



HAL
open science

Teneurs en nitrates-nitrites des lactosérums de fromagerie : aspect méthodologique et causes de variation

M. F. Guingamp, A. Schwartz, G. Linden

► To cite this version:

M. F. Guingamp, A. Schwartz, G. Linden. Teneurs en nitrates-nitrites des lactosérums de fromagerie : aspect méthodologique et causes de variation. *Le Lait*, 1978, 58 (577), pp.371-380. hal-00928799

HAL Id: hal-00928799

<https://hal.science/hal-00928799>

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Teneurs en nitrates-nitrites des lactosérums de fromagerie : aspect méthodologique et causes de variation

par

M. F. GUINGAMP *, A. SCHWARTZ ** et G. LINDEN *

INTRODUCTION

Depuis plusieurs années, les teneurs croissantes en nitrates-nitrites des aliments et des boissons posent un problème important, en raison de leurs effets toxiques : perturbations métaboliques (Lowry et Manchon, 1976), diminution de l'efficacité vitaminique de la ration alimentaire (Lhuissier *et al.*; 1976), effets cancérigènes des composés N. nitrosés (Montesano, 1976), effets mutagènes des nitrates et des nitrites (Dorange, 1976).

Les teneurs des nitrates-nitrites dans les aliments et boissons sont très variables (Walker, 1975). Très élevées dans les légumes (souvent plusieurs centaines de ppm), elles varient de quelques ppm à plusieurs dizaines de ppm dans les eaux. D'après l'enquête réalisée entre 1973 et 1975 par Mahieu *et al.* (1976-1977), le lait contient peu de nitrates-nitrites. Ceci s'explique par le fait que les quantités ingérées par les vaches n'ont guère d'influence sur les taux dans le lait qui dépassent rarement 15 ppm (Rémond, 1975).

Notons également que quelles que soient les teneurs en nitrates des aliments, les taux de nitrites sont toujours très faibles, sauf dans le cas de mauvaises conditions de stockage qui peuvent conduire à une réduction des nitrates en nitrites par pollution microbienne (Walker, 1975).

Bien que le problème des teneurs en nitrates des lactosérums de fromagerie soit depuis quelque temps d'actualité, nous n'avons

* I.U.T., Biologie Appliquée et Laboratoire de Biochimie Appliquée, Université de Nancy 1.

** Sica Franche-Comté Serum, 70170 Port-sur-Saône.

pas trouvé, lorsque ce problème s'est posé à nous, de données bibliographiques.

Dans ce travail, nous dressons une rapide étude comparative des résultats obtenus avec les deux méthodes de dosage qui sont actuellement le plus souvent employées. Nous examinerons ensuite les teneurs moyennes des lactosérums liquides et en poudre et essayerons de voir les facteurs de variation de ces concentrations.

ECHANTILLONS ET MÉTHODES

1. Les échantillonnages

1) SÉRUM LIQUIDE

Tous les échantillons proviennent de fromageries situées à une vingtaine de kilomètres de l'usine de séchage ; leur teneur en matière sèche est voisine de 6 p. 100.

Les échantillons ont été prélevés en continu au cours du dépotage des camions citernes, grâce à un système monté sur la conduite de dépotage et accouplé à la pompe. Ceci permet d'obtenir un échantillon moyen représentatif d'une citerne complète. Après homogénéisation à la louche, on prélève 250 ml de lactosérum.

2) LACTOSÉRUM EN POUVRE

Un lot de poudre provient d'une seule cuve de lactosérum concentré à 50 p. 100 et pèse environ 30 000 kg. Un échantillon de 150 g est prélevé tous les 900 kg de poudre. Une même fraction de chaque échantillon est placée dans un récipient pour homogénéisation. On prélève 300 g de lactosérum qui représentent un échantillon moyen du lot fabriqué.

2. Choix d'une méthode de dosage

1) DIFFÉRENTS TYPES DE MÉTHODES

Les nombreuses méthodes de dosage des nitrates-nitrites peuvent se classer en deux groupes :

— Méthodes spectrophotométriques (Usher et Telling, 1975) basées sur :

- 1) la nitration des composés phénoliques ;
- 2) l'oxydation d'un composé organique par NO_3 ;
- 3) la réduction des nitrates en nitrites.

— Méthodes électro-chimiques :

- 1) électrode spécifique (Morie *et al.*, 1972) ;
- 2) polarographie (Huynh *et al.*, 1969) ;
- 3) chromatographie en phase gazeuse (Wu et Saschenbrecker, 1977).

Les méthodes électrochimiques sont séduisantes par leur principe, mais leur utilisation dans les milieux complexes comme les produits laitiers entraîne des difficultés dont bon nombre reste encore à résoudre.

Actuellement, les méthodes les plus utilisées sont au nombre de deux. L'une est basée sur la réduction des nitrates en nitrites par du cadmium pulvérulent ; la détermination des nitrites se faisant par réaction colorée avec de l'acide sulfanilique (ou de la sulfanylamide) et du N-1-Naphtyléthylène diamine (N.E.D.) (A.O.A.C., 1970 a). L'autre méthode met en jeu la nitration du xylénol (A.O.A.C., 1970 b).

2) PRINCIPE DES MÉTHODES UTILISÉES

a) *Méthode au xylénol*

Le lait ou le lactosérum est débarrassé de ses matières grasses et protéines par la solution de Carrez (sulfate de zinc + ferrocyanure de potassium). Le filtrat est évaporé sous vide (ou au four). Le résidu obtenu réagit avec du xylénol (diméthyl 2,4 phénol) et de l'acide sulfurique. Le nitroxylénol formé est récupéré par entraînement à la vapeur et recueilli en solution alcaline. La coloration jaune qui en résulte est mesurée par spectrophotométrie à 450 nm.

b) *Méthode au cadmium*

Le lactosérum est mis en présence de solution extractive ($\text{BaCl}_2 + \text{CdCl}_2$) puis additionné de tampon pH 9,6 pour précipiter les protéines. Une partie du filtrat obtenu est passée sur colonne de cadmium pulvérulent, afin de réduire les nitrates en nitrites. La réaction colorée est obtenue par addition de sulfanylamide et de N.E.D. à l'éluat. On a ainsi la teneur en nitrates + nitrites de l'échantillon. L'autre partie du filtrat est additionnée des mêmes réactifs colorés et permet de connaître la teneur en nitrites.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Etude comparative des deux méthodes

Nous avons effectué des tests de répétabilité sur deux échantillons de lactosérum en poudre. La méthode au xylénol a été pratiquée par le laboratoire d'analyses de Sica-Sérum. La méthode au cadmium a été employée par le laboratoire de chimie de l'IUT - Biologie Appliquée. La précision de la méthode au cadmium est meilleure si l'on pratique un rinçage de la colonne après chaque passage d'échantillon (tableau I). Ces résultats confirment que le point le plus délicat de cette méthode est la réduction des nitrates en nitrites. Nous avons constaté que la perte du pouvoir réducteur de la colonne est liée au type d'échantillon et l'efficacité de la colonne doit être vérifiée à la fin de chaque série de dosages.

TABLEAU 1. — Tests de répétabilité des méthodes au cadmium et au xylénol

		Nombre de dosages	Moyenne mg/kg E.S.	Ecart-type	Coefficient de variation (p. 100)
Echantillon A					
Méthode au cadmium	a première série	20	67,3	3,75	5,6
	b deuxième série	20	67,7	1,48	2,18
Echantillon B					
Méthode au xylénol	c première série	10	54,0	5,67	10,5
	d deuxième série	10	45,9	2,21	4,8

- a) La colonne de cadmium n'a pas été rincée entre chaque échantillon.
 b) La colonne a été soumise à un rinçage avec 30 ml d'eau entre chaque échantillon.
 c) Le xylénol a été fourni par Merck (réf. 803 770).
 d) Xylénol commercialisé par Ferak (Berlin).

La répétabilité des mesures avec la méthode au xylénol varie avec le lot de réactif employé. La moyenne des résultats obtenus lors de la seconde série de dosages et leur écart type sont, en effet, plus faibles.

La méthode au cadmium demande donc une surveillance constante de l'efficacité de la colonne et un rinçage entre chaque échantillon. Ces conditions étant remplies, les tests de répétabilité montrent que les résultats sont meilleurs que ceux obtenus avec la méthode au xylénol. En outre, la méthode au cadmium par sa simplicité, se prête mieux aux dosages en série.

Nous avons dosé avec les deux méthodes les teneurs en nitrates dans plus de 100 échantillons de lactosérums en poudre. Nous avons consigné les résultats sur la figure 1. La pente de la droite de corrélation n'est pas égale à 1 et on constate que la méthode au xylénol donne des résultats plus faibles que la méthode au cadmium.

Cserhati (1970) et Laskowski et Bierka (1974) ont fait la même observation sur le lait. Ces auteurs pensent que la plus grande erreur de la méthode au xylénol vient de la distillation. La récupération des nitrates serait incomplète.

Les méthodes existantes mettent en jeu différentes techniques d'extraction et de purification des échantillons et les résultats obtenus sont rarement comparables. En effet, le problème dans le

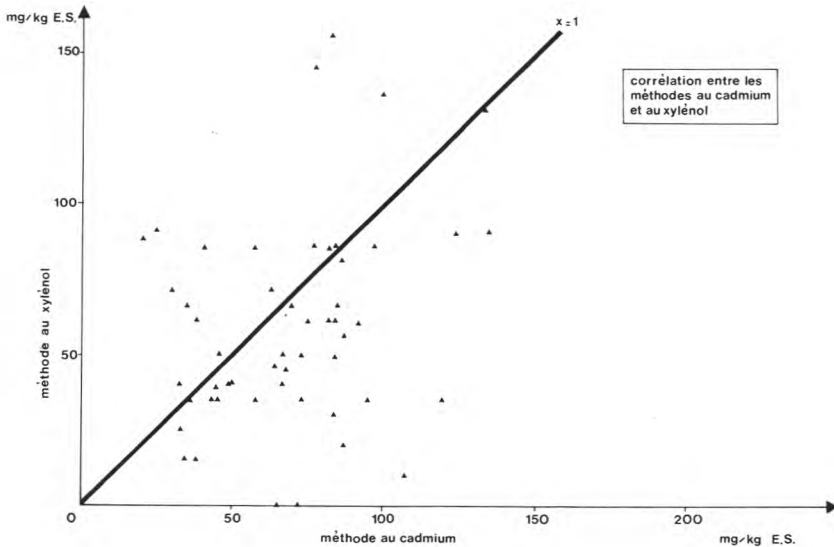


fig. 1

Corrélation entre la méthode au cadmium et la méthode au xylénol.

dosage des nitrates-nitrites est de savoir sous quelle forme se trouvent ces composés et quels sont ceux qui sont extraits. Il y a certainement des équilibres de liaison complexes auxquels participent de nombreux produits. Frouin *et al.* (1976 b) pensent que l'apport de réactifs analytiques perturbe cet équilibre, en particulier le passage en milieu réducteur (par exemple, le cadmium) libérerait une partie importante de NO que l'on doserait à tort, comme nitrates. Le fait que la méthode au Cd donne des résultats plus forts pourrait aussi s'expliquer par déplacement de l'équilibre nitrites-nitrates-NO lors de l'ajout des différents réactifs et du passage sur colonne de cadmium, ceci dans la mesure où l'on transpose les hypothèses faites sur les viandes et charcuteries aux lactosérums.

2. Teneurs en nitrates-nitrites de poudres de lactosérums

Des analyses de nitrates-nitrites ont été faites sur des lactosérums en poudre pendant les mois de novembre-décembre 1976 puis en novembre-décembre 1977. Ces analyses ont été faites sur des lactosérums de même provenance et par la méthode au cadmium. Les résultats montrent que les teneurs en nitrates ont augmenté depuis 1976 (tableau II).

Il est à signaler qu'une seule poudre parmi les 130 échantillons analysés contenait des nitrites.

L'augmentation de la concentration moyenne en nitrates des lactosérums est donc très nette et mérite d'être approfondie.

3. Variation des teneurs en nitrates-nitrites des lactosérums lors de la concentration et du séchage

En analysant des lactosérums liquides et des lactosérums séchés correspondants, obtenus après concentration et atomisation « spray », il nous est apparu que les concentrations en nitrates des poudres exprimées en mg/kg d'extrait sec étaient beaucoup plus fortes que celles des sérums liquides (tableau III). Les teneurs sont multipliées par un facteur pouvant aller jusqu'à 6.

Tout naturellement, nous avons essayé de mieux situer l'origine de cette augmentation. Nous avons étudié les taux de nitrates de plusieurs lactosérums, à leurs différents stades : liquide (E.S. voisin de 6 p. 100), concentré (E.S. voisin de 50 p. 100) et poudre.

Nous avons constaté une augmentation des teneurs en nitrates au cours de la concentration (sous vide à 70° C). Le facteur de concentration dépend du type de lactosérum étudié. Dans le cas de sérums doux (pH 6,2), le facteur de concentration est d'environ 1,3. Pour les autres il se situe autour de 1,6.

Nous n'avons décelé aucune augmentation lors de l'atomisation mais plutôt une très légère diminution de la teneur en nitrates. En

TABLEAU 2

Evolution des teneurs en nitrates-nitrites des poudres de lactosérums au cours des années 1976-1977*

Teneurs en mg/kg E.S.	25	50	75	100	125	150	175	200	225
Novembre-décembre 1976	7,1	33,3	26	28,6	0	4,7	0	0	0
Novembre-décembre 1977	1,1	24,4	25,5	27,7	14,4	3,3	0	1,1	2,2

* Le nombre d'échantillons analysés chaque année est de 130. Le nombre d'échantillons de chaque catégorie est exprimé en pourcentage.

laboratoire, nous avons essayé de voir l'influence de la température de concentration sur cette augmentation du taux de nitrates des lactosérums concentrés.

Nous avons travaillé sur un lactosérum dont le pH était de 6,25 et l'extrait sec de 6 p.100. Nous avons concentré des volumes de sérum de 300 ml jusqu'à obtention d'un concentré à 30 p.100 d'extrait sec, en utilisant un évaporateur rotatif sous vide Rotovapor R. (Büchi). Les températures du bain-marie étaient respectivement de 60, 65, 70, 75, 80, 85° C. Les résultats obtenus figurent dans le tableau IV.

TABLEAU 3

Teneurs en nitrates des lactosérums liquides et des lactosérums séchés correspondants

Teneur en mg/kg E.S.	25	50	75	100	125	150
Sérums liquides	93	7	0	0	0	0
Sérums en poudre	7	33	25,5	29,5	0	5

Les nombres d'échantillons sont exprimés en p.100.

TABLEAU 4

Facteurs de concentration des nitrates dans les lactosérums concentrés en fonction de la température

$\frac{\text{taux de nitrates du concentré mg/kg E.S.}}{\text{taux de nitrates du lactosérum mg/kg E.S.}}$

Température °C	60	65	70	75	80	85
Facteurs de concentration	1	1	1,35	1,47	1,77	1

Ces résultats confirment qu'il y a une augmentation des taux de nitrates lors de la concentration industrielle du lactosérum sous vide à 70° C et montrent aussi que le facteur de concentration est lié à la température.

Pour l'heure, nous ne pouvons fournir une interprétation satisfaisante à la formation des nitrates. Un examen systématique et complet des paramètres comme, par exemple, le pH et la composition du milieu, la concentration initiale en NO-NO₂-NO₃, nous renseignerait sur les équilibres en jeu dans cette néo-formation. Ce phénomène a déjà été observé lors d'études de distillation de jambons et saucissons (Frouin *et al.*, 1976 a) et mérite d'être approfondi dans le cas des produits laitiers.

Remerciements

Nous remercions M. C. ALAIS, Directeur de notre Groupe de Recherche pour ses conseils, et Mmes C. MATHIS et Y. MULLER pour leur collaboration technique.

Résumé

La méthode au cadmium semble mieux adaptée que la méthode au xylénol pour le dosage des nitrites-nitrates dans les lactosérums de fromagerie tant pour des critères statistiques que fonctionnels.

Au cours de l'année 1977, nous avons constaté, par rapport à l'année 1976 une augmentation très nette de la concentration en nitrates des poudres de lactosérums de même provenance.

Les concentrations en nitrates des poudres de lactosérums sont plus fortes que celles des sérums liquides correspondants. L'enrichissement en nitrates des poudres de lactosérums se produit lors de la concentration. Cet accroissement est lié à la température et présente un maximum vers 75-80° C.

Summary

For the nitrite-nitrate determination in whey, the cadmium method would appear to be better than the xylenol one, both for statistic and functional reasons.

During 1977, and compared with 1976, we have found a very clear increase of nitrate concentration in whey powders from same origin.

Nitrate concentrations are higher in whey powders than in corresponding liquid whey. The nitrate increase in whey powder

takes place during vacuum concentration steep. This increasing depends on temperature and shows a maximum about 75-80° C.

Reçu pour publication en mai 1978.

Bibliographie

- CSEHATI (1973). — A method of nitrate determination using m-xyleneol. In *Dairy Sci. Abstr.*, 35, n° 1499.
- DORANGE (J. L.) (1976). — Effets mutagènes des nitrates et des nitrites. *Ann. Nutr. Alim.*, 30, 859-866.
- FROUIN (A.), THENOT (M.), JONDEAU (D.), BARRAUD (C.), GRIMAULT (M. L.), DURAND (P.), VENDEUVRE (J. L.) (1976 a). — Etude sur l'état du nitrite dans les produits de viandes. *Ann. Nutr. Alim.*, 30, 773-788.
- FROUIN (A.), THENOT (M.), JONDEAU (D.), PATTE (K.), BARRAUD (C.), GRIMAULT (M. L.), DURAND (P.), VENDEUVRE (J. L.) (1976 b). — Nitrates et nitrites. Révision nécessaire de nos conceptions et méthodes d'analyses. *Ann. Fals. Exp. Chim.*, 69, n° 743-744, 629-635.
- HUYNH (C. H.), JACQUEY (J.), SILBERZAHN (P.) (1969). — Dosage des nitrates et des nitrites par une méthode polarographique en courant alterné superposé. *Ind. Alim. et Agr.*, 11, 1439-1443.
- LASKOWSKI (K.), BIERSKA (T.) (1974). — Dosage de la teneur en nitrites dans le lait. 19^e International Dairy Congress. New Dehli, 1 F, B 7, p. 515.
- 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.
- LOWRY (R.), MANCHON (Ph.) (1976). — Effets toxiques divers des nitrates et des nitrites. *Ann. Nutr. Alim.*, 30, 839-845.
- MAHIEU (H.), LUQUET (F. M.), MOUILLET (L.) (1976-1977). — A propos de la teneur des laits individuels et de mélange en matière minérale et urée. *Le Lait*, 56, 657-698, 57, 55-112 et 184-214.
- MONTESANO (R.) (1976). — Cancérogénéité des composés N. nitrosés. *Ann. Nutr. Alim.*, 30, 867-871.
- MORIE (G.), LEDFORD (C.), GLOVER (C.) (1972). — Dosage du nitrate et du nitrite en mélange à l'aide d'une électrode spécifique des ions nitrates. *Analytica Chimica Acta*, 60, 397-403.
- OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS (1970 a). — 11^e Ed., A.O.A.C. Whashington, DC, voir 24 011, 24 012, 24 013.
- OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS (1970 b). — 11^e Ed., A.O.A.C. Whashington, DC, voir 7 033, 7 034, 7 035, 7 036, 7 037, 7 038.
- RÉMOND (B.) (1975). — La teneur du lait de vache en nitrate. *Le Lait*, 55 (547), 390-395.
- USHER (C. D.), TELLING (G. M.) (1975). — Analysis of nitrates and nitrite in Food-stuffs. A critical review. *J. Sci. Fd. Agric.*, 2, 1793-1805.
- WALKER (R.) (1975). — Naturally occuring nitrate-nitrite in foods. *J. Sci. Fd. Agric.*, 26, 1735-1742.
- WU (S.), SASCHENBRECKER (P. W.) (1977). — Nitration of benzene as method for determining nitrites and nitrates in meat and meat products. *J.A.O.A.C.*, 60, 1137-1141.