique et squelettique mais aussi une perturbation du métabolisme (Santé Canada, 2013).

Des études confirmant ces effets du nitrate ont été réalisées chez des femmes enceintes au Pays-Bas (**Van Maanen et al., 1994**) mais également chez des enfants en Slovaquie (**Radikova et al., 2008**). Dans les deux cas, il a été observé une augmentation du volume de la thyroïde suite à une ingestion d'eau à forte teneur en nitrate.

III.3.2. Effets sur la reproduction et le développement

Des études ont pu mettre en évidence une association positive entre l'exposition au nitrate et au nitrite et des complications chez les femmes enceintes. Ces complications peuvent être : des avortements spontanés, un défaut de croissance intra-utérine, un travail long et difficile (**Brender et al., 2004**). Outre ces complications au cours de la grossesse, il est aussi noté des anomalies de développement telles qu'un faible poids à la naissance, des défauts de développement du tube neural voire l'anencéphalie chez le nouveau-né (**Ward et al., 2007**).

En 1997, un rapport de l'OEHHA a fait état de plusieurs cas d'avortements spontanés chez des femmes résidant en Inde et ayant consommé de l'eau de puits contaminée par un taux élevé de nitrate (**OEHHA, 1997**).

Scragg et al. (1982) cités par **Santé Canada (2013)** ont pu établir une association entre l'augmentation du risque de morti-naissances (avortement spontané, mortinatalité) et des teneurs en nitrate variant de 5 à 45mg/L d'eau de boisson. Dans leurs travaux cités par **Santé Canada (2013)**, **Manassaram et al. (2006)** ont passé en revue l'essentiel des études réalisées pour déterminer les effets sur la reproduction et le développement causés par l'exposition au nitrate dans l'eau. Ils ont pu ainsi établir que la prématurité et le faible poids à la naissance étaient associés à des teneurs en nitrate comprises entre 8 et 54 mg/L d'eau de boisson.

III.3.3.Cancer

L'effet cancérigène du nitrate et du nitrite chez l'homme a fait l'objet de nombreuses études réalisées pour l'essentiel sur la base d'expérimentations animales. Dans ses conclusions, **Grosse et al. (2006)** retiennent que le nitrate et le nitrite sont probablement cancérogènes chez l'homme lorsque les conditions de nitrosation endogène sont réunies. Ces conclusions sont confirmées par le **CIRC (2010)** qui a classé le nitrate et le nitrite dans la catégorie 2A (substances probablement cancérigènes pour l'humain).

III.3.3.1. Nitrosation endogène

III.3.3.1.1. Précurseurs

Les composés nitrosés (nitrosamines, nitrosamides) sont formés suite à la réaction entre des composés nitrosables et des agents nitrosants. Cette réaction est appelée nitrosation. Les agents nitrosants peuvent provenir du tabac, des aliments et de l'eau. Ils peuvent également être synthétisés dans l'organisme à partir du nitrate et du nitrite. Les composés nitrosables se résument en deux grands groupes à savoir les amines qui vont former les nitrosamines et les amides qui vont former les nitrosamides.

III.3.3.1.1.1. Les amines

Les amines secondaires sont abondantes dans les aliments notamment dans les produits carnés (**Zeisel et al., 1985**). Les amines tertiaires se retrouvent dans de nombreux médicaments. La tyramine qui est une amine primaire est généralement présente dans les fromages. Toutes ces amines sont des composés nitrosables (**Santé Canada, 2013**).

III.3.3.1.1.2. Les amides

Les amides les plus fréquemment rencontrés sont l'urée et ses dérivés ainsi que les carbamates qui sont retrouvés dans les médicaments mais également dans les pesticides (**Mirvish, 1975**).

III.3.3.1.1.3. Les autres composés nitrosables (Santé Canada, 2013).

Il existe d'autres composés nitrosables tels que les amidines, les guanidines, les hydrazines, les hydrazones.

Il faut noter qu'outre les sources exogènes, certains composés nitrosables sont synthétisés dans l'organisme. C'est le cas de la DMA, la pipéridine et la pyrrolidine.

III.3.3.1.2. Mécanisme de nitrosation endogène

La nitrosation endogène peut se faire suivant deux mécanismes. Elle peut être catalysée soit par un acide soit par des bactéries et des cellules de mammifère.

III.3.3.1.2.1. Nitrosation catalysée par un acide (Santé Canada, 2013)

La principale voie de nitrosation endogène est celle qui est catalysée par un acide. En effet, l'acidité gastrique est primordiale pour permettre la conversion du nitrite en acide nitreux. L'acide nitreux est un composé instable qui va rapidement se transformer en anhydride nitreux. C'est cet anhydride nitreux qui représente l'agent nitrosant actif.

Outre les acides, la nitrosation endogène peut également être catalysée par d'autres substances telles que les alcools, les aldéhydes, la caféine et l'hème. La caféine agit en augmentant la sécrétion d'acide au niveau de l'estomac. Quant à l'hème, elle agit en convertissant l'oxyde nitrique en divers oxydes d'azote qui sont des agents nitrosants. Sachant que l'hème se retrouve essentiellement dans la viande rouge, cela explique la corrélation importante entre le cancer et la consommation de viande rouge.

III.3.3.1.2.2. Nitrosation à médiation cellulaire

Au delà l'acidité, la nitrosation peut également être catalysée par les bactéries et les cellules de mammifère. La principale bactérie incriminée est *Helicobacter pylori*. D'une part, elle entraîne une gastrite chronique à l'origine d'une atrophie intestinale et d'une hypochlorhydrie. Cette hypoacidité va générer une

hausse de la concentration de nitrite dans le suc gastrique (**Vermeer et al., 2002**). D'autre part, cette bactérie cause une réaction inflammatoire qui va stimuler la formation de composés nitrosés. Cette nitrosation à médiation cellulaire peut se dérouler à divers endroits dans l'organisme. Elle est qualifiée de nitrosation non gastrique.

III.3.3.1.3. Effets cancérigènes des composés N-nitrosés (Hallé, 2002)

Il a été démontré que plus de 300 composés N-nitrosés (CNO) sont capables de produire des tumeurs chez plus de 40 espèces animales. L'action de ces composés N-nitrosés dépend de leur cible (organique ou cellulaire), de leur dose et de leur durée d'exposition.

D'après **Tricker (1991)** cité par **Hallé (2002)**, les CNO vont d'abord subir une conversion en dérivés instables. Pour les nitrosamines, il s'agit d'une conversion métabolique par les cytochromes P 450. Pour les nitrosamides, la conversion est non enzymatique. Le métabolisme des nitrosamines génère des produits actifs alcoylants qui réagissent avec l'ADN, l'ARN et les protéines.

La formation des composés N-nitrosés ainsi que leurs effets carcinogènes sont représentés dans la figure 16.

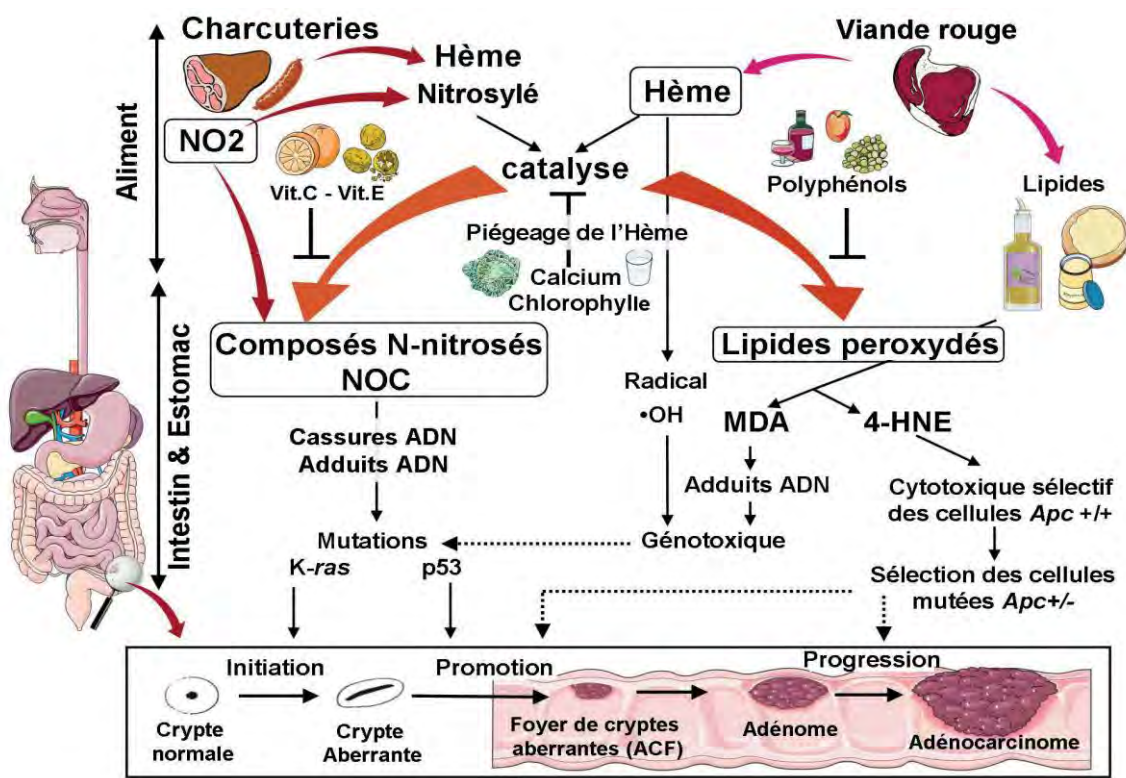


Figure 16 : Composés N-nitrosés et cancérogenèse (Corpet, 2012)

III.3.3.2. Les principaux types de cancer liés aux nitrates et nitrites

III.3.3.2.1. Cancer colorectal

Le cancer colorectal constitue chez les non-fumeurs la plus fréquente des tumeurs mortelles dans les pays occidentaux (Parnaud et Corpet, 1997). Une étude a été réalisée par De Roos et al. (2003) cités par Santé Canada (2013) chez des individus consommant peu de fruits et légumes et ayant un régime très riche en viande notamment transformée. Les conclusions ont pu établir que l'apport en nitrite d'origine carnée était positivement associé au cancer du côlon.

En 2010, les chercheurs de l'INRA de Toulouse ont pu démontrer, dans un modèle animal, que la consommation de charcuteries est directement responsable de lésions tumorales au niveau du côlon. Les charcuteries modèles en cause étaient celles qui avaient subi plusieurs transformations (ajout de nitrite et cuisson) et qui sont riches en hème (INRA, 2010). En outre, les études de

Richi et al. (2015) confortent cette corrélation entre la consommation de viande transformée et le cancer colorectal comme l'illustre la figure 17.

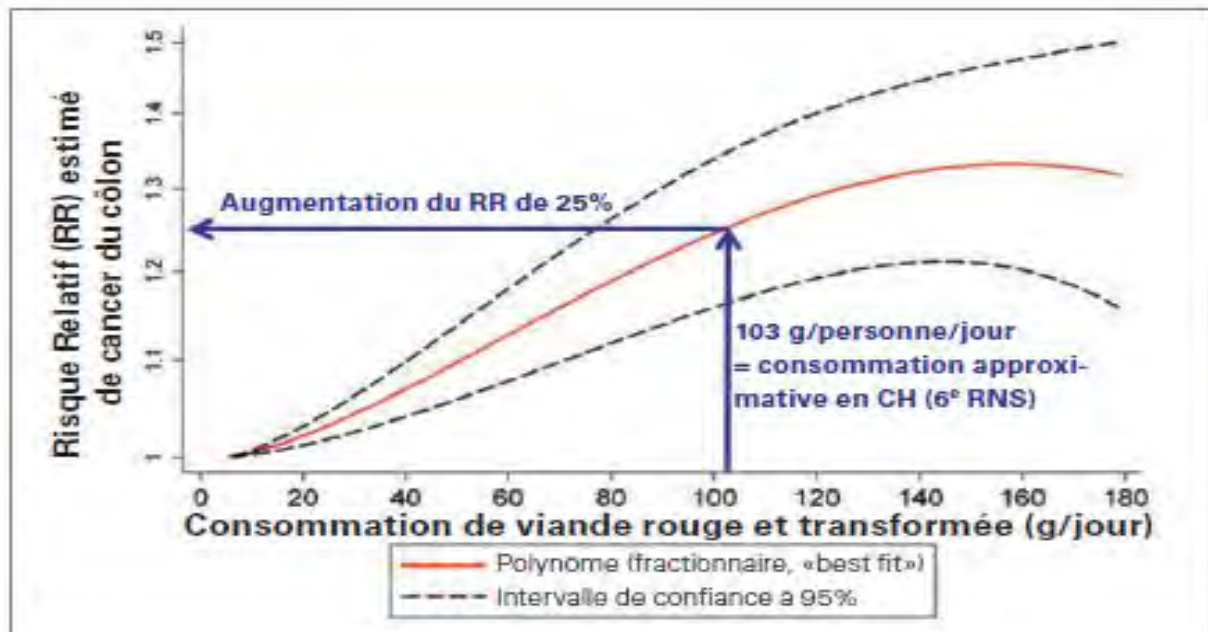


Figure 17 : Risque relatif de cancer colorectal en cas de consommation croissante de viande rouge et transformée (Richi et al., 2015)

III.3.3.2.2. Cancer de l'estomac

Des études réalisées en Slovaquie, en Espagne et en Hongrie ont pu mettre en évidence une corrélation positive entre la survenue du cancer de l'estomac et des concentrations élevées de nitrate dans l'eau potable. Ces concentrations historiques de nitrate étaient de l'ordre de 44mg NO₃/L. En outre, une association positive entre le cancer de l'estomac et l'apport alimentaire en nitrite de même qu'une interaction significative avec la vitamine C ont été observées dans deux études cas/témoins (**Santé Canada, 2013**). Ces études ont été réalisées par **Mayne et al. (2001)** et **Rogers et al. (1995)** cités par **Santé Canada (2013)**. Une étude cas-témoign réalisée par **Jakszyn et al. (2006b)** a également pu établir une association positive entre l'ingestion de nitrate et le cancer de l'estomac.

III.3.3.2.3. Cancer de la vessie

L'étude cohorte de **Chiu et al.(2007)** ainsi que l'étude cas-témoin de **Weyer et al.(2001)** cités par **Santé Canada (2013)** ont pu mettre en évidence une association entre le cancer de la vessie et des teneurs élevées de nitrate dans l'eau potable. Ces teneurs étaient respectivement de l'ordre de 13 mg NO₃⁻/L et 11 mg NO₃⁻/L.

III.3.3.2.4. Cancer du cerveau

Les études effectuées pour déterminer une association entre le cancer du cerveau et l'apport de nitrate ou de nitrite ont donné des résultats mitigés. Si certaines de ces études n'ont trouvé aucune association (**Ward et al., 2005**) ou ont trouvé une association inverse (**Chen et al., 2002**), d'autres par contre ont pu établir une corrélation positive entre l'incidence du cancer du cerveau et le taux de nitrate dans l'eau potable (**Santé Canada, 2013**).

Plusieurs études cas-témoins réalisées chez des enfants ont pu mettre en évidence une association entre les tumeurs du cerveau et la consommation de salaisons par les mères au cours de la grossesse ou par les enfants eux-mêmes (**Santé Canada, 2013**).

L'incidence et la mortalité de certains cancers dans le monde sont présentées dans la figure 16. Ce schéma montre que le cancer du côlon est le troisième type de cancer le plus mortel dans le monde suivi du cancer de l'estomac. Ces types de cancer peuvent tous les deux être causés par les composés N-nitrosés.

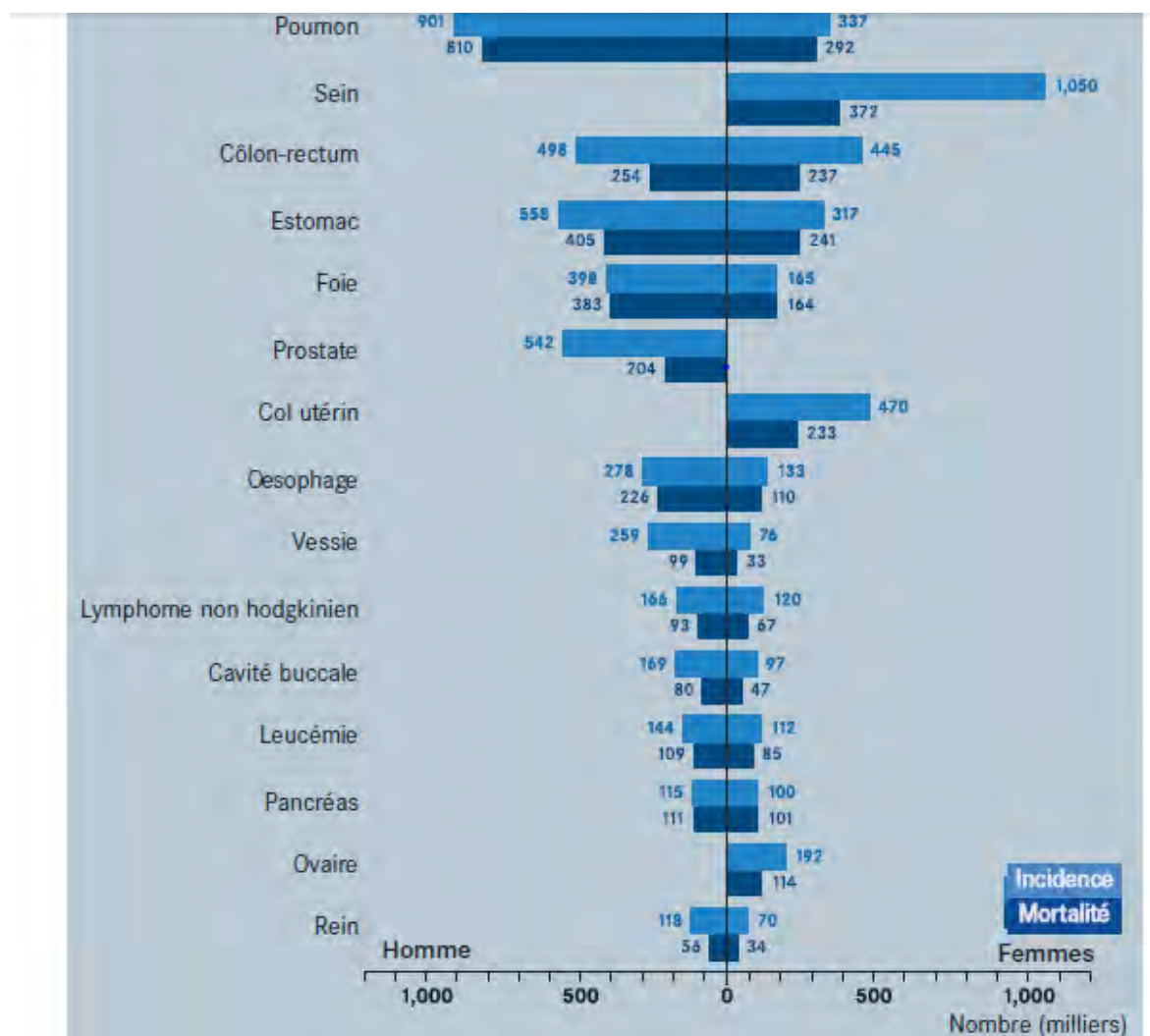


Figure 18: Incidence et mortalité des cancers les plus répandus dans le monde (IARC, 2000)

III.3.4. Diabète sucré

Les nitrites peuvent être transformés durant le processus de digestion en peroxy-nitrites qui sont des substances favorisant la survenue du diabète. En effet, il a été établi une corrélation entre les concentrations de nitrite dans le sang et une perturbation de la sensibilité des récepteurs à l'insuline (**Richi et al., 2015**).

Deux études réalisées respectivement au Colorado et dans le Yorkshire ont établi une corrélation positive entre l'incidence du diabète insulino-dépendant et

les concentrations en nitrate dans l'eau potable. Ces études ont été réalisées chez des enfants de 0 à 18 ans (**Santé Canada, 2013**).

III.3.5. Autres effets

III.3.5.1. Autres effets du nitrate (U.S.EPA, 2006)

D'autres effets ont été rapportés comme étant la résultante d'une exposition au nitrate. En effet, chez les enfants, il a été observé des diarrhées récurrentes ainsi qu'une plus grande sensibilité aux infections respiratoires. Chez les adultes, l'exposition chronique au nitrate peut entraîner une polyurie et une hémorragie de la rate. Des doses très importantes de nitrate peuvent également causer des douleurs abdominales, des évanouissements mais aussi une hématurie.

III.3.5.2. Autres effets du nitrite

Les autres effets du nitrite sont liés à sa capacité à causer une hypotension. C'est pourquoi il est même utilisé dans le traitement de l'angine de poitrine (**IPCS, 1999**). L'angine de poitrine est une insuffisance coronarienne due à un fort rétrécissement du calibre des artères coronaires. Le nitrite intervient en permettant la dilatation de ces artères (**Chébékoué, 2008**).

Les risques découlant de l'ingestion de nitrate et de nitrite sont très variés et ont été reportés par de nombreuses études. La conséquence la plus redoutée est liée à la formation de composés N-nitrosés (CNO) à l'origine de divers types de cancer. Face au profil toxicologique de ces additifs nitrés, des réglementations et normes ont été élaborées afin de prévenir ces risques et d'assurer une utilisation rationnelle du nitrate et du nitrite dans les aliments. En outre, plusieurs méthodes de dosage ont été développées afin de pouvoir contrôler la teneur de ces agents nitrés dans les différentes matrices alimentaires.

Chapitre IV : Règlementations relatives aux nitrates et aux nitrites

IV.1. La dose journalière acceptable (DJA) (OMS, 1995)

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a établi une dose journalière acceptable(DJA) respectivement pour le nitrate et pour le nitrite. La DJA pour le nitrate s'élève à 3,7 mg de $\text{NO}_3^-/\text{kg}/\text{j}$ et elle a été trouvée à partir d'une dose sans effet nocif observé(DSENO) qui s'élève à 370 mg de $\text{NO}_3^-/\text{kg}/\text{j}$. Cette DSENO découle d'une étude de toxicité chronique chez le rat. Un facteur d'incertitude de 100 a ainsi été appliqué pour trouver la DJA.

Concernant le nitrite, la DJA est de 0,06 mg de $\text{NO}_2^-/\text{kg}/\text{j}$. Cette valeur a été trouvée suite à deux études de toxicité réalisées chez des rats de 90jr et de 2 ans. Ces études ont permis de trouver une DSENO de 6 mg de $\text{NO}_2^-/\text{kg}/\text{j}$ à laquelle on a appliqué un facteur d'incertitude de 100. Il faut noter que ces DJA ne s'appliquent pas aux nourrissons de moins de trois mois.

IV.2.Règlementations relatives au nitrate et au nitrite dans les produits à base de viande

IV.2.1. Cas de la Commission du *Codex Alimentarius*

Le *Codex Alimentarius* comprend plusieurs comités parmi lesquels figure le Comité du *Codex* sur les Additifs Alimentaires. Ce comité a mis au point le système international de numérotation (SIN) pour les additifs alimentaires. Il permet de simplifier l'identification des additifs dans la liste des ingrédients au lieu d'utiliser les noms spécifiques qui sont en général très longs. Ce système international de numérotation figure dans la norme CAC/GL 36-1989. Cette norme a été adoptée en 1989, révisée en 2008 puis amendée en 2015. Les numéros SIN des nitrates et nitrites sont présentés dans le tableau VI.

Tableau VI : Emplacement du nitrate et du nitrite dans le SIN (*Codex Alimentarius*, 1989)

No de SIN	Nom de l'additif	Catégorie fonctionnelle
249	Nitrite de potassium	Agent de rétention de la couleur/Conservateur
250	Nitrite de sodium	Agent de rétention de la couleur/Conservateur
251	Nitrate de sodium	Agent de rétention de la couleur/Conservateur
252	Nitrate de potassium	Agent de rétention de la couleur/Conservateur

La Norme Générale *Codex* pour les Additifs Alimentaires (NGAA) a mis au point les conditions dans lesquelles les additifs alimentaires autorisés doivent être utilisés dans toutes les catégories d'aliments. Elle a été adoptée en 1995 et la dernière révision date de 2015. Dans cette norme, il n'y a pas de disposition relative au nitrate. Pour tout type de viande transformée ou pas, la concentration maximale de nitrite a été fixée à 80 mg/kg (*Codex Alimentarius*, 1995). Par ailleurs, une norme spécifique a été élaborée pour le jambon cuit. Dans cette norme, la limite maximale de nitrite résiduel a été plafonnée à 125mg/kg (*Codex Alimentarius*, 2010).

IV.2.2. Cas du comité mixte FAO/OMS d'experts sur les additifs alimentaires (JECFA)

Le Comité Mixte FAO/OMS d'experts sur les additifs alimentaires n'est pas officiellement une structure de la commission du *Codex Alimentarius*. Il est

composé d'experts scientifiques indépendants qui transmettent leurs avis à la commission du *Codex*. Il élabore des lignes directrices pour un niveau maximum autorisé d'additifs dans les aliments. Les dispositions relatives aux nitrates (SIN 251, 252) et aux nitrites (SIN 249, 250) proposées par le JECFA sont contenues dans le document **CX/FA 17/49/11 (*Codex Alimentarius*, 2017)**. Ces dispositions ont fait l'objet de discussion à la quarante-huitième et à la quarante-neuvième session du *Codex Alimentarius*. Il s'agissait de déterminer les limites maximales à adopter ainsi que leur mode d'expression c'est-à-dire en quantité ajoutée ou en quantité résiduelle. Nous allons nous focaliser sur les limites maximales en quantité résiduelle.

IV.2.2.1. Limites maximales de nitrate selon le JECFA (Tableau VII)

Tableau VII : Limites maximales de nitrate autorisées dans les produits carnés selon le JECFA (*Codex Alimentarius*, 2017)

Catégories d'aliments	Limites maximales en mg/kg
Viande fraîche en pièces entières ou en morceaux	150
Viande fraîche coupée fin ou hachée	150
Viande saumurée, transformée non cuite, en pièces entières ou en morceaux	1600
Viande fermentée saumurée et séchée, transformée non cuite, en pièces entières ou en morceaux	450
Viande fermentée transformée non cuite, en pièces entières ou en morceaux	450
Viande transformée, traitée thermiquement en pièces entières ou en morceaux	365
Viande congelée, transformée, en pièces entières ou en morceaux	220
Viande saumurée, non traitée thermiquement, transformée, coupée fin ou hachée	1250
Viande saumurée et séchée non traitée thermiquement, transformée, coupée fin ou hachée	365
Viande fermentée non traitée thermiquement, transformée, coupée fin ou hachée	365
Viande traitée thermiquement transformée, coupée fin ou hachée	365
Viande congelée, transformée, coupée fin ou hachée	365

IV.2.2.2. Limites maximales de nitrite selon le JECFA (Tableau VIII)

Tableau VIII : Limites maximales de nitrite autorisées dans les produits carnés selon le JECFA (*Codex Alimentarius*, 2017)

Catégories d'aliment	Limites maximales (mg/kg)
Viande fraîche, en pièces entières ou en morceaux	130
Viande coupée fin ou hachée	130
Viande saumurée transformée non cuite, en pièces entières ou en morceaux	420
Viande saumurée et séchée, transformée non cuite, en pièces entières ou en morceaux	300
Viande fermentée, transformée non cuite, en pièces entières ou en morceaux	130
Viande congelée, transformée, en pièces entières ou en morceaux	170

IV.2.3. Cas de l'Union Economique et Monétaire Ouest Africaine (UEMOA)

Au niveau régional, il existe trois types de textes importants à signaler : les Décisions, les Directives et les Règlements qui émanent des instances de l'UEMOA. Les derniers en date relatifs aux aliments sont (**Hounyo, 2008**) :

- ✓ le Règlement n°01/2005/CM/UEMOA du 04 juillet 2005 portant schéma d'harmonisation des activités d'accréditation, de certification, de normalisation et de métrologie dans l'UEMOA ;
- ✓ le Règlement n° 07/2007/CM/UEMOA du 06 Avril 2007 relatif à la sécurité sanitaire des végétaux, des animaux et des aliments dans l'UEMOA.

Aucun article de ces règlements ne mentionne les conditions d'utilisation des additifs alimentaires. L'utilisation des nitrates et nitrites dans les produits à base de viande demeure sans indication.

IV.2.4. Cas de l'Union Européenne (UE)

En Europe, la réglementation des additifs alimentaires est faite suivant le principe de la liste positive. Ce qui veut dire que tout produit qui ne figure pas sur cette liste est interdit d'utilisation.

Les additifs sont désignés par des codes commençant par la lettre E et suivie d'un numéro rappelant le SIN.

Au sein de l'Union Européenne, l'utilisation des nitrates et nitrites étaient auparavant régie par la Directive 95 /2/CE. Elle découle d'une harmonisation des réglementations nationales et comporte une liste positive des additifs alimentaires pouvant être utilisés au sein de l'UE. Elle fixe également le mode d'emploi de ces différents additifs (**Tableau IX**).

Tableau IX : Limites maximales et quantités résiduelles autorisées de nitrate et de nitrite dans les produits à base de viande (Communauté Européenne, 1995)

Nom de l'additif	Denrées alimentaires	Doses indicatives d'incorporation	Quantités Résiduelles
Nitrite	Produit de charcuterie et de salaison non cuits, séchés	150mg/kg	50mg/kg
	Autres produits de salaison et charcuterie	150 mg/kg	100mg/kg
	Produits de viande en Conserve	150 mg/kg	100mg/kg
	Bacon traité en salaison		175mg/kg
Nitrate	Produit de charcuterie et salaison	300 mg/kg	250 mg/kg
	Produit de viande en conserve	300 mg/kg	250 mg/kg

Actuellement, l'utilisation des additifs alimentaires repose sur le Règlement (CE) n° 1333/2008. Ce règlement est une continuité de la Directive 95/2/CE. En effet, les additifs autorisés dans les denrées alimentaires en vertu de la directive 95/2/CE sont répertoriés dans l'annexe II du règlement (CE) n° 1333/2008. Cependant des modifications ont été apportées par ce nouveau règlement en ce qui concerne les quantités d'incorporation de nitrite. Ainsi, dans les viandes transformées traitées thermiquement, la limite maximale d'incorporation est fixée à (Commission Européenne, 2008) :

- ✓ 150 mg/kg de nitrite de sodium pour les produits non stérilisés,
- ✓ 100 mg/kg de nitrite de sodium pour les produits stérilisés.

Pour ce qui est de la quantité résiduelle maximale de nitrite dans les viandes transformées traitées thermiquement, elle s'élève à 100 mg/kg de nitrite de sodium.

IV.2.5. Règlementation par pays

IV.2.5.1. Cas de l’Egypte (Shahat et *al.*, 2016)

En Egypte, l’utilisation du nitrate et du nitrite est admis dans les produits carnés comme agents conservateurs. Cependant, l’organisation égyptienne de standardisation (Egyptian Organization for Standardization and Quality-EOS) a fixé une limite maximale de 100ppm comme quantité résiduelle de nitrite dans les produits carnés qu’ils soient crus, cuits, salés, séchés.

IV.2.5.2. Cas du Maroc

Au Maroc, le ministère de l’agriculture et de la pêche maritime s’est associé au ministère de la santé pour mettre en place une circulaire conjointe relative aux additifs alimentaires. Cette circulaire a une grande similitude avec la Directive européenne 95/2/CE comme le montre le tableau X.

Tableau X : Valeurs résiduelles de nitrate et nitrite autorisées dans les produits carnés (Maroc, Circulaire conjointe relative aux additifs alimentaires, 2009)

Nom de l’additif	Denrées alimentaires	Quantités résiduelles en mg/kg
Nitrite	❖ Produits de charcuterie et de salaison non cuits, séchés	❖ 50
	❖ Autres produits de charcuterie et de salaison, produits de viande en conserve	❖ 100
	❖ Bacon traité en salaison	❖ 175
Nitrate	❖ Produits de charcuterie et de salaison, produits de viande en conserve	❖ 250

IV.2.5.3. Cas du Bénin (Bamba, 2011)

Les textes législatifs béninois ne font pas mention de l'utilisation des nitrates et nitrites dans les PCSCV. Cependant au niveau du Décret n°85-244 du 14 juin 1985, l'annexe fait référence aux normes du *Codex Alimentarius* : n°89.76 (luncheon meat), n°88.76 (Corneed beef), n°98.1978 (chopped meat), n°96.1978 et 97.1978 (jambon et épaule cuits). Ces normes précisent les quantités maximales de nitrate et nitrite à incorporer dans certains produits carnés.

IV.2.5.4. Cas du Sénégal (Bamba, 2011)

Le contrôle de la sécurité sanitaire des denrées alimentaires est régi au Sénégal par une loi de base à savoir la loi 66-48 du 27 mai 1966. Cette loi fondamentale est complétée par deux décrets que sont :

- ✓ le décret 68-507 apportant des précisions aux conditions de contrôle à l'importation,
- ✓ le décret 68-508 traitant des procédures de contrôle, de prélèvement, de saisie et d'analyse dans le cadre de la répression des fraudes.

En ce qui concerne l'importation des produits à base de viande, l'article 1^{er} du Décret n°87-114 du 3 Février 1987 mentionne que l'importation des produits à base de viande tels que les saucissons, les autres préparations et conserves de viande est libre.

Aucun de ces textes ne fait référence aux conditions d'utilisation des additifs alimentaires. L'emploi du nitrate et du nitrite demeure sans indication.

La mise en place de limites maximales d'utilisation pour le nitrate et le nitrite impose parallèlement le développement de méthodes de dosage appropriées pour les quantifier. Les différentes techniques de dosage du nitrate et du nitrite sont abordées dans le chapitre V.

Chapitre V : Méthodes de dosage des nitrates et nitrites

Les nitrates et nitrites doivent d'abord être extraits afin qu'ils puissent être dosés sans que les résultats ne soient biaisés par d'autres molécules et ions.

V.1. Phase d'extraction

Le dosage des nitrates et nitrites peut se faire suivant plusieurs types de protocoles analytiques. La plupart de ces protocoles comportent une phase d'extraction aqueuse en milieu alcalin. Cette phase permet notamment d'éviter la destruction des nitrites mais aussi d'éliminer la matière grasse et les protéines pour une purification du substrat à doser.

Il existe diverses techniques d'extraction mais celle qui est la plus utilisée est la technique de défécation. Selon **Usher et Telling (1975)** cités par **Guingamp et al. (1983)**, l'acétate de zinc et le ferrocyanure de potassium permet d'obtenir en milieu alcalin des filtrats très limpides (**Guingamp et Linden, 1975**).

V.2. Phase de dosage proprement dit

V.2.1. Généralités (Idrissi, 2006)

L'analyse des nitrates et des nitrites peut se faire de manière séquentielle ou de manière simultanée. Le dosage simultané est basé sur des méthodes électrochimiques associées à l'électrophorèse capillaire. Cependant, dans la pratique, ce type de dosage est rarement effectué. Pour l'essentiel, ce sont les analyses séquentielles qui sont mises en œuvre. Elles consistent d'abord à doser le nitrite initial. Le nitrate sera ensuite converti en nitrite et un second dosage des nitrites totaux sera effectué. Il s'agira alors d'effectuer la différence de concentrations entre les nitrites totaux et le nitrite initial pour retrouver la concentration en nitrate. Les différentes techniques de dosage qui seront passées en revue sont basées sur l'analyse séquentielle.

V.2.2. Conversion du nitrate en nitrite

La réduction du nitrate en nitrite peut se faire par des méthodes enzymatiques ou des méthodes chimiques.

V.2.2.1 Technique de conversion enzymatique

Les méthodes enzymatiques reposent sur l'utilisation de l'enzyme nitrate réductase. C'est une enzyme qui catalyse la réduction du nitrate en nitrite en présence de NADH ou de NADPH (Guingamp et Linden, 1983).

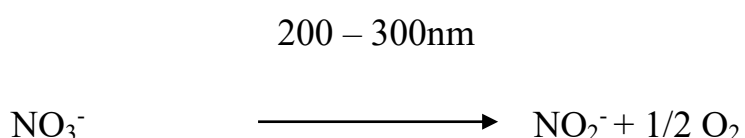
V.2.2.2. Technique de conversion chimique (Idrissi, 2006)

Plusieurs agents réducteurs se sont révélés efficaces dans la conversion du nitrate en nitrite. Il s'agit du zinc, de l'hydrazine- cuivre et du cadmium cuivré.

D'après Klein (1982) cité par Idrissi (2006), le rendement de la technique de réduction par le cadmium dépend de la granulométrie, du vieillissement du métal et du pH du milieu.

V.2.2.3. Autres techniques de conversion (Idrissi, 2006)

Une nouvelle méthode de conversion du nitrate basée sur les radiations UV a également été développée. Les longueurs d'onde de radiations utilisées varient entre 200 et 300nm. Elle se fait suivant la réaction suivante :



Dans le cas du dosage par chimiluminescence, il est nécessaire de passer par une étape de formation du monoxyde d'azote. Pour cela, le nitrate peut directement être réduit en monoxyde d'azote sans passer par la conversion en nitrite. Divers agents réducteurs peuvent être utilisés à cet effet : Ti^{3+} , V^{3+} , Mo^{5+} + Fe^{2+} et Cr^{3+} .

V.2.3. Méthodes de dosage du nitrite

Une fois que la forme réduite active (nitrite) est obtenue, son dosage est alors mis en œuvre. Il s'agit essentiellement de méthodes spectroscopiques, de méthodes électrochimiques et de méthodes chromatographiques.

V.2.3.1. Méthodes spectroscopiques

Il existe essentiellement trois méthodes de dosage spectroscopiques :

V.2.3.1.1. Méthodes spectrophotométriques

Les méthodes spectrophotométriques sont de deux types. Il s'agit de la méthode de Griess et de la méthode de Zambelli. Cependant dans les deux cas, le dosage repose sur la formation d'un complexe coloré suivant les réactions suivantes (Guingamp et Linden, 1983) :

✓ Première réaction



✓ Deuxième réaction : pour la deuxième réaction il ya deux possibilités en fonction du pH du milieu et du réactif utilisé

Sel de diazonium + phénol → Colorant azoïque : Réaction de Zambelli (pH acide)

Sel de diazonium + amine aromatique → Colorant azoïque : Réaction de Griess (pH basique)

La méthode de Griess est la méthode la plus exploitée pour le dosage du nitrite. Elle a été développée depuis 1879 et continue toujours d'être employée. Elle consiste à réaliser une réaction de diazotation entre le nitrite acidifié, le sulfanilamide et le N- (1-naphthyl) éthylenediamine. Le produit obtenu est un composé coloré. Ce composé présente une absorption comprise entre 520 et 560nm. La détermination de sa densité optique va alors permettre de déduire la

quantité de nitrite suite à l'élaboration d'une courbe d'étalonnage (Idrissi, 2006).

V.2.3.1.2. Méthode fluorimétrique (Idrissi, 2006)

La méthode fluorimétrique consiste en général à doser les ions Cerium Ce^{3+} provenant de l'oxydation du nitrite par le Ce^{4+} . Cependant des molécules autres que le Ce^{4+} peuvent être utilisées. En effet, l'acide 2-amino-4-chloro-1-hydroxybenzène-6-sulfonique ou le 4- aminofluorescien peuvent réagir avec le nitrite et donner des complexes fluorescents.

V.2.3.1.3. Méthode de dosage par chimiluminescence (Idrissi, 2006)

Le dosage du nitrite par chimiluminescence passe d'abord par une conversion du nitrite en monoxyde d'azote NO suite à une réaction avec l'iodure de potassium en milieu gazeux. Le monoxyde d'azote va ensuite réagir avec l'ozone pour donner le dioxyde d'azote à l'état excité (NO_2^*) et l'oxygène moléculaire. La molécule excitée va ensuite revenir à son état fondamental en émettant une radiation infra-rouge qui sera alors quantifiée. L'intensité de radiation émise va permettre de déduire la quantité de nitrite.

V.2.3.2. Méthodes électrochimiques

V.2.3.2.1. Méthodes voltamétriques (Idrissi, 2006)

Les méthodes de dosage voltamétriques du nitrite sont diverses. Une de ces méthodes est basée sur la réaction de Griess. Il s'agit de faire réagir le nitrite acidifié avec du phénylènediamine substitué pour obtenir du sel de diazonium qui sera réduit électrochimiquement. La réduction se fait au alentour de -0.2 V (volt). Le signal de réduction va alors être quantifié pour en déduire le taux de nitrite.

L'autre méthode pouvant être utilisée est le système iodure / iodate (I^- / I^{3-}). La technique repose sur une réaction chimique entre le nitrite et l'iodure en milieu acide pour former l'ion iodate I^{3-} . L'ion iodate va alors être réduit entre +0.2 et

+0.3V. Des micro-électrodes en platine vont permettre de quantifier l'intensité du signal de réduction. Cette intensité quantifiée va correspondre à un taux de nitrite donné.

V.2.3.2.2. Méthodes potentiométriques (Zhao Yilong et *al.*, 2015)

Les méthodes potentiométriques reposent sur l'utilisation d'une électrode sélective associée à des membranes organiques. Les membranes organiques contiennent un ionophore approprié qui possède une surface d'attachement spécifique pour le nitrite. Ces membranes vont transporter les ions nitrites de l'échantillon vers l'électrode. Il va ainsi se créer une différence de potentielle. La concentration en nitrite est alors déduite en se basant sur la courbe de calibration du potentiel.

V.2.3.3. Méthodes chromatographiques

La chromatographie est un ensemble de procédés applicables à des mélanges moléculaires ou ioniques, basés sur une différence de distribution des solutés entre une phase stationnaire et une phase mobile continue. Pour les nitrites, deux types de chromatographie peuvent être mis en œuvre à savoir la chromatographie liquide à haute performance HPLC et la chromatographie en phase gazeuse (Guingamp et *al.*, 1983).

V.2.3.3.1. Chromatographie liquide haute performance

La chromatographie permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification. Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté

dans le système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire.

En sortie de colonne, grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme. Le temps de rétention (temps au bout duquel un composé est élué de la colonne et détecté) caractérise qualitativement une substance. L'amplitude de ces pics permet de mesurer la concentration de chaque substance.

Le polystyrène divinyl benzène peut être utilisé comme phase stationnaire tandis qu'un sel de tétra-alkylammonium et son co-anion peuvent constituer la phase mobile (**Guingamp et al., 1983**).

V.2.3.3.2. Chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse répond au même principe général que les autres chromatographies. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur. Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres au bout d'un certain temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules.

La chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à capture d'électrons permet le dosage des nitrites après réaction de ceux-ci avec des dérivés benzéniques ou avec du 1-hydrazinophtalazine (**Guingamp et Linden, 1983**).

CONCLUSION PARTIELLE

La première partie a permis dans un premier chapitre de montrer les propriétés physico-chimiques, l'utilisation et les sources de nitrate et de nitrite.

Dans un second chapitre, les techniques d'utilisation des nitrates et des nitrites dans les produits à base de viande ont été présentées en mettant un accent particulier sur leurs rôles technologiques (sécurité microbiologique, couleur, saveur). Dans ce même chapitre, les interactions entre ces agents nitrés et les autres composantes de la viande ont été décrites. Une attention particulière a été mise sur la formation de nitrosamines.

Le troisième chapitre traite de la pharmacocinétique et la biotransformation du nitrate et du nitrite dans l'organisme. Dans ce même chapitre, les différents types de toxicité pouvant résulter de l'ingestion de nitrate et de nitrite ont été abordés. L'effet toxique le plus redouté est l'apparition de cancers suite à la conversion du nitrite en composés N- nitrosés.

Le quatrième chapitre est axé sur les réglementations relatives au nitrate et nitrite. En effet, vu les risques encourus par les consommateurs suite à leur exposition à ces agents nitrés, l'utilisation de ces additifs alimentaires a été réglementée dans de nombreux pays. Des exemples de réglementations ont été décrits dans ce chapitre IV.

Les techniques de dosage du nitrate et du nitrite ont été abordées dans le chapitre V. Une description brève de l'extraction et de la conversion du nitrate a d'abord été déroulée puis les différentes méthodes de dosage ont été décrites.

Face au vide juridique et à l'absence d'information relative aux taux de nitrite dans les PCSCV vendus sur le marché dakarois, des échantillons de jambon et de saucisson ont été analysés afin de pouvoir estimer le niveau de risque encouru.

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériel

Notre étude s'est déroulée dans la région de Dakar du mois de mars 2017 au mois de mai 2017. Les analyses ont été réalisées à l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar (EISMV) au niveau du Laboratoire de contrôle des médicaments vétérinaires (LACOMEV). Le matériel est constitué de matériel d'analyse et de matériel biologique.

I.1. Matériel d'analyse

Le matériel d'analyse est constitué de matériel technique de laboratoire, de réactifs et d'un kit de dosage.

I.1.1. Matériel technique de laboratoire

Le matériel technique de laboratoire comprend :

- ✓ Pipettes automatiques ;
- ✓ Fioles jaugées de 20 ml, 25 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml et 1000 ml ;
- ✓ Béchers ;
- ✓ Eprouvettes graduées de 25 et 100 ml ;
- ✓ Micropipettes de volume variable (10 à 100 µl et 100 à 1000µl) ;
- ✓ Tubes à essai ;
- ✓ Chronomètre ;
- ✓ Erlenmeyer ;
- ✓ Pilon et mortier en porcelaine ;
- ✓ Barreaux aimantés ;
- ✓ Plaque de 96 cupules de marque BIOMERIEUX ;
- ✓ Spectrophotomètre Bio Rad PR 4100 connecté à un mini P.C Notebook.

La gamme spectrale est comprise entre 400 et 750 nm. Les longueurs d'onde déjà programmées sont : 405, 450, 492, 550, 620 nm ;



Photo 1 : Spectrophotomètre

✓ Centrifugeuse Hettich Rotofix 32 ;



Photo 2 : Centrifugeuse

- ✓ Homogénéisateur de type vortex ;



Photo 3: Homogénéisateur Vortex

- ✓ Agitateur magnétique ;
- ✓ Une balance de précision de type Sartorius ;
- ✓ Bain ultra-son marque Branson 3510.



Photo 4 : Bain ultra-son

I.1.2.Réactifs

Les réactifs non fournis par le kit de dosage sont :

- ✓ Eau distillée ;
- ✓ Acide chlorhydrique concentré ;
- ✓ Acétate de zinc ;

- ✓ Hexacyanoferrate de potassium ;
- ✓ Nitrite de sodium.

I.1.3.Kit de dosage LIBIOS

Pour réaliser ce dosage, nous avons utilisé un kit de dosage développé par le laboratoire LIBIOS et dénommé **NITRATE/NITRITE ASSAY KIT version 072013-7.**

Ce kit de dosage comprend :

- ✓ des solutions tampon : il s'agit d'un mélange composé de 25 mM de KH_2PO_4 et 0,025mM EDTA. Le pH est stabilisé à 7,5. Les solutions tampon sont réparties dans trois tubes de 35mL ;
- ✓ un réactif coloré 1 : 1 flacon de 60 ml contenant 1% de sulfanilamide ;
- ✓ un réactif coloré 2 : 1 flacon de 60 ml contenant 0,02% de N-naphtyl-éthylènediamine ;
- ✓ NADH sous forme lyophilisée et conditionnée dans 4 tubes. Chaque tube contient 2 mM de NADH. Les tubes sont protégés par une pochette contenant un dessicant ;
- ✓ nitrate réductase (NaR) sous forme lyophilisée. Il s'agit également de 4 tubes disposés dans une pochette avec dessicant ;
- ✓ un diluant enzyme conditionné dans 4 ampoules de 1 mL scellées en plastique ;
- ✓ un standard nitrate sous forme liquide : il s'agit d'un tube de 1,5 ml contenant 440 ppm de nitrates ;
- ✓ des micro-tubes : il s'agit de 6 tubes de dilution destinés à la préparation de la gamme d'étalonnage.



Photo 5: Nitrate/Nitrite Assay Kit Libios

Le standard nitrate ainsi que l'enzyme et le co-enzyme de conversion n'interviennent pas dans le dosage.

I.2. Matériel biologique

Le matériel biologique est constitué de deux types de charcuterie cuite :

- ✓ le saucisson à l'ail (saucisson cuit à base de viande de bœuf),
- ✓ le jambon de bœuf (jambon cuit à base de viande de bœuf).

Chapitre II : Méthodes

II.1. Echantillonnage

II.1.1. Taille de l'échantillon

La taille de l'échantillon a été déterminée à partir de la méthode de SCHWARTZ selon la formule :

$$n = \frac{t^2 \times p(1 - p)}{m^2}$$

- ✓ n= taille minimale de l'échantillon ;
- ✓ t= valeur type pour un niveau de confiance à 95% soit t=1,96 ;
- ✓ p=prévalence de non conformité choisie et équivalente à 50% selon une étude antérieure menée par **Dieng (2016)** qui a analysé les mêmes matrices ;
- ✓ m= marge d'erreur choisie soit 15 %.

Ainsi, la taille minimale de l'échantillon est de 42. Notre étude en conformité avec cette valeur minimale a porté sur 25 échantillons de saucisson et 20 échantillons de jambon soit un total de 45 échantillons.

II.1.2. Choix des marques

Au Sénégal, il existe trois principales industries locales produisant des PCSCV (**Sangaré, 2016 ; Rakansou, 2008**). Elles produisent respectivement les marques que nous avons codées A, B et C. Pour le jambon de bœuf, les trois marques précitées ont été prélevées suivant leur disponibilité dans les sites de vente. Pour le saucisson à l'ail, les marques A et B ont été prélevées dans tous les sites de vente visités.

Les échantillons sont constitués par des unités de vente déjà conditionnées dans des emballages en plastique et disposées dans des vitrines réfrigérées. Ainsi, chaque échantillon de saucisson a eu un poids de 100 g tandis que chaque échantillon de jambon avait entre 80 g, 100g et 125 g selon les marques.

II.1.3. Lieux de prélèvement

La région de Dakar a été la cible de notre étude. Les lieux de vente visités sont les supermarchés (Auchan, Casino, Citidia) et les supérettes. Le choix des sites d'achat a été fait de façon aléatoire.

Nous avons prélevé en moyenne 5 échantillons de jambon et 5 échantillons de saucisson par semaine afin d'éviter de répéter les même lots.

II.1.4. Transport des échantillons

Aussitôt après leur prélèvement, les échantillons sont transportés rapidement au LACOMEV et conditionnés dans un réfrigérateur à +4°C. Le transport n'a pas duré plus de 30 mn. Les analyses ont en général été effectuées le même jour que le prélèvement. Le délai entre l'achat des échantillons et le dosage n'a jamais dépassé 48h.

II.2. Dosage du nitrite

Le dosage du nitrite a été réalisé suivant la méthode de Griess. C'est une technique colorimétrique basée sur la réaction des nitrites avec deux amines aromatiques pour former un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. Elle est adoptée comme méthode de référence dans la norme NF EN 12014-3 : 2005-09 (AFNOR, 2005) mais également par l'AOAC (AOAC, 2000) et par l'Organisme international de normalisation (ISO 2918 :1975).

L'analyse comprend quatre phases :

- ✓ préparation des échantillons,
- ✓ préparation des étalons,

- ✓ préparation des réactifs,
- ✓ mise en œuvre de la réaction de Griess pour obtenir les DO.

II.2.1.Préparation des échantillons

La préparation des échantillons repose tout d'abord sur une extraction aqueuse suivie d'une purification destinée à éliminer les matières grasses et les protéines (**Frouin et al., 1980**). L'extraction a été réalisée par de l'eau distillée sans étape de chauffage. La purification s'est faite par la technique de défécation utilisant l'acétate de zinc et le ferrocyanure de potassium. Cette technique de défécation est celle recommandée dans la norme NF EN 12014-3 : 2005-09 (**AFNOR, 2005**).

La préparation des échantillons s'est déroulée comme suit:

- ✓ peser 5g de l'échantillon et le broyer au mortier ;
- ✓ ajouter 20 mL d'eau distillée et triturer le broyat ;
- ✓ transvaser le surnageant dans une fiole de 100 ml ;
- ✓ répéter à trois reprises l'étape de trituration en ajoutant à chaque fois 20mL d'eau distillée et en transvasant à chaque fois le surnageant dans la fiole de 100 mL ;
- ✓ à la fin de la troisième trituration, déverser le surnageant et le broyat dans la fiole de 100 mL puis compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée ;
- ✓ disposer la fiole sur un agitateur magnétique avec un barreau aimanté et laisser homogénéiser pendant 15mn ;
- ✓ retirer le barreau aimanté et laisser le mélange décanter ;
- ✓ récupérer 20 mL du surnageant et les transvaser dans une fiole de 25 mL;

- ✓ ajouter 1 ml de solution de Carrez n°1 et 1 ml de solution de Carrez n°2 pour permettre la déprotéinisation de l'échantillon. Les solutions de Carrez sont préparées comme suit (AFNOR, 2005) :
 - préparation de la solution de Carrez n°1 : dissoudre 15gd'hexacyanoferrate de potassium dans de l'eau distillée et compléter à 100 mL. Entreposer la solution dans une bouteille marron ;
 - préparation de la solution de Carrez n°2 : dissoudre 23g d'acétate de zinc dans l'eau distillée et compléter à 100mL ;
- ✓ agiter après l'ajout de chaque solution de Carrez ;
- ✓ compléter la fiole au trait de jauge avec de l'eau distillé ;
- ✓ homogénéiser par des mouvements de retournement ;
- ✓ transvaser le contenu de la fiole dans des tubes de centrifugation ;
- ✓ centrifuger à 4000 tours par minute pendant 10 minutes pour permettre l'éclaircissement des échantillons.

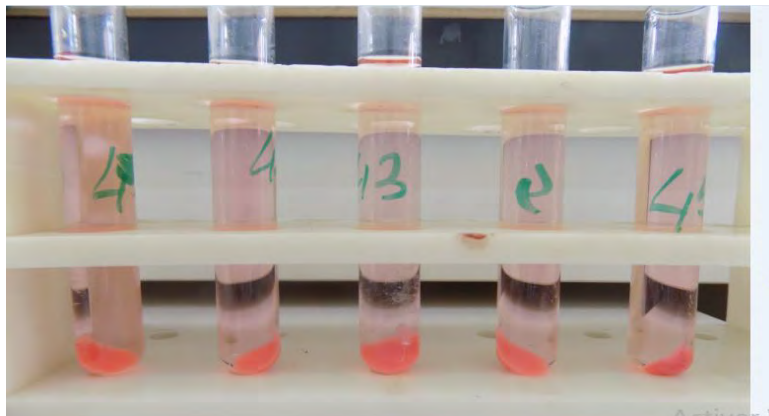


Photo 6 : Tubes après centrifugation

Aussitôt après l'extraction et la purification, les réactifs colorés sont ajoutés pour pouvoir effectuer la lecture des densités optiques.

II.2.2. Préparation des réactifs

Les réactifs préparés sont la solution tampon, l'acide chlorhydrique et les réactifs colorés 1 et 2.

II.2.2.1. Le tampon

Le tampon est une solution prête à l'emploi et ne nécessite qu'une remise en température ambiante.

II.2.2.2. Acide chloryhydrique (HCl)

Nous disposons d'une solution d'acide chlorhydrique concentré ayant les caractéristiques suivantes :

- ✓ Densité=1,19=d,
- ✓ Pureté=37%=α,
- ✓ Masse molaire= 36,46g/mol.

Pour préparer une solution d'acide chlorhydrique à 3N (3 mol/L), nous avons procédé en deux grandes étapes :

a) Détermination de la concentration de la solution d'acide chlorhydrique concentré :

- ✓ Concentration massique=d x α x1000=440,3g/L
- ✓ Concentration molaire=Concentration massique/Masse molaire HCl= 12N

b) Détermination du volume de HCl concentré à prélever pour préparer 100 mL de HCl à 3N :

- ✓ $V = 3 \times 100 / 12 = 25\text{mL}$

En résumé, nous avons mis une petite quantité d'eau dans une fiole jaugée de 100 ml et nous avons rajouté 25 mL d'acide chlorhydrique concentré. Nous avons ensuite complété la fiole avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge pour obtenir ainsi 100mL d'acide chlorhydrique à 3N.

II.2.2.3. Réactif coloré n°1

Il s'agit ici d'ajouter 60 ml de la solution HCl 3 N dans le flacon du réactif coloré n°1. Le tout est ensuite bien mélangé par agitation.

II.2.2.4. Réactif coloré n°2

La préparation de ce deuxième réactif est réalisée en ajoutant 60 ml d'eau distillée dans le flacon du réactif coloré n°2. Ensuite, le mélange est bien homogénéisé par agitation.

Les réactifs ainsi préparés sont transvasés dans des flacons et stockés à +4°C jusqu'au moment de leur utilisation. Après chaque utilisation, ils sont remis au frais.



Photo 7: Réactifs colorés 1 (à gauche) et 2 (à droite)

II.2.3. Préparation des solutions étalons

Ce kit de dosage ne fournit pas de standard nitrite mais uniquement un standard nitrate. Vu que notre dosage porte sur les nitrites, nous avons alors préparé notre standard nitrite suivi d'une série de dilutions afin de pouvoir réaliser une gamme d'étalonnage. Pour cela, nous disposons d'un flacon de nitrite de sodium en poudre.

II.2.3.1. Préparation de la solution mère

La préparation de la solution mère consiste à préparer une solution à 440mg/L soit 440ppm de nitrites. Sachant que le facteur de conversion du nitrite en nitrite de sodium est de 1,5 (NF EN 12014-3 : 2005-09) cela revient alors à préparer une solution de nitrite de sodium à 660 ppm. Ainsi 0,0033g de nitrite de sodium sont pesés et mis dans une fiole jaugée de 50 mL. La fiole est ensuite complétée jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée. L'homogénéisation est faite au bain ultra-son pendant 15mn.

II.2.3.2. Préparation des solutions filles

Une dilution initiale est d'abord préparée en transférant 1mL de la solution-mère dans un tube à essai contenant 9 mL d'eau distillée pour obtenir une solution à 44 ppm de nitrite.

La gamme d'étalonnage de nitrite est élaborée selon le tableau suivant (Tableau XI) :

Tableau XI : Préparation de la gamme d'étalonnage de nitrite

Volumes à prélever du tube contenant 44 ppm ou mg/L de nitrites (µl)	Volumes d'eau distillée (µl)	Concentrations (ppm de nitrites ou mg/L)
1000	0	44
750	250	33
500	500	22
250	750	11
100	900	4,4
50	950	2,2

II.2.4. Détermination de la teneur en nitrite

II.2.4.1. Principe du dosage

Le dosage des nitrites est basé sur la réaction de Griess qui fait réagir une première amine aromatique pour former un composé diazoïque qui va se coupler à une seconde amine aromatique pour donner un complexe coloré analysable par spectrophotométrie UV-Visible, vers des longueurs d'onde comprises entre 520 et 560 nm.

Ainsi, l'ion nitrite réagit avec le sulfanilamide en milieu acide pour former un composé diazoïque selon la réaction suivante :



Le composé diazoïque réagit à son tour avec le N-naphtyl-éthylènediamine pour former un composé rose quantifiable par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 540nm +/- 20nm. La réaction se présente comme suit :



II.2.4.2. Mode opératoire du kit

L'étape déterminante du dosage du nitrite est la mise en œuvre la réaction colorée. Elle se déroule conformément aux indications du kit de dosage utilisée :

- ✓ Pipeter 50 μ l d'eau distillé dans un tube réactionnel appelé Réactif Blanc.
- ✓ Pipeter 50 μ l de chaque échantillon et étalon dans des tubes réactionnels propres.
- ✓ Ajouter 900 μ l de tampon dans chaque tube.
- ✓ Ajouter 500 μ l de réactif coloré n°1 dans chaque tube et bien mélanger.
- ✓ Ajouter 500 μ l de réactif coloré n°2 dans chaque tube et bien mélanger.
- ✓ Laisser reposer les tubes 20mn à température ambiante.

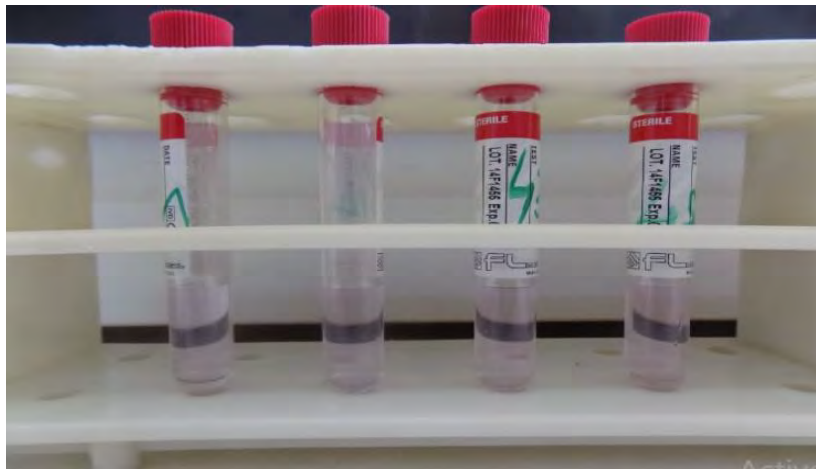


Photo 8 : Tubes après ajout des réactifs colorés

- ✓ Pipeter 200 μ L de chaque tube et remplir les cupules de la plaque de microtitration.
- ✓ Insérer la plaque dans le spectrophotomètre et lancer la lecture à 550 nm.

II.3. Expression des résultats

Nous avons utilisé le tableur Microsoft Office Excel 2007 pour le traitement des données. Par ailleurs un test statistique nommé test de Fischer Snedecor a été utilisé pour comparer les deux matrices analysées à savoir le jambon de bœuf et le saucisson à l'ail.

II.3.1. Les densités optiques (DO)

Les DO obtenues vont d'abord être corrigées en soustrayant l'absorbance du Blanc à l'absorbance de chaque étalon ou échantillon.

$$\text{DO (étalon ou échantillon) corrigée} = \text{DO (étalon ou échantillon)} - \text{DO (Blanc)}$$

Tout le reste des calculs se fait à partir des DO corrigées. Les DO corrigées des étalons vont permettre de réaliser une courbe d'étalonnage sur le tableur Microsoft Office Excel 2007. Les taux de nitrites en ppm sont placés en abscisses tandis que les absorbances sont placées en ordonnées.

II.3.2. Les concentrations de nitrite exprimées en mg/L d'extrait

En se référant à la courbe d'étalonnage, il est alors possible de déterminer le taux de nitrites en mg/L correspondant à l'absorbance de chaque échantillon. En effet, il suffit de déterminer l'équation de régression de la courbe qui se présente sous la forme :

$$Y = aX + b$$

X = concentration de nitrite en mg/L

Y = densité optique

a = pente de la droite

b = ordonnée à l'origine.

II.3.3. Les concentrations de nitrite en mg/kg d'échantillon

Les concentrations en mg de nitrite par L d'extrait de produit carné vont être converties en mg de nitrite par kg de produit carné suivant la formule :

$$C_{\text{éch}} = C_{\text{ext}} \times V / P$$

✓ $C_{\text{éch}}$ = Concentration de nitrite en mg/kg d'échantillon

✓ C_{ext} = Concentration de nitrite en mg/L d'extrait

- ✓ V=Volume de l'extrait (exprimé en L)
- ✓ P=Poids de l'extrait (exprimé en kg)

Pour tous les échantillons, le volume d'extraction est de 0,1 L et le poids de l'extrait est de $5 \cdot 10^{-3}$ kg.

II.3.4. La limite de détection et la limite de quantification (Santé Canada, 2015)

La limite de détection d'une méthode d'analyse correspond à la plus faible quantité de la substance analysée que la méthode permet de détecter. La limite de quantification est quant à elle définie comme le niveau de mesure auquel la précision sera considérée comme satisfaisante pour une détermination quantitative. C'est la limite à partir de laquelle le résultat sera donné avec une probabilité considérée comme acceptable. Lors de l'analyse d'échantillons, les résultats d'analyse inférieurs à la limite de quantification doivent être interprétés en considérant que l'incertitude associée à la mesure est plus grande.

Ces deux limites peuvent être calculées de diverses manières suivant le type d'analyse effectuée. Dans notre étude, elles ont été calculées à partir de l'écart-type de l'ordonnée à l'origine obtenu sur la base de la courbe d'étalonnage. Les formules appliquées sont:

$$\text{LOD} = 3sb/a \text{ et } \text{LOQ} = 10sb/a$$

- ✓ LOD=limite de détection
- ✓ LOQ= limite de quantification
- ✓ a=pente de la droite de régression
- ✓ b=ordonnée à l'origine
- ✓ sb= écart-type sur l'ordonnée à l'origine de la droite de régression

Au terme de la présentation de l'ensemble des méthodes utilisées, nous allons maintenant énumérer les résultats obtenus.

Chapitre III : Résultats

III.1. Les absorbances

L'absorbance du Blanc est égale à 0,0366. Les absorbances corrigées des étalons et des échantillons ont été calculées en soustrayant cette valeur du Blanc.

III.1.1. Absorbances des étalons

Tableau XII : Absorbances des étalons

N° étalon	Concentrations de nitrites en ppm	DO brutes	DO corrigées
1	44	0,7636	0,727
2	33	0,634	0,5974
3	22	0,4454	0,4088
4	11	0,2313	0,1947
5	4,4	0,1155	0,0789
6	2,2	0,0863	0,0497

III.1.2. Absorbances des échantillons

III.1.2.1. Saucissons

Les absorbances brutes et corrigées des échantillons de saucisson sont présentées dans le tableau XIII.

Tableau XIII : Absorbances des échantillons de saucisson

N° échantillon	DO brutes	DO corrigées
1	0,0741	0,0375
2	0,0424	0,0058
3	0,0449	0,0083
4	0,0445	0,0079
5	0,0503	0,0137
6	0,0417	0,0051
7	0,0406	0,004
8	0,0431	0,0065
9	0,085	0,0484
10	0,0569	0,0203
11	0,0627	0,0261
12	0,0703	0,0337
13	0,0715	0,0349
14	0,105	0,0684
15	0,1084	0,0718
16	0,0748	0,0382
17	0,0798	0,0432
18	0,0671	0,0305
19	0,0708	0,0375
20	0,0734	0,0368
21	0,0678	0,0312
22	0,0758	0,0392
23	0,0807	0,0441
24	0,0759	0,0393
25	0,0763	0,0397

III.1.2.2 Jambons

Les absorbances brutes et corrigées des échantillons de jambon sont listées dans le tableau qui suit (**Tableau XIV**) :

Tableau XIV : Absorbances des échantillons de jambon

N° échantillon	DO brutes	DO corrigées
1	0,0394	0,0028
2	0,0496	0,013
3	0,1024	0,0658
4	0,0374	0,0008
5	0,0418	0,0052
6	0,0402	0,0036
7	0,0462	0,0096
8	0,0385	0,0019
9	0,0376	0,001
10	0,0421	0,0055
11	0,0378	0,0012
12	0,0463	0,0097
13	0,063	0,0264
14	0,0376	0,001
15	0,0469	0,0103
16	0,041	0,0044
17	0,0422	0,0056
18	0,0404	0,0038
19	0,0636	0,027
20	0,0447	0,0081

III.2. Courbe d'étalonnage

La courbe d'étalonnage a été réalisée sur le tableur Microsoft Office Excel 2007 (Figure 19) :

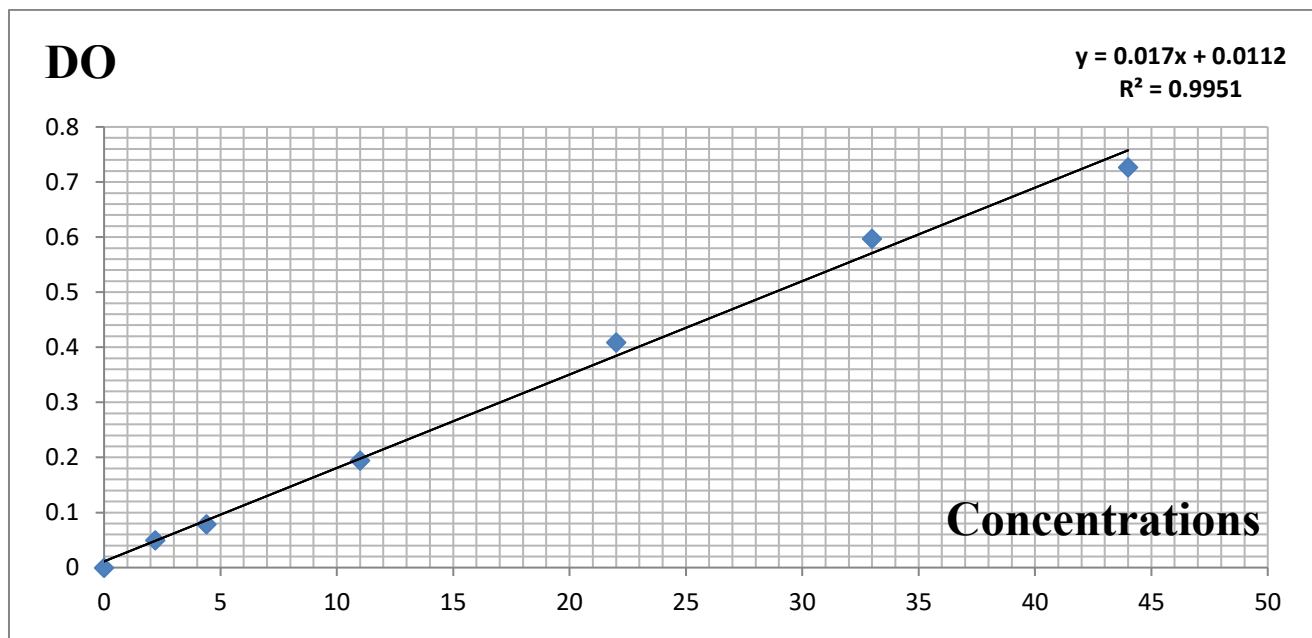


Figure 19 : Courbe d'étalonnage

Les résultats de la gamme d'étalonnage montrent qu'il y a un bon coefficient de détermination de l'ordre de 0,995. Le coefficient de corrélation est alors égal à 0,997. L'équation de la courbe est :

$$Y=0,017x+0,011.$$

L'écart-type sur l'ordonnée à l'origine équivaut à 0,0019. La limite de détection et la limite de quantification sont égales à :

- ✓ LOD= 0,335ppm soit 6,7 mg/kg de nitrite,
- ✓ LOQ= 1,117 ppm soit 22,3 mg/kg de nitrite.

III.3 Concentrations en nitrite des échantillons

III.3.1 Saucissons

Les concentrations des échantillons de saucisson sont énumérées dans le tableau suivant (**Tableau XV**) :

Tableau XV : Concentrations en nitrite des échantillons de saucisson

N° échantillon	Concentrations de nitrites en mg/L d'extrait	Concentrations de nitrites en mg/kg de saucisson
1	1,56	31,2
2	< LOD	< LOD
3	< LOD	< LOD
4	< LOD	< LOD
5	< LOD	< LOD
6	< LOD	< LOD
7	< LOD	< LOD
8	< LOD	< LOD
9	2,20	44
10	0,55*	11*
11	0,89*	17,8*
12	1,34	26,8
13	1,41	28,2
14	3,38	67,6
15	3,58	71,6
16	1,60	32
17	1,89	37,8
18	1,15	23
19	1,36	27,2
20	1,52	30,4
21	1,19	23,8
22	1,66	33,2
23	1,95	38,9
24	1,66	33,3
25	1,69	33,8

NB :* signifie concentration comprise entre LOD et LOQ

La concentration moyenne en nitrite de nos échantillons de saucisson est de 24,5mg/kg. Le nitrite n'a pas été détecté dans 7 échantillons. Dans les 18 échantillons de saucisson restants, la concentration minimale est de 11 mg/kg tandis que la teneur maximale est de 71,6mg/kg.

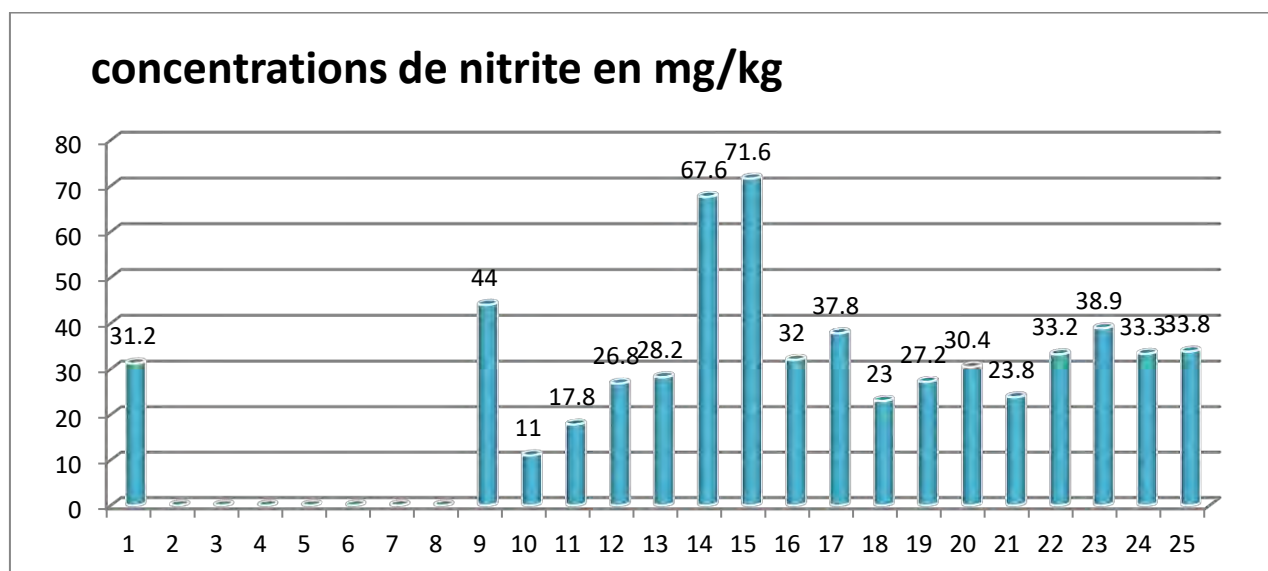


Figure 20 : Teneurs en nitrite (mg/kg) des échantillons de saucisson à l'ail

III.3.2 Jambons

Sur les 20 échantillons de jambon, seuls 3 échantillons contenaient du nitrite quantifiable. Dans les autres échantillons, le nitrite n'a pas été détecté.

Tableau XVI : Concentrations en nitrite des échantillons de jambon

N° échantillon	Concentrations de nitrite en mg/L d'extrait	Concentrations de nitrite en mg/kg d'échantillon
3	3,22	64,4
13	0,91*	18,2*
19	0,94*	18,8*

NB :* signifie concentration comprise entre LOD et LOQ

La concentration moyenne en nitrite de nos 20 échantillons de jambons est de 4,1 mg/kg. La teneur maximale est de 64,4 mg/kg et la minimale détectée est de 18,2 mg/kg.

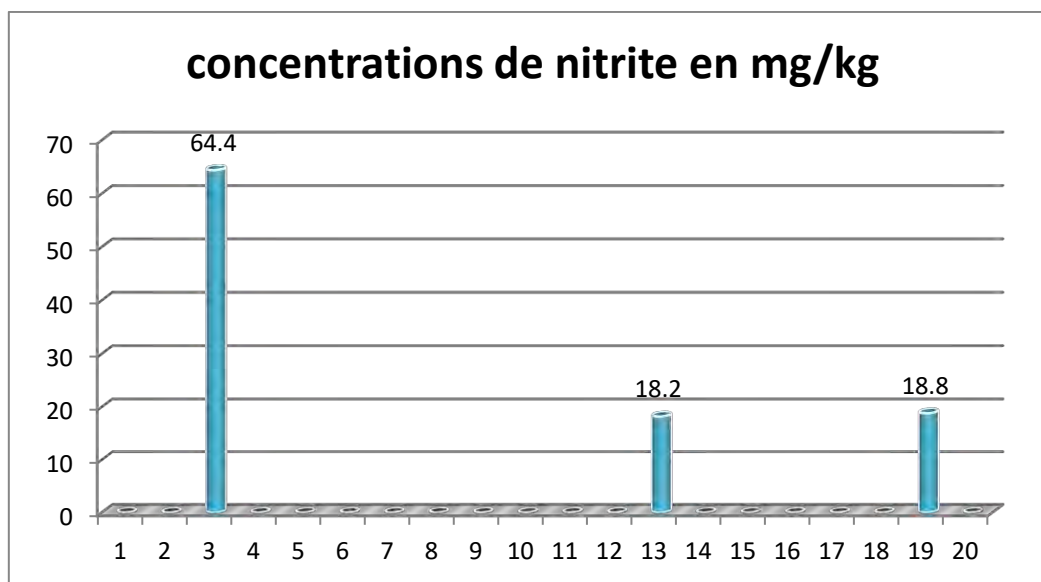


Figure 21 : Teneurs en nitrite (mg/kg) des échantillons de jambon de bœuf

III.3.3 Résultat global

La teneur moyenne en nitrite des 45 échantillons est estimée à 15,8mg/kg. Le nitrite n'a pas été détecté dans 24 échantillons soit un ratio de 53,3%. La teneur la plus faible de nitrite détectée est de 11 mg/kg et elle a été retrouvée dans un échantillon de saucisson. La teneur maximale est estimée à 71,6 mg/kg et elle a été retrouvée également dans un échantillon de saucisson.

III.3.4. Comparaison des teneurs en nitrite entre le jambon et le saucisson

En comparant la variance des saucissons et celle des jambons par le test de Fischer Snedecor, nous constatons qu'il existe une différence significative ($p\text{-value} = 0,0006$) pour un intervalle de confiance de 95%.

Ainsi la teneur moyenne en nitrite des saucissons (24,5mg/kg) est nettement supérieure à celle des jambons (4,1mg/kg). Le taux de détection du nitrite est nettement plus élevé pour le saucisson (72%) que pour le jambon (15%).

III.3.5.Conformité aux normes internationales

III.3.5.1. Cas du *Codex Alimentarius*

✓ Saucissons à l'ail

La limite maximale de nitrite admise dans les produits carnés est de 80 mg/kg selon les normes du *Codex Alimentarius*. Ainsi, tous les échantillons saucisson se sont révélés conformes, soit un pourcentage de 100%.

✓ Jambon

Le *Codex Alimentarius* a établi une norme spécifique au jambon cuit. La limite maximale de nitrite recommandée est de 125mg/kg (*Codex Alimentarius*, 2010). Aucun échantillon de jambon n'a eu une concentration supérieure à 125mg/kg. Ils sont tous conformes aux prescriptions du *Codex*.

III.3.5.2. Cas de l'Union Européenne

Le Règlement communautaire de l'Union Européenne fixe la limite maximale résiduelle de nitrite (**Commission Européenne, 2008**) à 100mg/kg de nitrite de sodium pour les produits de charcuterie et de salaison cuits. Cette valeur après conversion équivaut à 66,66mg/kg de nitrite. Ainsi, 100% de nos échantillons de jambon sont conformes à la législation européenne. S'agissant des échantillons de saucisson, seuls 2 échantillons sur les 25 analysés ne sont pas conformes à la législation européenne, soit un taux de non-conformité de 8%.

Chapitre IV : Discussion et recommandations

IV.1. Discussion

La discussion qui sera déroulée va porter sur le matériel, les méthodes et les résultats présentés ci-dessus.

IV.1.1. Discussion du matériel

IV.1.1.1. Choix de la substance dosée

Le choix du nitrite a été dicté par l'importance de ce paramètre en matière de santé publique. En effet, une dose de 1,6 à 9,5 g de nitrite peut être létale chez l'homme. L'intoxication aigüe la plus fréquente des nitrites est associée à la méthémoglobinémie. Elle est consécutive à une oxydation du fer hémoglobinique en méthémoglobine sous l'action des nitrites. L'individu atteint manifeste une cyanose des mains et des pieds, des troubles respiratoires, des vomissements et de la diarrhée. Dans certains cas l'évolution peut être mortelle (OMS, 2017). Les personnes les plus vulnérables sont les enfants et les femmes enceintes notamment à partir de la trentième semaine de grossesse.

L'intoxication chronique au nitrite peut causer des perturbations neuro-endocriniennes et des effets sur la reproduction et le développement. Des cas d'avortements spontanés, de morti-naissances et même d'anencéphalie ont été rapportés suite à une intoxication chronique de nitrite chez des femmes enceintes (Brender et al., 2004 ; Ward et al., 2007). De tous les effets du nitrite, celui qui suscite le plus de craintes demeure le cancer. En effet, le nitrate et le nitrite ont été classés par le CIRC comme substances probablement cancérogènes pour l'humain (groupe 2A) dans les conditions de nitrosation endogène (CIRC, 2010). Des études épidémiologiques ont permis d'établir une association positive entre les agents nitrés et divers cancers tels que le cancer colorectal, le cancer de l'estomac, le cancer du cerveau et le cancer de la vessie.

Au vu du profil toxicologique énoncé, le dosage des nitrites dans les produits de charcuterie s'impose dans la mesure où il permet d'obtenir des données fiables afin d'informer les consommateurs et les gouvernants sur le niveau de risque encouru.

Le nitrate n'a pas été dosé puisque dans les produits analysés il n'est pas incorporé comme additif alimentaire. En effet, ce sont des produits de salaison cuits dont la durée de vie commerciale est courte. Ces types de produits ne nécessitent pas l'ajout de nitrate comme réserve de nitrite (**Agroscope, 2006**). Ceci est précisé par les étiquettes qui ne comportent que la mention sel nitrité.

IV.1.1.2. Produits étudiés

Le sel nitrité constitue un ingrédient essentiel dans la technologie des produits de charcuterie. Au-delà de leur intérêt bactériostatique, il confère une saveur caractéristique ainsi qu'un aspect attrayant aux différents produits carnés transformés.

A l'origine, la plupart des produits de charcuterie sont préparés à base de viande de porc. Cependant, pour répondre aux exigences de la population sénégalaise qui est à 95% musulmane, des produits à base de viande de bœuf ont été mis sur le marché. Parmi ces produits, le saucisson à l'ail s'est révélé être le produit le plus consommé (55,5%) suivi du jambon de bœuf (37%) (**Diouf et al., 2011**). Ils sont commercialisés dans les supermarchés, les supérettes des stations d'essence, les épiceries et les alimentations.

C'est pour toutes ces raisons que notre choix a porté sur le saucisson à l'ail et le jambon de bœuf.

IV.1.2. Discussion des méthodes

IV.1.2.1. Lieux de prélèvement

Les lieux de vente ciblés sont les supermarchés (Auchan, Casino, Citidia) et les supérettes. Les prélèvements ont été effectués dans la région de Dakar pour les raisons suivantes (**Diouf et al., 2011**) :

- ✓ le grand nombre de supermarchés et de supérettes qui y sont installés ;
- ✓ les abattoirs de Dakar qui sont les seuls industriels au Sénégal capables de fournir 74% de la production locale de viande ;
- ✓ le port autonome de Dakar qui reçoit la totalité des produits de charcuterie importés ;
- ✓ la forte densité démographique de Dakar qui représente 25% de la population sénégalaise et concentre 80% des activités économique du Sénégal.

IV.1.2.2. Choix des marques

Au Sénégal, il existe trois marques de PCSCV produites localement. Elles ont été nommées A, B, C dans notre étude. Ces trois marques sont toutes disponibles pour le jambon de bœuf tandis que pour le saucisson à l'ail, seules les marques A et B sont disponibles. Les marques A et B étaient présentes dans tous les sites de prélèvement tandis que la marque C n'a été retrouvée que dans les grandes surfaces et non au niveau des supérettes.

Pour l'analyse, aucune distinction n'a été faite entre les marques dans la mesure où dans les objectifs spécifiques de notre étude, la comparaison des marques n'a pas été abordée. Notre étude tend plutôt vers une vue d'ensemble de la teneur en nitrite dans la production locale de produits carnés.

IV.1.2.3. Lieu d'analyse

Les analyses ont été effectuées au LACOMEV sis à l'EISMV de Dakar. Bien qu'étant spécialisé dans le domaine pharmaceutique, le choix de ce laboratoire est justifié par son important plateau technique qui nous offrait tout le matériel nécessaire pour mener à bien nos analyses d'autant plus que nous avons utilisé un kit de dosage.

IV.1.2.4. Méthode d'extraction

La technique d'extraction utilisée repose sur la défécation qui consiste à utiliser l'hexacyanoferrate de potassium et l'acétate de zinc pour éliminer les protéines et les matières grasses et obtenir un filtrat clair. Elle s'est faite sans étape de chauffage. L'hexacyanoferrate de potassium permet une meilleure expression des ions nitrites car il ne les adsorbe pas.

Certaines études font cas d'un ajustement du pH avec une solution de NaOH avant de procéder à l'ajout des réactifs de Carrez. En effet, **Ionescu et al. (2006)** ont étudié deux techniques d'extraction des nitrates et nitrites dans les produits de charcuterie. Il s'agit de la méthode utilisant l'acide borique et celle utilisant du NaOH pour assurer l'alcalinité du milieu. L'étude a ainsi permis de conclure que la méthode alcaline permet une meilleure récupération des nitrites avec des pourcentages allant de 98% à 100%. Dans notre étude, bien que le NaOH n'a pas été ajouté, la stabilité du nitrite n'en est pas pour autant altérée dans la mesure où le dosage du nitrite s'est fait à un régime thermique tendre (température ambiante) sans étape de chauffage.

De nombreuses études ont fait cas d'une extraction des nitrites par chauffage de l'extrait au bain-marie (**Rocha et al., 2017 ; Galán-Vidal et al., 2014 ; Hsu et al., 2009**). Cependant le chauffage peut perturber l'équilibre nitrate/nitrite/milieu réactionnel. Une étude menée par **Goutefongea et al. (1980)** cités par **Guingamp et Linden (1983)** a montré que des températures de

chauffage et des temps d'extraction différents modifiaient le taux d'extraction du nitrite ajouté lors de la fabrication des jambons. Les pourcentages d'extraction les plus faibles ont été obtenus lors d'un chauffage prolongé (**Guingamp et Linden, 1983**). Ceci a motivé notre extraction sans chauffage au bain-marie.

IV.1.2.5. Méthode de dosage utilisée

Le dosage du nitrite s'est fait par spectrophotométrie. En effet, la réaction de Griess va aboutir à la formation d'un composé coloré rose mesurable à une longueur d'onde de 540 nm \pm 20nm. La quantification des nitrites peut se faire par diverses autres techniques telles que la chromatographie, la polarographie, la voltamétrie et l'analyse par injection en flux continu. Ces méthodes développées récemment présentent néanmoins des inconvénients (**Moldovan, 2012**) :

- ✓ leur mise en œuvre nécessite beaucoup de temps ;
- ✓ les équipements utilisés sont coûteux et complexes ;
- ✓ leur manque de sensibilité.

C'est pour toutes ces raisons que les techniques colorimétriques notamment la spectrophotométrie sont les plus utilisées dans la recherche des nitrites (**Idrissi, 2006 ; Moldovan, 2012**).

La méthode spectrophotométrique est une technique de dosage sensible mais dont la spécificité peut être biaisée lorsque l'extrait dosé est fortement coloré et turbide (**Idrissi, 2006**). Néanmoins dans le cas de notre dosage, le filtrat était clair après extraction sans aucune turbidité. Cependant, les échantillons de saucisson présentaient une légère coloration rosée après centrifugation mais cette coloration a disparu dès l'ajout de la solution tampon.

IV.1.2.6. Réactifs colorés utilisés

Les réactifs colorés utilisés dans notre étude sont le sulfanilamide et la N-1-naphtyl-éthylènediammonium. La réaction qui en découle est dite de Griess. La

technique de Griess a été développée en 1879 par Johann Peter Griess et son utilisation s'est largement répandue dans de nombreuses disciplines scientifiques. C'est une réaction qui est spécifique au nitrite et peut être appliquée pour diverses matrices (**Tsikis, 2007**). Elle est simple et facile à mettre en œuvre. Certains auteurs ont étudiés l'efficacité d'autres réactifs colorés dans la détermination des nitrites. Il s'agit de l'Anthocyanine étudiée par **Galán-Vidal et al. (2014)** et du Méthylène Violet 3 RAX dye étudiés par **Rocha et al. (2017)**. Ces auteurs ont comparé le pourcentage de détection des nitrites et il n'y a pas eu de différence significative par rapport à la technique de Griess avec un intervalle de confiance de 95%.

IV.1.3. Discussion des résultats

IV.1.3.1. Concentrations en nitrite des échantillons

❖ Saucissons

Le teneur moyenne en nitrite de nos échantillons de saucisson est de 24,5mg/kg. Le nitrite n'a pas été détecté dans 7 échantillons sur les 25 analysés. Cette absence de détection ne signifie pas que le nitrite n'a pas été incorporé vu que les étiquettes portaient la mention sel nitrité. Elle serait plutôt due à une régression de la teneur en nitrite dans le temps (**Honikel et al., 2008**). Le nitrite est instable et se transforme préférentiellement en oxyde d'azote dans les produits carnés. C'est pourquoi la salaison au nitrite seul n'est utilisée que dans les produits de courte vie commerciale (**Agroscope, 2006**).

Dans leur étude, **Zahran et Kassem (2011)** ont trouvé une teneur moyenne de 25,019 mg/kg de nitrite de sodium soit 16,7mg/kg de nitrite dans des échantillons de saucissons commercialisés en Egypte. Cette teneur est inférieure à la valeur moyenne en nitrite de nos échantillons de saucisson. Cette différence peut s'expliquer par le traitement physico-chimique appliqué aux produits. En

effet, cette valeur a été trouvée pour les produits ayant subi une irradiation à une dose de 5 kGy. D'après **Ahn *et al.* (2004)** cités par **Zahran et Kassem (2011)**, les radiations ionisantes réduisent la quantité de composés azotés tels que le nitrite et les N-nitrosamines présents dans les produits carnés.

Keeton *et al.* (2010) cités par **Sindelar et Milkowski (2012)** ont déterminé la teneur en nitrite dans des échantillons de saucisson cuit prélevés dans cinq villes des Etats-Unis d'Amérique. Ils ont obtenu une concentration moyenne de 7,6mg/kg de nitrite. Cette valeur est très inférieure à celle trouvée dans notre étude (24,5mg/kg). Cette différence s'expliquerait par le développement aux USA de charcuterie sans nitrite au vu des nombreuses communications scientifiques sur la toxicité de cet additif alimentaire. En effet, en 1998, une large campagne a été menée par l'Etat de Californie pour classer les nitrites comme substance tératogène (DART). Même si la proposition de loi n'a pas abouti, les produits sans nitrite ajouté ont commencé à être développés par les industriels face à la psychose des consommateurs. Dans ce type de produits dits naturels, ce sont des substances végétales telles que la poudre de céleri qui sont utilisés comme source de nitrate. Ainsi, seule une faible quantité de nitrite ne sera retrouvée dans le produit final suite à la conversion progressive du nitrate.

Rocha *et al.* (2017) ont trouvé une teneur moyenne en nitrite de 133mg/kg dans des échantillons de saucisson achetés dans des supermarchés au Brésil. Cette différence peut s'expliquer par les techniques de fabrication des industriels au Brésil qui auraient incorporé une teneur élevée de nitrite. En effet, la législation dans ce pays autorise une limite maximale de 150 mg/kg de nitrite résiduel. En outre, contrairement aux produits brésiliens, les saucissons de notre étude ont été assaisonnés avec de l'ail. C'est une liliacée riche en vitamine C, en vitamine E et en polyphénols (**Jung, 2005**). Ces trois molécules réagissent avec les nitrites pour les réduire en oxydes d'azote et réduire ainsi leur teneur résiduelle. Cela

peut expliquer la teneur réduite de nos échantillons par rapport aux produits brésiliens.

❖ Jambons

Le nitrite n'a été retrouvé que dans une faible proportion d'échantillons de jambon (15%). Cette absence du nitrite dans 85% des échantillons pourrait s'expliquer par un faible taux d'incorporation de nitrite, le caractère instable du nitrite et sa propension à se convertir en diverses autres substances azotées mais aussi à se lier aux différents constituants de la viande (**Hermann, 2014**). Il finit par ne plus être détectable dans la matrice alimentaire au fil du temps. Certains paramètres tels que le non-respect de la chaîne de froid, le pH acide de la viande, une forte température de cuisson peuvent favoriser cette faible teneur résiduelle en nitrite (**Vendeuvre, 2006 ; Zahran et Kassem, 2011 ; Frentz et Juillard, 2003**).

Honikel (2008) a montré que la cuisson entraîne une réduction d'environ 35% de la quantité de nitrite ajoutée dans un produit. Cette chute de la teneur en nitrite va se poursuivre durant toute la vie commerciale du produit. En effet, **Khodadadi et al. (2012)** ont évalué l'évolution de la quantité de nitrites présents dans des échantillons de saucisse. Ils ont noté une diminution significative de la teneur en nitrite entre le premier jour (38mg/kg), le septième jour (35mg/kg) et le quatorzième jour (22mg/kg).

Outre l'effet de la durée de stockage, le non respect de la chaîne de froid peut également expliquer une réduction drastique du nitrite résiduel. **Pelroy et al. (1982)** ont étudiés l'évolution de la teneur en nitrite dans des échantillons de saumon fumé. Ils ont constaté qu'à 3°C, la teneur en nitrite a légèrement décru (150ppm) au bout de 22jours. A 25°C, la concentration en nitrite était inférieure à 6ppm au bout de 7 jours seulement.

La concentration moyenne en nitrite dans nos échantillons de jambon est de 4,1mg/kg. Cette valeur est inférieure à celle trouvée (8,81mg/kg) dans une étude

sur les produits de charcuterie vendus au Mexique (**Galán-Vidal et al., 2014**). Cette différence peut s'expliquer par :

- ✓ le type de matière première et la qualité de la matière : la viande de porc nécessite une plus grande incorporation de nitrite que la viande de bœuf à cause de sa forte teneur en lipides. En effet, 15% du nitrite ajouté dans la viande va se lier aux lipides. Les industriels auraient tendance à ajouter plus de nitrite dans la viande porc que dans la viande de bœuf pour pouvoir maintenir un bon niveau de nitrite résiduel capable d'assurer la sécurité microbiologique du produit. En outre selon le niveau de contamination de la viande, les industriels peuvent être amenés à incorporer plus de nitrite afin de réduire la flore bactérienne. Ainsi, une viande de mauvaise qualité microbiologique peut conduire à l'incorporation de plus de nitrite.
- ✓ la technique de dosage : la technique d'extraction ainsi que la technique de coloration utilisées lors du dosage du nitrite influent sur les concentrations déterminées (**Ionescu et al., 2006**).
- ✓ le nombre d'échantillon choisi

Galán-Vidal et al., (2014) ont appliqué une purification au sulfate d'aluminium et une technique de coloration à l'anthocyanine contrairement à notre étude qui a recouru à une purification au réactif de Carrez et une coloration par la technique de Griess. En outre, **Galán-Vidal et al. (2014)** ont travaillé que sur un seul échantillon de jambon cuit. De plus, le jambon choisi par **Galán-Vidal et al.** était fait à base de porc tandis que notre étude a porté sur du jambon de bœuf. Toutes ces observations peuvent justifier la teneur en nitrite plus élevée observée dans l'étude de **Galán-Vidal et al. (2014)**.

IV.1.3.2. Différence de teneurs entre le saucisson à l'ail et le jambon de bœuf

Le test de Fischer Snedecor nous a permis d'aboutir à une différence significative entre le jambon et le saucisson. En effet, la teneur moyenne en nitrite des saucissons (24,5mg/kg) est nettement supérieure à celle des jambons (4,1mg/kg). Cette différence peut s'expliquer par la technologie de fabrication. En effet, dans le jambon cuit, les fabricants recherchent plus une couleur homogène des tranches et non une coloration très soutenue (**Goutefongea et al., 1978**). Les industriels incorporeraient ainsi moins de nitrite par rapport au saucisson. De plus, dans la fabrication des jambons, la tenue de tranche est un aspect essentiel. Pour cela, il est important de limiter l'incorporation de sel afin de favoriser la solubilisation du collagène. En effet, le collagène solubilisé va se transformer en gélatine qui va assurer une bonne tenue de tranche. Cela peut alors expliquer pourquoi les industriels incorporent moins de sel nitrité dans le jambon.

IV.1.3.3. Conformité aux normes

❖ Saucissons

Tous les échantillons saucisson se sont révélés conformes aux normes du *Codex Alimentarius*, soit un pourcentage de 100%. Un taux de conformité complètement opposé au nôtre a été trouvé par **Dieng (2016)** qui a travaillé sur la même matrice. Dans son étude, aucun échantillon n'était conforme à la norme du *Codex Alimentarius*. Cette étude s'est faite par la même technique d'extraction et par le même principe de dosage à savoir la méthode de Griess. Il se peut également que la période de dosage ait un impact dans cette différence de teneurs en nitrite. **Dieng (2016)** a effectué ces analyses entre fin 2014 et début 2015. Les industriels auraient ainsi modifié leur formulation depuis lors. Par ailleurs, cette différence peut également être imputée aux types de marques analysées.

❖ Jambons de bœuf

Le taux de conformité des jambons aux normes du *Codex Alimentarius* est de 100%. Ce résultat corrobore celui de **Dieng (2016)** qui a travaillé sur des échantillons de jambon cuit commercialisés sur le marché dakarois. Dans ces travaux, tous les 9 échantillons avaient une teneur conforme à la norme du *Codex Alimentarius*.

En résumé, les taux de nitrite résiduels dans les produits de charcuterie étudiés sont totalement satisfaisants au vu de des normes du *Codex Alimentarius*. Concernant la législation européenne, tous les échantillons de jambon sont conformes. Seuls 8% des échantillons de saucisson ne sont pas conformes aux normes européennes. Sur les 45 échantillons, seul 2 ne sont pas conformes à la législation européenne soit un taux de non-conformité global de 4,4%. Dans 53,3% des échantillons, le nitrite n'a pas été détecté. Cependant, le faible taux de nitrite dans le produit fini ne signifie pas que le taux d'incorporation a été raisonnable. En effet, les nitrites sont instables dans le temps et plusieurs facteurs peuvent conduire à leur conversion en d'autres agents nitrosants tels que l'acide nitreux et l'oxyde d'azote. Parmi ces facteurs, nous pouvons citer le pH acide de la viande mais aussi la prolifération de bactéries réductrices suite au non-respect de la chaîne de froid (**Frentz et Juillard, 2003**). De plus, les produits étudiés ont subi une cuisson au cours du processus de fabrication. Par conséquent, il se peut que les nitrites se soient transformés en nitrosamines si les températures appliquées sont trop élevées (**Vendeuvre, 2006**). Par ailleurs, la transformation des nitrites en nitrosamines peut également être catalysée par la présence de bactéries à activité décarboxylasique dont la prolifération est favorisée par un stockage prolongé entre 18 et 30°C (**Vendeuvre, 2006**). Compte tenu de ces observations et devant l'absence de références nationales pour comparer nos résultats, nous avons tenu à émettre des recommandations.

IV.2.. Recommandations

IV.2.1. Aux autorités étatiques

Les autorités étatiques ont le rôle régalien d'assurer la protection des consommateurs. Pour cela, nous leur recommandons de :

- ✓ élaborer une réglementation nationale statuant sur l'utilisation du sel nitrité dans les produits de charcuterie en précisant les taux d'incorporation et les teneurs résiduelles dans les produits finis ;
- ✓ mettre en œuvre des programmes de contrôle en industries et dans les points de vente afin de surveiller les taux de nitrite incorporés et résiduels ;
- ✓ imposer aux industriels l'incorporation d'ascorbate ou d'érythorbate dans les produits de salaison afin de minimiser les risques de formation de nitrosamines. Les taux d'utilisation doivent être précisés ;
- ✓ sensibiliser les populations sur les bonnes habitudes alimentaires et les dangers liés à une consommation excessive de produits de salaison.

IV.2.2. Aux fabricants

Dans le cadre de leur responsabilité sociétale, les fabricants doivent mettre les consommateurs à l'abri de tout danger pouvant émaner de leurs produits. Les recommandations formulées vont dans le sens d'une utilisation de produits naturels comme alternatives au sel nitrité :

- ✓ pour la couleur, préférer l'utilisation de colorants naturels (extrait de tomate) ou de ferments bactériens producteurs de nitrosomyoglobine (*Staphylococcus xylosus* ou *Staphylococcus carnosus*) ;
- ✓ pour la flaveur, opter pour l'utilisation d'extrait de romarin, origan ou sauge qui inhibe la réaction d'oxydation par piégeage des radicaux libre ;
- ✓ pour assurer la qualité microbiologique, substituer une partie du nitrite par des ferments lactiques acidifiants ou par des extraits végétaux riches en

nitrate tels que la poudre de céleri le romarin, le clou de girofle, et la noix de muscade.

En outre, vu la volatilité de certaines nitrosamines et donc leur élimination dans la vapeur d'eau lors de la cuisson, il est important d'assurer une bonne aération des locaux lors de la fabrication des produits de salaisons cuits afin de protéger le personnel.

IV.2.3. Aux consommateurs

La viande et ses dérivés représentent une source précieuse de macro- et micronutriments, notamment de protéines, de vitamines A, B1 et B12, de niacine, de fer et de zinc. Ainsi, renoncer à consommer de la viande favorise les carences nutritionnelles. Cependant, il existe une certaine conduite à tenir afin d'éviter les effets néfastes pouvant découler de la consommation de produits carnés notamment la production de nitrosamines dans les produits de salaison. Ainsi, nous recommandons aux consommateurs de :

- ✓ limiter la consommation de produits de charcuterie notamment pour les enfants et pour les personnes âgées qui constituent la couche la plus vulnérable aux nitrites ;
- ✓ préférer les modes de cuisson à feu doux (vapeur, marmite) plutôt que la cuisson à feu vif (grill, barbecue, poêle) ;
- ✓ pour les cuissons au barbecue, opter pour une cuisson sur les braises (éviter le contact direct avec les flammes) ; ne griller que les produits (lardons, poitrine) pour lesquels la cuisson à la poêle ou au barbecue est prévue ;
- ✓ utiliser une pré-cuisson à l'eau ou à la vapeur qui permet de coaguler les protéines pour ensuite limiter le temps de chauffage à la poêle ou au barbecue ;
- ✓ décongeler les produits congelés avant cuisson. Cela permet d'éviter un temps trop élevé de chauffage fort ;

- ✓ respecter les règles d'hygiène et la chaîne de froid pour éviter la prolifération exagérée de germes notamment celle qui possède une nitrate réductase tels que les staphylocoques et les entérobactéries.

CONCLUSION

Les nitrates et les nitrites sont des ions ubiquistes qui peuvent être retrouvés dans l'environnement, l'eau et les aliments mais également dans l'organisme suite à une synthèse endogène. Ils sont utilisés dans diverses activités agricoles et industrielles. Le secteur agro-alimentaire est l'un des principaux acteurs impliqués dans la question des nitrates et nitrites. En effet, les légumes et produits dérivés contribuent fortement à l'apport de ces agents nitrés suivis des denrées d'origine animale tels que les fromages et les salaisons carnées. Dans les produits à base de viande, les nitrates et nitrites sont utilisés comme adjuvants de salaison. Ces additifs alimentaires présentent divers intérêts aussi bien sur le plan organoleptique que sur le plan sanitaire. En termes de flaveur, les agents nitrés limitent les phénomènes d'oxydation et de rancissement responsables d'une altération gustative des aliments. De plus, la nitrosomyoglobine et la S-nitrosocystéine dérivés du nitrite donnent aux produits de charcuterie leur goût caractéristique. Par ailleurs, les nitrates et nitrites sont incorporés dans les produits carnés pour leur conférer une coloration rouge ou rosée suivant le produit souhaité. Enfin, l'efficacité des nitrites sur les bactéries notamment les germes sporulants du genre *Clostridium botulinum* justifie plus que jamais l'utilisation de ces additifs alimentaires dans les salaisons carnées. Cette bactérie est un critère de sécurité dans de nombreux produits alimentaires du fait de la résistance de sa spore, de sa toxine et des conséquences sanitaires gravissimes qui peuvent découler du botulisme. La toxine botulinique peut être mortelle à une dose infime de l'ordre de 1 µg. Ainsi, l'utilisation des nitrates et des nitrites dans les aliments se justifie largement à différents niveaux de considération. Cependant, il existe un risque réel pouvant découler de l'ingestion de produits de salaison carnés traités avec ces additifs alimentaires.

L'intoxication aux nitrates et aux nitrites peut être aiguë ou chronique suivant la dose ingérée. Des doses de 4 à 5g pour le nitrate et 1,6 à 9,5 g pour le nitrite

peuvent être létales chez l'homme. L'intoxication aigüe la plus fréquente des nitrites est associée à la méthémoglobinémie. Elle est due à l'oxydation du fer hémoglobinique en méthémoglobine générant ainsi un défaut d'oxygénation tissulaire. Les personnes les plus vulnérables sont les enfants et les femmes enceintes notamment à partir de la trentième semaine de grossesse. Outre ces phénomènes aigus, la toxicité chronique des nitrates et nitrites peut également avoir des effets non négligeables. Des perturbations neuro-endocriniennes et des effets sur la reproduction et le développement peuvent se manifester. Des cas d'avortements spontanés, de morti-naissances et même d'anencéphalie ont été rapportés suite à une intoxication chronique aux nitrites chez les femmes enceintes. Cependant, de tous les effets des nitrates et nitrites sur la santé, celui qui suscite le plus de craintes demeure le cancer. En effet, les nitrates et nitrites ont été classés par le CIRC dans la catégorie des substances probablement cancérogènes pour l'humain (groupe 2A) dans les conditions de nitrosation endogène. Des études épidémiologiques ont permis d'établir une association positive entre les agents nitrés et divers cancers tels que le cancer colorectal, le cancer de l'estomac, le cancer du cerveau et le cancer de la vessie.

Pour faire face aux différents risques afférant à l'utilisation des nitrates et nitrites, les pays développés ont mis en place des réglementations fixant les limites d'incorporation et les teneurs résiduelles de ces additifs alimentaires dans les PCSCV.

Cependant au Sénégal, les teneurs en nitrite dans les aliments ne font pas l'objet de contrôles spécifiques compte tenu du manque de texte réglementaire spécifique sur l'usage des additifs alimentaires en général et des nitrates et nitrites en particulier. Aucune information n'est détenue ni par les autorités officielles ni par les consommateurs sur les niveaux de risque encouru suite à la consommation de produits nitrés.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes investis dans cette étude avec pour objectif général d'évaluer le taux de nitrite résiduel dans les PCSCV commercialisés sur le marché dakarois. De façon spécifique, il s'est agi de déterminer les taux de nitrite dans le saucisson à l'ail et le jambon de bœuf commercialisés sur le marché dakarois. Les taux de nitrite de ces différentes matrices ont été comparés entre eux puis aux limites résiduelles fixées par les institutions internationales à savoir le *Codex Alimentarius* et l'Union Européenne.

Les échantillons de jambon et de saucisson ont été achetés dans les supermarchés (Casino, Auchan, Citidia) et les supérettes de Dakar. Ils ont ensuite été acheminés au Laboratoire de Contrôle des Médicaments Vétérinaires (LACOMEV) sis à l'EISMV de Dakar. Une fois au laboratoire les échantillons ont été stockés à +4°C. L'analyse commence par un broyage et une trituration avec de l'eau distillée pour permettre l'extraction du nitrite. Il s'ensuit une étape de purification avec de l'hexacyanoferrate de potassium et de l'acétate de zinc. Le substrat obtenu est ensuite centrifugé et le surnageant est récupéré. Afin de réaliser les dosages, nous avons recouru à une technique colorimétrique basée sur la réaction de Griess pour obtenir un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie. C'est la méthode de référence pour le dosage des nitrites dans les produits carnés. Cette technique repose sur la réaction de diazotation entre le nitrite acidifié et deux amines aromatiques. Le produit de la réaction est un complexe coloré rose dont la densité optique permet de déduire la concentration des ions nitrites. Le complexe formé présente un maximum d'absorption entre 520 et 560 nm. Les réactifs utilisés sont le sulfanilamide et le N-1-naphthyl-éthylènediamine. Pour déduire la concentration correspondant à chaque densité optique lue, nous avons réalisé une courbe d'étalonnage à partir d'une gamme de solutions de nitrite. Les concentrations des étalons variaient de 2,2ppm et 44ppm.

La droite d'étalonnage réalisée sur Excel a été validée avec un coefficient de détermination de 0,995. La sensibilité de la méthode est donnée directement par la pente de la droite d'étalonnage qui est de 0,017. La limite de détection calculée est égale à 6,7 mg/kg et la limite de quantification à 22,33 mg/kg

Les résultats obtenus montrent que :

- ❖ pour les échantillons de saucisson à l'ail, le nitrite n'a été détecté que dans 18 échantillons sur les 25 analysés soit un taux de détection de 72%. Les teneurs varient entre 11 mg/kg et 71,6 mg/kg avec une moyenne de 24,5mg/kg ;
- ❖ pour les échantillons de jambon, le nitrite n'a été détecté que dans 3 échantillons sur les 20 analysés soit un taux de détection de 15%. Les teneurs varient entre 18,2mg/kg et 64,4mg/kg avec une moyenne de 4,1 mg/kg ;
- ❖ le test de Fischer-Snedecor a montré une différence significative entre le taux de nitrite du saucisson à l'ail et celui du jambon de bœuf ;
- ❖ le taux de conformité aux normes du *Codex Alimentarius* est de 100% aussi pour bien pour le jambon de bœuf que pour le saucisson à l'ail ;
- ❖ le taux de conformité aux normes européennes est de 100% pour le jambon de bœuf et 92% pour le saucisson à l'ail.

Il ressort de notre étude que le jambon de bœuf et le saucisson à l'ail vendus sur le marché dakarois sont très satisfaisants en termes de niveau de nitrite résiduel. Pour maintenir ce taux de conformité mais aussi compte tenu de la cinétique des nitrites et des risques afférant à l'ingestion des agents nitrés, des recommandations ont été faites afin de préserver la santé des consommateurs. Ces recommandations sont d'abord adressées aux autorités étatiques qui ont le rôle régalien d'élaborer une réglementation sur les nitrates et nitrites. Aux consommateurs, nous leur avons suggéré d'appliquer des bonnes pratiques de cuisson pour limiter les risques de nitrosation. Enfin, aux industriels, malgré les

résultats satisfaisants obtenus, nous les évertuons à limiter autant que possible les taux d'incorporation de nitrite voire explorer d'autres technologies de fabrication. En effet, un faible taux de nitrite résiduel ne signifie pas systématiquement que le taux d'incorporation a été raisonnable. Le nitrite initialement ajouté peut être réduit en d'autres agents nitrosants voire en nitrosamines au cours de la cuisson et au cours du stockage.

Des études ultérieures pourraient alors s'intéresser à la détermination du taux d'incorporation des nitrites dans les produits de charcuterie afin de mieux cerner le niveau de risque encouru. Par ailleurs, d'autres matrices alimentaires pourraient également être étudiées afin d'avoir des données sur l'ensemble des denrées. Une étude de l'alimentation totale pourrait ainsi être envisagée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **AOAC, 2000.**-Official method, 17th edition.-973.31 Nitrites in cured meats-Colorimetric method.
2. **AFNOR, 2005.**- Produits alimentaires - Détermination de la teneur en nitrates et/ou en nitrites - Partie 3 : détermination spectrométrique de la teneur en nitrates et en nitrites des produits carnés après réduction enzymatique des nitrates en nitrites NF EN 12014-3 : 2005-09.
3. **Bamba L. K., 2011.**-Etat des lieux sur la réglementation relative a l'utilisation des nitrates et nitrites dans les produits à base de viande au sein de l'UEMOA.-Thèse : Médevét : Dakar ; 21.
4. **Bittel R., 1987.**-Analyse des risques mutagènes et cancérigènes : nitrates, nitrites, Composés N-nitrosés. Confrontation avec les risques radioactifs (25-27).-In : Rapport CEA-R-5403.-174p.
5. **Brender J.D, Olive J.M, Felkner M., 2004.** Dietary Nitrites and Nitrates, Nitrosatable Drugs, and Neural Tube Defects.-*Epidemiology*, 15(3): 330-336.
6. **Cammack R., Joannou C.L., Cui X.Y., et al., 1999.**-Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation.- *Biochim. Biophys. Acta*, 1411 (2-3): 475-488.
7. **Centre technique de la charcuterie, de la salaison et des conserve de viande, 1980.**-Code de charcuterie, de la salaison et des conserves de viande (réglementation et usage).-2e éd.-Paris : CTCSCV. -111p.
8. **Chébékoué, S.F., 2008.**-Evaluation du risque cancérigène associé à la contamination de l'eau potable de puits municipaux par le nitrate/nitrite dans certaines régions rurales du Québec.-Mémoire Maitrise : Santé environnementale et santé au travail: Faculté de Médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec.

9. **Chen H., Ward M.H., Tucker K.L., 2002.** -Diet and risk of adult glioma in eastern Nebraska, United States.-*Cancer Causes Control*, 13(7): 647–655.
10. **Chung S.Y, Kim J.S, Kim M., et al., 2003.**-Survey of nitrate and nitrite contents of vegetables grown in Korea.-*Food Addit Contam* 20(7):621-628.
11. **CIRC, 2010.**-Ingested nitrate and nitrite and cyanobacterial peptide toxins.-Centre international de Recherche sur le Cancer, Lyon. 464 pp.
12. **Combet E., Paterson S., Lijima K., et al., 2007.**-Fat transforms ascorbic acid from inhibiting to promoting acid-catalysed N-nitrosation. *Gut*:1-7.
13. **Communauté Européenne, 1995.**-Directive 95/2/CE du parlement européen et du conseil concernant les additifs alimentaires autres que les colorants et les édulcorants. Journal officiel n° L 061 du 18/03/1995. 0001 – 0040. p.
14. **Corpet D.E., 2012.**- Mécanismes de l’effet pro-cancer des viandes : revue bibliographique.-*Revue Méd. Vét.*, 163, (1) 43-48.
15. **Curie F., 2006.**-Rétention de nitrates dans les zones humides riveraines : Rôle des facteurs hydrologiques, géomorphologiques et biogéochimiques. Approche multi échelle dans le Bassin de la Seine. Thèse : Spécialité hydrologie : Université Paris IV.
16. **Da Riz V., Guillard A.S., 2000.**-Nitrate et nitrite dans les produits alimentaires : le point sur la normalisation.-*Bull. Liaison CTSCC*, 10 (6) : 403-412.
17. **Deumier F., 2000.**-Formulation et déshydratation de viande de volaille par immersion : Etude des transferts de matière à pression atmosphérique et sous vide.-Thèse: Génie des procédés : Ecole nationale supérieure des industries agricoles et alimentaires.
18. **Dieng C.Y., 2016.**- Evaluation de la teneur en nitrites dans différents produits de charcuterie commercialisés à Dakar (SENEGAL).- Mémoire :

Biotoxicologie appliquée à l'Industrie, l'Environnement et la Santé : UCAD ; 181.

19. **Dietrich M., Block G., Pogoda J. M., et al., 2005.** A review: dietary and endogenously formed N-nitroso compounds and risk of childhood brain tumors. *Cancer Causes Control* 16(6): 619-635.
20. **Diouf L., Kane A., Seydi M., 2011.**-Disponibilité sur le marché et consommation des produits de charcuterie à Dakar.- ITA ECHOS, 06 : 10-11.
21. **Durand P., 2002.**-Définitions, réglementation et classification des produits de charcuteries et de salaison (10-46) In Technologie des produits de charcuteries et des salaisons. Paris : Lavoisier ; Technique et documentation.- 450 p.
22. **Eisenbrand G., Spiegelhalder B., Preussmann R., 1980.**-Nitrate and nitrite in saliva.- *Oncology* 37(4): 227-231.
23. **Fan A.M., Willhite C.C., Book S.A., 1987.**-Evaluation of the nitrate drinking water standard with reference to infant methemoglobinemia and potential reproductive toxicity. -*Regul Toxicol Pharmacol* 7(2): 135-148.
24. **Fields S., 2004.** Global nitrogen: cycling out of control. *Environ Health Perspect* 112(10): A556-A563.
25. **Foret S., 2011.**- Etude d'un nouveau procédé de fractionnement des co-produits de fabrication de jambon sec et des propriétés physico-chimiques et fonctionnelles des extraits et raffinats.-Thèse: Sciences des agro-ressources : Université de Toulouse.
26. **Frentz J. C., Juillard A., 2003.**-L'encyclopédie de la charcuterie.-Ed. Soussana : Mae-Erti.-1342p.
27. **Froehlich D.A., Gullett E. A. and Usborne W.R., 1983.**-Effect of nitrite and salt on the color, flavor and overall acceptability of ham.-*J. Food Sci.*, 48 : 152-154.

28. **Frouin A., Jondeau D., Bidard J. P., et al., 1980.** - Dosage des nitrates et des nitrites dans les produits animaux.-Ann. Nutr. Alim., 34 : 765-778.
29. **Galán-Vidal C.A., Castañeda-Ovando A., Páez-Hernández M.E, et al., 2014.**-Determination of Nitrites in Commercial Sausages by Anthocyanins Degradation. Experimental Design and Optimization.- J. Mex. Chem. Soc., 58(2), 180-184.
30. **Gangolli S.D., Van den Brandt P.A., Feron V.J. et al., 1994.**-Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds.-*European Journal of pharmacology* (Environmental Toxicology and Pharmacology Section) 292: 1-38.
31. **Goutefongea R., Cassens R. G., Woolford G., 1977.** -Distribution of sodium nitrite in adipose tissue during curing. -*J. Food. Sci.*, 42 : 1637-164.
32. **Grosse Y., Baan R., Straif K., et al., 2006.**-Carcinogenicity of nitrate, nitrite, and cyanobacterial peptide toxins.-*The Lancet Oncology* 7(8): 628-629.
33. **Guingamp M.F., Linden G., 1983.**-Teneurs en NOx du lait et des produits laitiers: aspects technologiques et biochimiques (425-442) In : Le lait.- INRA Editions, 63 (633-634).
34. **Hall A.H., 1986.**-Drug and Chemical-Induced Methemoglobinemia: Clinical Features and Management.- *Medical Toxicology*, 1 : 253-260.
35. **Hallé V.C.H., 2002.**- Consommation de viande et cancer colorectal chez l'homme : une revue de l'épidémiologie et des mécanismes. Thèse : Méd Vét, l'Université Paul-Sabatier de Toulouse.
36. **Hauck R. D., 1981.** -Nitrogen fertilizer effects in nitrogen cycle processes, In Terrestrial. Nitrogen Cycles, Clark, F. E. Rosswall, T., Eds., Ecol. Bull. (Stockholm) 33, Swedish NaturalResearch Council, Stockholm, 551.

37. **Hermann S. S., 2014.-** N-nitrosamines in processed meat products : Analysis, occurrence, formation, mitigation and exposure.- Thèse: Food Chemistry: National Food Institute, Technical University of Denmark.
38. **Honikel K.O., 2008.-**The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products Karl-Otto.-Meat Science 78: 68–76.
39. **Hospital X.F., Hierro E., Fernandez M., 2012.-** Survival of *Listeria innocua* in dry fermented sausages and changes in the typical microbiota and volatile profile as affected by the concentration of nitrate and nitrite.- *Inter. J. Food Microbiol* ,153 : 395–401.
40. **Hounyo S.B., 2008.-**Contribution a l'amélioration de la législation et la réglementation du contrôle des denrées alimentaires d'origine animale en République du Bénin.-Thèse : Méd Vét : Dakar ; 11.
41. **Hsu J., Arcot J., Lee N.A., 2009. -** Nitrate and nitrite quantification from cured meat and vegetables and their estimated dietary intake in Australians.-Food Chemistry, 115 : 334–339.
42. **IARC, 1998.-**Some N-nitroso Compounds.-IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.
43. **Idrissi L., 2006.-** Etude et développement de nouvelles méthodes électrochimiques pour la détermination des ions orthophosphate, nitrite, nitrate et ammonium.-Thèse : Chimie analytique : Université Mohammed V-Agdal (Maroc) ; 2322.
44. **INERIS, 2014.** Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Nitrosamines, DRC-14-136881-01291A, 69 p.
45. **Ionescu A., Zara M.,Aprodu I., et al., 2006.-**Monitoring des nitrites et nitrates résiduels des produits de viande salée avec le teste nitrite Merckoquant.- Scientific study & Research, 7 (4) : 745-755.
46. **ISO 2918:1975** Preview Meat and meat products - Determination of nitrite content.

47. **Jacotot P., Parco J. Cl., 1983** ;-Nutrition et alimentation.-Paris, Masson.-
307p
48. **Jakszyn P., Agudo A., Berenguer A., et al., 2006a**.-Intake and food sources of nitrite and N-nitrosodimethylamine in Spain.-*Public Health Nutrition* 9(6): 785-791.
49. **Jakszyn, P., Bingham, S., Pera, G., et al., 2006b**.-Endogenous versus exogenous exposure to N-nitroso compounds and gastric cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST) study.-*Carcinogenesis*, 27(7): 1497–1501.
50. **Jego G., 2008**.- Influence des activités agricoles sur la pollution nitrique des eaux souterraines. Analyse par modélisation des impacts des systèmes de grande culture sur les fuites de nitrate dans les plaines alluviales.-Thèse: Agrosystèmes, écosystèmes et environnement: Université de Toulouse III-Paul SABATIER.
51. **Jung S., 2005**.-Apport des drogues végétales dans la prévention des maladies cardio-vasculaires liées à l'hypercholestérolémie.-Thèse : Pharmacie : Université HENRI POINCARÉ Nancy, France.
52. **Khodadady M., Shahryari T., Dorri H., 2012**.- Evaluation of nitrite in meat products (sausages and salami) are distributed in Birjand.- *European Journal of Experimental Biology*, 2 (6):2120-2124.
53. **Kubberod G., Cassens R. G., Greaser M. L., 1974**. - Reaction of nitrite with sulfhydryl groups of myosin.-*J. Food. Sci.*, 39 : 1228-1230.
54. **Levallois P., Phaneuf D., 1992**.-Les risques associés à la contamination de l'eau potable par les nitrates.-*BISE*, 3 (3) : n.p
55. **Lo O., 1983**.- Législation et réglementation de l'inspection des viandes, produits carnés, volailles et produits halieutiques au Sénégal : Analyse critique et propositions d'amélioration.- Thèse: Med Vét: Dakar;13.
56. **Mirvish S.S., 1986**.-Effects of vitamins C and E on N-nitroso compound formation, carcinogenesis, and cancer.-*Cancer Res*, 58: 1842-1850.

57. **Mirvish S.S., 1994.**-Experimental evidence for inhibition of N-nitroso compound formation as a factor in the negative correlation between vitamin C consumption and the incidence of certain cancers. -*Cancer Res* 54(Suppl): 1948S-1951S.
58. **Mirvish S.S., 1995.** -Role of N-nitroso-compounds (NOC) and N-nitrosation in etiology of gastric, esophageal, nasopharyngeal and bladder cancer and contribution to cancer of known exposures to NOC. -*Cancer Lett* 93: 17-48.
59. **Mirvish, S.S., 1975.**-Formation of N-nitroso compounds: chemistry, kinetics, and in vivo occurrence.- *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 31(3): 325–351.
60. **Moldovan Z., 2012.**-Spectrophotometric determination of nitrite by its catalytic effect on the oxidation of Congo red with bromate.- *Bull. Chem. Soc. Ethiop.*, 26(2), 159-169.
61. **Montesano R., Bartsch H., 1976.**-Mutagenic and carcinogenic N-nitroso compounds: possible environmental hazards.- *Mutat Res*, 32: 179-228.-*In* Nitrogen Cycles, Clark, F. E. Rosswall, T., Eds., Ecol. Bull. (Stockholm) 33, Swedish Natural.
62. **Mottram D. S., Rhodes D. N., 1973.**- Nitrites and the flavour of cured meat.-International symposium on nitrite in meat products Zeist, 161-171.
63. **Nolan B. T., Hitt K. J., Ruddy B. C., 2002.**-Probability of nitrate contamination of recently recharged groundwaters in the conterminous United States.-*Environ Sci Technol* 36: 2138-2145.
64. **OMS, 1995.**- Evaluation de certains additifs alimentaires et contaminants (32-46 p). – Quarante quatrième rapports du comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires, Genève.
65. **Parnaud G., Corpet D.E., 1997.**- Cancer colorectal : le rôle controversé de la viande.- *Bull cancer*, 84 (9) : 899-911.

66. **Parthasarathy D.K., Bryan N.S., 2012.-** Sodium Nitrite: the “Cure” for Nitric Oxide Insufficiency- *Meat Science*, 92 :274–279.
67. **Pelroy G.A., Eklund M.W., Paranjpye R.N. et al., 1982.-** Inhibition of *Clostridium botulinum* types A et E toxin formation by sodium nitrite an sodium chloride in hot-process salmon.-*Journal of food protection*, 45 (9) :833-841.
68. **Pignatelli B., 2002.-**Nitrosamines et autres composés N-nitrosés dans les aliments (257-289). In Sécurité alimentaires du consommateur.- Paris : Lavoisier, Technique et documentation : 442p.
69. **Radikova Z., Tajtakova M., Kocan A., 2008.-**Possible effects of environmental nitrate and toxic organochlorines on human thyroid in highly polluted areas in Slovakia.-*Thyroid*, 18(3): 353–362.
70. **Rakansou D., 2008.-** Contribution a l’étude des caractéristiques chimiques du jambon cuit de bœuf commercialisé sur le marché dakarois.- Thèse: Med Vét: Dakar;35.
71. **Richi E.B., Baumer B., Conrad B. et al., 2015.-** *FORUM MÉDICAL SUISSE*, 15 (24):566 –572.
72. **Risgaard-Petersen N., Langezaal A.M., Ingvarlsen S., Schmid M.C., et al., 2006.-**Evidence for complete denitrification in a benthic foraminifer. -*Nature*, 443: 93-96.
73. **Rocha C. O., Petruci J. F. S., Cardoso A.A., 2017.-**Methylene Violet 3 RAX Dye as a New Reagent for the Determination of Nitrite in Cured Meats and Vegetables.- *J. Braz. Chem. Soc.*, 0 (0) : 1-6.
74. **Sangaré M., 2017.-** Qualité physico-chimique des saucissons à l’ail de bœuf vendus dans les supermarchés de Dakar (Sénégal).-Mémoire : Qualité des aliments de l’homme : Dakar (EISMV) ; 02.
75. **Santé Canada, 2013.-**Recommandations pour la qualité de l’eau potable au Canada : document technique — Le nitrate et le nitrite. Bureau de la qualité de l’eau et de l’air, Direction générale de la santé

environnementale et de la sécurité des consommateurs, Santé Canada, Ottawa (Ontario). (Numéro de catalogue H144-13/2-2013F-PDF).

76. **Shahat M., Ibrahim M. I., Osheba A. S. et al., 2016.**- Effect of plant powders as natural nitrate source on reduction of nitrosamine compounds in beef burgers.- *Middle East Journal of Applied Science*, 06 (1) : 198-206.
77. **Siddiqi M., Kumar R., Kaul D., 1992.**-Salivary nitrate and nitrite concentrations from a sample population of children and adults in high risk area for esophageal and gastric cancers in Kashmir, India. -*Cancer Lett* 64: 133-136.
78. **Sindelar J.J., Milkowski A.L., 2012.**- Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet.- *Nitric Oxide*, 26 : 259–266.
79. **Talon R., Leroy S., Vermassen A., Christieans S., 2015.**-Réduction des nitrates, nitrites dans les produits carnés: quelles conséquences? Quelles solutions?.- *Innovations Agronomiques* 44 : 25-34.
80. **Terje T., Mari R., Mati R., 2010.**-Nitrates and Nitrites in Vegetables: Occurrence and Health Risks (307-321).-In *Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables*.-Academic Press: 754p.
81. **Tsikas D., 2007.**- Analysis of nitrite and nitrate in biological fluids by assays based on the Griess reaction: Appraisal of the Griess reaction in the l-arginine/nitric oxide area of research.- *Journal of Chromatography B*, 851 : 51–70.
82. **Turek B., Hlavsova D., Tucek J., Waldman J., Cerna J., 1980.** -The fate of nitrates and nitrites in the organism. -*IARC SciPubl* 31: 625-632.
83. **U.S. EPA, 2011.**-Estimation programs interface suite™ for Microsoft® Windows, v 4.0. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC.
84. **Union professionnelle suisse de la viande, 2014.**- Code des usages pour des viandes et des produits carnés de qualité.-71p.

85. **Van Maanen J.M.S., Van Dijk A., Mulder K., 1994.**-Consumption of drinking water with high nitrate levels causes hypertrophy of the thyroid.- *Toxicol. Lett.*, 72(1–3): 365–374.
86. **Vermeer I.T.M., Gerrits M.M., Moonen E.J.C., et al., 2002.** - *Helicobacter pylori* does not mediate the formation of carcinogenic N-nitrosamines.-*Helicobacter*, 7(3): 163–169.
87. **Vermeer I.T.M., van Maanen J.M.S., 2001.**-Nitrate exposure and the endogenous formation of carcinogenic nitrosamines in humans. -*Rev Environ Health* 16(2): 105-113.
88. **Ward M.H., Heineman E.F., Mc Comb R.D., et al., 2005.** Drinking water and dietary sources of nitrate and nitrite and risk of glioma.-*J. Occup. Environ. Med.*, 47(12): 1260–1267.
89. **Ward M.H., Rusiecki J.A., Lynch C.F., et al., 2007.** Nitrate in public water supplies and the risk of renal cell carcinoma. *Cancer Causes Control* 18(10): 1141-1151.
90. **Weyer P.J., Smith B. J., Feng Z., et al., 2006.** Comparison of nitrate levels in raw water and finished water from historical monitoring data on Iowa municipal drinking water supplies. *Environ Monit Assess* 116(1-3): 81-90
91. **Zahran D.A., Kassem G.M.A., 2011.**- Residual nitrite in some Egyptian meat products and the reduction effect of electron beam irradiation.- *Journal of Food Science and Technology*, 3(5): 376-380.
92. **Zeisel S.H., Da Costa K.A. , Fox J.G., 1985.**-Endogenous formation of dimethylamine.-*Cancer Res.*, 46 (12): 6136-6138.
93. **Zhao Yilong, Zhao Dean, Li Daoliang, 2015.**-Electrochemical and other methods for detection and determination of dissolved nitrite: a review.- *Int. J. Electrochem. Sci.*, 10 : 1144 – 1168.

WEBOGRAPHIE

- 94.**ACIA, 2016.** Aliments - Produits de viande et de volaille - Manuel des Méthodes- Chap. 5 - Échantillonnage et analyses. Agence Canadienne d'Inspection des Aliments. [en ligne] Accès internet: <http://www.inspection.gc.ca/aliments/produits-de-viande-et-devolaille/manueldesmethodes/chapitre5/fra/1395150894222/1395150895519?chap=7#s40c7> (**page consultée le 18 mai 2017**).
- 95.**AFSSA, 2004** – Saisine n° 2004-SA-0067.-Fiche 19 : Evaluation des risques sanitaires liés au dépassement des limites de qualité des nitrates et des nitrites dans les eaux destinées à la consommation humaine[en ligne] Accès internet : <https://www.anses.fr/fr/system/files/EAUX-Fi-NitratesNitrites.pdf>(**page consultée le 18 mai 2017**).
- 96.**Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie (ANSD), 2015.**-Situation économique et sociale du Sénégal en 2012 [en ligne] Accès internet : http://www.ansd.sn/ressources/ses/SES_2012.pdf (**page consultée le 06 juin 2017**).
97. **Agroscope, 2006.** Transformation de la viande. La salaison [en ligne] Accès internet : <http://www.agroscope.admin.ch/fleischverarbeitung/01053/02293/index.html?lang=fr>(**page consultée le 9 septembre 2016**).
- 98.**ATSDR, 2007.** -Nitrate/Nitrite Toxicity. Case Studies in Environmental Medecine (CSEM).-Agency for Toxic Substances and Disease Registry; 37 p. [en ligne] Accès internet: https://www.atsdr.cdc.gov/csem/nitrate_2013/docs/nitrite.pdf(**page consultée le 18 mai 2017**).

- 99. Australia New Zealand Food Standards Code, 2000 - Standard 1.3.1 - Food Additives [en ligne] Accès internet :**
<https://www.legislation.gov.au/Details/F2008B00614> (page consultée le 19 mai, 2017).
- 100. *Codex Alimentarius, 1989.*** Noms de Catégories et Système International de Numérotation Des Additifs Alimentaires CAC/GL 36-1989 [en ligne] Accès internet :
<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/list-standards/fr/> (page consultée le 19 mai 2017).
- 101. *Codex Alimentarius, 1995.*** Norme générale *Codex* pour les additifs alimentaires CODEX STAN 192-1995 [en ligne] Accès internet :
http://www.fao.org/gsfonline/docs/CXS_192f.pdf (page consultée le 19 mai 2017)
- 102. *Codex Alimentarius, 2010.***-Document d'information sur les dispositions relatives aux additifs alimentaires dans les normes de produits FA 43 INF/02 [en ligne] Accès internet :
http://ftp.fao.org/codex/Meetings/CCFA/ccfa43/fa43_inf2e.pdf (page consultée le 30 mai 2017).
- 103. *Codex Alimentarius, 2017.*** Document de discussion sur l'emploi des nitrates et des nitrites CX/FA 17/49/11 [en ligne] Accès internet :
http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/shproxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-711-49%252Ffa49_01f.pdf (page consultée le 19 mai 2017).

104. **Commission Européenne, 2008.-** Règlement (UE) N°1333/2008 de la commission du 16 décembre 2008 sur les additifs alimentaires. Journal officiel de l'Union européenne L 354 du 31/12/2008. : 16-32. [en ligne] Accès internet : <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/ALL/?uri=CELEX:32008R1333> (page consultée le 22 mai 2017) .
105. **Environnement Canada, 2003.** -Recommandations canadiennes pour la qualité des eaux : protection de la vie aquatique – ion nitrate. - Bureau national des recommandations et des normes, Direction générale de la coordination et des politiques relatives à l'eau, Environnement Canada. 130 p. (Santé des écosystèmes : solutions fondées sur la science, rapport no 1-6 [en ligne] Accès internet: <https://www.canada.ca/content/dam/canada/health-canada/migration/healthy-canadians/publications/healthy-living-vie-saine/water-nitrate-nitrite-eau/alt/water-nitrate-nitrite-eau-fra.pdf> (page consultée le 18 mai 2017).
106. **Goutefongea R., Girard J.P., Jacques B., 1978.-** Caractéristiques de la viande de porc de consommation.- Journées rech. porcine en France [en ligne] Accès internet: <http://www.journees-recherche-porcine.com/texte/1978/78txtCarcasse/Cv7802.pdf> (page consultée le 06 juin 2017).
107. **IARC, 2000.-** Le cancer, un fardeau mondial [en ligne] Accès internet : <https://www.iarc.fr/fr/publications/pdfs-online/wcr/2003/wcrf-1.pdf> (page consultée le 15 mars 2017).

108. **INRA, 2010.**-Charcuteries et cancer colorectal : première démonstration expérimentale d'un effet promoteur dans un modèle animal. [En ligne] Accès internet :
<http://www.vulgaris-medical.com/a-la-une/charcuterie-et-cancer-7.html>(page consultée le 15 septembre 2016)
109. **INSPQ, 2003.** -Fiche Nitrates/Nitrites. -Groupe Scientifique sur l'eau [en ligne] Accès internet:
<https://www.inspq.qc.ca/es/node/1862> (page consultée le 18 mai 2017).
110. **IPCS, 1999.** Nitrates and nitrites. International Programme on Chemical Safety Poisons Information Monograph (Group Monograph) G016 Chemical [en ligne] Accès internet:
<http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pimg016.htm> (page consultée le 18 mai 2017).
111. **Maroc, Ministère de l'agriculture et de la pêche maritime et le ministère de la santé, 2009.**- Circulaire conjointe relative aux additifs alimentaires. [en ligne] Accès internet :
<http://www.onssa.gov.ma/fr/images/reglementation/transversale/arr.1795-14.fr.pdf> (page consultée le 19 mai 2017).
112. **OEHHA, 1997.** Public health goals for nitrate and nitrite in drinking water. Office of Environmental Health Hazard Assessment, California Environmental Protection Agency, Sacramento, California. [en ligne] Accès internet:
<https://oehha.ca.gov/media/downloads/water/chemicals/phg/nit2c.pdf>
(page consultée le 19 mai 2017).
113. **OMS, 2004.** -Nitrates and Nitrites in drinking-water. - WHO/SDE/WSH/04.08/56, Rolling revision of the WHO guidelines for drinking-water quality. Draft for review and comments, Geneva. [en ligne] Accès internet:

http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/nitratesfull.pdf
(page consultée le 18 mai 2017).

114. **OMS, 2007.**-Nitrate and nitrite in drinking-water.-Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. [en ligne] Accès internet:
http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/nitratenitrite2ndadd.pdf (page consultée le 18 mai 2017).

115. **OMS, 2017.**-Journée mondiale de la santé. Les maladies liées à l'eau : Méthémoglobinémie [en ligne] Accès internet :
http://www.who.int/water_sanitation_health/diseases/methaemoglob/fr/
(page consultée le 06 juin 2017).

116. **Ratel, 1992.-**

Elimination des nitrates de l'eau potable. Document technique. [en ligne] Accès internet:
<http://www.fndae.fr/documentation/PDF/fndaehs04bis.pdf> (page consultée le 18 mai 2017).

117. **Santé Canada, 2014.-** Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : Le nitrate et le nitrite. [en ligne] Accès internet:
<https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/publications/vie-saine/recommandations-pour-qualite-eau-potable-canada-document-technique-nitrate-et-nitrite.html>(page consultée le 18 mai 2017).

118. **Santé Canada, 2015.-Validation des méthodes d'analyse : Texte et Méthodologie.** [en ligne] Accès internet :
http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/prodpharma/applic-demande/guide-ld/ich/qual/q2r1-fra.php#p2_s6(page consultée le 27 mai 2017).

119. **Sénégal. Ministère de l'Elevage et des Productions Animales (MEPA), 2016.** Rapport de Revue Sectorielle [en ligne] Accès internet :

www.elevage.gouv.sn/MEPARapport-revue-sectorielle-2016.pdf (page consultée le 21 février 2017).

120. **U.S.EPA, 2002.** Integrated Risk Information System (IRIS): Nitrate (CAS RN 14797-55-8). Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency[en ligne] Accès internet:
https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0076_summary.pdf(page consultée le 18 mai 2017).
121. **U.S. EPA, 2006.** Consumer Factsheet on: Nitrates/Nitrites. National Primary Drinking Water Regulations. U.S. Environmental Protection Agency. [enligne] Accès internet :
https://archive.epa.gov/region5/teach/web/pdf/nitrates_summary.pdf
(page consultée le 19 mai 2017).
122. **Vendeuvre J.L., 2006.-** Prévention de la formation de composés néoformés dans la viande cuite et les produits à base de viande en fonction de leur mode de préparation ou de fabrication [en ligne] Accès internet :
<http://www.ifip.asso.fr/sites/default/files/pdfdocumentations/11ejsmv2006vendeuvre.pdf> (page consultée le 19 mai 2017).

SERMENT DES VETERINAIRES DIPLOMES DE DAKAR

« Fidèlement attaché aux directives de **Claude BOURGELAT**, fondateur de l'enseignement vétérinaire dans le monde, je promets et je jure devant mes Maîtres et mes Aînés:

- d'avoir en tous moments et en tous lieux le souci de la dignité et de l'honneur de la profession vétérinaire;
- d'observer en toutes circonstances les principes de correction et de droiture fixés par le code de déontologie de mon pays;
- de prouver par ma conduite, ma conviction, que la fortune consiste moins dans le bien que l'on a, que dans celui que l'on peut faire;
- de ne point mettre à trop haut prix le savoir que je dois à la générosité de ma patrie et à la sollicitude de tous ceux qui m'ont permis de réaliser ma vocation.

Que toute confiance me soit retirée s'il advienne que je me parjure».

LE (LA) CANDIDAT (E)

VU
LE DIRECTEUR GENERAL
DE L'ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR

VU
LE PROFESSEUR RESPONSABLE
DE L'ECOLE INTER-ETATS DES
SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR



VU
LE DOYEN
DE LA FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE
DE L'UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP
DE DAKAR

LE PRESIDENT
DU JURY

Professeur Diakh FALL
Ancien Interne des Hôpitaux
Laboratoire de Chimie
Thérapeutique
UCAD

VU ET PERMIS D'IMPRIMER _____
DAKAR, LE _____

LE RECTEUR, PRESIDENT DE L'ASSEMBLEE
DE L'UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP
DE DAKAR

Dosage du nitrite résiduel dans les produits à base de viande commercialisés sur le marché dakarois : cas du saucisson à l'ail et du jambon de bœuf

Résumé

Les nitrates et les nitrites sont des additifs alimentaires incorporés dans les produits de salaison carnés afin d'améliorer leurs caractéristiques organoleptiques et d'assurer leur sécurité microbiologique.

Cependant ces agents nitrés ont été classés par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) comme substances probablement cancérogènes pour l'humain (groupe 2A) dans les conditions de nitrosation endogène.

Au Sénégal, ces additifs alimentaires ne font pas l'objet de contrôle spécifique car aucune réglementation n'a été élaborée à cet effet.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude avec pour objectif général de contribuer à la sécurité sanitaire des aliments commercialisés au Sénégal en dosant la teneur en nitrite résiduelle dans les PCSCV.

Les prélèvements ont été réalisés dans les grandes surfaces et supérettes de Dakar. Il s'agit de 45 échantillons dont 25 échantillons de saucisson et 20 échantillons de jambon. Les analyses ont été effectuées au Laboratoire de Contrôle des Médicaments Vétérinaires (LACOMEV) de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar.

Les résultats montrent que le nitrite n'a pas été détecté dans 24 échantillons sur les 45 analysés. La teneur moyenne en nitrite de nos échantillons est de 15,8mg/kg. La concentration minimale est de 11 mg/kg tandis que la teneur maximale est égale à 71,6 mg/kg.

Cette étude montre que le taux de nitrite résiduel dans les produits à base de viande commercialisés sur le marché dakarois est très satisfaisant car toutes les concentrations obtenues sont inférieures à 80 mg/kg qui est la valeur seuil fixée par le *Codex Alimentarius*.

Mots clés : Teneur/ Nitrite/ Jambon et Saucisson/ Dakar

Auteur : **Maïmouna Nguissaly NDIAYE**

E-mail : mounass92@hotmail.com

Tel : (00221) 77 860 13 31

Adresse : Keur Massar, cité Aïnoumady, SENEGAL