

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة خميس مليانة
Université Khemis Miliana
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département Biologie.



Mémoire de fin d'étude
En vue de l'obtention d'un diplôme de **Master**
Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie
Filière: Biologie et Agro Sciences
Spécialité: Analyses Biologiques et Biochimiques

Impact de quelques paramètres (lumière, obscurité, température) sur la cinétique de dégradation des nitrates dans quelques légumes locaux pendant l'entreposage.

Présenté par :

✎ M^{elle} Hadj mohamed Amina

✎ M^{elle} Benyettou Fatima Zohra

Soutenu le: 01Juillit 2015, Devant le jury:

Président :	Mr kadir M.	MAB UKM
Promoteur :	Mr Aoun O.	MAB UKM
Examinatrice :	Mme Daoudi A.	MAA UKM
Examinatrice:	Mme Ghomari F.	MAB UKM

2014/2015



Remerciement

Au début, nous remercions Allah de nous avoir donnés la force, la santé et la volonté l'ors de la réalisation de ce travail.

Nous tenons très sincèrement à remercier notre promoteur M^r AOUN d'avoir accepté de nous encadrés. Nous tenons aussi de lui remercier pour ses orientations, ses observations et sa patience, ainsi que son suivi tout le long de notre travail

Nos remerciements s'adressent aussi à M^r Kadir A. qui nous a honorés en acceptant de présider le jury, et M^{me} Goumari F. et M^{me} Daoudi A. d'avoir accepté d'examiner notre travail et participer au jury.

Nos remerciement s'adresse aux personelles de laboratoire chimie 3 de l'université de khemis meliana M^r Bensmaili Amine^r et M^r Djilali Djilali Elhadj

En fin nous remercions chaleureusement toutes les enseignants qui ont veillés sur notre formation et toutes celles qui ont participées de prés ou de loin par leurs aides et soutiens à élaborer ce mémoire dans les meilleures conditions.

DEDICACES

Au nom d'Allah, qui nous a éclairé les chemins du savoir et de la sagesse,

Je dédie ce mémoire à:

Mes très chers parents Mohammed et Zohra

Qui n'ont jamais cessé de me soutenir pour que je puisse finir mes études et avoir une bonne formation et à qui je voudrais exprimer mes affections et mes gratitudes. Merci encore mille fois.

A ma grande mère

Mes très chers frères

Ahmed, Djamel, Redhouane et Hamza

Mes très chères sœurs

Zahia, Aicha, Nassima

Et mes belles sœurs Fayrouz et Ferial et leurs enfants

Sanaa, Abderahime, Rassim, Ooqba

A toute ma famille

A mon binôme Fatma zohra .

A ma cousine Hadj Mohamed Nacera qui ma beaucoup aidé

A la mémoire de mon oncle H.M Nouredine

Tous mes amis et tous ceux qui me sont chers : Siham, Naima , Fatima ,Halima, Fatima zohra, et mes cousines Hanaa, Chaimaa, Hamida

Tous les collègues de la promotion d'analyse biologique et biochimique: 2014-2015 qui ont partagé avec moi les longues années d'étude

A tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin et m'ont souhaité toujours la réussite et le bonheur.

AMINA

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

- À chaque personne qui m'aide de près ou de loin pour faire ce travail surtout mes professeurs qui je les souhaite beaucoup de courage pour construire une algérie forte et puissante.*
- À vous mes très chers parents pour votre affection et amour.*
- À mes très chers frères et sœurs.*
- À ma très chère amie Yahya m'hammed fadhila qui m'a beaucoup encouragé et donner la volonté de continuer mes études.*
- À mes merveilleuses amies : séham , houria , naima , f/z , et a toi mon bénon amina.*
- À tous les étudiants de ma promotion de biologie.*

À toute la famille benyettou

Résumé

Les nitrates, les nitrites et les nitrosamines sont présents dans une large gamme des aliments. Cependant, les légumes peuvent également être une source importante de nitrates due à l'utilisation des engrais agricoles. Les nitrates peuvent s'accumuler dans les plantes et poser des problèmes de santé. L'objectif de cette étude est de quantifier la teneur de nitrates dans quelques produits (tomates, épinards, carottes, et pommes de terre...); à investiguer l'effet d'entreposage (lumière, obscurité et froid.) sur la cinétique de la transformation des nitrates dans les tomates, carottes, pomme de terre et laitues et étudier l'impact du blanchiment à l'eau sur l'élimination de nitrates à 60, 70, 80°C, évalué pendant 03 minutes pour les carottes et les épinards. Les résultats montrent que la concentration des nitrates varie d'un légume à l'autre, elle est respectivement de (1996,28mg / kg, 338,18mg / kg, 550,79mg/ kg, 3217,75mg/ kg, 271,11mg/ kg, 442,35mg / kg, 371,00mg/ kg, 195,49mg/ kg pour l'épinard, pomme de terre, carotte, betterave, petit pois, laitue, concombre, tomate. L'effet de l'entreposage révèle une faible diminution du TN dans le froid (exemple : dans le cas du passage de **338.18** mg/kg à **325.34** mg/kg pour la pomme de terre), et une forte réduction à la lumière (exemple : elle passe de **550.79** mg/kg à **292.52** mg/kg pour la carotte) pendant le 2^{ème} jour de la période d'entreposage. Cette diminution est liée aux activités de nitrates réductases et à une contamination microbienne dans les légumes. L'effet du blanchiment est estimée par le taux d'élimination de nitrates dans l'eau de blanchiment, elle est de 27%, 37%, 87% à 60°C, 70°C, 80°C pour les épinards et 24%, 26%, 74%, à 60°C, 70°C, 80°C pour la carotte.

Les mots clés : Nitrate, nitrite, entreposage, blanchiment, taux d'éliminations.

Abstract

Nitrates, nitrites and nitrosamines are present in a wide range of food. However vegetables can also be an important source of nitrate due to the use of agricultural fertilizers. Nitrates can accumulate in plants and cause health problems. The aim of this study is to quantify the amount of nitrates in some products (tomato, spinach, carrot, and potato...), to investigate the effect of storage (light, dark and cold.) on the kinetics of transformation of nitrates in tomato, lettuce, carrot, potato, and to estimate the impact of bleaching to water on the nitrate elimination with 60°, 70°, 80°, evaluated during 03 minutes for spinach and carrot. The results shows that the nitrate changes from one vegetable to another, it is of (1996,28mg / kg, 338,18mg / kg, 550,79mg / kg, 3217,75mg / kg, 271,118mg / kg, 442,351mg / kg, 371,00mg / kg, 195,49mg / kg for the spinach, potato, carrot, beet, pea, lettuce, cucumber, tomato, respectively. The effect of storage shows a weak reduction of the content nitrates in the cold (example: it in the case of passes from **338.18** mg/kg to **325.34** mg/kg for potato) and a strong reduction in the light and the temperature (example: it passes from **550.79**mg/kg at **292.52** mg/kg for a carrot) in the 2nd Day of the period of storage , this reduction is dependent on the activities of nitrates reeducates and a microbial contamination in vegetables. The effect of bleaching was to estimate by the rate of nitrates elimination in water, it is of 27%, 37%, 87%, with 60°C, 70°C, 80°C respectively for spinach and 24%,26%, 74%, %, with 60°C, 70°C, 80°C, with respectively for carrot.

Key words: Nitrates, nitrites, storage, kinetics, bleaching, rate of elimination.

المخلص

النترات والنتريت والنتروزامين موجودة في مجموعة واسعة من الاغذية، تعتبر الخضروات مصدرا رئيسيا للنترات بسبب استخدام الأسمدة الزراعية . يمكن للنترات أن تتراكم في النباتات وتسبب عدة مشاكل صحية. يستند هدف هذه الدراسة على جزأين أساسيين، التحديد الكمي لمحتوى النترات الموجود في بعض منتجات الخضار الأكثر استهلاكاً و أيضاً تقييم تأثير تخزين الجزر، الطماطم، الخس و البطاطا في شروط حفظ مختلفة (الضوء، الظلام والبرودة) على حركية تحول النترات، بالإضافة إلي دراسة اثر التبييض بالماء لنوعين من الخضار (السبانخ والجزر) على كمية طرح النترات في درجات حرارة مختلفة (60، 70، 80°) خلال ثلاثة دقائق . بينت لنا النتائج أن تركيز النترات يختلف من نوع إلى آخر و هي كالتالي: 1996.2 مغ/كغ، 338.18 مغ/كغ، 550.79 مغ/كغ، 3217.75 مغ/كغ، 271.11 مغ/كغ، 442.35 مغ/كغ، 371.00 مغ/كغ، 195.49 مغ/كغ بالنسبة للسبانخ، البطاطا، الجزر، الشمندر، البزلاء، الخس، الخيار، الطماطم علي التوالي. أظهرت نتائج اثر التخزين إرجاع قليل للنترات في البرودة (مثال : من 338.18 إلى 325.34 بالنسبة للبطاطا) و إرجاع قوي للعينات المعرضة للضوء و الحرارة (مثال : من 550.79 إلى 292.52 بالنسبة للجزر) في اليوم الثاني من فترة التخزين و هذا مرتبط بنشاط الإنزيم المرجع للنترات و عدوى البكتيريا. اثر التبييض بالماء قد قيم بمعدل طرح النترات في الماء وهي كالتالي : 27%، 37%، 87% في درجات الحرارة 60°، 70°، 80°، على التوالي من اجل السبانخ و بمعدل 24%، 26%، 74%، من اجل الجزر في درجات الحرارة 60°، 70°، 80° على التوالي.

الكلمات المفتاحية : النترات، النتريت ، التخزين، التبييض ، معدل الطرح.

Liste des abréviations

- **TN** : teneur en nitrate
- **NO₃⁻** : ion de nitrate
- **NO₂⁻** : ion de nitrite
- **NO** : oxyde nitrique
- **HNO₂** : acide nitrique ou acide nitreux ou dioxonitrique
- **N₂O₄** : peroxyde d'azote, tetroxyde diazote ,
- **NH₄** : ammonium, ammoniacque
- **Fe⁺⁺** : fer ferreux
- **Fe⁺⁺⁺** : fer ferrique
- **NR** : nitrate réductase
- **NiR** : nitrite réductase
- **FAO** : Food and agriculture organisation of the United nation (organisation des nations unies pour l'alimentation et agriculture
- **OMS** : organisation mondiale de la santé
- **DJA** : dose journalière acceptable
- **DSENO** : dose sans effet nocif observable
- **E251** : Nitrate de Sodium
- **E252** : Nitrate de Potassium
- **NDMA** : N-Nitrosodiméthylamine
- **mg** : milligramme
- **Kg** : kilogramme
- **ECETOC** : European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals « centre européen de l'écotoxicologie et de la toxicologie des substances chimiques ».

- **OEHHA** : Office of Environmental Health Hazard Assessment .
- **SO₂** : dioxyde de soufre
- **H₂SO₄** : L'acide sulfurique
- **M** : molarité
- **CH₃-COOH** : acide acétique
- **NaNO₃** : nitrate de sodium
- **CNO** : N-nitroso composés

Liste des figures

Figure n° 1 : Cycle d'azote.....	04.
Figure n° 2 : Métabolisme de NO ₃ à l'échelle cellulaire chez les plantes.....	05.
Figure n° 3 : Relation entre nitrate et nitrite et risque pour la santé.....	08.
Figure n° 4 : Action des nitrites-nitrates dans les produits carne.....	13.
Figure n° 5 : Courbe d'étalonnage.....	27.
Figure n° 6 : Histogrammes de la teneur en nitrates dans les légumes frais (mg/kg).....	28
Figure n° 7 : Variation des teneures en nitrate durant l'entreposage dans la lumière, obscurité et froid.....	30.
Figure n° 8 : Histogramme de la variation de la TN dans l'extrait de tomate	32.
Figure n° 9 : Histogramme de la transformaton de la TN dans l'extrait de pomme de terre....	33
Figure n° 10 : Histogramme de la transformation de la TN dans l'extrait de carotte.....	34
Figure n° 11 : Histogramme de la transformation de la TN dans l'extrait de laitue.....	35.
Figure n° 12 : Histogramme representant le taux de nitrates éliminés dans l'eau de blanchiment.....	36.

.

Liste des tableaux

Tableau n° 1 : Classification des légumes selon le contenu de nitrate (mg/ kg).....**10.**

Tableau n° 2 : Doses d'incorporation et teneurs résiduelles en nitrites et nitrate dans les produits**15.**

Tableau n° 3 : Matériels et produits chimiques.....**22.**

Sommaire

Résumé

Abstract

الملخص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale 1

Chapitre I: Généralités sur : nitrates, nitrites, et nitrosamines

I-1-Historique 2

I-2- Définitions 2

 I-2-1-nitrate 2

 I-2-2-nitrite..... 2

 I-2-3-nitrosamine 3

I-3- Sources principales de nitrate 3

 I-3-1-sources anthropiques..... 3

 I-3-2-sources naturelle 4

I-4-Métabolisme de nitrate à l'échelle de la photosynthèse 5

I-5-Pharmacocinétique et métabolisme de nitrate dans l'organisme humain 6

I-6-Impact des nitrates, nitrites et des nitrosamines sur la santé humaine 6

I-7- Législation et réglementation 8

Chapitre II: Nitrates, nitrites, et nitrosamines dans les aliments

II-1-Présentation des nitrates, nitrites dans les aliments 9

II-2--Teneur en nitrate et nitrites dans quelques denrées alimentaires..... 9

 II-2-1-teneur en nitrates et nitrites dans les légumes 9

 II-2-3-teneur en nitrates et nitrites dans les fruits 10

 II-2-4-teneur en nitrates et nitrites dans les viandes 11

 II-2-4-teneur en nitrates et nitrites dans les produits laitiers 11

II-3- Influence de quelques paramètres sur la variation des nitrates dans les légumes 11

II-4- Utilisation de nitrates et ces dérivés dans les denrées alimentaires	12
II-5- Nitrosamines dans les denrées alimentaires et leurs précurseurs de formation.....	13
II-5-1-nitrosamines dans les produits alimentaires	13
II-5-2-précurseurs de formation des nitrosamines	13
II-6- Réglementation d'utilisations d'aditif dans les denrées alimentaire	14
Chapitre III : Techniques de conservation et de traitement des aliments	
III-1- Notion sur les traitements technologiques	16
III-2- Techniques de conservation des aliments	16
III-2-1- Techniques de conservation par la chaleur.....	16
III-2-2- Techniques de conservation par le froid	17
III-2-3- Les techniques de conservation par séparation et élimination d'eau	18
III-2-4- Autre méthodes	18
III-2-5-l'acidification	19
III-2-6-l'adition de sel de nitrite et de nitrate	19
III-3- Entreposage et traitement des légumes	19
III-3-1-condition d'entreposage	19
III-3-2-conséquences liées aux conditions d'entreposages	19
III-4-Etude d'un traitement thermique (blanchiment).....	20
III-4-1-Méthode de blanchiment	20
III-4-2-Impact de blanchiment sur la teneur en nitrate des denrées alimentaires	21
Chapitre IV : Matériel et méthodes	
IV.1. Matériels utilisés	22
IV-2- Méthode de dosage utilisée	23
IV-3 -Préparation d'échantionage	
IV-4- Préparation d'échantillon pour un traitement thermique (blanchiment).....	25
Chapitre V : Résultat et discussion	
V-1-Courbe d'étalonnage.....	27
V-2- Teneur moyenne en nitrates de quelques légumes frais	27
V-3- Stabilité de nitrates dans les différentes conditions d'entroposage	29
V-3-1-Transformation de nitrates dans l'extrait de tomate	31
V-3-2-Transformation de nitrates dans l'extrait de pomme de terre	33

V-3-3-Transformation de nitrates dans l'extrait de carotte.....	34
V-3-4-Transformation de nitrates dans l'extrait de laitue	35
V-4- Cinétique de diffusion de nitrates dans l'eau de blanchiment	35
La conclusion générale	36

Référence bibliographique

Glossaire

Annexe

Introduction générale

Introduction générale

De nombreux aliments contiennent des nitrates et des nitrites, la plus grande proportion des nitrates consommés provient des légumes ou même de l'eau (*Sberka, R. et al, 1995*) ; leur présence dans les légumes est due à la contamination des produits cultivés par les engrais. Les résidus de nitrate sont peu toxiques pour la santé, il peut être de manière endogène transformé au nitrite qui peut réagir avec des amines et les amides pour produire de N-nitroso composés (*Santa Maria, 2006 ; Yordanov, Novakova, et Lubenova, 2001*).

Dans l'estomac les nitrites (qui est une substance toxique, provoque notamment la méthémoglobinémie) (*L'hirondel, 1996*). transforment les précurseurs nitrosables (amines et amides) provenant largement de l'alimentation, en composés N-nitrosés (NOC) cancérigènes. La formation endogène de ces substances, encore appelée « nitrosation endogène », contribuerait jusqu'à 75% environ à leur exposition totale (*Jakszyn et Gonzalez 2006, Tricker 1997*). De nombreuses équipes, notamment aux Etats-Unis, au Royaume-Uni et en Suède, ont mis en évidence les multiples et importants effets bénéfiques des nitrates alimentaires. Les effets bénéfiques concernent, notamment, la protection anti-infectieuse digestive, le problème cardiovasculaire et la prévention du diabète de type 2. (*Blog-nitrate*).

L'objectif de notre travail, repose sur l'évaluation d'impact de certains paramètres sur la cinétique de transformation des nitrates de quelques légumes issus de la région d'Ain Defla (Laitue, tomates, pommes de terres, carottes,...). La détermination des teneurs en nitrates, des légumes les plus consommé (à l'état frais).

L'effet de l'entreposage a été introduit dans notre étude afin de révéler l'impact de ce dernier sur les ions nitrates. Les paramètres pris en considération sont : la lumière à température ambiante (effet photochimiques), l'obscurité, le froid (effet de température).ainsi, on a applique un traitement thermique à différentes températures (blanchiment à l'eau) dont le but de déterminer la température critiques pour diffusion des nitrates dans la matrice alimentaire vers l'eau du blanchiment (c'est-à-dire, le taux d'élimination des nitrates).

La Partie théorique

Chapitre I

I-1-Historique :

Depuis plusieurs années, les teneurs croissantes en nitrates (NO_3) et/ou nitrites (NO_2) des aliments et des boissons, posent un problème important en raison de leurs effets toxiques sur la santé humaine (*Deschamps, 1980; Voilliot et Mère et Degrimal, 1980 ; Melet et al, 1980*). En 1976, la FAO et l'OMS, ont établi une dose journalière admissible (D.J.A.) de 3,65 mg pour les NO_3 et de 0,133 mg pour les NO_2 par kg de poids corporel pour l'homme par jour, et une dose létale (DL.50) de 2,3 g/kg pour NO_3 et 0,05 g/kg pour NO_2 chez le rat. Il est admis que dans le couple NO_3/NO_2 , que le nitrite qui pose un problème toxicologique majeur, probablement à cause de sa réactivité chimique particulière (*De Saint-Blanquat, 1980*) ; ce dernier peut réagir avec de nombreux groupements fonctionnels d'origine alimentaire (groupements de certains acides gras et des amines) par l'intermédiaire de ses propriétés oxydantes ou réductrices dans des pH légèrement acides (*Guingamp et Linden, 1983*).

I-2- Définitions :

I-2-1-Nitrate : est un composé inorganique, ion de charge négative, composé d'un atome d'azote et trois molécules d'oxygène. Sa formule chimique est NO_3^- . L'ion nitrate est la base conjuguée de l'acide nitrique (HNO_3), acide très fort. Bien que de structure covalente, il présente une grande stabilité chimique. Le nitrate est un oxydant; leur réduction ménagée conduit à la formation du nitrite et d'oxyde nitrique (NO) (*Robert B., 1987*).

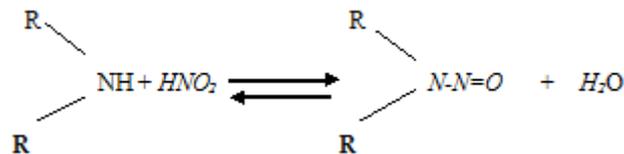
I-2-2-Nitrite : comme le nitrate mais composé de deux atomes d'oxygène. Sa formule chimique est NO_2^- . L'ion nitrite est la base conjuguée de l'acide nitreux (HNO_2). Il est instable et très réactif. Il agit parfois comme réducteur, mais, le plus souvent, il se comporte comme un oxydant énergétique. Il réagit sur l'hémoglobine pour donner la méthémoglobine (la raison essentielle de la toxicité directe des nitrites) (*Robert B., 1987*).

A $\text{pH} < 3$, les nitrites se comportent comme l'oxyde d'azote (NO) et son dimère est le N_2O_4 . (*Fritsch K., 1985*).

Chapitre I : Généralités sur les : nitrates, nitrites et nitrosamines

I-2-3-Nitrosamine : les nitrates peuvent très facilement être transformés en nitrites, soit dans l'aliment lui-même en présence de micro-organismes, soit chez l'homme, grâce à sa flore digestive bactérienne (*Fritsch K. et De Saint-Blanquat, 1980, Klein et al, 1978*).

La réactivité du nitrite sur les amines secondaires ou tertiaires forme les nitrosamines (*Guin-gamp et Linden, 1983*) ;selon la réaction suivante:



Cette réaction peut se dérouler, plus particulièrement, dans la chaîne alimentaire et dans l'organisme humain (*Klein et al, 1976*). Knowles et coll en 1974, ont également mis en évidence que à **pH** gastrique (entre 2.5 et 3.5) la formation de composés N-nitrosés est issue à partir de nitrosoaminoacides.

I-3- Sources principales de nitrate :

I-3-1-Sources anthropiques :

Dans l'environnement, le nitrate et le nitrite se forment tant naturellement que par des processus anthropiques. Le nitrate et le nitrite sont produits à partir de l'oxydation naturelle de l'azote (qui compose approximativement 78 % de l'atmosphère) par les microorganismes présentés dans les végétaux, le sol et l'eau. (*OMS, 2007; CIRC, 2010*).

Les processus anthropiques sont les sources les plus répandues de nitrate et de nitrite. On peut citer parmi ces sources : les activités agricoles (dont l'utilisation d'engrais inorganiques au nitrate de potassium ou d'ammonium ainsi que de fumier contenant du nitrates organiques) ; le traitement des eaux usées ; les déchets azotés dans les excréments des humains et des animaux, ainsi que les rejets provenant des procédés industriels et des véhicules motorisés (*Environnement Canada, 2003; OMS, 2007; Keeney et Hatfield, 2008*). Le nitrate et le nitrite peuvent être produits par nitrification dans l'eau ou dans les réseaux de distribution, lorsque l'ammoniac est employé aux fins de la désinfection à la chloramine (*Kirmeyer et al., 1995; U.S. EPA, 2006; OMS, 2007*).

I-3-2-Sources naturelles :

➤ **Cycle d'azote :**

Toutes les formes d'azote sont susceptibles d'être, suite à différentes transformations chimiques et biologiques, à l'origine des nitrates. Ces formes d'azote, qu'elles soient dans l'air, le sol ou l'eau, sont gérées par un cycle nommé : cycle de l'azote (*Alouane, 2012*).

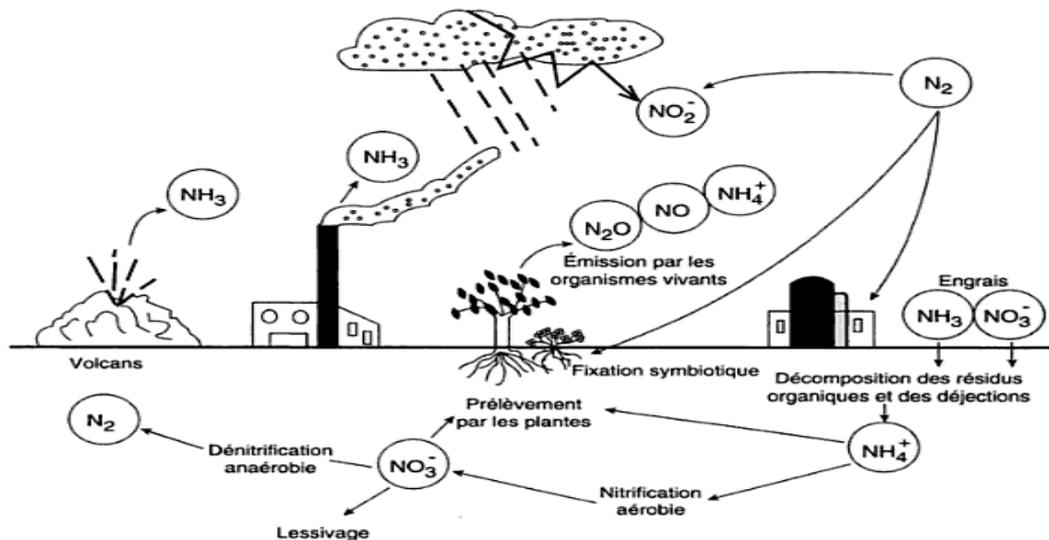
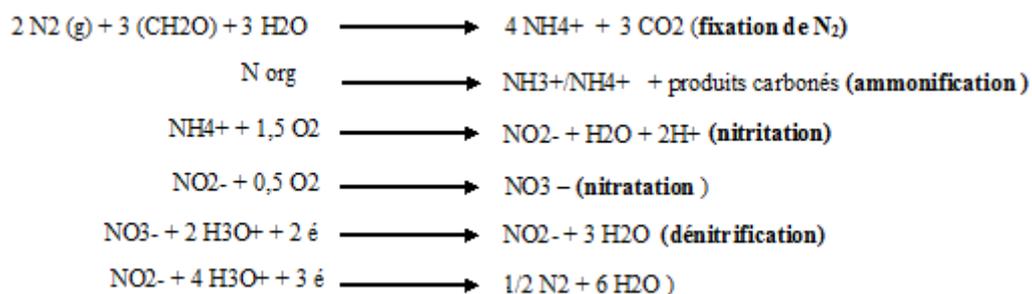


Fig .1. : Cycle d'azote (*Jean-françois et Morot-gandry, 1997*).

On appelle cycle de l'azote les diverses transformations que subit l'azote dans la biosphère (figure1). La plupart entre elles, sont d'origine microbienne et leur importance agronomique est très considérable car elles régissent le bilan de l'azote du sol et met les formes minérales que les plantes peuvent utiliser (*Henin, 1981*).

Ces processus peuvent se résumer comme suit :



I-4-Métabolisme de nitrate à l'échelle de la photosynthèse :

Pour synthétiser les protéines, les plantes absorbent de l'azote inorganique sous forme de nitrate ou d'ammoniaque) (*Schuddeboom, L. J.1993*), selon le schéma illustré dans la figure (02), l'assimilation du NO_3 se décompose en plusieurs étapes qui produisent une série de composés azotés non structuraux : réduction successive de NO_3 en NO_2 , puis le NO_2 en NH_4 . L'incorporation de NH_4 dans les acides carboxyles forme les acides aminés (protéines, acide nucléique,...) (*Ruth Huanostomaagana, 2008*).

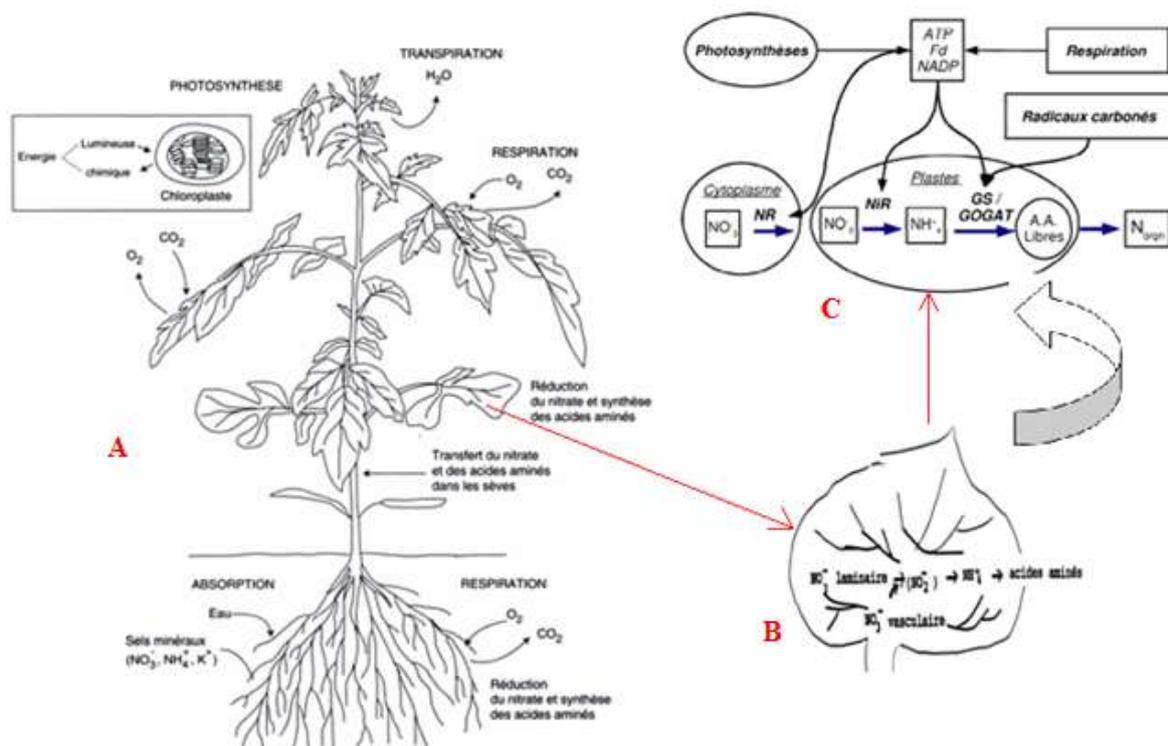


Fig.2.: Métabolisme de NO_3 à l'échelle cellulaire chez les plantes (**(A)** *Jjeau-francois morot-gandry, 1997*) (**(B)** *Schuddeboom, L. J. 1993*) (**(C)** *Rhth Huaostomagana, 2008*)

Ces processus d'assimilations dépendent, de divers disponibilités en ressources sur les sites enzymatique et aussi des activités enzymatique elle-même ; globalement, l'assimilation d'un ion NO_3 est essentiellement une oxydoréduction qui nécessite la fourniture des électrons, d'une molécule d'ATP, d'un radicale de 5 atome et de nitrate lui-même (*Ruth Huanostomaagana, 2008*).

La réduction de nitrate en nitrite dans le cytoplasme s'effectue par la nitrate réductase (NR), par contre, la réduction du nitrite en ammonium dans les plastes (chloroplaste) s'effectue par la nitrite réductase (NiR) (*Beever et hagemen , 1965*). L'assimilation de l'ammoniac peut aussi se faire par l'action de la glutamine synthétase et la glutamate synthétase.

Comme le montre la 'figure.2. ', Pour certaines espèces, la réduction du nitrate s'opère dans la racine, mais dans le cas des espèces végétales courantes, cette réduction s'effectue principalement dans les feuilles fortement alimentées en azote (*Schuddeboom, 1993*).

I-5-Pharmacocinétique et métabolisme de nitrate dans l'organisme humain :

Le nitrate ingéré est facilement absorbé par la partie supérieure de l'intestin grêle et rapidement distribué dans tout l'organisme. Environ 25 % se trouve dans la salive, là ou 20% environ de ce qui est contenu dans celle-ci sont transformées en nitrite par la microflore buccale. (*NationalResearch Council, National Academy Press, Washington, D.C.1981*).

Si le pH de l'estomac est élevé (p. ex., chez les nourrissons où l'acidité gastrique est faible), les bactéries réductrices prolifèrent et le nitrate se trouve converti en nitrite (*Hartman, 1983*). La production de nitrite augmente avec l'âge (*Turek 1980*) et stimulée par les infections bactériennes provoquant des diarrhées (*Hartman ,1983*). Dans l'estomac les NO₂ peut réagir avec les amides et/ou les amines secondaires et tertiaires issus de la dégradation des protéines présentes dans les aliments tels que : le fromage, la viande, poissons,...etc. pour former des composés N-nitrosés (nitrosamines et nitrosamides) (*Broitman, 1981*).

Chez les nourrissons, 80 à 100 % des nitrates ingérés sont excrétés dans l'urine (*Turek et al, 1980*). Chez l'adulte, un peu plus de la moitié (65 à 70 %) des nitrates ingérés est éliminée par l'urine dans les 24 heures suivant leur ingestion (*Bartholomew et Hill, 1984*). La demi-vie d'élimination des nitrates est d'environ cinq heures (*Green et al., 1981*). Normalement, les nitrites se trouvent pas dans l'urine sauf dans des cas anormaux (certaines pathologies).

I-5-Impact des nitrates, nitrites et des nitrosamines sur la santé humaine :

Les nitrates sont peu toxiques, se sont surtout les nitrosamines (qui ont des effets cancérigènes) et les nitrites (considérés comme d'une substance toxique), qui peuvent provoquer des effets nocifs aux consommateurs.

Chapitre I : Généralités sur les : nitrates, nitrites et nitrosamines

Ces phénomènes ont été constatés et étudiés dans d'autres systèmes alimentaires comme les produits carnés par exemple (**Rougié, Noël et Goutefongea, 1980; Frouin et al , 1980**)

Cassens et al en 1976, ont montré que certains oxydes d'azote présentent une forte réactivité vis-à-vis des grandes classes de constituants biochimiques, mais ce sont les protéines qui sont de loin les plus touchées. Parmi les effets nocifs du nitrite, on peut citer :

- la méthémoglobinémie ;
- la diminution de la phosphorylation oxydative et l'inhibition d'enzymes microsomales (**Lowy et Manchon, 1976**) ;
- la diminution de l'efficacité vitaminique de la ration alimentaire (**Lhuissier, Suschetet et Causeret, 1976**) ;

Certains composés N-nitrosés (nitrosamines et les nitrosamides) ont un pouvoir cancérigène chez les animaux, ils provoquent notamment le cancer de l'estomac chez l'homme, comme ils contribuent ainsi dans les différentes pathologies cancérigènes tels que le cancer de la prostate ; cancer du colon, ...etc.

-A plus long terme une importante assimilation des nitrates par l'homme pourrait avoir d'autres conséquences (**U.C.B.L.2003**) à savoir :

- Effet anti-thyroïdien,
- Effet sur le comportement, la reproduction,
- Troubles vasomoteurs,
- Hypertension (corrélation épidémiologique),
- Diminution de la mise en réserve hépatique de la vitamine A,
- Destruction des vitamines B1 et E.

Le schéma présenté ci-dessous, résume le risque lié à l'ingestion des concentrations non admissibles en NO_3 et/ou NO_2 chez l'homme :

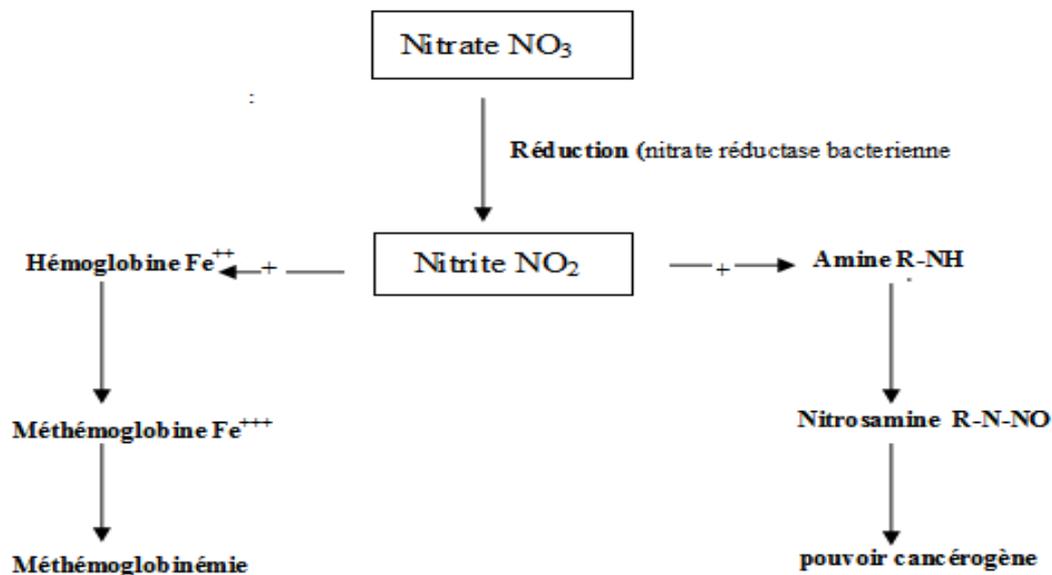


Fig.3. : Relation entre nitrate et nitrite et risque pour la santé (*R.soberka,D.sciazko.u.tyrakowski-bielec ,1995*)

I-6- Législation et réglementation :

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a établi une dose journalière acceptable (DJA) pour les nitrates présents dans les aliments, elle est de **0,84** mg-N/kg/j (soit, 3,7 mg de NO_3 /kg/j). Cette limite est basée sur une dose sans effet nocif observé (DSENO) qui est de 83,5 mg-N/kg/j (soit, 370 mg de NO_3 /kg/j), mesurée lors d'une étude de toxicité chronique chez le rat, et à laquelle s'ajout un facteur d'incertitude de 100.

Pour les nitrites, la DJA est de 0,02 mg-N/kg/j (soit, 0,06 mg de NO_2 /kg/j), cette limite découle de deux études de toxicité (90 jours et 2 ans) réalisées sur les rats. Pour le calcul de la DJA, on a retenu une (DSENO) de 2 mg-N/kg/j (soit ; 6 mg de NO_2 /kg/j), dose à laquelle s' appliqué un facteur d'incertitude de 100.

Dans le cas des nitrates, comme dans celui des nitrites, la DJA ne s'applique pas aux nourrissons de moins de trois mois (*Organisation mondiale de la Santé, 1995*) ; et elle est basée ainsi sur la prévention d'un risque non cancérigène. Pour une personne de 70 kg, la DJA est équivalente à la consommation de près de 6 litres d'eau ayant une concentration en nitrates de 10 mg-N/L (*INSPQ, 2003*).

Chapitre II

II-1-Présentation des nitrates, nitrites dans les aliments :

Les nitrates et les nitrites se trouvent dans de nombreuses denrées alimentaires; il s'agit soit de composants présents naturellement dans les aliments, soit comme additifs ajoutés dans un but précis dans des industries agroalimentaires. Les légumes et les viandes de salaison constituent la principale source alimentaire de ces composés, qui peuvent aussi se retrouver, quoique dans une moindre mesure, dans le poisson et les produits laitiers. Le nitrate et le nitrite peuvent être utilisés comme agents de conservation dans certains produits alimentaires pour y empêcher la croissance de certaines bactéries telles que : *Clostridium botulinum* (responsable de botulisme) ou pour leur donner une couleur plus attrayante (couleur rose) caractéristique des produits de salaison : certains poissons, saucisses ;.... (*Food Safety Network, 2010*).

II-2--Teneur en nitrate et nitrites dans quelques denrées alimentaires

II-2-1- Teneur en nitrate et nitrites dans les légumes :

Les légumes sont une source importante de nitrates et de nitrites dans l'alimentation humaine. On estime qu'ils contribuent à environ 85% et 16% des apports alimentaires quotidiens de nitrates et de nitrites, respectivement (*Amr A. et N. Hadidi N., 2000*).

Sur la base de la littérature disponible, les légumes peuvent être divisés en cinq groupes en fonction de leur contenu en nitrates; (*Santa Maria 2006*),

- 1- groupe a teneur en NO₃ très bas (< 200 mg/kg) ;
- 2- groupe a teneur en NO₃ Bas (200-500 mg/kg) ;
- 3- groupe a teneur en NO₃ Milieu (500- 1 000 mg/kg) ;
- 4- groupe a teneur en NO₃ Haut (1 000- 2 500 mg/kg) ;
- 5-- groupe a teneur en NO₃ Haut Très haut (> 2 500 mg/kg).

Le tableau suivant, représente la classification des légumes en fonction de leurs teneurs en nitrates (mg/kg).

Chapitre II : Nitrates, nitrites et nitrosamines dans les aliments

Tab. 1 : Classification des légumes selon le contenu de nitrate (mg/ kg) (Santa Maria 2006).

Très bas (< 200)	Bas (200-500)	Milieu (500-1000)	Haut (1 000 - 2500)	Très haut (> 2 500)
Artichaut	Brocoli	Chou,	Céleris-raves,	Céleri,
Asperge	Carotte	Brocoli	Chou de chine	Cresson
Fève	Chou-fleur	Aneth	Endive	cerfeuil
Aubergine	Concombre	Chou de Milan	Fenouil	Laitue
Ail	Potiron	Navet	Chou-rave	Betterave rouge,
Oignon	Chicorée de		Poireau	Epinards
haricot vert	'puntarelle'		Persil	fusée.
Champignon				
Pois				
Poivre				
Pomme de terre				
Eté pressez				
Patate douce				
Tomate				
Pastèque				

La concentration moyenne en nitrites des légumes est en général inférieure à 2 mg/kg. Une concentration moyenne de 0,5 mg/kg a été mesurée au Royaume-Uni dans une Etude de l'Alimentation Totale pour tous les légumes (FSA, 1998).

II-2-2-Teneur en nitrate et nitrites dans les fruits

Les fruits renferment de faible quantité de nitrate. Une étude française mentionne que la teneur en nitrates est au moyenne de 34mg/kg pour les poires et de 24 mg/kg pour les cerises et les pommes ; par contre, les chiffre Allemands indiquent un maximum de 108 mg/kg pour les pommes, 11 mg/kg pour les poires, 31 mg/kg pour les pêche et 34 mg/kg pour le raisin (Schuddeboom J.L., 1993).

II-2-3-Teneur en nitrate et nitrites dans les viandes

Les viandes et ses dérivés frais ne doivent normalement pas contenir ni de nitrates ni de nitrites. On peut noter une légère élévation à 11 mg/kg de nitrate qui viennent de bétail nourri avec des aliments à très forte teneur en nitrate. La moyenne pour le nitrite se situe à 1 mg/kg (*Schuddeboom JL. L., 1993*).

Cependant, la viande et les produits de salaison renferment des concentrations beaucoup plus élevées de nitrate et de nitrite, qui varient en fonction des quantités ajoutées à des fins de conservation et en fonction du procédé de salaison employé (*Gangolli et coll., 1994*).

Les produits de viande peuvent contenir des concentrations de nitrate variant de 2,7 à 945 mg/kg, et de nitrite de 0,2 à 64 mg/kg (*ECETOC, 1988*).

II-2-4-Teneur en nitrates et nitrites dans les produits laitiers

On trouve les nitrates dans les produits laitiers, à des concentrations qui se situent entre 3 et 27 mg/kg, les nitrites est de l'ordre de 0,2 à 1,7 mg/kg (*ECETOC, 1988*), ces concentrations dépendent de nourriture des vaches (*Rémond, 1975*). L'exposition totale aux nitrates par le lait maternel est négligeable; les nourrissons alimentés au biberon consomment cependant de la préparation reconstituée avec de l'eau potable, peuvent constituer une voie d'exposition importante (*OEHHA, 1997*).

II-3- Influence de quelques paramètres sur la variation des nitrates dans les légumes :

Les concentrations en nitrates dans les légumes dépendent, des propriétés biologiques, de la culture des plantes, de l'intensité de la lumière, de type du sol, de la température, de l'humidité, de la fréquence de maturité des plantes, de période de végétation et de récolte, de la taille du légume ; et aussi de conditions de l'entreposage (*Tamme et al, 2006*).

La fertilisation azotée ainsi que l'intensité lumineuse, ont été identifiées comme les principaux facteurs qui influent sur la teneur en nitrates dans les légumes (*Gruda, 2005; Santamaria, 2006*).

Les basses températures au printemps ou en automne et la faveur de ralentissement de la photosynthèse, ont un rôle dans l'accumulation de nitrates dans les végétaux (*Santamaria et al, 2001*).

Chapitre II : Nitrates, nitrites et nitrosamines dans les aliments

Les états d'éclairage influent sur l'activité de nitrate réductase. Les plantes d'ombrage ont un manque de l'énergie photosynthétique suffisante pour convertir le nitrate en acides aminés ; la perturbation de nitrate réductase cause des désordres dans la formation des composés organiques et les concentrations des nitrates restera plus élevées (*Hlusek J. et al, 2000*).

Parmi les différents échantillons des mêmes variétés végétales, la gamme de concentrations peut être grande (*Manuela C. et al, 2009*); et elle diffère dans une large mesure selon la partie de plante (*Fytianos K., et Zarogiannis P., (1999)*).

II-4- Utilisation de nitrates et ses dérivés dans les denrées alimentaires :

Les nitrates et les nitrites sont largement utilisés dans la production de viandes et dérivés fumés et pour la conservation du poisson dans certain pays, la fabrication du fromage fait aussi parfois appel à l'adjonction de nitrates (*Schuddeboom J.L., 1993*).

Dans les fromages et les produits de charcuteries, les nitrates sont issus à partir des additifs, utilisés comme agents de conservation, comme par exemple le nitrate de sodium (E251) ou le nitrate de potassium (E252) (*W.H.O, 2005*) , Ces derniers sont utilisés pour le traitement des viandes car ils stabilisent la couleur des viandes rouges, inhibent aussi certaines détériorations et le développement de microorganismes anaérobiques toxiques, comme ils ralentissent l'oxydation de la viande et contribuent à exhausser la saveur.

Ces deux additifs alimentaires (E251 et E252) sont interdits d'utilisation en boucherie (morceaux de viandes débitées et viandes hachées) ; et ne sont pas autorisés dans le corned-beef . L'ajout de nitrates dans les aliments pour bébés est strictement interdit (*W.H.O, 2005*).

L'action des nitrites-nitrates dans les produits carnés est indiquée dans la figure 4 :

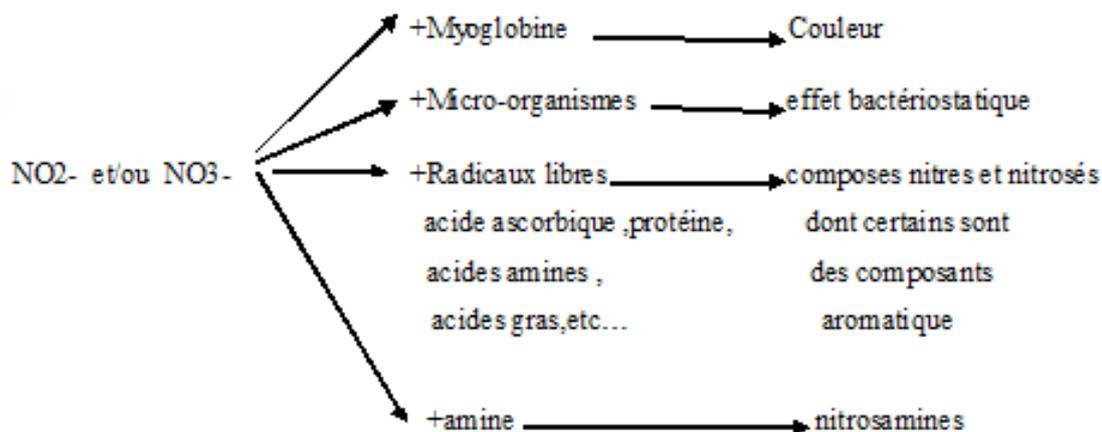


Fig. 4 : Action des nitrites-nitrates dans les produits carnés.

(Véronique DA-RIZ et Anne-Sophie, 1999)

II-5- Nitrosamines dans les denrées alimentaires et leurs précurseurs de formation

II-5-1- Nitrosamines dans les produits alimentaires:

Les nitrosamines ne sont pas ajoutées intentionnellement dans l'alimentation, mais se forment spontanément à partir des substances qui y sont présentes, soit naturellement, comme les amines qui sont à la base des protéines de la viande et du poisson, ou après leur ajout durant le procédé de transformation. Les nitrosamines se forment lorsque les nitrites, qui peuvent se former à partir des nitrates, réagissent avec des amines secondaires ou tertiaires dans des conditions du pH favorable (*INERIS, 2014*).

II-5-2 Précurseurs de formation des nitrosamines

Les traitements thermiques des produits alimentaires, traitements à haute température (exemples : grillage, torréfaction) et/ou contact direct avec des gaz de combustion (exemple : fumage), peuvent être responsables des réactions de nitrosations dans les aliments transformés (*D. Kocak a et al, 2012*), et parmi ces précurseurs on peut citer :

➤ Les Aliments traités par des nitrates et nitrites :

Selon Santé Canada, 2011, les aliments conservés par l'addition de nitrates ou de nitrites, comme les salaisons (en particulier le bacon) et les fromages sont sources de nitrosamines.

Chapitre II : Nitrates, nitrites et nitrosamines dans les aliments

De plus, leur cuisson favorise d'avantage, la formation de N diméthylamine (NDMA) (OEHHA, 2006).

➤ **Les aliments conservés par fumage :**

Lors de traitement de conservation des aliments par fumage les oxydes d'azote présents dans la fumée agissant comme des agents de nitrosation (OEHHA, 2006; Sante Canada, 2011).

➤ **Les aliments déshydratés par le gaz de combustion :**

Les gaz de combustion pouvant contenir des oxydes d'azote, les aliments déshydrates par ce procédé (exemple : le lait en poudre écrémé, les poudres de poissons entrant dans la composition de soupes de poissons déshydratées et d'arômes,... etc. peuvent contenir des nitrosamines (Sante Canada, 2011).

➤ **La nitrosation par action bactérienne :**

Des conditions humides de culture ou de stockage des aliments, entraînent la formation de nitrosamines par des bactéries (Sante Canada, 2011).

➤ **Les aliments marins :**

La NDMA est présente dans les aliments conservés dans le sel et le vinaigre (Mitch, Sharp et al., 2003), et plus particulièrement dans les légumes, du fait de la réduction microbienne des nitrates en nitrites (Santé Canada, 2011).

D'autre part, une source importante de l'exposition humaine aux nitrosamines est l'ingestion de nitrates. En effet, 5 % des nitrates ingérés sont réduits par la salive en nitrites, qui peuvent réagir dans le milieu gastro-intestinal avec les amines secondaires et/ou tertiaires, mais aussi les amides, et les carbamates (H.H.S, 2011; Sante Canada, 2011).

II-6- Réglementation d'utilisations d'aditif dans les denrées alimentaire

L'utilisation des additifs dans les produits agro-alimentaires est réglementée depuis 1997 par la directive européenne 95/2/CE (Véronique DA-RIZ et Anne-Sophie, 1999), ce qui est le résultat de l'harmonisation des réglementations nationales des pays européens. Cette réglementation comporte une liste positive (tout ce qui n'y figure pas est interdit).

Chapitre II : Nitrates, nitrites et nitrosamines dans les aliments

En ce qui concerne les produits carnés, les teneurs autorisées en nitrites et en nitrates sont récapitulées dans le code des usages de la Charcuteries, de la Salaison et des Conserves de viandes (tableau n° 2) :

Tab. 2 : Doses d'incorporation et teneurs résiduelles en nitrites et nitrate dans les produits carnés
(*Véronique DA-RIZ et Anne-Sophie, 1999*) :

N° CE	Nom	Denrée alimentaires	Dose indicative D'incorporation (Mg/kg)	Quantité résiduelle (Mg/kg)
E 249	Nitrite de potassium	Produits de charcuterie et de salaison non cuits, séchés	150 (a)	50 (a)
E 250	Nitrite de sodium	-Autres produits de salaison et charcuteries -Produits de viande en conserve	150 (a)	100 (a)
		-Bacon traité en salaison		175 (a)
E 251	Nitrate de sodium	-Produits de charcuterie et de salaison	300	250 (b)
E 252	Nitrate de potassium	-Produits de viande en conserve		

(a) exprimée en NaNO_2

(b) exprimée en NaNO_3

Chapitre III

III-1- Notion sur les traitements technologiques :

Les traitements technologiques mis en œuvre sur les produits alimentaires recouvrent essentiellement des traitements : de stabilisation, des opérations et de séparation qui vont, en particulier, chercher d'éliminer les micro-organismes, arrêter les activités enzymatiques indésirables ainsi que les réactions chimiques spontanées, et d'éliminer les composés xénobiotiques.

Les opérations de transformation font appel à des procédés de traitement physique, chimique ou biologique susceptibles d'influer sur la valeur nutritionnelle de l'aliment (*Bernard et Carlier, 1992*), par des modifications de teneur et/ou de composition en constituants nutritionnels ou encore de biodisponibilité (*A.f.s.s.a., 2003*).

III-2- Techniques de conservation des aliments

Plusieurs techniques de conservation sont adaptées pour conserver les produits alimentaires, citons les traitements par la chaleur, froid, élimination d'eau et d'autres.

III-2-1- Techniques de conservation par la chaleur :

Le traitement thermique peut détruire les populations des micro-organismes, cette destruction débute généralement à partir de la température 60°C. Les techniques les plus couramment utilisés sont :

III-2-1-1- La cuisson : c'est une technique de chauffage modéré inférieur ou égal à 100° C (*Oudot, C., 1999*), elle contribue à une stabilisation microbiologique du produit. Divers types de cuissons sont possibles :

- à l'eau directe (ébullition, blanchiment) ou indirecte (bain-marie) ;
- dans des huiles (friture et sauté) ;
- à flamme nue (grillade et rôti) ;
- en vase clos (étouffé) ;
- à la vapeur (blanchiment à vapeur) (*Boumendjel M., 2005*).

III-2-1-2- La pasteurisation : a pour but la destruction des microorganismes (pathogènes et d'altération). Ce traitement doit être suivi d'un brusque refroidissement puisque tous les microorganismes ne sont pas éliminés et qu'il est nécessaire de ralentir le développement des germes encore présents. Cette technique concerne, par exemple : le lait et les produits laitiers, les jus de fruits,...

III-2-1-3- La stérilisation : est un traitement thermique pour la destruction de toute forme microbienne vivante, en faisant appel à des températures supérieures à 100°C (*F.P., 2014*). On peut citer :

- **L'appertisation** : est un procédé de conservation, consiste à stériliser par la chaleur, des denrées périssables conservés dans des conditions hermétiques (boîtes métalliques, bocaux). (*Direction du commerce, 2014*).
- **Le traitement à ultra haute température (UHT)** : Il consiste à chauffer le produit à une température assez élevée (135°C et 150°C), pendant un temps très court (1 à 5 secondes) ; le produit stérilisé est ensuite refroidi puis conditionné aseptiquement. Ce procédé est utilisé pour la stérilisation des produits liquides (lait, jus de fruits, ...), ou de consistance plus épaisse (desserts lactés, crème, jus de tomate, soupes,...) (*Fiche Pratique, 2014*).

III-2-2- Techniques de conservation par le froid :

Le froid est une technique de conservation des aliments, qui peut ralentir l'activité cellulaire, les réactions enzymatiques et le développement des microorganismes ; comme il prolonge ainsi la durée de vie des produits frais, végétaux et animaux, en limitant leur altération microbiennes ou enzymatique ; on distingue :

III-2-2-1- La réfrigération : elle consiste à entreposer les aliments à basse température, proche du point de congélation, mais toujours positive par rapport à celui-ci, généralement entre 0°C et 4°C (température de réfrigération) (*F.P., 2014*).

III-2-2-2 La congélation : elle maintient la température au cœur de la denrée jusqu'à -18°C, ce procédé provoque la cristallisation en glace de l'eau contenue dans les aliments, qui permet de réduire l'eau disponible pour des réactions biologiques et donc de ralentir ou arrêter l'activité microbienne et enzymatique (*F.P., 2014*).

III-2-2-3- La congélation rapide ou surgélation : est une technique de refroidissement brutal (-35/-196 °C) puis de congélation à -15/-18 °C. Cette technique permet la formation de nombreux petits cristaux de glace qui ne détériorent pas l'aliment (*Morgane Daniel, 2013*).

III-2-3- Les techniques de conservation par séparation et élimination d'eau :

La déshydratation est une technique physique de conservation des aliments. Elle consiste à éliminer, partiellement ou totalement, l'eau contenue dans l'aliment, l'activité de l'eau du produit traité atteint des valeurs minimales suffisantes pour : inhiber le développement des microorganismes et stopper les réactions enzymatiques (*Direction du commerce, 2014*) ;

On distingue :

III-2-3-1- Le séchage qui consiste à enlever l'excès d'humidité par évaporation de l'eau. On aboutit à des produits alimentaires dits secs (*Direction du commerce, 2014*).

III-2-3-2- La lyophilisation, technique de séchage par congélation brutale (entre -40 °C et -80 °C environ), puis à le soumettre au vide, l'eau passe ainsi directement de l'état solide à celui de vapeur, c'est la sublimation de la glace (*Morgane D., 2013*).

III-2-4- Autres méthodes :

D'autres méthodes permettent de freiner ou bloquer le développement microbien en réduisant l'activité de l'eau tout en conférant du goût à l'aliment comme le fumage ou l'addition de sel ou de sucre.

III-2-4-1- Le fumage ou fumaison consiste à soumettre une denrée alimentaire à l'action des composés gazeux qui se dégagent lors de la combustion de végétaux. Il s'applique principalement aux produits carnés pour lesquels le séchage suivi du fumage permet de conserver les viandes et poissons grâce à l'action combinée de la déshydratation et des antiseptiques contenus dans la fumée.

III-2-4-2- La conservation par le sel ou salage : consiste à soumettre une denrée alimentaire à l'action du sel, soit en le répandant directement à la surface de l'aliment (salage à sec), soit en immergeant le produit dans une solution d'eau salée (saumurage). En diminuant l'activité de l'eau du produit, ce procédé permet de freiner ou de bloquer le développement microbien. Il est utilisé pour la conservation de certains poissons des viandes ou des légumes.

III-2-4-3- La conservation par le sucre : elle ne peut se faire qu'à chaud puisque l'aliment doit perdre une partie de l'eau qu'il contient par évaporation tandis que le sucre, une fois dissous, se lie aux molécules d'eau et les rend indisponibles pour la croissance de microorganismes.

III-2-5-L'acidification en ajoutant certains acides aux aliments ,on baisse le PH du milieu tout en limitant considérablement les sortes de microorganismes qui peuvent y vivre, par exemple à l'acide acétique des marinades, a l'acide lactique des fromages, a l'acide benzoïque et du SO₂ des fruits (*Direction du commerce , 2014*).

III-2-6- L'addition de sel de nitrite et de nitrate : (nitrite de sodium E250), nitrate de sodium (E251), nitrate de potassium ou salpêtre (E252), sont des antibactériens en liaison avec le pH et le taux de Na Cl (*Oudot C., 1999*).

En outre, on peut citer la conservation par fermentation ou par d'autres additifs alimentaires (conservateurs chimiques, minéraux et organiques) (*Direction du commerce, 2014*).

III-3- Entreposage et traitement des légumes :

III-3-1- Conditions d'entreposage :

- La température d'entreposage des légumes est choisie spécifiquement ; exemples : légumes feuilles voisinage de 0°C, tomates entre 7 et 10° C,
- La durée de conservation est en fonction du produit et de la température,
- L'humidité relative de l'atmosphère doit être régulée : trop sèche elle entraîne un flétrissement rapide, par contre trop humide elle peut favoriser le développement microbien,
- La composition de l'atmosphère ambiante doit être contrôlée pour éviter les excès de CO₂ qui provoque les fermentations (*Elisabeth, V., 2008*).

III-3-2 Conséquences liées aux conditions d'entreposage :

L'entreposage des produits agricoles, est susceptible d'entraîner des dégradations spontanées telles que la diminution des teneurs en certaines vitamines, en polyphénols et la dégradation des macronutriments (glucides, lipides et protéines). Les activités enzymatiques indésirables d'un point de vue nutritionnel sont principalement les oxydations des polyphénols par des enzymes (polyphénols oxydases) et des acides gras par : les lipoxygénases, les hydroperoxydes lyases...) et les hydrolyses (en particulier les lipolyses). Ces dégradations spontanées peuvent être accentuées en présence de contaminants microbiens, particulièrement dans le cas de stockage dans des conditions inappropriées (humidité relative ou température trop élevées, silos insuffisamment nettoyés...) (*A.f.s.s.a, 2003*).

III-4- Etude d'un traitement thermique (Le blanchiment):

Le blanchiment, est une méthode préalable aux traitements par : appertisation, congélation et déshydratation, est une technique qui consiste à soumettre l'aliment à une haute température, généralement (70 °C) pendant quelque minutes (5 min) (*Elisabeth, V., 2008*).

Avantage de blanchiment :

- ❖ Il détruit les enzymes qui ont un rôle oxydant tel que la peroxydase et la polyphenoloxydase responsable du brunissement enzymatique, et l'ascorbate-oxydase qui est oxyde la vitamine C (acide ascorbique),
- ❖ Fixe les pigments colores, empêche le brunissement enzymatique, limite les pertes ultérieurs en vitamine C,
- ❖ Stérilise l'aliment en surface, comme il chasse les gaz et diminue les réactions d'oxydoréductions, et favorise ainsi la déshydratation ou la réhydratation,
- ❖ Il réduit les substances indésirables telles que le nitrate pendant ce processus (*Elisabeth, V., 2008*).

Inconvénients de blanchiment :

- ❖ Il altère la structure des produits et induit une perte de rigidité de la matrice alimentaire et la déshydratation de cette dernière,
- ❖ Il induit une perte notable en vitamines hydrosolubles : perte de 10 à 45% de la vitamine C.

Globalement, le blanchiment a des effets positifs quasi indispensable, par exemple après stockage des haricots verts surgelés blanchis, la perte en Vitamine C et de 50%, 20% pour la vitamine B1 et 3% pour la vitamine B2, et dans le cas contraire (pas de blanchiment), ce légume perte 90% de vitamines C, 70% de vitamine B1 et 40% de vitamine B2 (*Elisabeth, V., 2008*).

III-4-1- Méthodes de blanchiment :

- ❖ **Blanchiment à l'eau :** l'industrie adapte le temps et la température à chaque légume, il corrige quelque conséquences du blanchiment par l'addition de quelques composés tels que : les sulfites qui limitent l'oxydation de la vitamine C ; mais il détruit la vitamine B1.
- ❖ **Blanchiment à la vapeur :** il est plus long et plus couteux que le précédent, il entraîne moins de pertes en éléments minéraux.

- ❖ **Blanchiment par les UHT (micro ondes) :** il conserve bien les éléments de valeurs nutritionnels (*Elisabeth, V., 2008*).

III-4-2- Impact de blanchiment sur la teneur en nitrate des denrées alimentaires :

Le blanchiment convient à réduire des concentrations en nitrate des légumes ; les substances ioniques (exemple : les nitrates) sont extraites au-dessus de 57 °C. À de plus basses températures, les membranes cellulaires maintiennent leur sélectivité et sont imperméables aux corps dissous. L'extraction des nitrates de quelques légumineuses s'effectue à des températures sises entre 80 et 90 °C et les taux de lixiviation est proportionnel aux températures appliquées (*Gaiser, M. et al, 1996*).

partie pratique

Chapitre IV

Toutes les parties expérimentales sont effectuées au laboratoire pédagogique de biochimie et chimie 3 de l'université de Djilali BOUNAAMA de Khemis M'liana au de mai.

IV- Matériels et méthodes :**IV.1. Matériels utilisés :**

Les équipements et produits chimiques, utilisé dans l'étude expérimentale dans laboratoire, sont mentionnés dans le tableau n°3:

Tab. 3 : Matériels et produits chimiques

Matériels	Produits
<ul style="list-style-type: none">▪ Spectrophotomètre UV (THERMO ELEECTRON)▪ Balance de précision (OHAUS)▪ Vortex (VELP Scientifica)▪ Cuve en quartz▪ Tubes à essais en verre▪ L'étuve (réglée à 105 C°) (V W R)▪ Micropipettes▪ La hôte (ASEM)▪ Les flacons▪ Bain marie (Mettler)▪ Chronomètre▪ Plaque agitatrice (VELP Scientifica)▪ Verreries (fiolle, bécher,.....etc.)	<ul style="list-style-type: none">▪ Acide sulfurique 98%▪ Diphénylamine▪ Nitrate du sodium (NaNO₃)▪ Solution NaCl saturée▪ Acide acétique a 5%

▪ Matériels végétales (tomate, laitue, carotte, pomme de terre...)	
--	--

IV-2) Méthode de dosage :

Dans notre travail, la méthode utilisée pour doser les nitrates de quelques produits de maraichères (pomme de terre, tomate, carotte,...) est celle de l'oxydation d'un composé organique « Diphénylamine » par NO_3 (méthode colorimétrique inspirée dans un livre russe), décrite par : *Golubev en 1989*, améliorée par *Aoun et al, en 2013*.

IV-2-1-Principe de la méthode :

La méthode de Diphénylamine est basée sur l'oxydation de la Diphénylamine par les nitrates. Dans un mélange fortement acide (acide sulfurique), une couleur bleue brillante se développe suite de réaction de nitrate avec la diphénylamine (amine secondaire). L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en anions nitrates. L'absorbance est mesurée à 590nm.

IV-2-2-Préparation de réactif

Le réactif de Diphénylamine (DPA) est préparé selon le protocole appliqué par **Ronald Bartzatt**, et **Laura Doniga (2004)** :

dans une burette graduée on dissout 0.1g de diphénylamine par l'ajout progressif de l'acide sulfurique à 14.4M sans cesser d'agiter, pour arrivé a un volume finale de 30 ml, une coloration violet claire apparait avec l'agitation, le réactif est conservé dans la hôte à l'obscurité et étiqueté du non de réactif.

IV-2-3-Préparation de solution étalon

La solution étalon était préparée par NaNO_3 avec concentration de 0.15g/l, c'est la solution mère (SM), à partir de cette solution on a préparé des dilutions (D1, D2, D3, D4) :

0.075 g/l, 0.045 g/l 0.030 g/l, 0.015 g/l, respectivement pour tracer une courbe d'étalonnage après la mesure des absorbance à 590 nm.

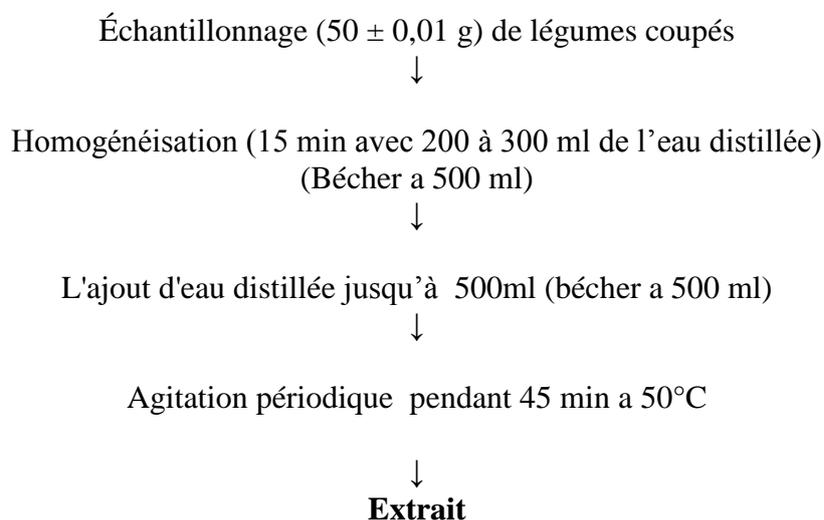
IV-3-1-Préparation de matérielle végétale :

Le choix des légumes a été effectué selon :

- Leur type :
 - Légume feuille : laitue, épinard,
 - Légume racinaire : la carotte, betterave,...
 - Légume tuberculés : pomme de terre,
 - Légume fruité : tomate.
- Leur teneur en nitrate (d'après la bibliographie) :
 - Bas,
 - Moyen,
 - Elevé.
- Les plus consommé : pomme de terre, tomate, carotte,....

Les légumes ont été achetés au marché de Boumedfaa (à l'Est de la wilaya de Ain Defla), au mois de mai 2015 et les analyses sont effectuées dans le même jour.

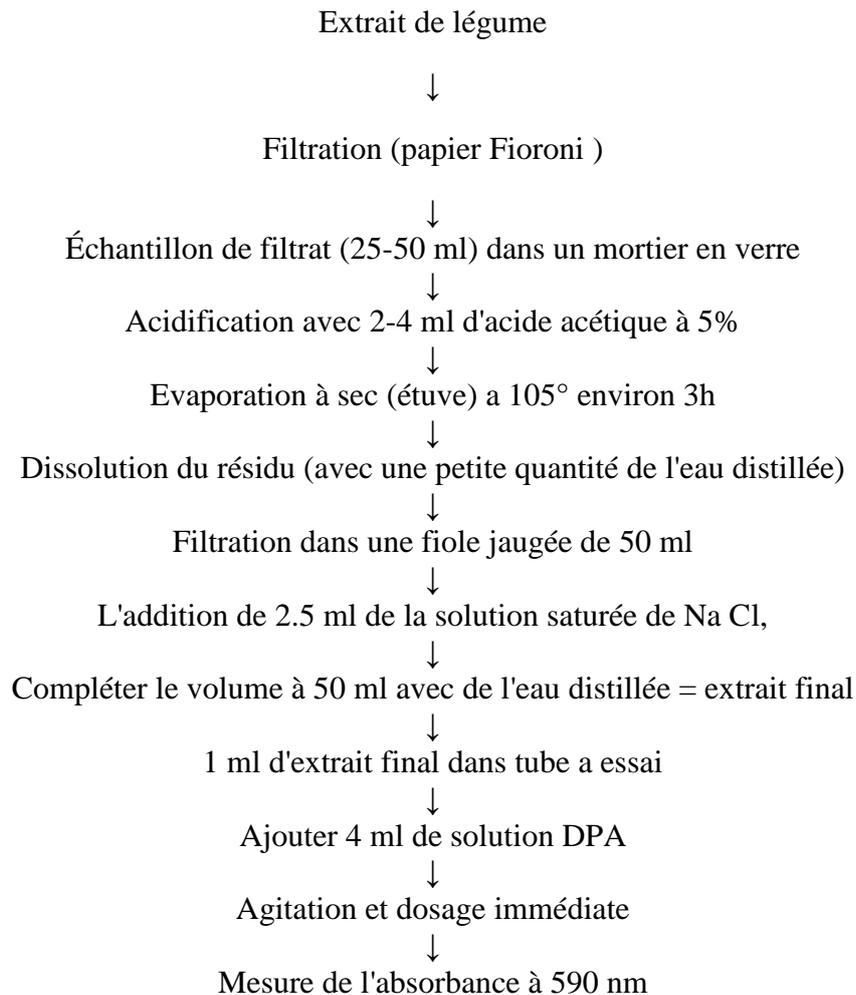
Les légumes sont lavés soigneusement avec l'eau de robinet puis rincés avec de l'eau distillée pour enlever les traces d'impuretés et les particules étrangères puis coupés en petits morceaux et traité selon les étapes suivantes :



A partir d'extrait de chaque légume on a utilisé une quantité pour le dosage des différentes échantillons frais, et le reste est divisé en trois portions est conservé dans des états d'entreposages différentes (lumière, obscurité, froid), dans le but de suivre l'impact d'entreposage pendant 5 jours sur la cinétique de transformation des nitrates pour quatre légumes choisit (pomme de terre, laitue, tomate, carotte).

IV-3-2-Dosage des extraits

Les extraits des légumes ont passé par une étape de filtration puis acidification et évaporation suivie de filtration pour être mélangé avec le réactif de Diphénylamine (DPA) selon les étapes suivantes :

**IV-4-Préparation d'échantillon pour un traitement thermique (blanchiment)**

Dans la deuxième partie de l'étude expérimentale, le processus de blanchiment à l'eau est étudié sur deux échantillons de légumes (carottes et l'épinard), pour étudier l'effet de blanchiment sur la cinétique de diffusion des nitrates dans la matrice alimentaire vers l'eau de blanchiment à différentes températures (60°C, 70°C, 80°C) ; les légumes sont traités comme suit :

- Les légumes sont coupés en petits morceaux
- 10g de chaque échantillon est émergé dans 100 ml d'eau distillée dans des flacons stériles en verre (9 flacon pour chaque légume)
- La température de bain marie est réglé selon la température appliquée

La méthode appliquée pour le dosage des nitrates dans l'eau de blanchiment, et celle à la Diphénylamine décrite par : *Golubev en 1989*, améliorée *Aoun et al, en 2013*.

IV-5—Expression et calcule des résultats :

Les résultats ont été calculés à partir de la droit de régression (courbe d'étalonnage) et sont exprimés en mg / kg d'échantillon, en tenant compte des dilutions.

Le taux d'élimination de blanchiment est calculé selon l'équation suivante :

$$((CI-CF) / CI) * 100$$

CI : Concentration initial

CF : Concentration final

IV-6- Logiciels utilisés dans l'interprétation des résultats

Les données ont été analysées par Excel, évalués avec un logiciel STATISTICA (version 5.5) afin d'estimer les différences significatives à $p \leq 0.05$.

Chapitre V

Les résultats obtenus au cours de cette étude sont interprétés par différentes représentations (courbe d'étalonnage ; histogrammes).

V-1-Courbe d'étalonnage

La courbe d'étalonnage (figure 5) représente une bonne linéarité, avec un coefficient de corrélation (R^2) égal à 0.997. La concentration en nitrates est déduite à partir de l'équation de la droite de régression en prenant en considération le facteur de dilution.

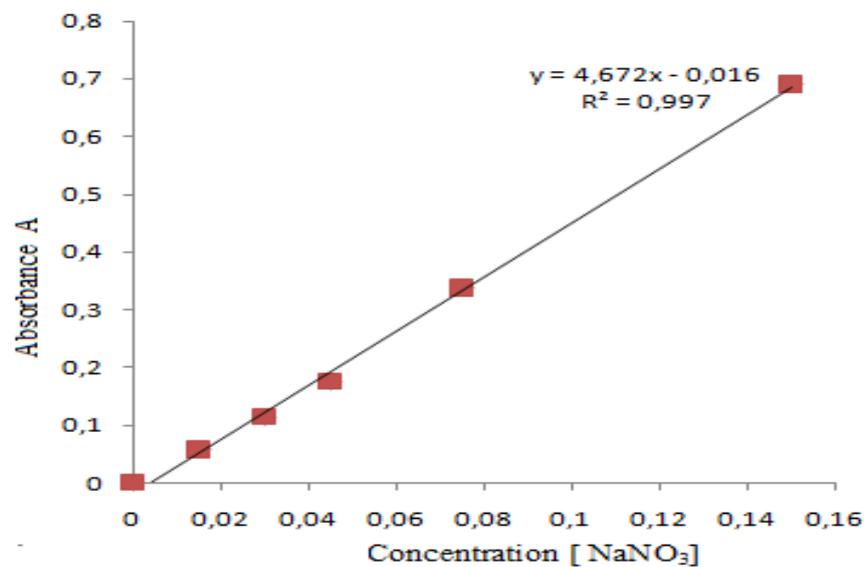


Fig. 5 : Courbe d'étalonnage

V-2- Teneur moyenne en nitrates de quelques légumes frais

La figure n°6 représente la teneur en nitrates (TN) de quelques légumes frais locaux ; d'après les analyses statistiques, il existe une différence significative à $P \leq 0,05$ entre les différents légumes sauf dans le cas de pommes de terre et de concombre.

Dans les autres cas, on constate qu'il y a une différence remarquable, le betterave montre la teneur la plus élevée (3217,75 mg/kg) suivie par celle des épinards (1996 mg/kg).

En général, la teneur en nitrates diffère d'un légume à l'autre, elle est de 550.79 ; 442.35 ; 371.00 ; 338.18 et 271.11 (mg/kg) pour les : carottes, laitues, concombres, pommes de terre et petits pois ; respectivement.

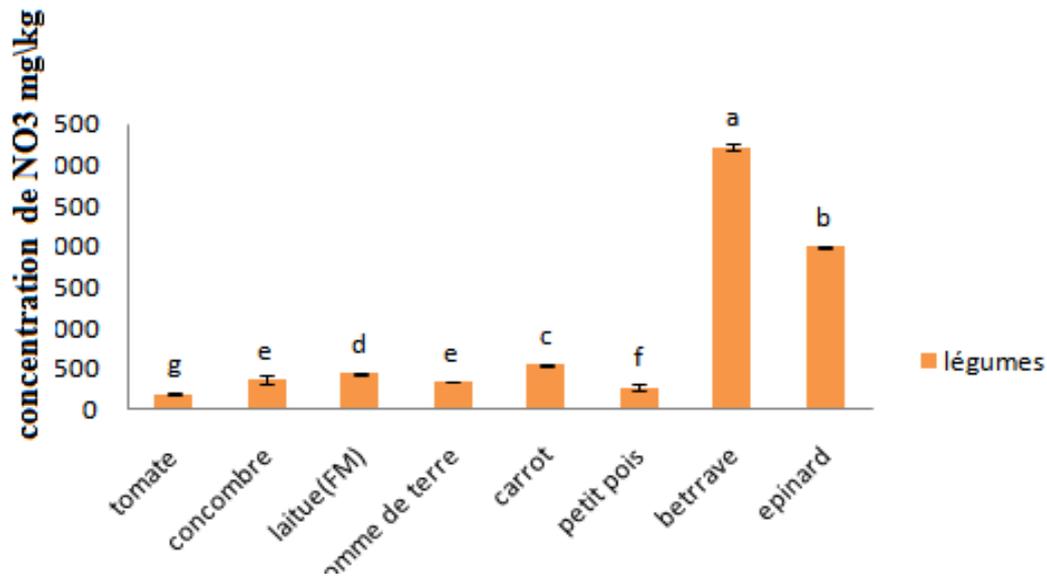


Fig. 6 : Histogrammes de la teneur en nitrates dans les légumes frais (mg/kg), Les mêmes lettres indiquent l'absence d'une différence significative ($p \leq 0,05$).

Certains résultats, sont en concordance avec ceux rapportés dans la bibliographie, sauf dans le cas des épinards, d'après *Santamaria et al, (1998b)*, les épinard (légumes feuillés) contiennent plus de nitrates que les légumes racinaires, et pour les betteraves la forte teneur en nitrates, peut être expliquée par l'influence de l'hyper-fertilisation en engrais qui contiennent de substance azoté (*Santamaria et al, 1998a ; Nazaryuk et al., 2002 ; Chen et al., 2004*).

Pour les laitues (feuille médiane), la TN est inférieure par rapport aux résultats mentionnés dans la bibliographie, mais on peut les justifier par certaines opinions qui disent que les feuilles intérieures accumulent moins de nitrates que les feuilles externes (*Santamaria et al, 1999 ; Santamaria et al., 2001*), mais ces auteurs ont signalé aussi que les valeurs moyennes en NO₃ dans les laitues varient de 250 à 1500 mg/Kg comme elles dépassent 2000 mg/Kg, c'est-à-dire selon les conditions de la culture et/ ou l'influence des paramètres climatiques (précipitations, sécheresse,...). Les résultats trouvés dans quelque pays sont mentionnés dans l'annexe n°2.

La plus faible concentration est enregistrée dans les tomates (195,49mg/kg), elle est en concordance avec la classification établie par (*Santamaria et al, 2001*) là où ils ont signalé que les fruits des végétaux ont des faibles TN que les feuilles, racines, tubercules,

La TN dans les petits pois est faible par rapport à la classification de *Santamaria, 2006*, par contre la TN dans les pommes de terre est importante en comparaison avec la bibliographie.

V-3- Stabilité de nitrates dans les différentes conditions d'entreposage :

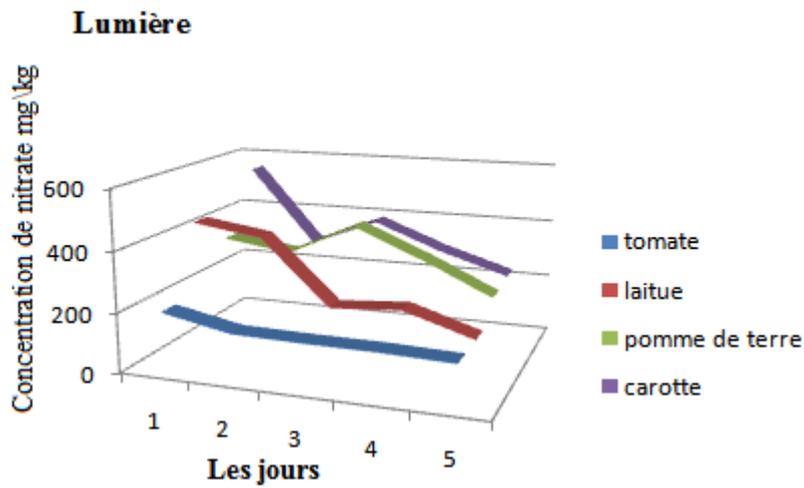
Durant le processus de suivi de la variation de TN dans les quatre légumes choisis (carotte, pomme de terre, laitue, tomate) dans les conditions d'entreposage suivants : lumière et obscurité à température de chambre de stockage, effet du froid à 4°C pendant 5 jour ; on a obtenu les résultats suivantes (figures 7 A, 7 B et 7 C).

Pendant la durée de l'entreposage, la diminution de la TN est remarquable pour les trois paramètres, mais le taux et la vitesse de la diminution diffère d'un type de légume à un autre et d'un paramètre à l'autre.

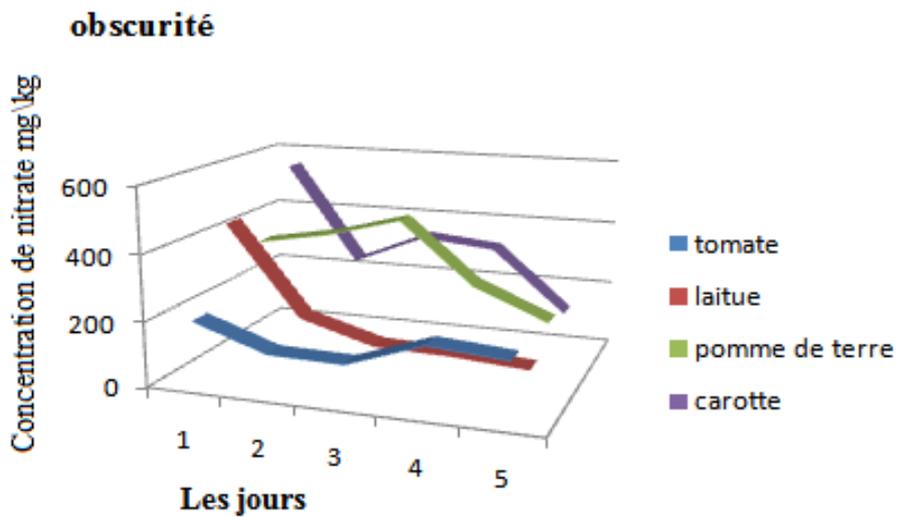
Dans le cas de la lumière (fig. 7 A), la concentration en NO₃ dans les extraits diminue en fonction du temps, de même pour les autres cas : obscurité (Fig. 7B) et froid (fig. 7C). Cette diminution (effet de la lumière, fig. 7A), peut s'expliquer par l'effet photochimique sur la cinétique de dégradation des nitrates (réaction d'oxydoréduction des NO₃ en NO₂ puis en NH₄ en présence des métabolites lors de la photosynthèse), ou par action des microorganismes qui ont une affinité avec les substances azotés (*Nitrobacter* par exemple) (*Chung, S. Y. et al, 2003*).

Concernant le cas de l'obscurité (fig 7 B), la TN diminue à partir du 2^{ème} jour dans les trois extraits, cette diminution est moyennement importante que la lumière (différence remarquable dans le 2^{ème} jour), sauf pour l'extrait de la pomme de terre qui a marqué le même pic d'augmentation qu'à la lumière. Une augmentation de la TN dans l'extrait de carotte est marqué dans le 3^{ème} jour par rapport au 2^{ème} jour ; mais elle diminue de nouveau le jour après, ce qu'on peut expliquer par l'interaction d'autres molécules dans le milieu (milieu complexe, réactivité des ions NO₃ et NO₂ avec certains nutriments contenant dans les matrices alimentaires qui ont une affinité avec ces derniers) (*Guingamp et al., 1983*), ou par action des interférents (oxydants formés après réduction des nitrates tel que les NH₄, NO₂) qui contribuent à l'oxydation de réactif (Diphénylamine) puis variation des valeurs de l'absorbance.

A



B



C

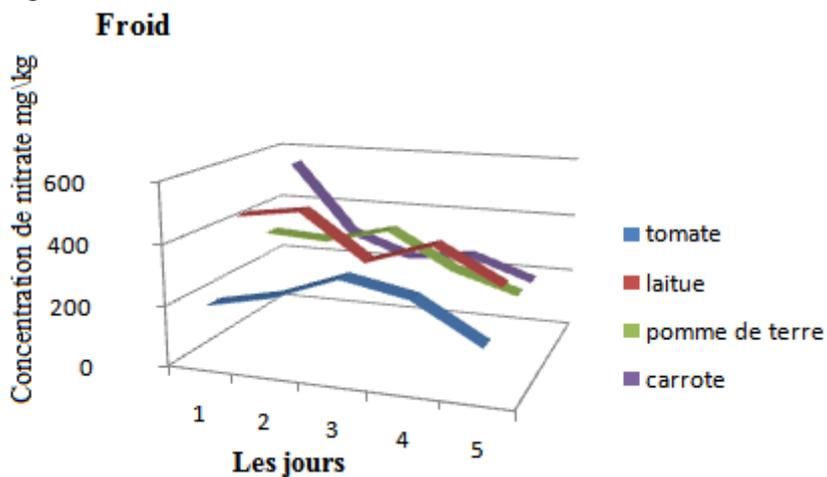


Fig. 7 : Variation des teneurs en nitrate durant l'entreposage dans la lumière, obscurité et froid.

Concernant le cas du froid ($T= 4^{\circ}\text{C}$), la TN est instable dans tous les extraits durant les 5 jours et les courbes montrent une légère diminution de la TN en comparaison avec la TN initiale (à l'état frais), excepté la TN d'extrait de carotte qui a diminué dès le 2^{ème} jour avec un écart très important. Cette instabilité (augmentation et diminution de la TN en fonction des jours) peut être due aux erreurs de manipulation dans le laboratoire (conditions de stockage, milieux d'analyse, préparation du réactif, étalonnage des équipements, contamination de la verrerie,...), ou par l'interaction des produits du milieu (complexité de la matrice alimentaire), ou par l'effet du froid sur l'activité des enzymes régulateurs de la réduction de NO_3).

D'après les résultats obtenus, la teneur en NO_3 est influencée par les conditions de ces paramètres. Aussi la durée de conservation est considérée parmi les facteurs qui influent sur la TN dans les légumes (*Walker, R., 1990 ; Fytianos, K, et Zarogiannis, P. 1999, Laslo. C. et al, 2000*), dans les conditions optimales de stockage, la TN diminue lentement, mais deux facteurs peuvent intervenir dans le cas de déffaïance : l'activité de l'enzyme nitrate réductase et la contamination bactérienne ; signalés par certains opinions scientifiques.

La lumière et la température ambiante ont une influence importante sur l'activité de la N-réductase qui réduit des nitrates en nitrites (*Elisabet, V., 2008*), l'activité de l'enzyme N-réductase à l'obscurité, normalement, doit être réduite, la fréquence de diminution de la TN à l'obscurité est moyennement plus que la lumière.

Pour ce qui concerne l'obscurité, on peut l'expliquer par la prolifération des bactéries nitrifiantes dans le milieu suite à une conservation dans un endroit humide et clos (*Chung, S. Y. et al, 2003*).

Une légère différence concernant la variation de la TN des extraits conservés au froid, peut être due à l'effet de l'inhibition de l'activité de nitrate réductase et le ralentissement de la prolifération bactérienne (*E.F.S.A, 2008*).

V-3-1- Transformation de nitrates dans l'extrait de tomates :

L'histogramme suivant (fig. n°8) représente la variation de la TN dans l'extrait de tomate pendant 5 jours d'entreposage en fonction des trois paramètres étudiés.

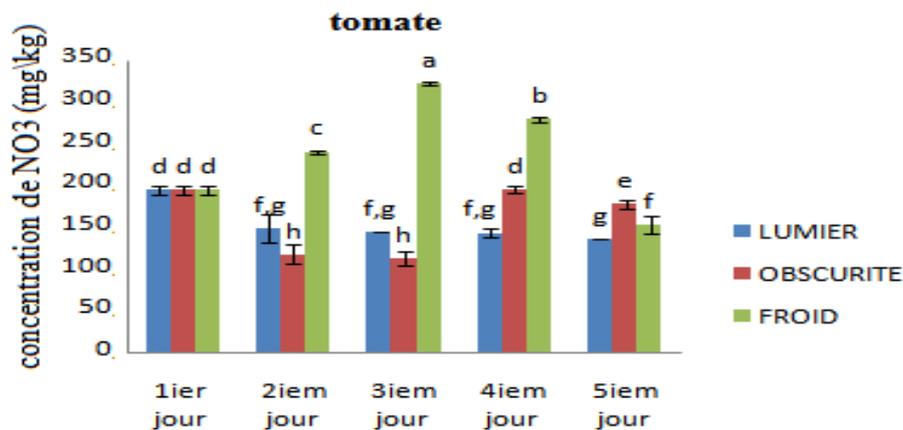


Fig. 8 : Histogramme de la variation de la TN dans l'extrait de tomate.

Les mêmes lettres indiquent l'absence d'une différence significative ($p \leq 0,05$).

Pour les extraits exposés à la lumière, une diminution significative apparaît au 2^{ème} jour, et ralentit pendant les jours qui suivent. Et pour ce qui concerne les extraits conservés à l'obscurité, une importante diminution de la TN apparaît dans le 2^{ème} jour, suivi par une augmentation dans le 3^{ème} et le 4^{ème} jour, mais toujours inférieur par rapport à l'état frais, cela est probablement lié aux erreurs expérimentales.

Par contre les extraits conservés au froid, une augmentation de la TN apparaît clairement à partir du 2^{ème} et 3^{ème} jour suivie par une diminution progressive dans les jours qui suivent avec une différence significative remarquable à $p \leq 0,05$. La réduction de taux de la TN de l'extrait de tomate était faible dans la lumière et dans l'obscurité par rapport aux autres extraits est expliquée par une source alternative de NO_3 accompagnée par sa réduction, cette source peut être expliquée par la diffusion de NO_3 contenu dans les vacuoles de débris de tomate présents dans l'extrait lors de la préparation de l'extrait.

Il est bien établi que les plantes enrichies en nitrates (engrais, fertilisation du sol,...) par rapport à la demande de la plante ont l'habileté d'accumuler les nitrates essentiellement dans les vacuoles. Ce phénomène est étudié par *Glass et Siddiqi, (1995)* sur des vacuoles isolées à partir de plantes, et explique les résultats obtenus au froid par rapport à l'augmentation signalée et la très faible réduction liée à l'inactivation de la NR par l'effet de froid.

V-3-2- Transformation de nitrates dans l'extrait de pomme de terre :

L'histogramme suivant (fig. n°9) représente la variation de la TN dans l'extrait de pomme de terre pendant 5 jours d'entreposage.

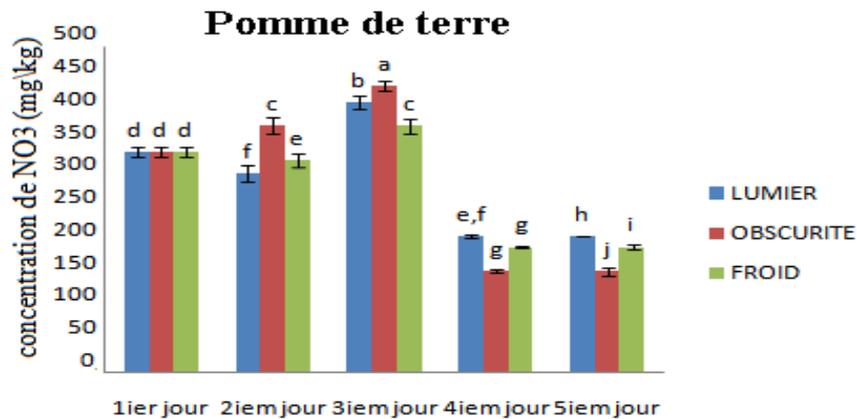


Fig. 9 : Histogramme de la transformaton de la TN dans l'extrait de pomme de terre.

Les mêmes lettres indiquent l'absence d'une différence significative ($p \leq 0,05$).

Pour les extraits exposés à la lumière, une légère diminution de la TN dans l'extrait apparait dans le 2^{ème} jour, suivie par une augmentation significative ($p \leq 0,05$) dans le 3^{ème} jour, puis une diminution dans le 4^{ème} et le 5^{ème} jour.

Pour les extraits conservés à l'obscurité, une augmentation progressive de la TN apparait dans le 2^{ème} et le 3^{ème} jour, mais une brusque diminution apparait dans le 4^{ème} jour.

Pour les extraits conservés au frais, une légère augmentation de la TN est observée à partir du 2^{iem} et 3^{iem} jour suivie par une diminution progressive..

L'augmentation significative de la TN dans l'extrait pour les trois paramètres est probablement liée aux erreurs commises lors du déroulement de l'ensemble des étapes qui précèdent le dosage. Elle est accompagnée par la diminution de l'activité de la NR sur la réduction de NO₃ en NO₂ dans l'extrait par l'effet de la vitamine C fortement présente dans les pommes de terre, sachant que la vitamine C diminue la transformation de NO₃ en NO₂.

La TN a diminué significativement dans le 4^{ème} et le 5^{ème} jour suite à la diminution de la vitamine C dans l'extrait par l'effet d'entreposage (*a.f.s.s.a, 2003*).

V-3-3-Transformation de nitrates dans l'extrait de carotte :

L'histogramme suivant (fig. n°10) représente la variation de la TN dans l'extrait de carotte pendant 5 jours d'entreposage à la lumière, l'obscurité et le froid.

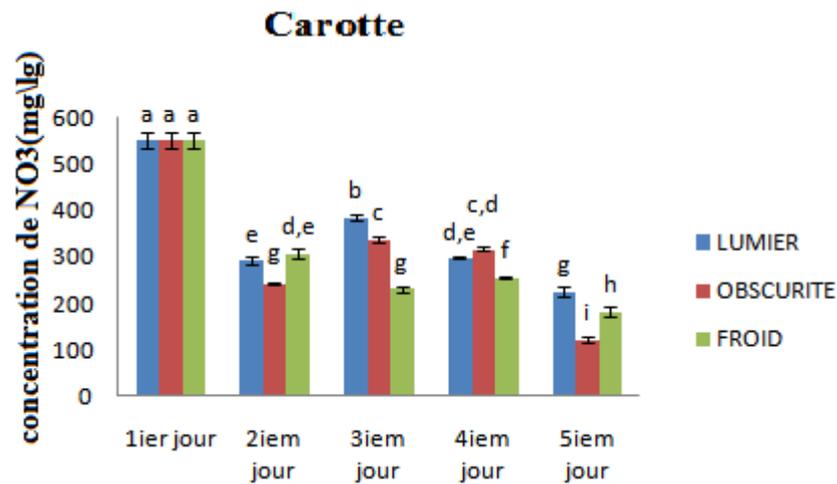


Fig. 10 : Histogramme de la transformation de la TN dans l'extrait de carotte.

Les mêmes lettres indiquent l'absence d'une différence significative ($p \leq 0,05$).

Une diminution significative de la TN apparaît dans le 2^{ème} jour d'entreposage dans tous les extraits.

La réduction de la teneur en NO_3 dans l'extrait conservé au froid est progressive. Par contre dans la lumière et dans l'obscurité elle montre une légère augmentation par rapport au 2^{ème} jour liée aux erreurs expérimentales.

L'effet d'une contamination bactérienne de l'extrait initiale de carotte est clairement prouvé par la forte réduction de la TN même pour l'extrait conservé au froid.

L'influence de l'humidité de milieu sur la forte dégradation de NO_3 est toujours marquée pour tous les extraits conservés à l'obscurité (*Chung, S. Y. et al, 2003*).

V-3-4- Transformation de nitrates dans l'extrait de laitue :

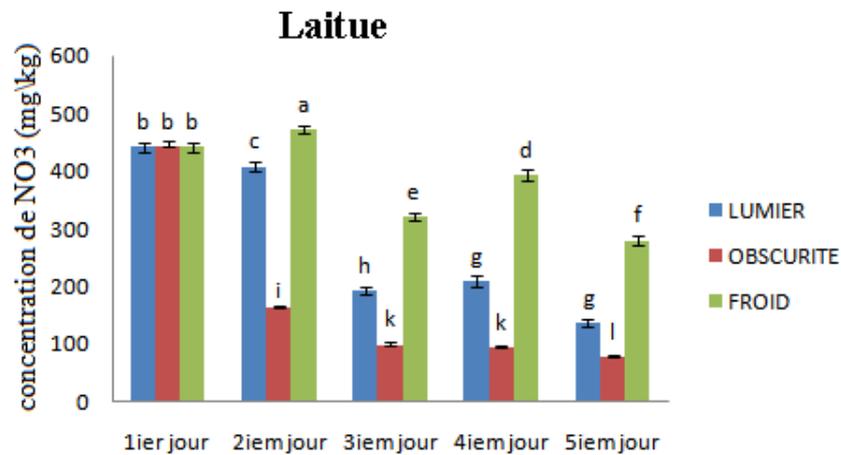


Fig. 11 : Histogramme de la transformation de la TN dans l'extrait de laitue.

Les mêmes lettres indiquent l'absence d'une différence significative ($p \leq 0,05$).

L'influence de la lumière apparait durant la période de l'entreposage sur la TN dans l'extrait de laitue, une diminution progressive significative, suite à la réduction de nitrates en nitrites par la nitrate réductase activé par l'effet photochimique.

A l'obscurité, la diminution de la TN dans l'extrait est toujours supérieure à la lumière

Une faible dégradation de la TN dans l'extrait conservé au froid, ce qui confirme l'effet de bonne condition d'entreposage (faible contamination microbienne) sur la diminution de l'activité de la NR (*Thomas Y., Chana,b. 2010*).

V-4- Cinétique de diffusion de nitrate dans l'eau de blanchiment :

Le blanchiment est un traitement thermique préalable à la réfrigération, congélation et surgélation, il sert à limiter l'activité des enzymes et l'élimination de certaines substances indésirables comme les nitrates, l'étude suivante montre l'effet du blanchiment sur la réduction de TN dans l'épinard et les carottes.

Les résultats concernant l'épinard et la carotte sont illustrés dans l'histogramme suivant, (figures 12 A et 12B) :

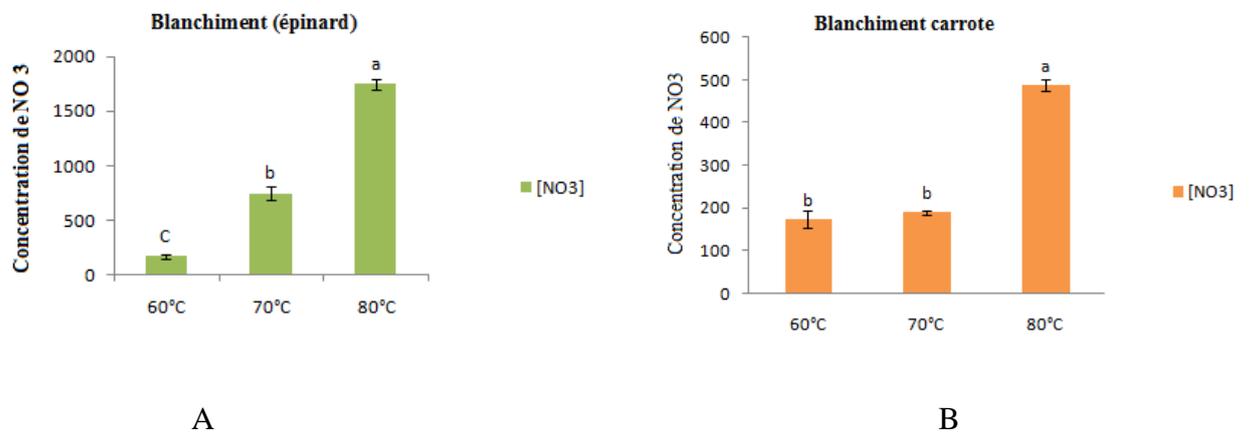


Fig. 12 : Histogramme représentant le taux de nitrates éliminés dans l'eau de blanchiment. Les mêmes lettres indiquent l'absence d'une différence significative ($p \leq 0,05$) (A : Epinards ; B : Carottes)

La figure 12 représente la TN diffusée dans l'eau du blanchiment après le traitement ou blanchiment des épinards et des carottes à des températures : 60°C, 70°C, et 80°C pendant 3 minutes.

Les résultats montrent une faible TN dans l'eau à 60°C, mais elle augmente en fonction de la température de traitement et marque un taux élevé à 80°C.

Gaiser et al, (1996), ont montré que certaines substances des végétaux sont imperméables à travers les membranes cytoplasmiques à des températures inférieures à 57°C, sauf les molécules d'eau qui peuvent se pénétrer, ce qui peut expliquer la faible diffusion de NO₃ à 60°C ; à 70°C et 80°C, les protéines de la membrane sont de plus en plus dénaturées et deviennent poreuses.

On constate que le taux d'élimination des nitrates dans l'épinard est de 27.16 %, 37.45%, 87.70% à 60, 70 et 80°C, respectivement ; et pour les carottes 24.35 %, 26.96 %, 74.84 % à 60°C, 70°C, 80°C, respectivement. Cette différence entre les deux échantillons est liée à la forte teneur en nitrates dans les épinards, aussi, à la différence de structure entre les deux matrices végétales (rigidité des tissus) (*Aoun.O, 2013*).

Conclusion générale

Conclusion Générale

Les résultats obtenus indiquent que les légumes, en particulier les légumes feuillés sont une source importante d'exposition alimentaire aux nitrates (concentration varie de 195,49 à 3217,75 mg/kg), ces légumes captent et accumulent différemment les nitrates en fonction de leur type, feuillés (épinard), tuberculés (pomme de terre), racinaire (carotte, betterave), ou fruité (tomate) ; Et en fonction de la durée et la condition d'entreposage.

Les autres sources de l'exposition humaine sont l'eau de boisson, les fruits, les céréales et les charcuteries auxquelles les nitrates (mais aussi les nitrites) sont ajoutés comme additif (E249, E250, E251, E252) à des fins de conservation et de coloration.

Le dosage de nitrates dans les légumes frais a montré une contradiction par rapport aux différentes bibliographies ; les betteraves enregistrent des valeurs élevées (3217,75) mg/kg par rapport aux légumes feuillés (épinards avec 1996 mg/kg). Ces valeurs montrent l'effet d'utilisation intensive de nitrates en agriculture comme fertilisants sur la concentration importante enregistrée dans les betteraves (forte assimilation). La concentration de nitrate est significativement importante dans les légumes feuillés se qui mis en évidence l'effet photochimique sur l'accumulation de nitrate dans les feuilles. Les légumes fruités accumulent moins de nitrate par rapport aux autres types.

L'instabilité des nitrates dans les extraits des légumes conservés dans différentes conditions d'entreposage a mis en évidence l'influence de la lumière, l'obscurité et le froid sur la cinétique de réduction de nitrates en nitrites. La température élevée et la lumière sont des principaux facteurs qui favorise l'accélération de réduction de nitrates en nitrites, par contre le froid ralentit cette réduction par son effet de minimiser l'activation de la nitrate réductase (enzyme réductrice de nitrates en nitrites) et la prolifération bactériennes. Le paramètre de l'obscurité a aussi permis d'indiquer l'effet de l'humidité de l'atmosphère, relative à l'obscurité adapté sur l'accélération de réduction de nitrates en nitrites.

L'étude de la cinétique de dégradation de nitrate en nitrite dans les différentes conditions d'entreposage, nous permet de citer les bonnes conditions d'entreposage à adapter, de froid et d'obscurité à atmosphère bien contrôlée afin de minimiser la teneur en nitrites dans les légumes qui sont considérés comme des substances toxiques.

En ce qui concerne le blanchiment, les résultats montrent que ce dernier est une technique efficace pour réguler les niveaux de nitrates dans les aliments avant de les conserver ou consommer en tenant compte le choix de la température et le temps afin de minimiser la perte de nombreux nutriments et vitamines. Le taux d'élimination de nitrates dans l'eau de blanchiment varie considérablement en fonction du temps et de la température du traitement thermique. Il

Conclusion Générale

passé de 27.16 %, à 60°C et de 87.70% à 80°C pour l'épinard, et de 24.35% à 60°C et de 774.84% à 80°C pour les carottes.

Afin de compléter ce modeste travail, il serait intéressant:

- ✓ Faire une étude sur la teneur en nitrates de différentes variétés de pommes de terre de la wilaya de Ain Defla (la région la plus productive et légume le plus consommé en Algérie).
- ✓ Analyser maximum de produits alimentaires locaux (fruits, produits carnés, produits laitiers,...) pour faire le point sur l'exposition humaine aux nitrates qui proviennent de l'alimentation.
- ✓ Adapter des méthodes de précision plus avancées (chromatographie, électrodes,.....).

Références bibliographiques

- ❖ **a.f.s.s.a** (l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments), 2003. Evaluation nutritionnelle et sanitaire des aliments issus de l'agriculture biologique Juillet 2003. www.anses.fr.
- ❖ **Alouane, H.**, (2012), Evaluation des teneurs en nitrates dans les sols et dans les eaux captées et émergentes en zones à vocation agricole Impact des nitrates sur la qualité des eaux destinées à la consommation humaine, p :10.
- ❖ **Amr, A. et Hadidi. N.**, (2000). Effect of Cultivar and Harvest Date on Nitrate (NO₃) and Nitrite (NO₂) Content of Selected Vegetables Grown Under Open Field and Greenhouse Conditions in Jordan. College of Agriculture, University of Jordan, Amman 11942, Jordan. *Journal of food composition and analysis* (2001) 14, 59-67.
- ❖ **Aoun, O. Benamara, S., Aberkane, L. Amrani, N., Dahmoune, F. and Madani, Kh.**, (2013). Improvement of the diphenylamine-based spectrophotometric method for nitrate
- ❖ **Bartholomew, B., Hill, M. J.**, (1984), The pharmacology of dietary nitrate and the origin of urinary nitrate, *Food Chem Toxicol*, 22(10), 789-79 5pp.
- ❖ **Beevers, L., Schrader, L.E., Flesher, D., Hageman ,R.H.**, (1965), The role of light and nitrate in the induction of nitrate reductase in radish cotyledons and maize seedlings, *Plant Physiol.* 40, 691–698pp.
- ❖ **Bernard, A., Carlier, H.**, (1992). Aspects nutritionnels des constituants des aliments : Influence des technologies. Paris, Lavoisier, coll. « Tec&Doc », Les Cahiers de l'ENSBANA, 392 p.
- ❖ **Boumendjel, M.**, (2005). Conservation des denrées Alimentaires p18/60. Cours multimédia interactif à usage pédagogique. Institut des sciences agronomique. Centre universitaire d'EL-Taraf .
- ❖ **Broitman, S. A., Velez, H. et Vitale, J. J.**, (1981), A possible role of iron deficiency in gastric cancer in Colombia, *AdvExp Med Biol*, 135, 155-181pp
- ❖ **C.I.R.C.**, (2010). Ingested nitrate and nitrite and cyanobacterial peptide toxins. Centre international de Recherchesur le Cancer, Lyon. 464 pp. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 94).
- ❖ **Chen, B-M., Wang, Z-H., Li, S-X., Wang, G-X., Song H-X., Wang, X-N.** (2004). Effects of nitrate supply on plant growth, nitrate accumulation, metabolic nitrate concentration and nitrate reductase activity in three leafy vegetables, *Plant Sci.* 167, 635–643.
- ❖ **Chung, S. Y., Kim, J. S., Kim, M., Hong, M. K., Lee, J. O., Kim, C. M., & Song, I. S.**, (2003). Survey of nitrate and nitrite contents of vegetables grown in Korea. *Food Additives and Contaminants*, 20, 621–628
- ❖ **Deschamps, P.**, (1980). Les teneurs en nitrites et en nitrates des aliments prélevés au cours de l'inventaire national de la qualité alimentaire. *Ann. Nutr. Alim.*, 34, 901-908.
- ❖ **Desint-Blanqua, G.T.**, (1980). Aspects toxicologiques et nutritionnels des nitrates et des nitrites. *Ann. Nutr. Alim.*, 34, 827-84pp. des séances de l'Acad. D'Agr. de France. *determination. Anal. Methods.* 5: 5830-5835. DOI: 10.1039/c3ay40996a.

Direction du Commerce, (2012). Techniques de conservation des Aliments. Service de qualité. Disponible à : Wilaya de Skikda . P2.3.4/4. www.dcommerce-skikda.dz

- ❖ **E.C.E.T.O.C**, (1988). Nitrate and drinking water. Centre européen d'Ecotoxicologie et de Toxicologie des Produits chimiques, Bruxelles (Technical Report No. 27).
- ❖ **Elisabeth, V.**, (2008). Aliments et boissons filières et produits, troisiemeedition p 144. Google Livres reference_files.
- ❖ **Environmental O.E.H.H.A**, (1997). Public health goals for nitrate and nitrite in drinking water. Office of Health Hazard Assessment, California Environmental Protection Agency, Sacramento, California .Disponible à : www.oehha.ca.gov/water/phg/pdf/nit2_c.pdf
- ❖ **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; http://dsp-psd.pwgsc.gc.ca/collection_2008/ec/En1-34-6-2003F.pdf
- ❖ **European Food Safety Authority (E.F.S.A)**, (2008). Nitrate in vegetables – scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. Eur. Food Saf. Assoc. J. 689, 1–79.
- ❖ **F.P**, 2014. Fiche Pratique Conservation des aliments - 06/10/2014 disponible à : <http://www.economie.gouv.fr/dgccrf/Publications/Vie-pratique/Fiches-pratiques/Conservation-des-aliments>
- ❖ **F.S.A**, 1998. Total diet study - Nitrate and nitrite. Food Surveillance Information Sheet163, 1 8.
- ❖ **Food Safety Network**, (2010). Nitrite/nitrate. In: Preservatives. Food Safety Network, University of Guelph, Guelph, Ontario. 3 pp. Disponible à : www.uoguelph.ca/foodsafetynetwork/preservatives
- ❖ **Fritsch, P.**, (1985). Réactivité biologique des nitrates et des nitrites. h : Site 85. Nitrates dans les eaux. Paris, 22-24 pp octobre 1985. Rennes : Laboratoire CNGE/ENSCR, vol 2, 179 p.
- ❖ **Fritsch, P., Klein, D., Desant-Blanqua, G.T.** (1980). - Excrétion salivaire et biliaire des nitrates chez le chien. Ann. Nutr. Alim., 34, 1089-1096pp.
- ❖ **Fytianos, K., et Zarogiannis, P.**, (1999). Nitrate and nitrite accumulation in fresh vegetables from Greece. Bulletin of Environment Contamination and Toxicology, 62, 187–192.
- ❖ **Gaiser, M.**, (1996), Nitrate Extraction during Blanching of Spinach, Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 30, 432–435pp (1996).
- ❖ **Gaiser, M., Rathjen, A. and Spiess W. E. L.**, (1996). Nitrate Extraction during Blanching of Spinach. Federal Research Center for Nutrition, Institute of Process Engineering, Engesserstr. 20, D-76131 Karlsruhe, (Germany).
- ❖ **Gangolli, S.D., Van Den Brandt, P.A., Feron, V.J., Janzowsky, C., Koeman, J.H., Speijers, G.J.A., Spiegelhalder, B., Walker, R. et Wishnok, J.S.** (1994). Nitrate, nitrite and N-nitrosocompounds. Eur. J. Pharmacol., 292(1): 1-38.

- ❖ **Golubev, V.N.**, (1989). Determination of foreign substances in foods. In: Markh A.T., Zekina T.F, Golubev V.N. Technico-chemical control of canned foods (pp. 208-237) (in Russian). Ed. Agropromizdat, Moscow.
- ❖ **Green, L. C., Ruiz de Luzuriaga, K., Wagner, D. A., Rand, W., Istfan, N., Young, V. R., Tannenbaum, S. R.** (1981), Nitrate biosynthesis in man, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 78(12), 7764-7768 pp.
- ❖ **Gruda, N.**, (2005) Impact of environmental factors on product quality of greenhouse vegetables for fresh consumption, *Crit.Rev. Plant Sci.* 24, 227–247pp.
- ❖ **Guingamp, M. F. et Linden, G.**, (1983b). Teneurs en NO_x du lait et des produits laitiers aspects technologiques et biochimiques. *Le Lait* (1983), 63, 425-442 pp.
- ❖ **Guingamp, M. F., Linden, G.** (1980). Influence des traitements technologiques sur les teneurs en nitrates-nitrites du lait. *Ann. Nutr. Alim.*, 34, 1061-1067 pp.
- ❖ **Guingamp, M. F., Linden, G.** (1983a). Réactivité des nitrites. Incidences physiopathologiques. D. Réactivité du nitrite sur la liaison peptidique. *Compte rendu D.D.S.T.I.*, 51-61 pp.
- ❖ **H.H.S.**, (2011). Report on Carcinogens. US Department of Health and Human Services 12e edition <http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/twelfth/roc12.pdf>.
- ❖ **Hartman, P. E.** (1983), Review: putative mutagens and carcinogens in foods. II: sorbate and sorbate-nitrite interactions, *Environ Mutagen*, 5(2), 217-222 pp.
- ❖ **Hénin, S.** (1981) Le cycle d'azote, les problèmes de fertilisation et de pollution. C.R.
- ❖ **Hlusek, J., Zrust, J., et Juzl, J.**, (2000). Nitrate concentration in tubers of early potatoes. *Rostlinna Vyroba*, 46, 17–21pp.
- ❖ **Blog**, (2014) <http://blog-nitrate.fr>.
- ❖ **Huanostomagana R.**, (2008), analyse et modélisation de l'utilisation du nitrate en lieu avec sa disponibilité et la croissante ; étude de cas chez les tomates (*Solanum lycopersicum* L) ; p :13-14-15.
- ❖ **INERIS**, (2014). Données technico-économiques sur les substances chimiques en France (NITROSAMINES). Institut National de Recherche et de Sécurité. Dernière mise à jour : 15/09/2014 *INERIS – DRC-14-136881-01291A* (<http://rsde.ineris.fr/> ou <http://www.ineris.fr/substances/fr/>).
- ❖ **Institut national de santé publique du Québec**, (2003), Groupe scientifique sur l'eau Fiche Nitrates/Nitrites, Juillet 2003 , p : 3
- ❖ **Jakszyn, P., Bingham, S., Pera, G., Agudo, A., Luben, R., Welch, A., Boeing, H., Del Giudice, G., Palli, D., Saieva, C., Krogh, V., Sacerdote, C., Tumino, R., Panico, S., Berglund, G., Simán, H., Hallmans, G., Sanchez, M.J., Larrañaga, N., Barricarte, A., Chirlaque, M.D., Quirós, J.R., Key, T.J., Allen, N., Lund, E., Carneiro, F., Linseisen, J., Nagel, G., Overvad, K., Tjønneland, A., Olsen, A., Bueno-de-Mesquita, H.B., Ocké, M.O., Peeters, P.H., Numans, M.E., Clavel-Chapelon, F., Trichopoulou, A., Fenger, C., Stenling, R., Ferrari, P., Jenab, M., Norat, T., Riboli, E. et Gonzalez, C.A.** (2006). 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): 1497-1501pp.
- ❖ **Jean-françois., Morot-gandry**, (1997), Assimilation de l'azote chez les plantes « aspects physiologique biochimique et moléculaire », p:22 (paris INRA, 1997).

- ❖ **Keeney, D.R., Hatfield, J.L.** (2008). The nitrogen cycle, historical perspective, and current and potential future concerns. Dans : Nitrogen in the Environment: Sources, Problems, and Management. J.L Hatfield et R.F Follett (éditeurs.). Elsevier Inc.
- ❖ **Kiang, C., Kuan , S., Guilbault , G.** (1978). Enzymatic determination of nitrate: fluorimetric detection after reduction with nitrate reductase. Anal. Chem., 50, 1323-1325.
- ❖ **Kirmeyer, G.J., Odell, L.H., Jacangelo, J., Wilczak, A. et Wolfe, R.** (1995). Nitrification occurrence and control in chloraminated water systems. American Water Works Research Foundation and American Water Works Association, Denver, Colorado.
- ❖ **Klein, D., Gaconnet , N., Beaufrand ,M. J., Debry ,G.** (1976). Formation des nitrosamines dans le tractus digestif humain. Evolution du pH et des concentrations en nitrates et nitrites dans le suc gastrique au cours de la digestion. An. Nutr. Alim., 30, 813-821.
- ❖ **Kocak, D ., Ozel, M.Z., Gogus, F., Hamilton, J.F ., Lewis, A.C.,** (2012). Determination of volatile nitrosamines in grilled lamb and vegetables using comprehensive gas chromatography – Nitrogen chemiluminescence detection. Food Chemistry 135 (2012) 2215–2220pp.
- ❖ **L’hirondel, J., L’hirondel, JL.** (1996) Les nitrates et l’homme. Le mythe de leur toxicité. Editions de l’Institut de l’Environnement ; p : 142.
- ❖ **Laslo, C., Preda, N, et Bara, V.,** (2000). Relations between the administration of some nitrate fertilisers and the incidence of nitrates and nitrites in the food products. The University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca, 28,1–6.
- ❖ **Lhuissier, M., Suschetet, M., Causeret, J.** (1976). Influence des nitrites et des nitrates sur certains aspects de l’état de nutrition vitaminique. Ann.Nutr. Alim., 30, 847-858
- ❖ **Lowv, R., Manchon. , P.** (1976). Effets toxiques divers des nitrates et des nitrites. Ann. Nutr. Alim., 30, 839-845
- ❖ **Manuela, C., Ângela Barroso , M., Fátima Barroso , Débora Soares, M.B.P.P., Oliveira , Cristina Delerue-Matos ,** (2009). Contribution of different vegetable types to exogenous nitrate and nitrite exposure. Food Chemistry 120 (2010) 960–966pp.
- ❖ **Melet, J.1., Morlot, M , Passavy ,J., Salado ,J.** (1980). Hydrogéologie et médecine dans l’approche des problèmes de santé liés aux nitrates : exemples en Lorraine. Ann. Nutr. Alim., 34, 969-978.
- ❖ **Mitch, W. A., Sharp, J. O., Trussell, R. R., Valentine, R. L., Alvarez-Cohen, L. and Sedlak D. L.,** (2003). "N-Nitrosodimethylamine (NDMA) as a Drinking Water Contaminant: A Review." ENVIRONMENTAL ENGINEERING SCIENCE Volume 20, Number 5, 2003.
- ❖ **Morgane, D.,** (2013). Les différents moyens de conservation des aliments.
Nazaryuk, V.M., Klenova, M.I., Kalimullina F.R., (2002) Ecoagrochemical approaches to the problem of nitrate pollution in agroecosystems, Russ. J. Ecol. 33, 392–397 pp.
- ❖ **Nolen, G.A.,** (1981). Committee on Nitrite and Alternative Curing Agents in Food. The health effects of nitrate, nitrite, and N-nitroso compound. National Research Council, National Academy Press, Washington, D.C. (1981).

- ❖ **O.E.H.H.A, (2006).** Public Health Goal for N-Nitrosodimethylamine in Drinking Water. Office of Environmental Health Hazard Assessment. Disponible à : <http://oehha.ca.gov/water/phg/pdf/122206NDMAphg.pdf>.
- ❖ **OMS , (2007).** Nitrate and nitrite in drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Organisation mondiale de la Santé (WHO/SDE/WSH/07.01/16
- ❖ **OMS , (1985)**Organisation mondiale de la santé. Health hazards from nitrates in drinking-water. Report on a WHO meeting. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen (1985).
- ❖ **Oudot, C., (1999).** La Transformation des aliments. Génie alimentaire. Techniplus ; Paris. P50/79pp.
- ❖ **Remond, B., (1975).**La teneur du lait de vache en nitrate. Le Lait / Juillet-Aout 1975 / N" 547, 55, 390-395pp.
- ❖ **Robert,B., (1987).** Analyse des risques mutagenes et cancerogenes : nitrates, nitrites,Composes n-nitroses. Confrontationavec les risques radioactif. Rapport CEA-R-5403 ; 174p.
- ❖ **Ronald, B., Donigan, L., (2004).**The colorimetric determination of nitrate anion in aqueous and solid samples utilizing an aromatic derivative in acidic solvent. Toxicological & Environmental Chemistry.Vol. 86, No. 2, pp. 75–85.
- ❖ **Rougie, P., Noel, P. ,Goutefongea ,R. (1980).** Influence des conditions de stockage et de traitement des échantillons sur le « nitrite libre » dans les produits carnés. Ann. Nutr. Alirn., 34, 1009-1018
- ❖ **Santamaria, P., Elia, A., Gonnella, M., Parente, A., Serio, F., (2001)** Ways of reducing rocket salad nitrate content, Acta Hortic.548, 529–537pp.
- ❖ **Santamaria, P. (2006).** Nitrate in vegetables: Toxicity, content, intake and EC regulation (review). Journal of the Science of Food and Agriculture, 86, 10–17
- ❖ **Santamaria, P., Elia A., Serio F., 2001.** Ways of reducing rocketsalad nitrate content. Acta Horticulturae, 548, 529-537pp.
- ❖ **Santamaria, P., Elia, A., Parente, A., Serio, F., (1998a)** Nitrate and ammonium nutrition in chicory and rocket salad plants, J. Plant Nutr. 21(9), 1779–1789pp.
- ❖ **Santamaria, P., Elia, A., Parente, A., Serio, F., (1998b)** Fertilization strategies for lowering nitrate content in leafy vegetables: chicory and rocket, J. Plant Nutr. 21, 1791–1803pp.
- ❖ **Santamaria, P., Elia, A., Serio, F., Todaro, E., (1999)** A survey of nitrate and oxalate content in retail fresh vegetables, J. Sci. Food Agric. 79, 1882–1888pp.
- ❖ **Sante Canada, (2011).** Recommandations pour la qualite de l'eau au Canada. Document technique, NNitrosodimethylamine (NDMA). ISBN : 978-1-100-97924-3.
- ❖ **Schuddeboom, JL.J., (1993).** Nitrate et nitrite dans les denrées alimentaires. édition du conseil de l'Europe. 28,111pp.
- ❖ **Soberk ,R., Sciazko, D., Tyrakowska-bielek ,U. (1995).**les risques sanitairesdes nitrates et leur origines dans l'eau de boisson IAA,823-927.
- ❖ **Tamme, T., Reinik, M., Roasto, M., Juhkam, K., Tenno, T., etKiis, A., (2006).** Nitrates and nitrites in vegetables and vegetable-based products and their intakes by the Estonian population. Food Additives and Contaminants, 23(4), 355–361pp.

- ❖ **Thomas, Y.K., Chana, (2010).**Vegetable-borne nitrate and nitrite and the risk of methaemoglobinaemia.Toxicology Letters 200 (2011) 107–108.
- ❖ **Tricker, A.R. (1997).** N-Nitroso compounds and man: sources of exposure, endogenous formation and occurrence in body fluids. Eur. J. Cancer Prev., 6(3): 226-268.
- ❖ **Turek, B., Hlavsova, D., Tucek, J., Waldman, J. et Cerna, J. (1980),** The fate of nitrates and nitrites in the organism, IARC SciPubl, (31), 625-632.
- ❖ **U.C.B.L.** Polycopiés de Santé. Les risques toxicologiques. [En ligne] Disponible sur : <http://cri-cirs-wnts.univ-lyon1.fr/Polycopies/Nutrition2/Nutrition-18.html>
- ❖ **U.S. EPA., (2006).** Basic information about nitrate in drinking water. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. Disponible à : www.water.epa.gov/drink/contaminants/basicinformation/nitrate.cfm
- ❖ **Véronique DA-RIZ et Anne-Sophie Guillard (CTSCCV), (1999).** Nitrites et nitrates dans les produits alimentaires. Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique, avril-mai-juin 1999, n° 947, p. 179-189.
- ❖ **Voilliot, J. P., Mere, C., Degrimal, J. P. (1980).** Evolution des teneurs en nitrates dans les eaux d'alimentation du département de l'Yonne: nouveau bilan depuis 1975. Ann. Nutr. Alim., 34, 989-996 pp.
- ❖ **W.H.O., (1995),** Concern for Europe's Tomorrow, Health and the environment in the WHO European region. World Health Organization (WHO), Rapport WHO European Centre for Environment and Health, Stuttgart, 537 pp.
- ❖ **Walker, R., (1990).** Nitrates and N-nitroso compounds: A review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. Food Additives and Contaminants, 7, 717–768pp.
- ❖ **Yordanov, N. D., Novakova, E., Lubenova, S. (2001).** Consecutive estimation of nitrate and nitrite ions in vegetables and fruits by electron paramagnetic resonance spectrometry. AnalyticaChimica Acta, 437, 131–138 pp.

Glossaire

❖ Des termes médicaux

Méthémoglobinémie : accumulation pathologie de méthémoglobine dans les globules rouge notamment lors d'intoxication par le substance chimique.

Méthémoglobine : est une protéine, dérivée de l'hémoglobine. Et il est obtenu par l'oxydation de l'atome de fer ferreux (ion Fe^{2+}) de l'hémoglobine en fer ferrique (Fe^{3+}), ce qui la rend inapte au transport d'oxygène .

Les vitamines: sont des substances organiques nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme. Le corps humain ne peut généralement pas les produire seul, et leur apport alimentaire est donc indispensable. Elles participent notamment au bon déroulement de la croissance et au maintien de l'équilibre de l'organisme.

Pathologie : étude des maladies, de leurs cause et de leurs symptômes ; ensemble des manifestations d'une maladie et des effets morbides qu'elle entraîne.

Cancérogène :qui peut provoquer un cancer

Cancer : ensemble de cellules indifférenciées qui échappant au contrôle de l'organisme se multiplie indéfiniment, envahissent les tissus voisins en les détruisant et se rependent dans l'organisme en métastase, la maladie qui en résulte.

Hypertension : augmentation anormale de la pression à l'intérieure d'une cavité ou d'un vaisseau.

Troubles vasomoteurs : trouble circulatoire dus à un relâchement des vaisseaux (rougeur) ou à leur constriction (pâleur) en rapport avec des troubles fonctionnels du système nerveux végétative .

Vasomoteur : filet nerveux et qui se distribue sur la paroi musculaire des vaisseaux et qui détermine leur contraction ou leur relâchement.

Toxique : produit ou substance nocif pour l'organisme.

Toxicologique relatif toxicologie : science traitant des substances toxiques de leurs effets sur l'organisme et de leurs identifications.

Microorganismes : êtres vivant microscopique tel que les bactéries, les virus, les champignons unicellulaires (levures) et les protistes appelés autre fois microbes, les microorganismes jouent un rôle essentiel dans les écologique, mais certains espèces sont pathogènes.



des termes scientifiques

Fixation N₂ : correspond au passage de l'azote atmosphérique (N₂) en azote combiné sous l'action de certains organismes.

L'assimilation : c'est la transformation de matière azotée minérale ou organique inerte en matière vivante.

L'ammonification : c'est la libération d'ammoniac à partir de matières azotées organiques.

La nitrification : c'est l'oxydation de l'azote ammoniacal en nitrate par l'intermédiaire de bactéries nitrifiantes

La dénitrification : c'est la réduction des nitrates en azote gazeux par l'intermédiaire de bactéries dénitrifiantes

La phosphorylation oxydative : est une voie métabolique qui utilise l'énergie libérée par l'oxydation des nutriments pour la production d'adénosine triphosphate (ATP).

Comportement : manière d'être, d'agir ou de réagir des êtres humains, d'un groupe, des animaux, attitude.

La fertilisation est le processus consistant à apporter à un milieu de culture, tel que le sol, les éléments minéraux nécessaires au développement de la plante. Ces éléments peuvent être de deux types, les engrais et les amendements. La fertilisation est pratiquée soit en agriculture, en jardinage.

Le fumage, ajouté à la conservation par séchage, modifie les qualités organoleptiques de la viande : il change sa coloration et son arôme et durcit sa texture

Entreposage : est le fait d'entreposer (ou de stocker) des marchandises en grande quantité dans un entrepôt.

Salage : action de saler

Les polyphénols : sont des molécules organiques présentes dans de nombreux légumes et fruits qui ont la réputation d'avoir des effets bénéfiques sur la santé.

Les phénols sont des composés chimiques aromatiques portant une fonction hydroxyle -OH.

Les dérivés portant plusieurs fonctions hydroxyle sont appelés des polyphénols

La nitrosation est un processus (réaction organique) de conversion de composés organiques dits « **précurseurs** » en composés dits « *nitroso-* », c'est-à-dire dérivés de composés contenant la fonction chimique R-NO ;ex : nitrosamines.

Un précurseur « chimique » est un composé qui est impliqué dans une réaction chimique produisant un ou plusieurs autres composés.

Annexe

Annexe 1

Courbe d'étalonnage :

Concentration et absorbance des dilutions utilisées pour tracé la courbe d'étalonnage

Dilution	[NaNO ₃] mg/ml.	Absorbance à 590nm
Solution mère (SM)	0,150	0,057
Dilution 1 (D1)	0,075	0,113
Dilution 2 (D2)	0,045	0,175
Dilution 3 (D3)	0,030	0,337
Dilution 4 (D4)	0,015	0,690



Fig 1. : image de solution mère et les dilution de la courbe d'étalonnage

préparation de l'acide sulfurique (H₂SO₄) a 14.4M

l'acide sulfurique présent dans laboratoire est de 18.4 M concentré a 98% on a fais dilue a 14.4 M par l'eau distille selon la loi de dilution suivante :

$$C1*V1=C2*V2$$

$$18,4*V1=14,4 *V2$$

$$V1=(14.4*V2)/18.4$$

V1 volume de l'acide sulfurique a18.4 M qu'on doit l'ajouté

V2 c'est le volume de l'acide sulfurique a 14.4M voulue préparé

*Si on fais la préparation dans une burette ;Le volume de l'eau (Ve) qu'on doit l'ajoute a H₂SO₄ pou arrive à V2 voulue est calcule comme suite :

$$V_e = V_2 - V_1$$

Pour Préparé 500ml de H₂ SO₄ a 14.4M , dan une fiole jauge a 500 ml on ajoute avec **prudence** lentement de l'eau distille a 391.30 ml de H₂ SO₄ a 18.4 M sur les paroi de la fiole en agitant constamment jusqu'a on arrive au trait de fiole ,le réactif dégage une chaleur importante , on le laisse refroidir et on le stocke dans une bouteille fumé en verre avec bouchon a vis en plastique et non en métal dont l'étiquète porte H₂SO₄ a 14.4 M « corrosif »

Réactifs introduits dans le protocole expérimental

- **Diphénylamine** : La diphénylamine est une amine de formule brute C₁₂H₁₁N. Elle est utilisée pour la fabrication de colorants, En chimie analytique, on l'utilise pour la détection des nitrates, des chlorates et autres substances oxydantes avec lesquels elle donne une couleur bleu profond en présence d'acide sulfurique.

- **Acide sulfurique** : appelé jadis **huile de vitriol** ou **vitriol**, est un composé chimique de formule H₂SO₄. C'est un acide minéral dont la force ($pK_a = -3,0$) est seulement dépassée par quelques super acides. Il est miscible à l'eau en toutes proportions.

- **Acide acétique** (CH₃-COOH) à 5% : nécessaire pour l'étape d'évaporation introduite dans le but de minimiser les impuretés par la précipitation des protéines

- **Solution de Na Cl saturé** : aide à l'homogénéisation du déférent composant de filtrat

Annexe 2

Tableau n°1 : Teneur en nitrates et nitrites exprimé en mg/kg de quelques légumes illustré dans des études récentes (*Manuella, C. et al, 2010*)

legumes	Pays	Teneur moyen en NO ₃ (mg/kg)	Auteur et Année
Le chou	Grèce	209	Fytianos and Zarogiannis (1999)
	Chine	1530	Zhong et al (2002)
	Korea	730	Chung et al. (2003)
	Estonia	437	Tamme et al. (2006)
	France	498	Menard et al (2008)
Laittue	Grèce	282	Fytianos and Zarogiannis (1999)
	Brazil	1420	Ximenes et al. (2000)
	Chine	896	Zhou et al. (2000)
	Korea	1933	Chung et al. (2003)
	Italie	1473	De Martin and Restani (2003)
	Estonia	2167	Tamme et al. (2006)
	Slovenia	1074	Sušin et al. (2006)
	Sued	2684	Merino, Darnerud, Edberg, Åman, and Castillo(2006)
Epinard	Greece	1250	Fytianos and Zarogiannis (1999)
	Brazil	528	Ximenes et al (2000)
	Chine	2358	Zhou et al (2000)
	Turkie	2820	Oztekin et al (2000)
	Korea	3334	Chung et al (2003)
	Italie	1757	De Martin and Restani (2003)

	France	1682	Menard et al (2008)
Navet	Brazil	2098	Ximenes et al (2000)
	Chine	2127	Zhou et al (2000)
	Estonia	307	Tamme et al. (2006)
	France	657	Menard et al (2008)

Tableau n°3 : Teneur moyenne en nitrates et nitrites de quelques produits carnés

Aliments	Nitrates NO ₃ ⁻ (mg/kg)	Nitrites NO ₂ ⁻ (mg/kg)
Saucisse de Francfort	420	41
Jambon de Paris	260	30
Rillettes	140	35
Camembert	26	2,5

Tableau 4: Résumé des normes et recommandations de nitrate et de nitrite dans l'eau

Agent chimique	Norme Québécoise	Recommandation Canadienne	Norme Américaine	Critère de l'OMS
Nitrates		10 mg-N/L	10 mg-N/L	11,3 mg-N/L
Nitrites	1 mg-N/L	1 mg-N/L	1 mg-N/L	0,9 mg-N/L
Nitrate + Nitrite	10 mg-N/L		10 mg-N/L	

