

LE DEVENIR DU NITRITE DANS LES PRODUITS CARNES SAUMURES.

ROUJIE P., GOUTEFONGEA R.
 Station de Recherches sur la Viande
 I.N.R.A. THEIX - 63110 BEAUMONT - FRANCE

L'emploi du nitrite en salaison et charcuterie pose un problème d'ordre hygiénique:

- le nitrite présente un potentiel de réaction avec les amines et les amides pour donner des composés N-Nitrosés à fort pouvoir cancérigène ;
- le nitrite résiduel présent dans les produits saumurés constitue une part non négligeable du Nitrite consommé par l'être humain.

Son pouvoir bactériostatique, son action sur la couleur et la flaveur des produits, rendent difficile d'envisager son remplacement total. Dans de telles conditions, il est nécessaire de bien connaître le devenir du nitrite lors de la fabrication de produits carnés saumurés.

Quelques années après son autorisation d'emploi, GREENWOOD (1940) montra que le pH de la viande ou la température de cuisson influençaient la quantité de nitrite retrouvé dans les produits. Ensuite différents chercheurs (NORDIN 1969, OLSMAN et KROL 1972) confirmèrent ces premiers résultats. MIRNA en 1973 proposa d'aborder ce problème en définissant deux formes de nitrite dans les produits saumurés. Cette définition fut d'ordre méthodologique ; le "nitrite libre" étant celui qui réagit avec le réactif de GRIESS, le "nitrite lié" étant celui que l'on peut doser en surplus après clivage des Nitroso-composés par les métaux lourds. Par la suite l'utilisation de nitrite marqué ($\text{Na}^{15}\text{NO}_2$) lors du saumurage, et le dosage de celui-ci par spectrométrie de masse permirent de faire progresser la connaissance du devenir du nitrite et en particulier par une meilleure évaluation de la fraction "nitrite lié". (SEBRANEK et al. 1973, FUJIMAKI et al. 1975, WOOLFORD et CASSENS. 1977, RENERRE et ROUGIE. 1979)

L'étude que nous avons menée a eu pour but d'évaluer les fractions "nitrite libre" et "nitrite lié" aux différents composants du muscle, au cours de la fabrication ainsi que dans le produit fini.

ADRESSE ACTUELLE : Laboratoire des Aliments d'Origine Animale - I.N.R.A. - 44072 NANTES CEDEX

MATERIELS ET METHODES

- Dosage du nitrite par la méthode de GRIESS modifiée

10 g de viande broyée, ajouter 5 ml de tampon Borax (5 % P/V) et 100 ml d'eau environ. Chauffer au Bain-Marie pendant une demi-heure. Ajouter 2 ml de Ferrocyanure de Potassium (15 % P/V), puis 2 ml d'acétate de zinc (30 % P/V). Compléter à 200 ml. Filtrer puis doser par la méthode de GRIESS modifiée par SHINN (1941) et reprise par SCHOLAS - FIDDLER (1977) : Sulfanilamide et Naphtyl-Ethylène Diamine.

- Dosage de l'azote par la méthode OLSEN (1929) modifiée par BREMMER et SHAW (1958)

Placer 1 g d'homogénat de viande dans 10 ml d'eau. Ajouter 10 ml de Permanganate de Potassium (5 % P/V) et 20 ml d'acide sulfurique (18 N). Attendre 5 minutes, puis ajouter 5 g de Fer Ferreux en poudre. Chauffer pendant une heure au Bain-Marie (100° C). Ajouter le catalyseur (Sélénite de Sodium), puis minéraliser.

- Dosage du ^{15}N

Le nitrite de sodium marqué ($\text{Na}^{15}\text{NO}_2$, Prochem enrichissement isotopique 97,3 %) est transformé en sulfate d'ammonium par combinaison des méthodes d'OLSEN modifiée et de KJELDAHL. La solution de sulfate d'ammonium est alcalinisée puis l'ammoniaque est distillée dans de l'acide sulfurique (0,1 N).

Le dosage par spectrométrie de masse se fait après conversion du $\text{SO}_4^{15}\text{NH}_3$ en $^{15}\text{N}_2$ par l'hypobromite de sodium.

- Préparation des échantillons de viande nitrosée

Carage de Long. Dorsi de Porc.
 Broyage du muscle, puis ajout (20 % P/P) d'une solution de $\text{Na}^{15}\text{NO}_2$ à différentes concentrations en fonction des teneurs finales désirées.
 Nitrosation pendant 72 heures à + 4° C.
 Cuisson en vapeur saturante (68° C à coeur).

- Préparation des différentes fractions protéiques (méthode d'HELANDER, 1957)

Azote non protéique + protéines sarcoplasmiques = tampon phosphate 0,03 M, pH 7,2.
 Protéines myofibrillaires = KI 1,1 M dans tampon phosphate 0,1 M, pH 7,2.

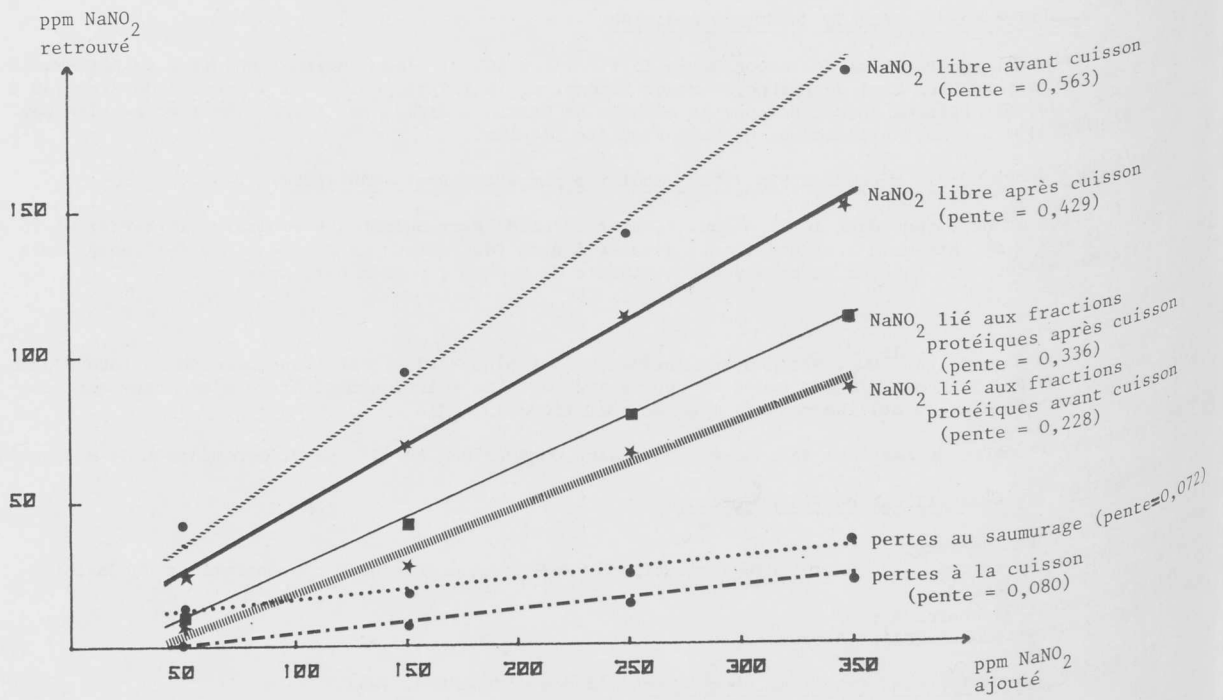
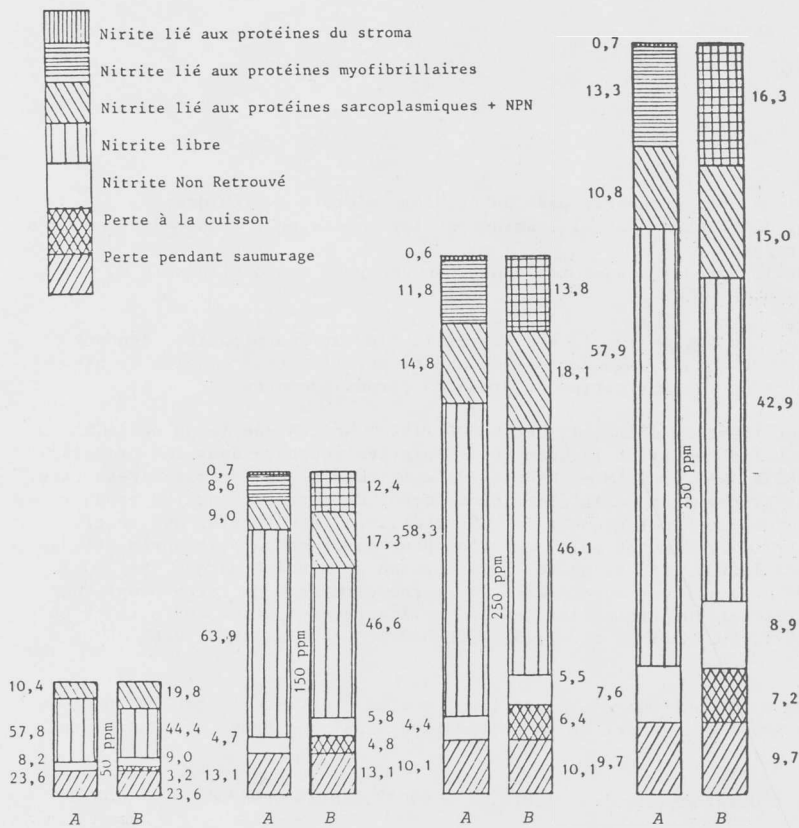


Fig. 2 : Nitrite libre, Nitrite lié et pertes au cours de la fabrication en fonction de différents teneurs en nitrite de sodium lors du saumurage.

Pour faciliter la présentation et la comparaison des résultats, nous avons choisis de les exprimer en % de la dose initiale, soit en ppm de nitrite par rapport à la viande par analogie avec les doses de nitrosation.

- Extraction des fractions protéiques

Les fractions protéiques extraites par la méthode de Helander sur viande crue et cuite sont très différentes.

Afin de permettre une comparaison entre ces deux types de produits nous avons dans nos résultats tenu compte des différences de solubilité (ROUGIE 1976) et ramené toutes les valeurs à l'équivalent des fractions obtenues lors des extractions sur les produits crus (Fig.1). Cependant du fait de leur faible quantité par rapport aux protéines myofibrillaires, les protéines du stroma n'ont pas pu être individualisées de la fraction myofibrillaire dans les échantillons cuits.

- Effet du pH

Connaissant les effets du pH sur la fixation du nitrite sur les protéines (OLSMAN et LEEUWEN 1977) et en particulier dans la zone où nous travaillons (pH=5,0 à pH=6,0) (WOOLFORD et al.1976), nous avons choisi pour nos expériences des viandes de pH très proches ($\bar{p}H=5,65$, $\sigma_n=0,015$).

- Nitrite non retrouvé (Fig.1)

La valeur obtenue correspond à la différence entre la somme du nitrite retrouvé et des pertes mesurées, et la valeur initiale de nitrosation. Le calcul de cette somme faisant intervenir cinq valeurs obtenues par spectrométrie de masse, et connaissant la précision de ce type de dosage (0,01 % excès isotopique $^{15}N/^{14}N$), la quantité de nitrite non retrouvé ainsi calculée ne peut être considérée que comme indicative.

- Pertes au saumurage - Pertes à la cuisson (Fig.2)

Ces deux fractions sont peu dépendantes de la dose de nitrite ajouté (Pente $\leq 0,080$). Par contre si les pertes à la cuisson augmentent avec la dose (3,2 à 7,2 % et 1,5 à 25,2 ppm) les pertes au saumurage diminuent en valeur relative (23,6 à 9,7 %), tout en augmentant bien évidemment en valeur absolue (11,8 à 33,9 ppm).

.../...

Quantité NaNO ₂ ajouté		50 ppm		150 ppm		250 ppm		350 ppm	
		ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%
Après saumurage pendant 72 H	Protéines sarcoplasmiques + Azote Non Protéique (NPN)	5,2	10,4	13,5	9,0	37,1	14,8	37,9	10,8
	Prot. Myofibrillaires	/	/	12,9	8,6	29,6	11,8	46,5	13,3
	Prot. du stroma	/	/	1	0,7	1,6	0,6	2,5	0,7
Après cuisson 68°C à coeur	Prot. Sarco. + NPN	9,9	18,8	25,9	17,3	45,2	18,1	52,6	15,0
	Prot. Myo. + stroma	/	/	18,6	12,4	34,6	13,8	56,9	16,3

Tableau 1 : Quantité de Nitrite de sodium fixé aux différentes fractions protéiques du muscle, avant et après cuisson en fonction des différentes doses de Nitrite utilisé.

/ : Inférieur à 1 ppm et au seuil de sensibilité de la méthode

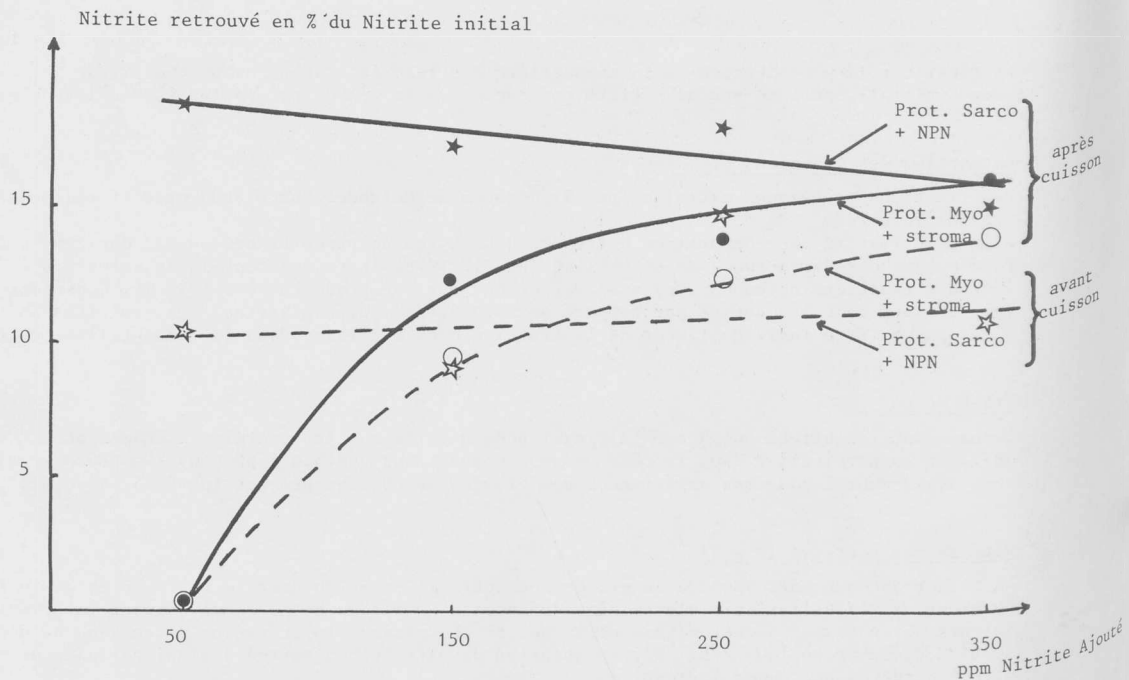


Fig 3 : Nitrite retrouvé (en % du Nitrite initial) dans les fractions "Protéines sarcoplasmiques + NPN", "Protéines myofibrillaires + Protéines du stroma" avant ou après cuisson en fonction des différentes doses de Nitrite ajouté.

- Nitrite libre - Nitrite lié

Ces deux valeurs sont directement reliées. En effet lors de la cuisson une plus grande quantité de nitrite se trouve fixé aux protéines, ce qui, ajouté aux pertes à la cuisson, diminue d'autant la fraction libre. A ce pH (5,65) la fraction "Nitrite libre" représente avant cuisson plus de la moitié du nitrite initial (57,8 à 63,9 %) et encore la part essentielle après cuisson (42,9 à 46,6 %). Cette fraction est celle qui est la plus dépendante de la dose (pente > 0,429). La fraction "Nitrite lié", considérée globalement (Fig.2) est reliée linéairement à la quantité de nitrite ajouté aussi bien avant cuisson (pente = 0,228) qu'après (pente = 0,336). Si on considère séparément les protéines sarcoplasmiques et myofibrillaires on observe une évolution différente de la fraction "nitrite lié" en fonction de la quantité de nitrite initialement ajouté. Tableau 3.

Dans le cas de la viande crue, les protéines sarcoplasmiques semblent fixer un pourcentage constant (10 %) de la dose ajoutée. Par contre, le pourcentage fixé aux protéines myofibrillaires augmente d'une façon non linéaire (Fig. 3) avec la dose ajoutée en tendant vers une limite. Dans la viande cuite, on observe un comportement similaire du nitrite vis à vis des protéines myofibrillaires, alors que le pourcentage de nitrite lié aux protéines sarcoplasmiques a tendance à diminuer linéairement avec la quantité initialement ajoutée.

DISCUSSION - CONCLUSION

La diminution de la quantité de nitrite libre dosé observée après cuisson correspond d'une part à une certaine perte au cours du traitement thermique et d'autre part à un accroissement de la quantité fixée par les différentes fractions protéiques du muscle. L'amplitude de ce phénomène croît logiquement avec la quantité de nitrite ajouté initialement.

En ce qui concerne les protéines sarcoplasmiques, l'augmentation de la fraction fixée au cours du traitement thermique s'explique au moins partiellement par la fixation d'un second NO sur l'hème.

L'interprétation du phénomène similaire constaté avec les protéines myofibrillaires nécessite des études complémentaires visant à infirmer ou confirmer l'hypothèse d'une simple rétention physique

du nitrite lors de la précipitation des protéines à la chaleur. L'allure des courbes représentant l'évolution de la part relative du nitrite fixé aux protéines myofibrillaires en fonction de la dose initiale incite à penser qu'il pourrait exister une compétitivité entre les deux fractions musculaires étudiées, qui apparaît nettement pour la dose minimale ajoutée, alors qu'à des doses supérieures, ce phénomène serait masqué. Des résultats supplémentaires, portant en particulier sur l'étude de la fixation du nitrite sur des fractions musculaires préalablement purifiées, permettraient de préciser le comportement spécifique de chacune de ces fractions.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BREMNER, J.M., SHAW, K. 1958. *J. Agr. Sci.*, 51:22.
- FUJIMAKI, M., EMI-MIWA, M., OKITANI, A. 1975. *Agr. Biol. chem.*, 39:371.
- GOUTEFONGEA, R., CASSENS, R.G., WOOLFORD, G. 1977. *J. Food. Sci.*, 42:1637.
- GREENWOOD, D.A. 1940. A.M.I. Proceedings, p.41, Am. Meat. Inst., WASHINGTON D.C.
- HELANDER, E. 1957. *Acta Physiol. Scand.* 41 supp.141.
- MIRNA, A. 1973. P.of.I. Symp. on Nitrite in Meat Products, Zeist, The Netherlands, p.21.
- NICHOLAS-FIDDLER, R. 1977. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 60, 3:594.
- NORDIN, H.R. 1969. *Can. Inst. Food Tech. J.*, 2:79.
- OLSEN, C. 1929, *Comptes-rendus du Laboratoire Calsberg*, 17, 3:1.
- OLSMAN, W.J., KROL, B. 1972. 18th European Meet., Meat. Rech. Workers, GUELPH, CANADA.
- OLSMAN, W.J., Van LEEUVEN, C.M. 1977. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 164:239.
- RENERRE, M., ROUGIE, P. 1979. *Annales Technologies Agricoles*, 28, 4:423.
- SEBRANEK, J.G., CASSENS, R.G., HOEKSTRA, W.G., WINDER, W.C. 1973. *J. Food. Sci.*, 38:1220.
- SHINN, M.B. 1971. *Ind. Engng Chem. Analyst. Edn*, 13:33.
- WOOLFORD, G., CASSENS, R.G., GREASER, M.L., SEBRANEK, G. 1976. *J. Food Sci.*, 41:585.
- WOOLFORD, G., CASSENS, R.G. 1977. *J. Food Sci.* 42, 3:586.