



# Nitrates et nitrites

## Polluants qui menacent la santé et l'environnement

Laila IDRISSE

Laboratoire des Analyses Chimiques et Biocapteurs, Faculté des Sciences et Techniques de Mohammedia  
E-mail : l.idrissi@univh2m.ac.ma

**Résumé:** Les nitrites et les nitrates sont des substances chimiques naturelles qui entrent dans le cycle de l'azote. Ce dernier est consommé par les plantes sous forme de nitrates qui correspond au minéral le plus fréquent dans les eaux. Les nitrates sont beaucoup utilisés dans les engrais inorganiques et les explosifs, comme agents de conservation des aliments et comme substances chimiques brutes dans divers procédés industriels. Les nitrites servent surtout d'agents de conservation des aliments, en particulier dans les viandes de salaison. Ils permettent d'éviter le développement du germe responsable de la toxi-infection alimentaire grave : le botulisme. Cependant la présence de ces ions dans l'environnement engendre des nuisances à la santé de l'Homme sans oublier le phénomène d'eutrophisation. C'est pourquoi les scientifiques se sont beaucoup intéressés au développement de techniques performantes d'analyse aussi bien au laboratoire que sur le terrain.

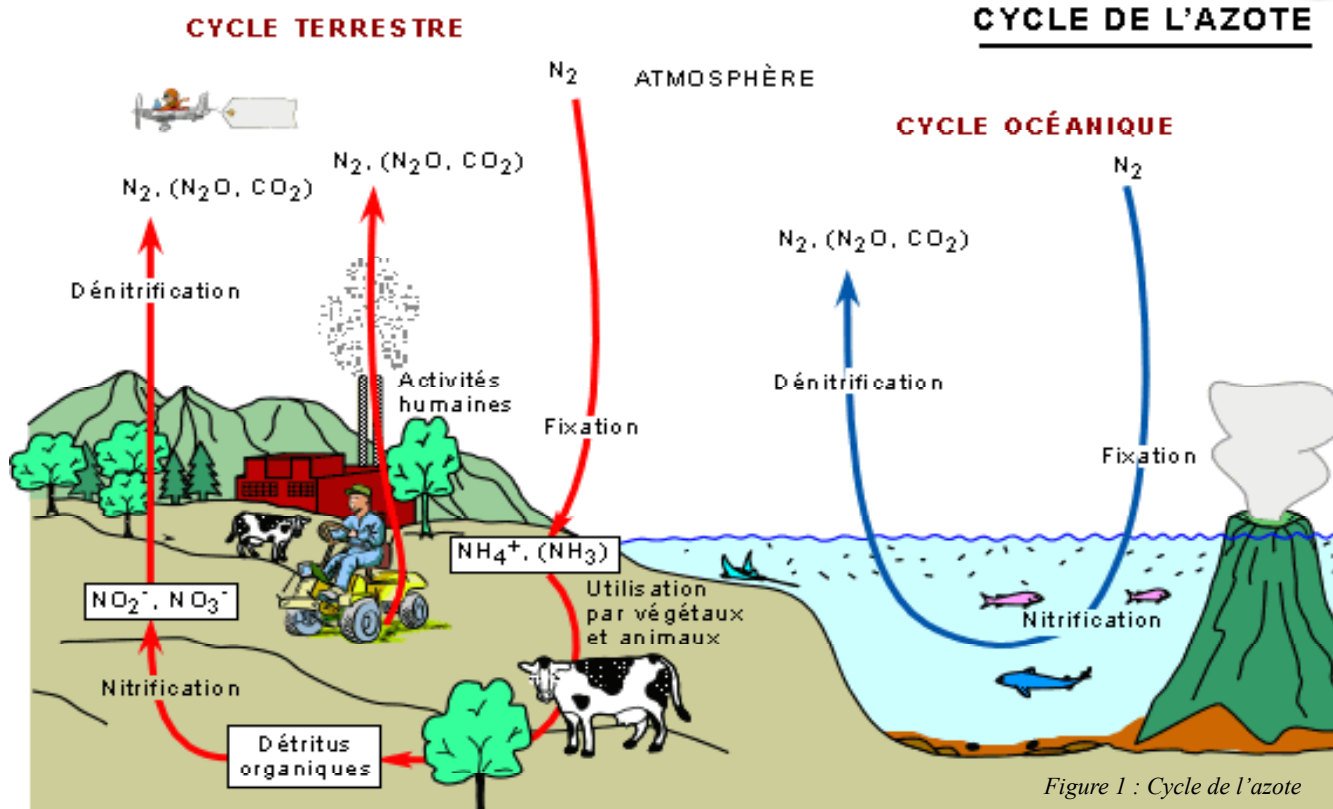
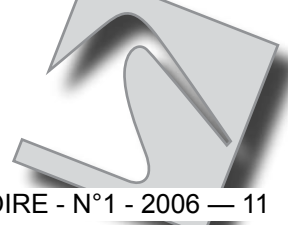
**Mots clés :** Nitrates, nitrites, toxicité, eutrophisation, analyse.

La modernisation de l'agriculture, son intensification, le développement de l'industrialisation et la croissance parallèle de la consommation sont accompagnés d'une dégradation accrue de l'environnement. Les ressources en eau sont par conséquent menacées ce qui rend leur coût d'exploitation exorbitant.

Depuis l'apparition du phénomène de l'eutrophisation lié à la présence des nitrates et des phosphates dans l'eau, on constate des modifications inquiétantes de la chaîne alimentaire dont la perte des espèces locales par exemple. Les risques sanitaires associés à la présence des nitrites et nitrates dans l'eau et les aliments sont à ne pas négliger.

### Mécanismes de pollution de l'eau

En absence de toute fertilisation azotée, on trouve néanmoins toujours des nitrates dans les sols. Ceux-ci proviennent de la fixation de l'azote atmosphérique (cycle de l'azote : fig. 1) par certaines espèces végétales, les légumineuses, qui sont capables, grâce à des bactéries qui vivent en symbiose avec elles, de capter l'azote et de le transformer en matière organique azotée dans leurs racines. Quand la plante a fini son cycle saisonnier, cette matière organique azotée est peu à peu décomposée par les bactéries nitrifiantes du sol et transformée en nitrates. Ces nitrates sont à leur



tour utilisées par les autres espèces végétales pour leur propre croissance. On rappelle que pour se développer, les végétaux ont besoin de trouver dans le sol trois éléments majeurs : nitrates, phosphates et potassium, qui sont d'ailleurs les principaux fertilisants apportés à l'agriculture industrielle. La source anthropique majeure des nitrates qui perturbe le cycle de l'azote, est l'apport d'engrais azotés. Cet apport peut se faire soit directement sous forme de nitrates, soit sous forme d'ammoniac

ou d'urée, lesquels se transforment dans le sol en nitrates. Ces derniers se trouvent aussi dans les lisiers (déjections des animaux) venant des élevages intensifs et répandues ensuite sur les terres. Produits naturellement dans le sol superficiel ou apportés sous forme d'engrais, les nitrates en excès (utilisation abusive et non rationnelle des engrais) vont être entraînés vers la profondeur par un phénomène d'écoulement et de pénétration tout à fait naturel. Une fois arrivés dans la nappe



Photographie : Zone de prolifération algale



phréatique, les eaux d'infiltration s'écoulent des points hauts vers les points bas et finissent par arriver dans les rivières, les lacs ou la mer.

On trouve les nitrates ( $\text{NO}^3$ ) et les nitrites ( $\text{NO}^2$ ) dans trois catégories d'aliments : les légumes (salade, radis, céleri, betteraves...), la charcuterie et l'eau. La dose journalière admissible (DJA) fixée par le Comité Scientifique de l'alimentation humaine de la CEE est de 3.65 mg/kg en nitrate et 0.06 mg de nitrite/Kg de poids corporel. Les eaux destinées à la potabilisation et les eaux alimentaires ne doivent pas avoir une teneur supérieure à 50  $\text{mgL}^{-1}$  de  $\text{NO}^3$  et 0.1  $\text{mgL}^{-1}$  de  $\text{NO}^2$ . Dans le cas des produits carnés non cuits, la législation fixe les quantités résiduelles maximales de nitrates /nitrites au point de vente au consommateur final, Exprimé en  $\text{NaNO}_2$  à 50mg/Kg de nitrites et 250 mg/Kg de nitrates.

### Nuisances au milieu aquatique

Mise à part la nuisance des nitrates par la consommation des eaux des nappes, les nitrates dans les nappes finissent par arriver dans les rivières, les lacs ou la mer. En présence des phosphates, les nitrates y engendrent l'eutrophisation. Ce phénomène se manifeste par une prolifération massive de plantes et d'algues, qui réduisent la teneur en oxygène dans l'eau, parfois jusqu'à une teneur létale. L'eutrophisation devient un vrai problème dans la région des grands lacs en Amérique du nord, en Europe, en Mexique, dans la Nouvelle Zélande, au Maroc (barrages et lacs naturels) et dans d'autres pays. Les lacs sont devenus :

- ❖ verts et nauséabonds : Dégagement de  $\text{H}_2\text{S}$  et  $\text{NH}_3$ , néfastes pour les espèces vivantes, du au développement des bactéries anaérobies
- ❖ malsains en tant qu'eau potable,
- ❖ inimaginables comme lieux de délassément d'où la diminution de la fréquentation des touristes,
- ❖ invivables pour les poissons à cause de la prolifération parfois massive des cyanobactéries potentiellement toxiques.

### Nuisances à la santé humaine

Les nitrates ne sont pas toxiques, mais ce n'est qu'à deux conditions que peut se révéler une toxicité des nitrates : s'il y a ingestion vraiment massive de ces composés ou s'ils sont transformés en nitrites par la microflore digestive au sein de l'organisme. Une fois ingérés, les nitrates sont rapidement absorbés

au niveau de l'intestin grêle puis distribués dans tout l'organisme. Une partie des nitrates absorbés est secrétée dans la salive. La microflore buccale transforme une partie des nitrates secrétés dans la salive en nitrites. Leur réduction en nitrites peut également survenir au niveau des voies urinaires à la suite d'une infection bactérienne et dans l'estomac.

### Protégez vos bébés

La **méthémoglobinémie** (ou syndrome du bébé bleu) est un problème de santé associé à l'ingestion des nitrites et nitrates. La présence de ces ions interfère avec la capacité du sang à transporter l'oxygène. Les nitrites ont la propriété d'oxyder l'hémoglobine sanguine en méthémoglobine qui sous cette forme n'est plus apte à jouer son rôle de transporteur d'oxygène et entraîne donc une hypoxie au niveau des tissus. L'organisme humain d'un adulte est capable de lutter contre cette agression car il est équipé d'un système enzymatique (méthémoglobine réductase) apte à effectuer la réaction inverse, c'est à dire, transformer la méthémoglobine en hémoglobine réduite. Par contre l'organisme du nourrisson ne possède pas cet équipement enzymatique et les risques d'intoxications graves sont alors beaucoup plus grands. Ceci altère la capacité des globules rouges de transporter l'oxygène. Les symptômes de cette maladie sont notamment la cyanose (décoloration bleutée de la peau et de la bouche), la difficulté de respirer et la fatigue (des cas mortels ont été rapportés).

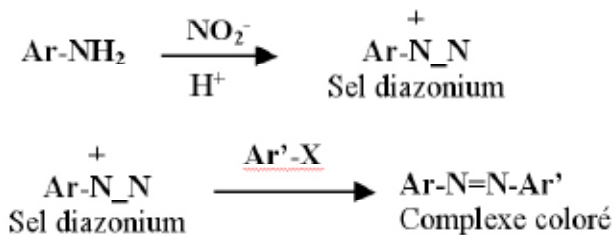
### Les risques de cancers gastro-intestinaux

Des études menées sur des animaux n'ont pas permis d'établir un lien direct entre l'exposition aux nitrites ou aux nitrates et l'incidence du cancer. Le **pouvoir cancérigène** des nitrites est alors très discuté. Par contre la formation des nitrosamines à pouvoir cancérigène est indiscutable et est possible à partir des nitrites et d'amines secondaires et tertiaires. Cette formation se produit dans le tube digestif du consommateur.

### Techniques d'analyse

Pour la détection des nitrites, la méthode de Griess est la plus répandue. Développée depuis 1879, elle ne cesse d'avoir des applications jusqu'à présent.

Cette technique repose sur la réaction de diazotation entre l'ion nitrite acidifié et une amine aromatique. Le produit de la réaction est un complexe hautement coloré. Il présente un maximum d'absorption entre 500 et 600 nm et peut être détecté par un spectrophotomètre visible conventionnel.



Principe de la méthode de Griess. Ar, Ar' sont des noyaux aromatiques et X un substituant actif.

Cette technique est simple et sensible mais non fiable dans le cas des milieux complexes : les antioxydants (par exemple l'acide ascorbique) additionnés aux aliments détruisent le nitrite acidifié avant qu'il réagisse avec l'amine aromatique et conduit à une baisse du taux de recouvrement. D'autres problèmes sont aussi rencontrés dans l'analyse des échantillons fortement colorés et turbides. De même, la méthode des ajouts dosés est fortement conseillée du fait que la réaction de diazotation dépend beaucoup du pH.

La détermination directe des ions nitrates n'est pas facile. En effet, l'analyse de  $\text{NO}_3^-$  nécessite une étape préliminaire de réduction chimique en utilisant une colonne de cadmium / cuivre. Les nitrites formés sont analysés selon la méthode de Griess. Ce protocole est adopté comme méthode de référence. Ce pendant, il présente, en plus des inconvénients déjà cités, un temps d'analyse trop long.

Plusieurs méthodes de détermination des nitrites reposent sur des modifications de la procédure de Griess. Le principe de la méthode reste toujours le même, les modifications apportées concernent la manipulation d'autres composés aminés dans le but de rendre la méthode plus performante et robuste.

La potentiométrie est l'approche la plus attractive pour la détermination des nitrites à l'aide des électrodes sélectives. Cette technique est robuste, peut être utilisée sur terrain et nécessite peu d'instrumentation et peu de réactifs. Ces appareils sont commercialisés depuis longtemps.

Tableau 1 : Exemples d'électrodes sélectives commercialisées

Société, pays	Electrode	Linéarité (ppm)	Limite de détection	Interférents
Nico2000 Ltd, UK	ELIT 8021, $\text{NO}_3^-$	3- 62	0.3 ppm	$\text{Cl}^-$ , $\text{NO}_2^-$
	ELIT 8071, $\text{NO}_2^-$	1- 460	0.5 ppm	$\text{CN}^-$ , Acétate
Thermo-Orion, USA	Thermo-Orion ISE electrode/ $\text{NO}_2^-$	0.18- 230	--	$\text{CO}_2$ , Gaz acides
Radiometer Analytical, France	ISE25 $\text{NO}_3$	0.2 - 60000	--	$\text{Cl}^-$ , $\text{Br}^-$ , $\text{NO}_2^-$

Pour certains prototypes, la limite de détection est parfois insuffisante pour la mesure de faibles concentrations en ion nitrite. Ces détecteurs sont par conséquent utilisés pour des échantillons fortement contaminés. Par contre, l'électrode sélective aux ions nitrates, présente toujours des limites de détection de l'ordre des micromolaires.

Des méthodes chromatographiques ont été développées pour analyser les ions nitrite et nitrate dans les produits carnés. Leur inconvénient majeur est qu'elles nécessitent de longues étapes de prétraitement et de purification tels que les procédures de précipitation des protéines et d'élimination des interférences dues à la matrice de l'échantillon à l'aide des colonnes de suppression. Nous présentons ici une méthode très simple de détermination des nitrites et nitrates dans la viande à l'aide de la chromatographie liquide à haute performance HPLC par échange d'anions. Elle est développée par la société Dionex. Le chromatogramme résultant est représenté ci-dessous (fig. 2). Une solution de soude à  $100\text{mmolL}^{-1}$  est utilisée comme second éluant, elle est véhiculée dans le système chromatographique après la dixième minute de rétention et ceci pendant 5 minutes. Cette durée est suffisante pour éliminer la couche de protéines ainsi que les autres interférents de la matrice. Dans cette technique, l'analyse des échantillons nécessite les étapes suivantes :

- ❖ broyage puis homogénéisation de l'échantillon dans l'eau déionisée
- ❖ Chauffage du mélange à  $80^\circ\text{C}$  pendant 15 minutes
- ❖ Centrifugation à 6000rpm pendant 10 minutes



- ❖ Filtration des surnageants.
- ❖ Analyse HPLC.

La gamme de linéarité ainsi que la limite de détection sont reportées sur le tableau 2.

Tableau 2 : linéarité et limite de détection de la méthode HPLC par échange d'anions

	Linéarité	R <sup>2</sup>	Limite de détection
Nitrate	0.5mg/Kg – 3.75g/Kg	0.9991	0.5mg/Kg
Nitrite	0.3mg/Kg – 3.00g/Kg	0.9995	0.3mg/Kg

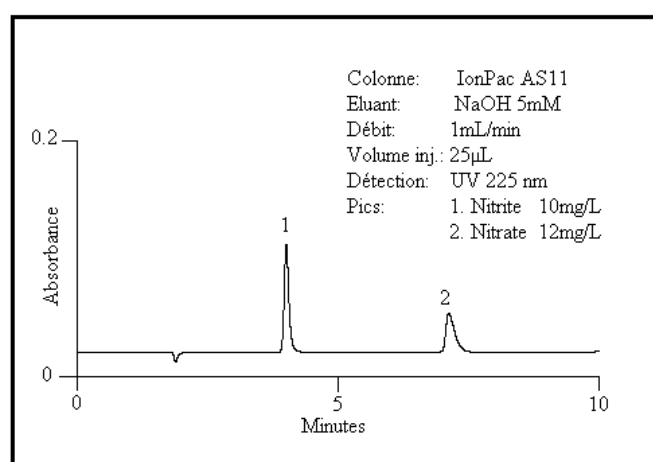


Figure 2 : Chromatogramme du nitrite et nitrate avec détection UV.

### Types d'actions à entreprendre pour réduire cette pollution :

Pour limiter la concentration des nitrites et nitrates dans les eaux, on peut :

- ❖ Réduire le recours aux engrais et ne jamais surfertiliser.
- ❖ Planter des arbres et des arbustes, qui filtrent et retiennent les eaux de ruissellement polluées et absorbent les éléments nutritifs.
- ❖ Encourager l'agriculture biologique.
- ❖ Traiter l'eau : lorsque l'adoption des mesures précédentes est insuffisante pour résorber l'excédent. Pour éliminer les nitrates et les nitrites de l'eau potable, on peut utiliser des systèmes d'échange d'ions, d'osmose inverse ou de dénitrification biologique. L'ion nitrite est rapidement oxydé en ion nitrate, ce qui fait que, au besoin, on peut l'éliminer en ajoutant des agents oxydants.

### Comment se protéger des nitrates et nitrites

- ❖ En buvant de l'eau en bouteille si le taux de nitrates dépasse 50mg par litre d'eau du robinet
- ❖ En accompagnant nos repas d'un jus d'agrumes (riche en vitamine C : acide ascorbique qui détruit les nitrites) lorsqu'il y a un plat de légumes ou de la charcuterie au menu.
- ❖ Les biberons d'un bébé doivent être préparés avec de l'eau en bouteille. Les femmes enceintes ou celles qui allaitent doivent aussi éviter l'eau de robinet.

### Pour en savoir plus :

Encyclopedia of food Sciences and Nutrition, Second edition, 2003, 4136 – 4141: Nitrates and nitrites.

<http://perso.orange.fr/alguesvertes/Documentations/lesmareesvertes.ppt>

Talanta, 2001, 54, 785- 803: Detection and determination of nitrate and nitrite: a review

J. Environ. Monit., 2002, 4, 465- 471 : Current strategies in nitrite detection and their application to field analysis.

Standard methods for examination of water and wastewater, American Public Health Association, NewYork, 1995.

AOAC official method 17<sup>th</sup> edition 2000, 973.31: Nitrites in cured meats – colorimetric method.

<http://www1.dionex.com>