

Partenaire de vos innovations

**Points sur les connaissances à date sur le nitrite dans
les charcuteries/salaisons.
Principaux résultats publiés du programme Adduits.**

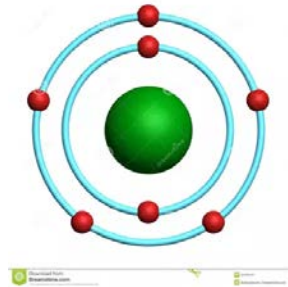
Sommaire

- **Les fonctions du nitrite dans les charcuteries/salaisons**
- **Rappel des avis sur les risques du nitrite/nitrate dans les produits carnés :**
 - De l'IARC 2015,
 - De l'EFSA 2017,
 - De l'Académie d'agriculture 2020
 - De l'Anses 2022,
- **Principaux résultats publiés obtenus dans le programme Adduits**
- **Bilan des retraits rappels des charcuteries/salaisons**
- **Plan d'action du gouvernement sur les nitrites**

1. Les fonctions du nitrite dans les charcuteries/salaisons

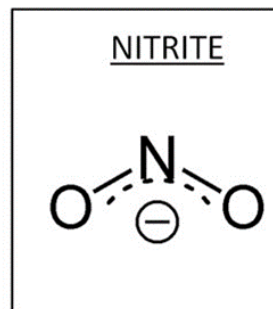
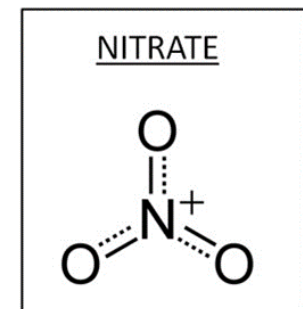
Nitrite un élément très réactif

Avec sa couche externe de 5 électrons l'azote peut avoir 8 états d'oxydation,
(HONIKEL 2008)



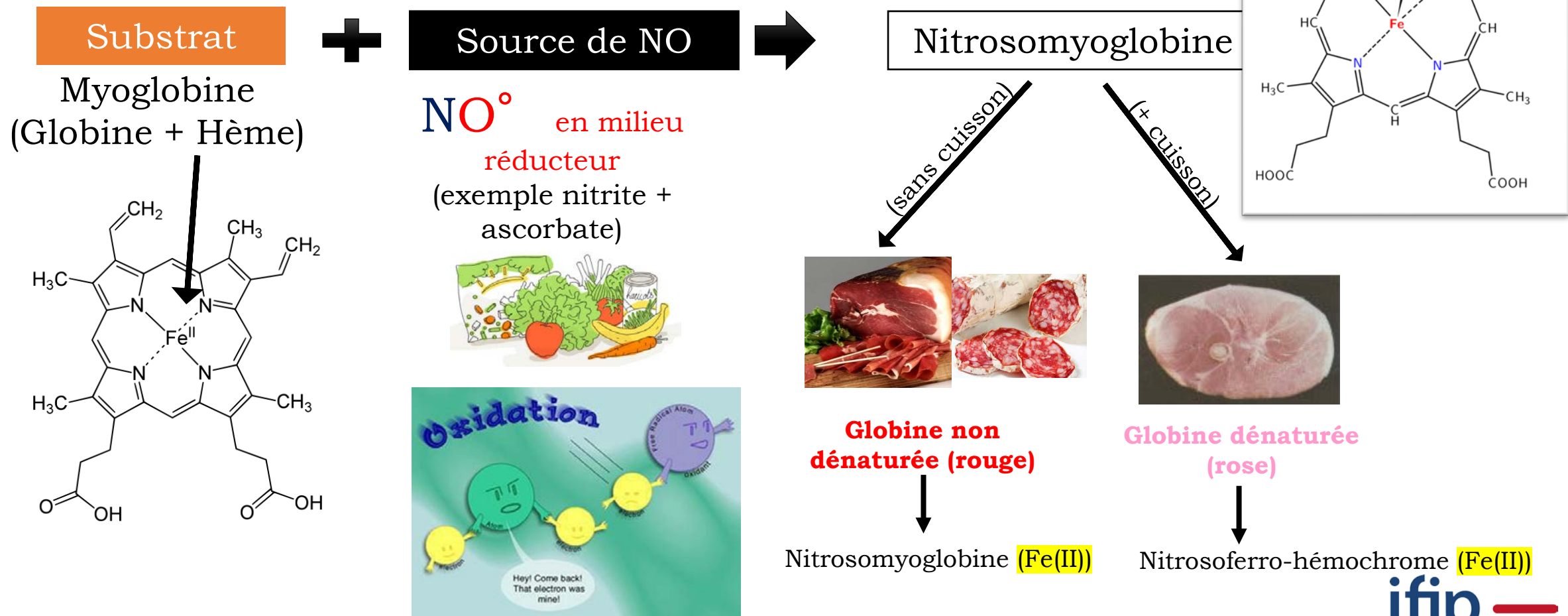
Atome d'azote

	Charge électrique conventionnelle de l'azote	
HNO₃: nitrate		+5
NO₂: nitrite	Oxydation	+4
HNO₂: acide nitreux		+3
NO: oxyde nitreux		+2
N₂O: oxyde de diazote		+1
N₂: di-azote		0
NH₃: ammoniac		-3
		Réduction



La réaction de nitrosylation

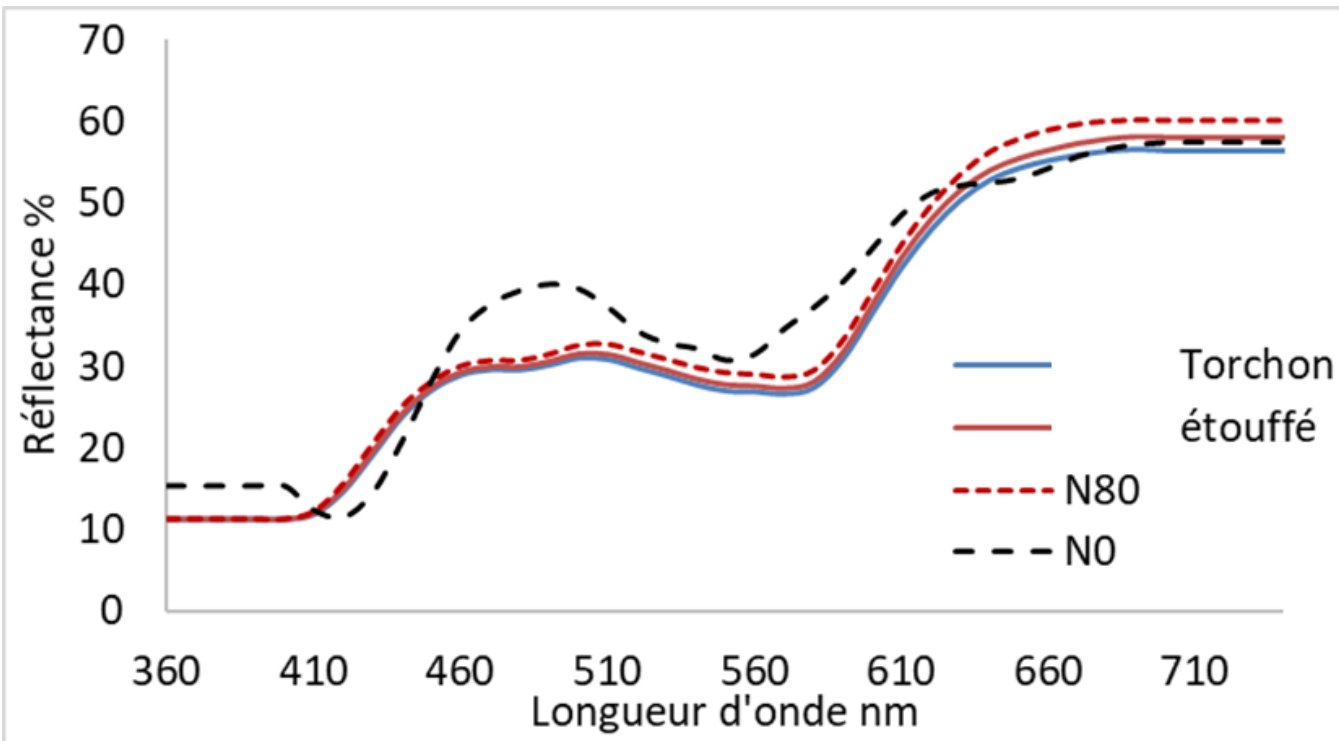
Définition : ajout de NO° sur les métaux (= Adduit).



Pigment héminique nitrosylé : Signature par la couleur

Analyse par spectrocolorimétrie par réflectance

Les spectres par réflectance entre 360 et 710 nm acquis au spectrocolorimètre (Minolta CM-600d)



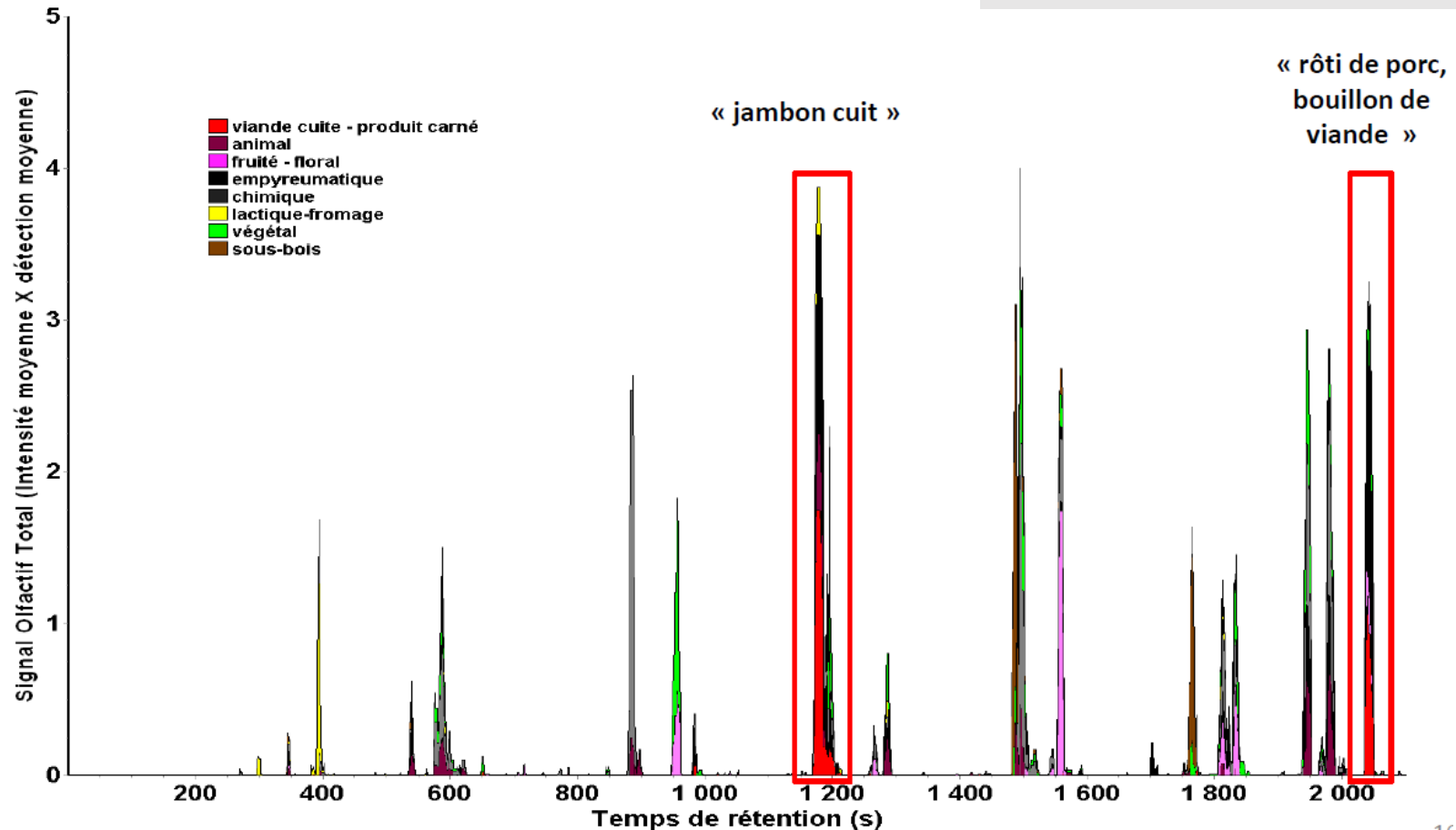
Source Ifip



Les molécules responsables de l'arôme du jambon cuit ont été identifiées

Composition aromatique du jambon cuit
Jambonol – Thèse Caroline Thomas IFIP
2014

EXTRAIT DE
JAMBON CUIT
AVEC NITRITE



2 zones odorantes **intenses**
décrites comme « **jambon cuit** » ou « **rôti de porc** »

Synthèse scientifique Adduits dec 24

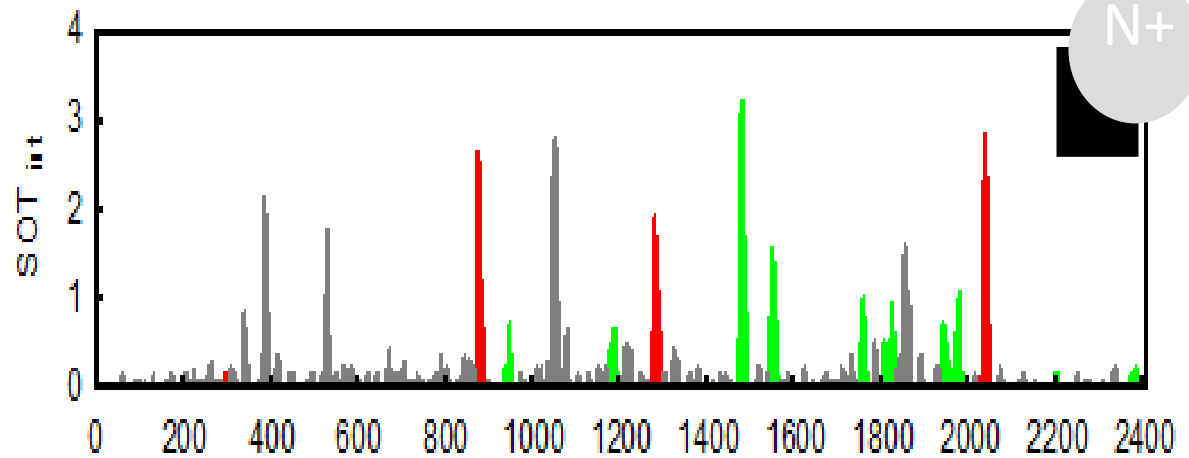
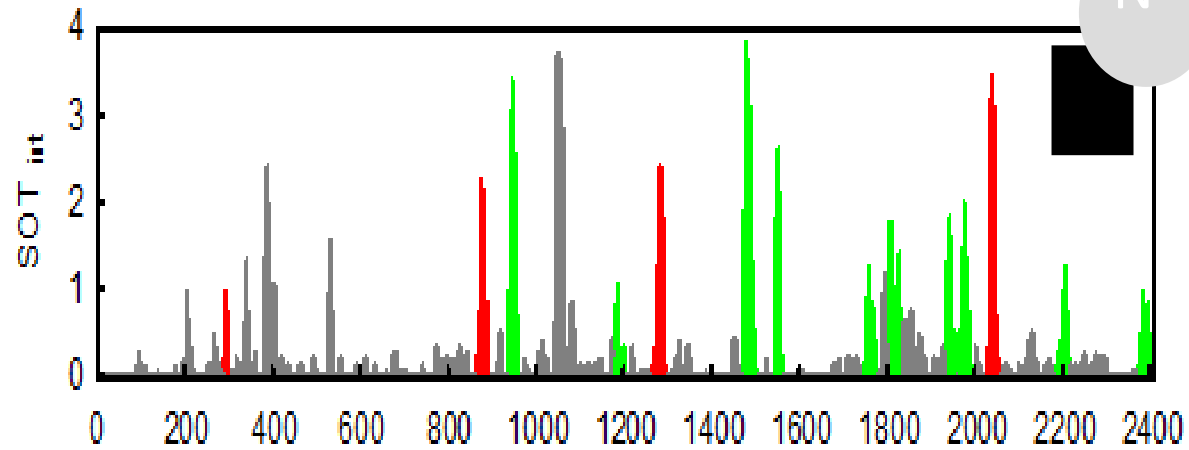
Arome du jambon cuit : projet Jambonol

Thèse Caroline Thomas IFIP 2014

non nitrité : N-

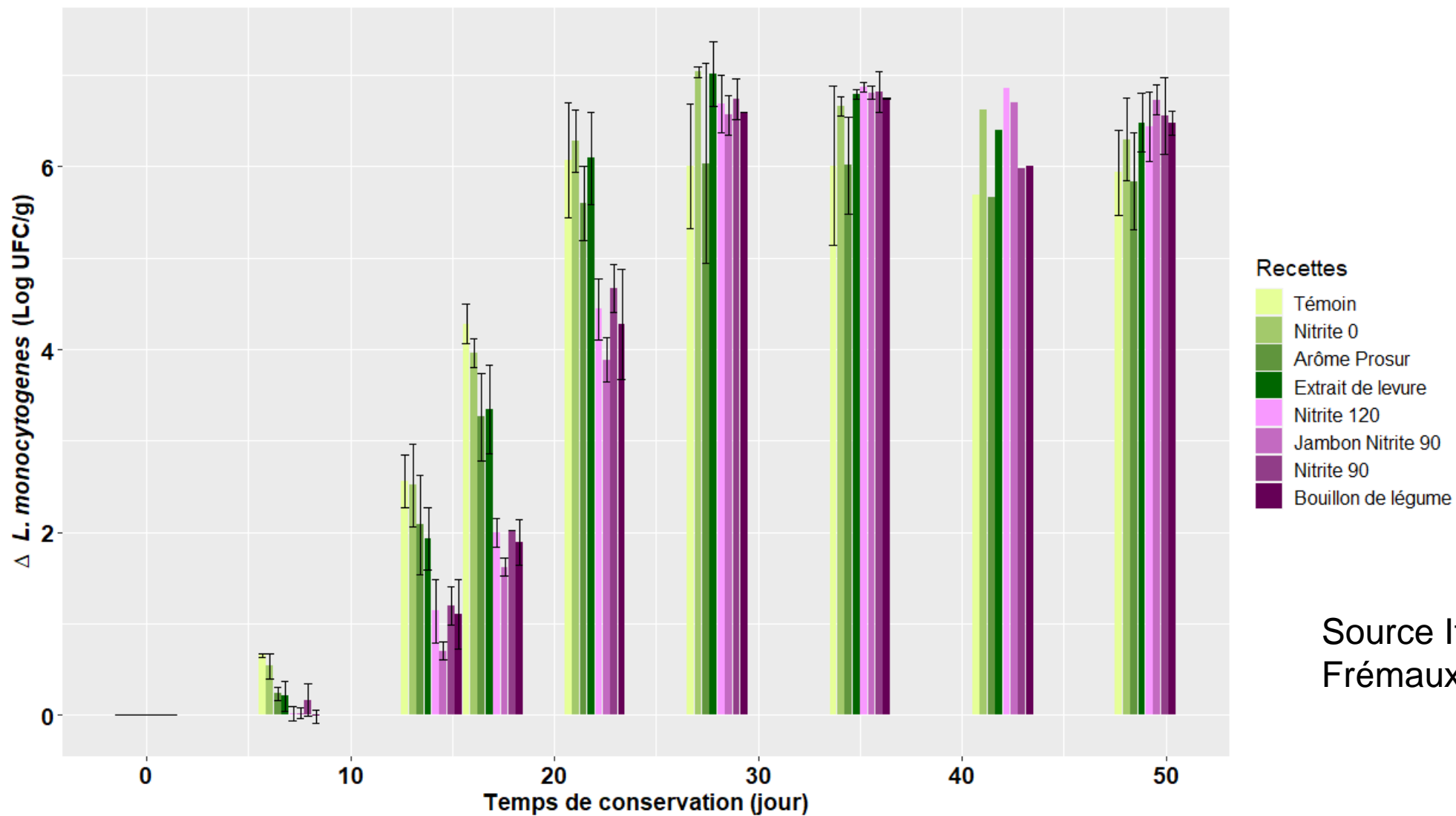


nitrité : N+



- Composés **soufrés** dont les molécules **M1** et **M2**
- Composés issus de l'**oxydation lipidique**
- Autres composés

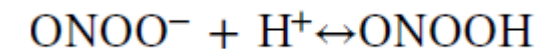
Nitrite et listeria monocytogenes



Source Ifip 2021
Frémaux

Nitrite et cl.botulinum

Données fixes		Probabilité de croissance de cl.botulinum							
pH	6,2	Nitrite ppm	0	20	40	60	80	100	120
Eau	75%	Sel	1,2	Red	Red	Red	Yellow	Green	Green
Température	8°		1,4	Red	Red	Yellow	Green	Green	Green
			1,6	Red	Yellow	Green	Green	Green	Green
			1,8	Yellow	Green	Green	Green	Green	Green
			2	Green	Green	Green	Green	Green	Green



Peroxynitrite

Majou et al.

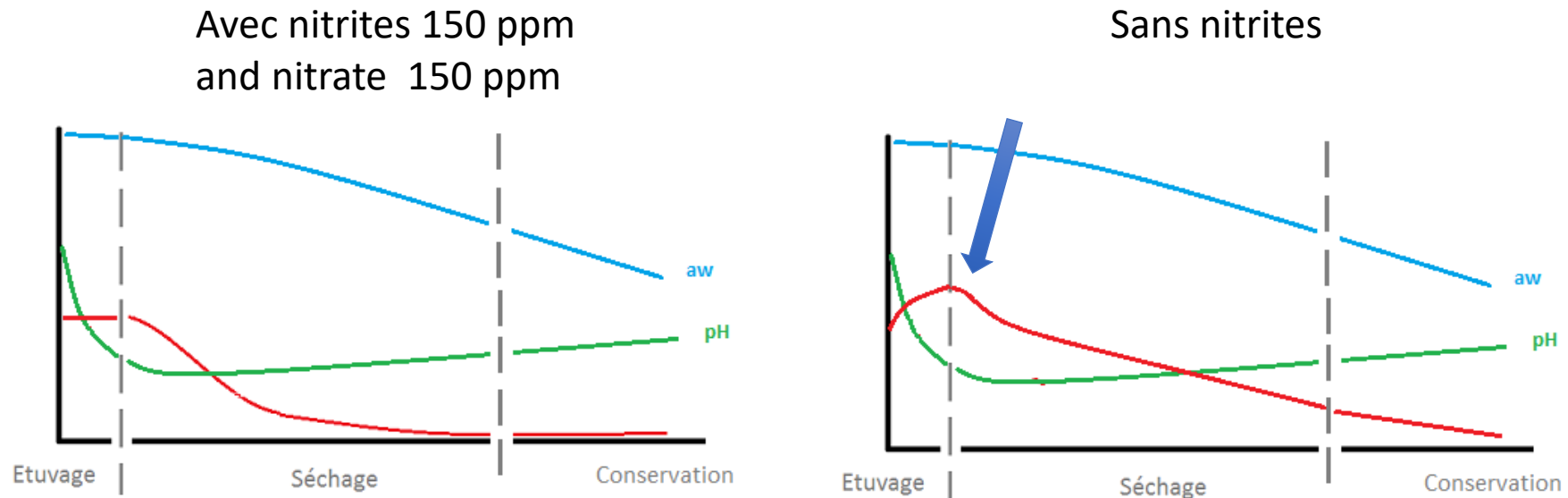
Données fixes		Probabilité de croissance de cl.botulinum							
pH	6,2	Nitrite ppm	0	20	40	60	80	100	120
Sel	1,60%	Température	4°	Green	Green	Green	Green	Green	Green
			6°	Green	Green	Green	Green	Green	Green
			8°	Red	Yellow	Green	Green	Green	Green
			10°	Red	Red	Red	Yellow	Green	Green

	zone de non croissance
	zone à risque
	zone de croissance

- Challenge tests de l'Ifip & Université de Liège
- Predictive model from Meat Danish Meat research

Nitrites et *Salmonella spp.*

Effet bactériostatique vis-à-vis de salmonelles



→ Le nitrite limite le développement de salmonelles dans les salaisons (Hospital, 2012 et 2014 (2), (3))

Le nitrate : agent de fermentation pour le saucisson sec

- **La fabrication du saucisson « type français » sans acidification forte n'est pas possible à ce jour sans nitrate :**
 - Le nitrate assure un environnement favorable au ferment en ralentissant la croissance des flores altérantes de la mée : pseudomonas, bactéries hétéro-fermentaires, lactiques acidifiantes....
 - Quel est le taux minimum de nitrate nécessaire pour cette action favorable à la fermentation ?

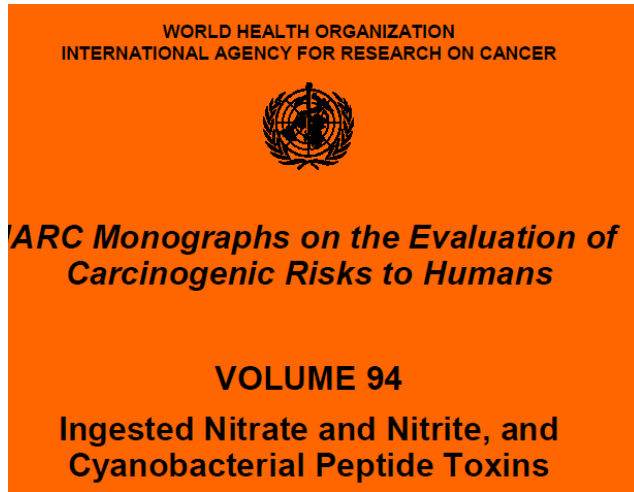
Rappel des avis sur les risques du nitrite/nitrate dans les produits carnés :

**De l'IARC 2010, 2015,
De l'EFSA 2017,
De l'Académie d'agriculture 2020
De l'Anses 2022,**

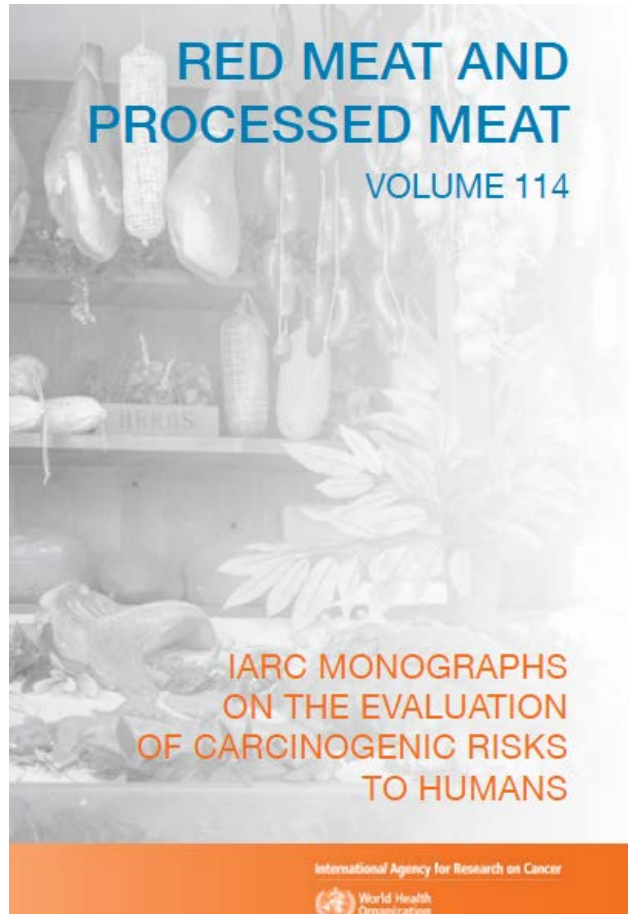
Avis de l'IARC sur les nitrites et nitrates

IARC 2010

- Il n'y a **pas de preuve** de cancérogénicité du nitrate des aliments ou de l'eau
- Il y a des **preuves limitées** de la cancérogénicité sur l'homme du nitrite alimentaire. Le nitrite est associé à l'augmentation du risque de cancer de l'estomac
- Il n'y a pas de preuve de la cancérogénicité du nitrate sur modèle animal.
- Il y a des **preuves suffisantes issues de l'expérimentation animale** de la cancérogénicité du nitrite en combinaison avec les amines et amides.
- Il y a des preuves limitées sur la cancérogénicité du nitrite en tant que tel sur les tests animaux.



Avis de l'IARC: Red and processed meat 2015



IARC 2015 :

Sur l'homme:

- Il y a des preuves limitées sur la cancérogénicité de la viande rouge malgré les associations avec le cancer colorectal, le poumon et la prostate.
- **Il y a suffisamment de preuve sur la carcinogénèse des viandes transformées sur le cancer colorectal et une tendance sur le cancer de l'estomac.**

Sur animal expérimental:

- **Il y a des preuves insuffisantes sur la cancérogénicité des viandes rouges, des viandes transformées et du fer héminique.**

Avis de l'EFSA 2017: extrait des conclusions

EFSA confirms safe levels for nitrites and nitrates added to food

Published: 15 June 2017



- Sur la base des preuves disponibles, les experts de l'EFSA ont conclu que les niveaux de sécurité existants pour les nitrites et les nitrates ajoutés à la viande et aux autres aliments **constituaient une protection adéquate pour les consommateurs.**
- Le nitrate comme additif : en utilisant des données plus réalistes (c'est-à-dire des niveaux de concentration réellement observés dans les aliments), les experts ont estimé que l'exposition des consommateurs aux nitrates utilisés comme additifs alimentaires était inférieure à 5 % de l'exposition globale aux nitrates dans les aliments et **ne dépassait pas la DJA.**
- Nitrite en tant qu'additif : Les experts ont estimé que l'exposition se situait **dans les limites de sécurité** pour tous les groupes de population, à l'exception d'un léger excès chez les enfants ayant une alimentation riche en aliments contenant ces additifs.

Avis de l'académie de l'agriculture nov 2020

Extrait de la conclusion :

« Au total, les nitrites, employés comme additifs alimentaires en tant que conservateurs dans les produits de viande transformée, **protègent le consommateur vis-à-vis du risque botulinique.**

Face à cela, **les risques de cancer colorectal** induits par la présence de nitrites aux doses autorisées par la réglementation **ne sont pas prouvés.**

Aucune preuve convaincante relevant de l'expérimentation animale, de l'épidémiologie ou des études mécanistiques n'est aujourd'hui disponible pour démontrer que le traitement aux nitrites des salaisons, charcuteries et conserves de viande accroît le risque d'apparition de CCR, par rapport à la consommation des mêmes denrées non traitées. »

Avis de l'Anses juillet 2022 : extraits des conclusions

Microbiologie :

« Les experts du GT et des CES ERCA et BIORISK soulignent que **plus la réduction de l'emploi des nitrites est importante, plus le risque microbiologique pour les consommateurs augmente.**

Par conséquent, les mesures de maîtrise complémentaires à mettre en place par les opérateurs devraient alors être drastiques et/ou plus nombreuses. La faisabilité de leur application et leur efficacité devront donc être évaluées. »

Toxicologie :

« Le groupe de travail conclut à :

- l'existence d'une association positive entre l'exposition aux nitrates via l'eau de boisson et le risque de cancer colorectal ;
- l'existence d'une association positive entre l'exposition aux nitrates et/ou aux nitrites via la viande transformée et le risque de cancer colorectal.
- Parmi les composés nitrosés, **les nitrosamines** sont les mieux caractérisées. Les données toxicologiques soulignent la génotoxicité et cancérogénicité de ces composés dans les études expérimentales.
- **Page 165 « Dans l'ensemble, le groupe d'experts de l'EFSA a conclu que les données disponibles n'indiquent pas de potentiel génotoxique in vivo pour le nitrite de sodium et de potassium, et que donc il est possible d'établir une valeur toxicologique de référence (DJA).**

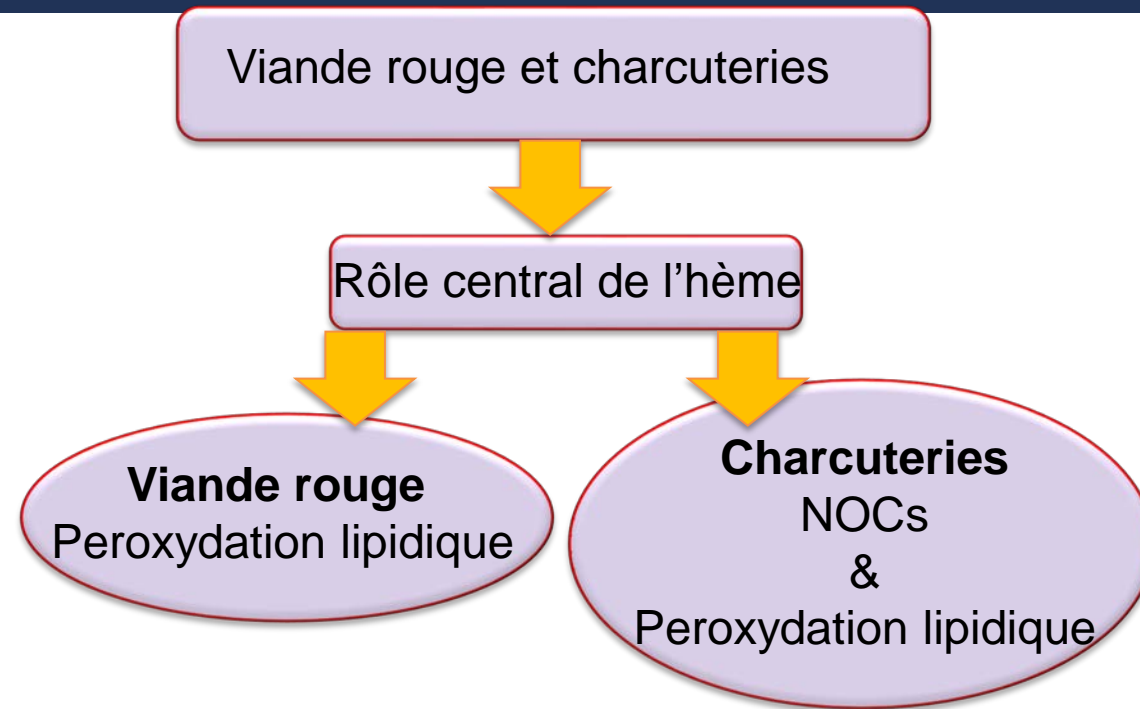
En conclusion, les nouvelles connaissances disponibles ne sont pas suffisantes pour modifier la DJA proposée par l'EFSA et celle-ci est donc reprise pour l'évaluation des risques dans la présente expertise.... »

« Concernant les nitrites :

- l'exposition totale aux nitrites dépasse la DJA chez moins de 0,4 % des enfants. Aucun dépassement de la DJA n'est observé chez les adultes.

Concernant les nitrates :

- pour moins de 1,5 % des adultes et des enfants, l'exposition totale dépasse la DJA des nitrates. »



L'épidémiologie établit un lien entre le cancer colorectal et

- La consommation de viandes rouges (+17% pour 100gr par jour)
- La consommation de charcuteries et salaisons (+18% pour 50gr par jour)

L'origine semble être le fer héminique qui provoque des réactions dans les produits et la digestion

- Oxydation des lipides pour la viande rouge
- Oxydation des lipides **et** formation de NOCs pour les charcuteries

3. Résultats publiés obtenus dans le programme Adduits : <https://adduits.ifip.asso.fr/>



Espace collaboratif

**Un programme de recherche
pour une innovation adaptée
aux nouvelles demandes sociétales,
dans le respect des traditions
et de l'excellence
des produits charcutiers**



Objectifs

Adduits vise à apporter des solutions pour réduire le recours à certains additifs et conservateurs ou éliminer leurs effets potentiellement négatifs lorsqu'on les utilise, tout en maintenant la sécurité sanitaire des produits.

Synthèse scientifique Adduits dec 24

Adduits : L'équipe de Recherche



Aline Bonifacie



Véronique Santé-Lhoutellier

UR-0370
QUALITÉ DES PRODUITS ANIMAUX (QUAPA)



Claire Dufour



Charlène Sirvins



Fabrice Pierre, Françoise Guéraud



Aurélie Promeprat



Bastien Frémaux



Le Rheu



Gilles Nassy



Martine Carlier
Engineer



Jean Luc Martin
Technologist



Maisons Alfort

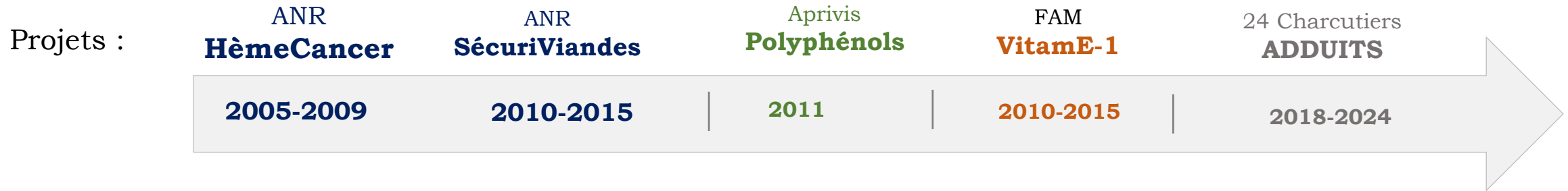
Clermont-Ferrand



Laurent Picgirard

Historique des projets IFIP/INRAE

+15 ans de travaux sur la relation entre charcuterie et cancer ?



Gouvernance du programme Adduits

- Adduits un programme financé par l'INRAe et 25 entreprises de charcuterie/salaisons
- Piloté par la Recherche : INRAe, IFIP, ADIV
- CS : Un suivi régulier par les entreprises et leur fédération,

Suivi du programme ADDUITS



	2018	2019				2020				2021				2022				2023				2024			
	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
ADDUITS																									
REASSURED																									
AnalyseFe																									
Phytonut																									
Subnitrite																									
Nitrosasec																									
Canalyse																									

	Budget k€	Titre
ADDUITS	1487	Etude du devenir du nitrite des charcuteries/salaisons durant les différentes étapes de la digestion et son implication dans la formation des nitrosamines et autres composés N-nitrosés (NOCs). Mécanisme d'action des antioxydants pour éviter cette apparition.
REASSURED	303	Etude du comportement des spores à taux réduits en nitrite et en sel
AnalyseFe	15	Complément analytique
Phytonut	346	Rôle des phytomicronutriments dans l'inhibition de l'oxydation lipidique et la formation de nitroso-composés lors de la fabrication et de la digestion de charcuteries modèles.
Subnitrite	355	Evaluation toxicologique, biochimique, technologique et microbiologique des solutions de substitution du nitrite
Nitrosasec	85	Réduction des nitrosamines dans le modèle saucisson sec
Canalyse	60	Analyses complémentaires relatives aux nitrosamines et aux NO
Total	2651	

Les grandes étapes du projet Adduits...

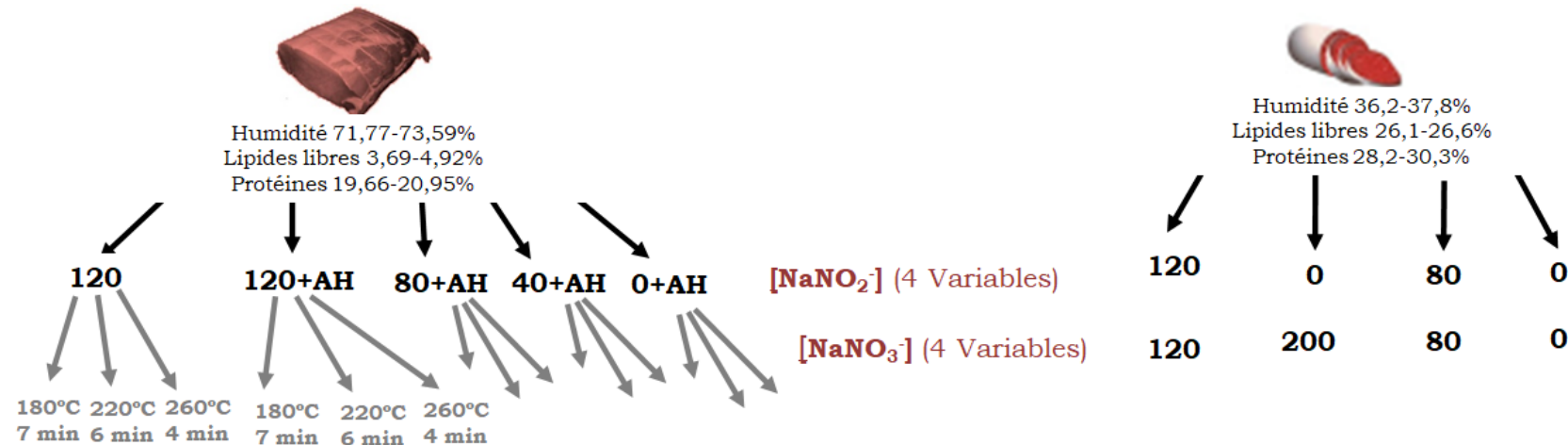
WP1 : Fabrication des charcuteries et étape de sur-cuisson

WP2 : Etudes digestives

- ✓ digestion instrumentée
- ✓ digestion des rats
- ✓ Bilan → choix d'une matrice pour WP3

WP3 : Recherche de solutions

- ✓ Screening des antioxydants → sélection de solutions anti-NOCs
- ✓ Efficacité des anti-NOCs lors de la digestion
- ✓ Validation sur modèle rat
- ✓ Validation sur l'homme (analyse sensorielle + efficacité des anti-NOCs)



Résultats ADDUITS

Dose de
nitrites / nitrates ajoutée en ppm

Dose de nitrites
ajoutée

AH = ajout de 300 ppm
d'ascorbate

Saucissons modèles : 0 / 0
0 / 200
80 / 80
120 / 120

Jambons cuits modèles : 0 ppm NO₂ + AH
40 ppm NO₂ + AH
80 ppm NO₂ + AH
120 ppm NO₂ + AH
120 ppm NO₂

Température
de cuisson Temps de
 cuisson

Jambons surcuits modèles : 180° C / 7 min
220° C / 6 min
240° C / 4 min

Fabrication des jambons modèles cuits et surcuits

Saumurage

Cuisson

Surcuisson



Nitrite + Ascorbate

68,5 ° C

180° C /
7'

220° C /
6'

260° C /
4'

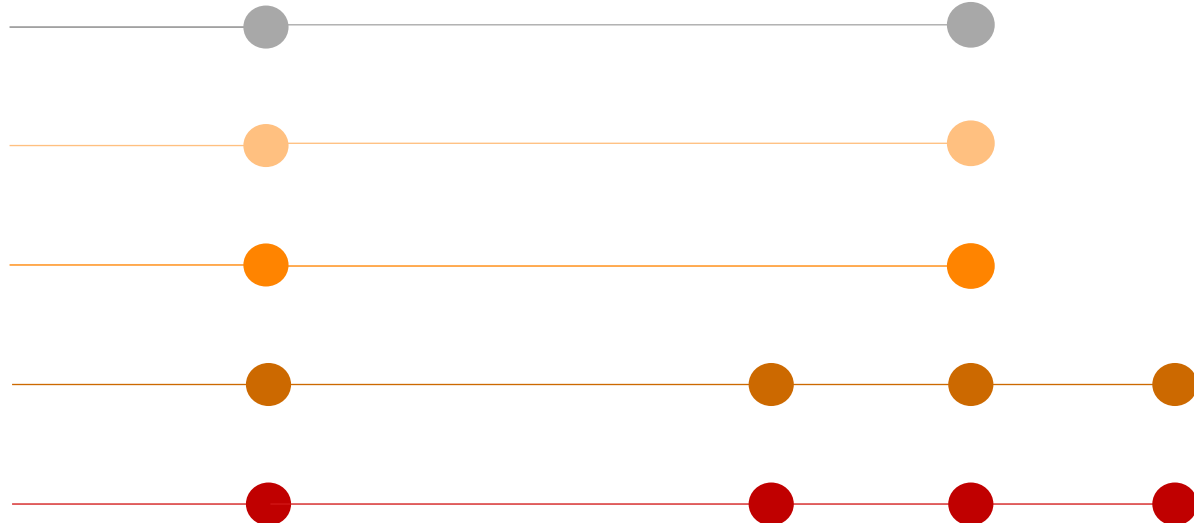
0 ppm NO₂⁻ + A

40 ppm NO₂⁻ + A

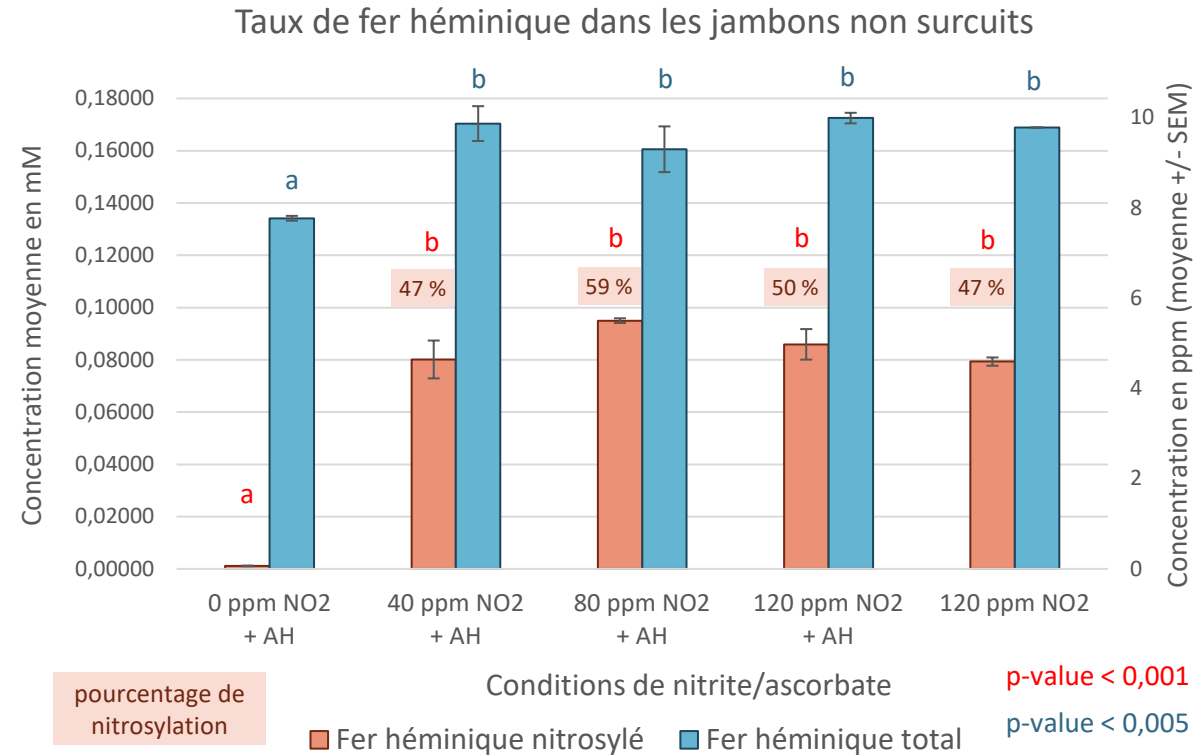
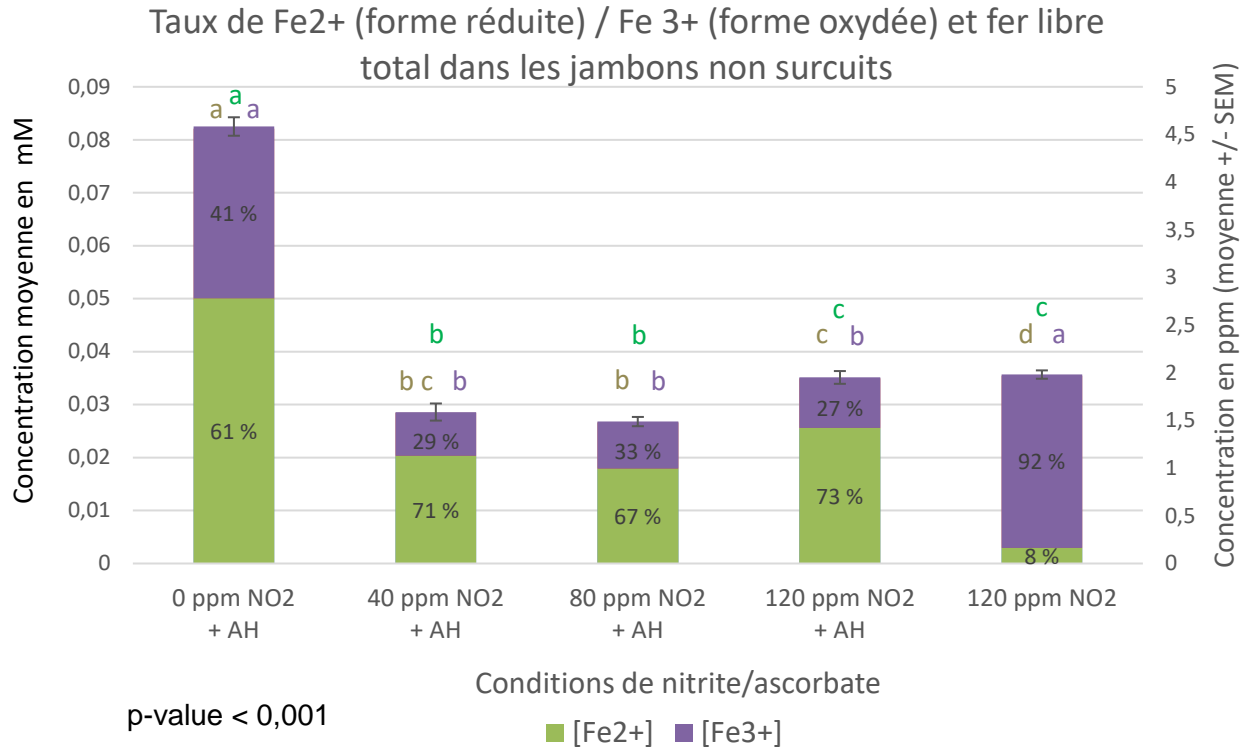
80 ppm NO₂⁻ + A

120 ppm NO₂⁻ + A

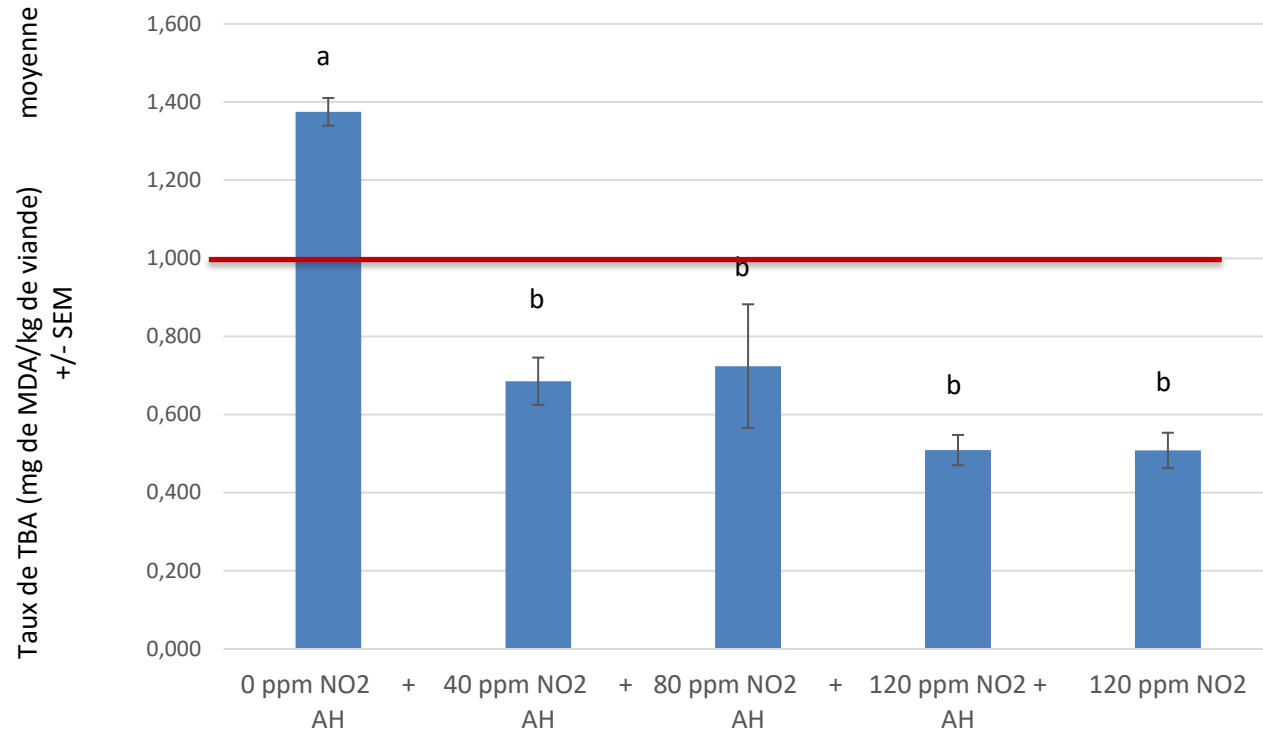
120 ppm NO₂⁻ - A



Résultat WP1 : jambon cuit



Dosage de MDA : oxydation des lipides



Relation entre les valeurs de TBA et la rancidité des produits.
Niveau de risque organoleptique

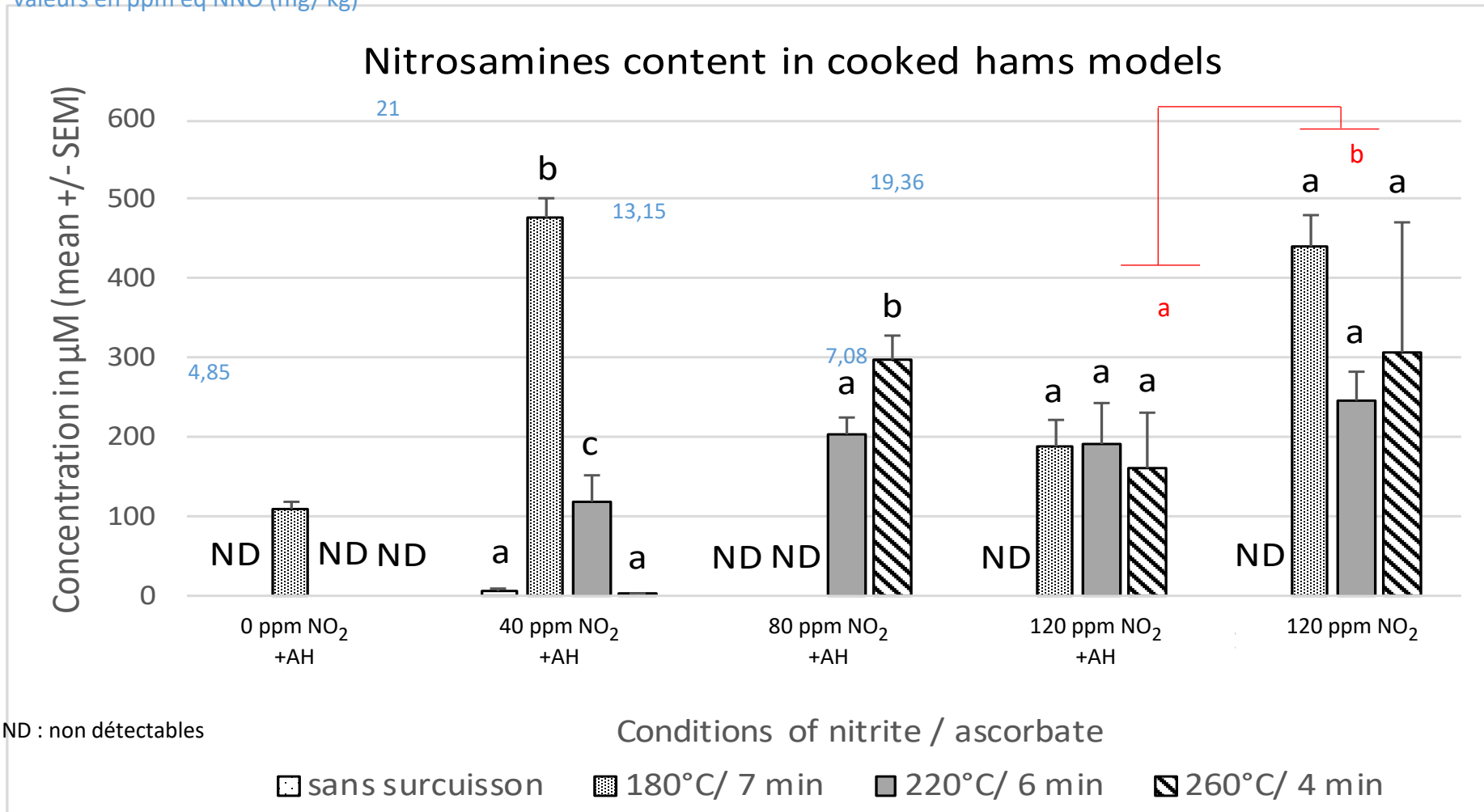
p-value < 0,001

Conditions de nitrite/ascorbate

Robles-Martinez et al.,
1982

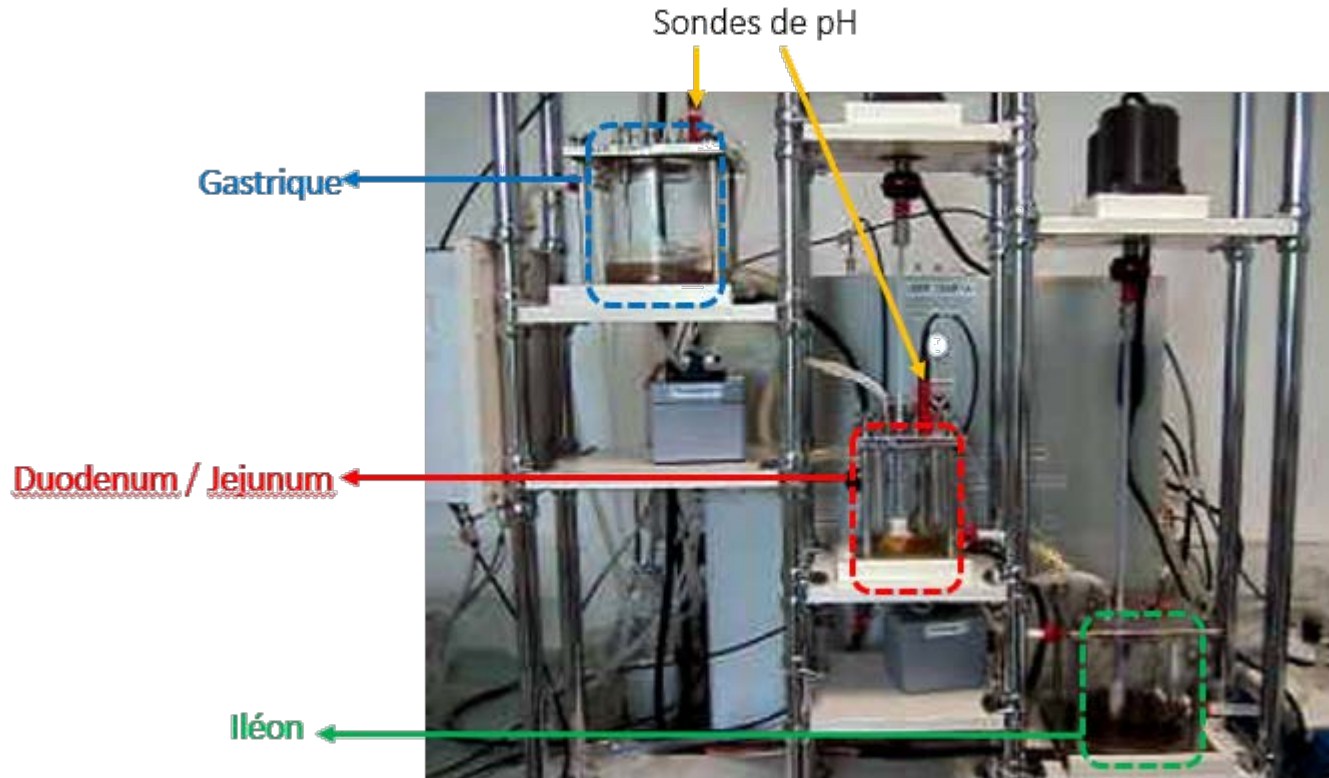
Résultat WP1 : Nitrosamines dans les jambons surcuits

Valeurs en ppm eq NNO (mg/ kg)





DiDGI : digesteur instrumenté



Paramètres régulés :

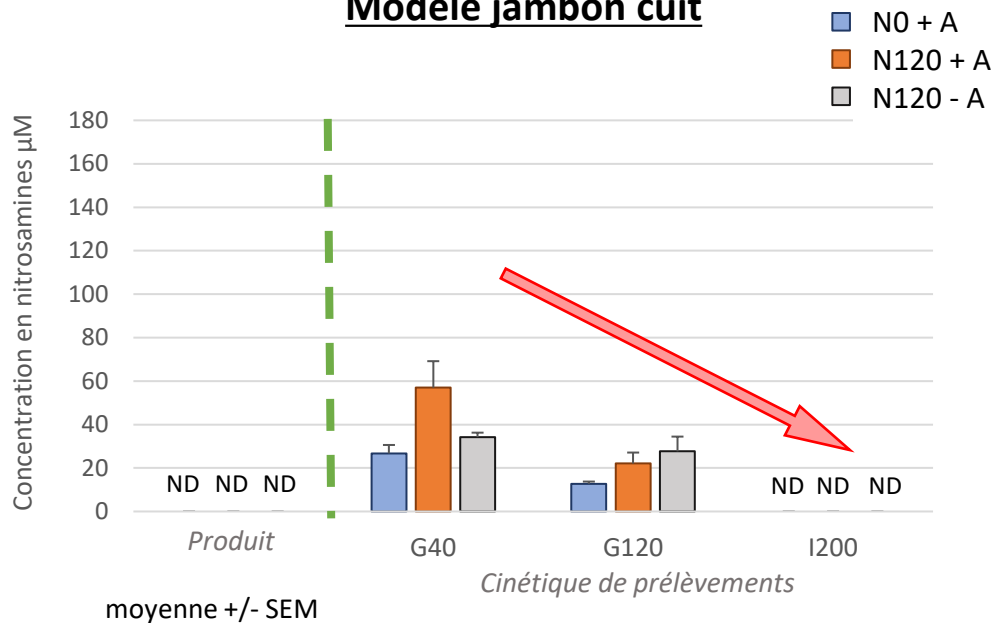
- pH
- Température
- Libération d'enzymes, sels biliaires



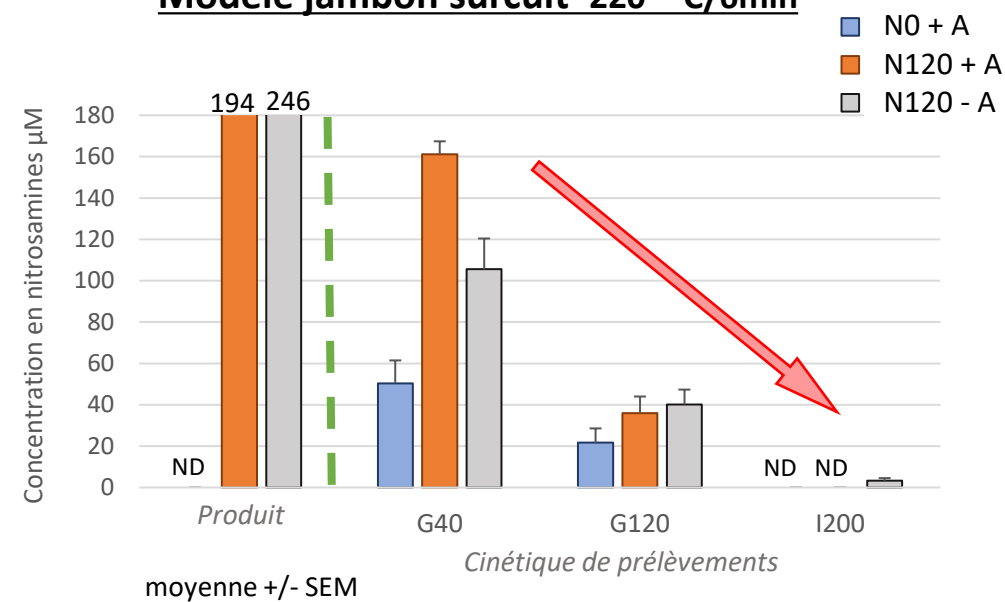


Résultat WP2 : Nitrosamines non volatiles à la digestion

Modèle jambon cuit

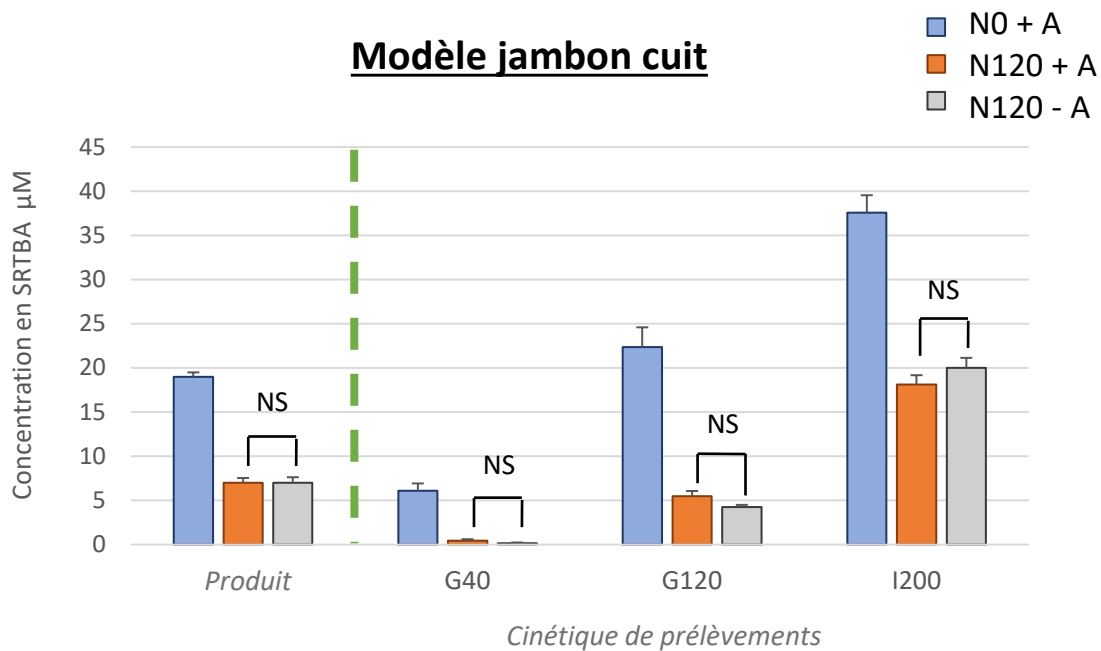


Modèle jambon surcuit 220° C/6min





Résultat WP2 : Oxydation lipidique



Oxydation lipidique 2 fois plus forte en fin de digestion que dans le produit



Oxydation lipidique au cours de la digestion



Effet antioxydant du nitrite



Comme dans le produit



Pas d'effet de l'ascorbate

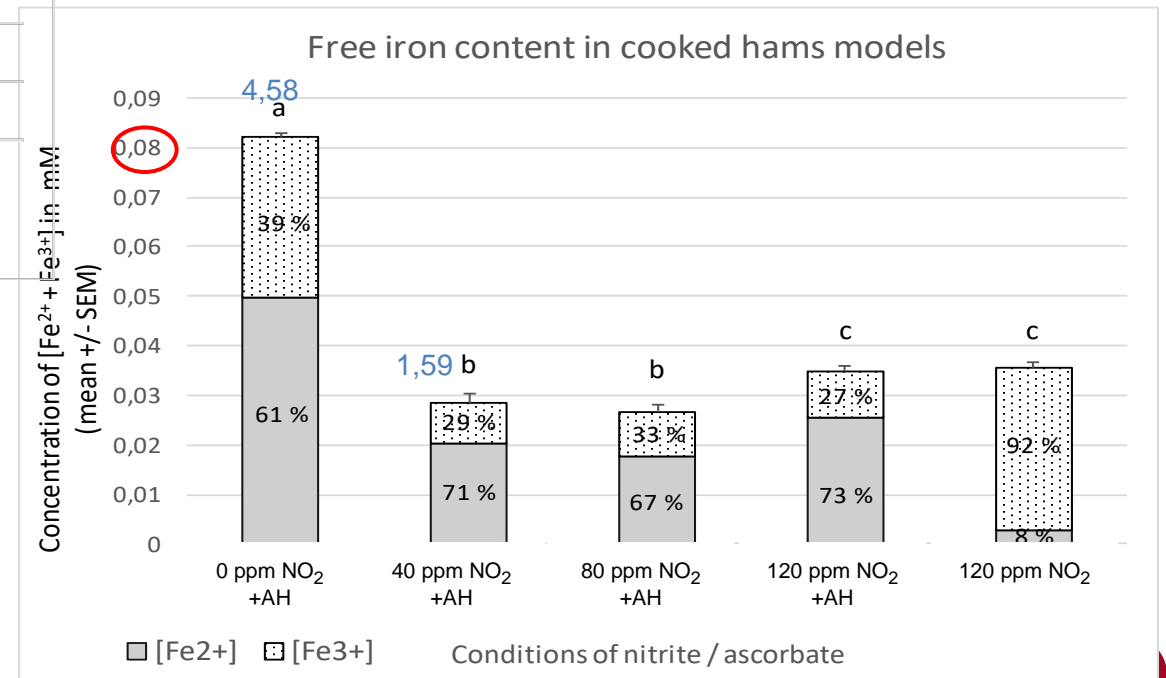
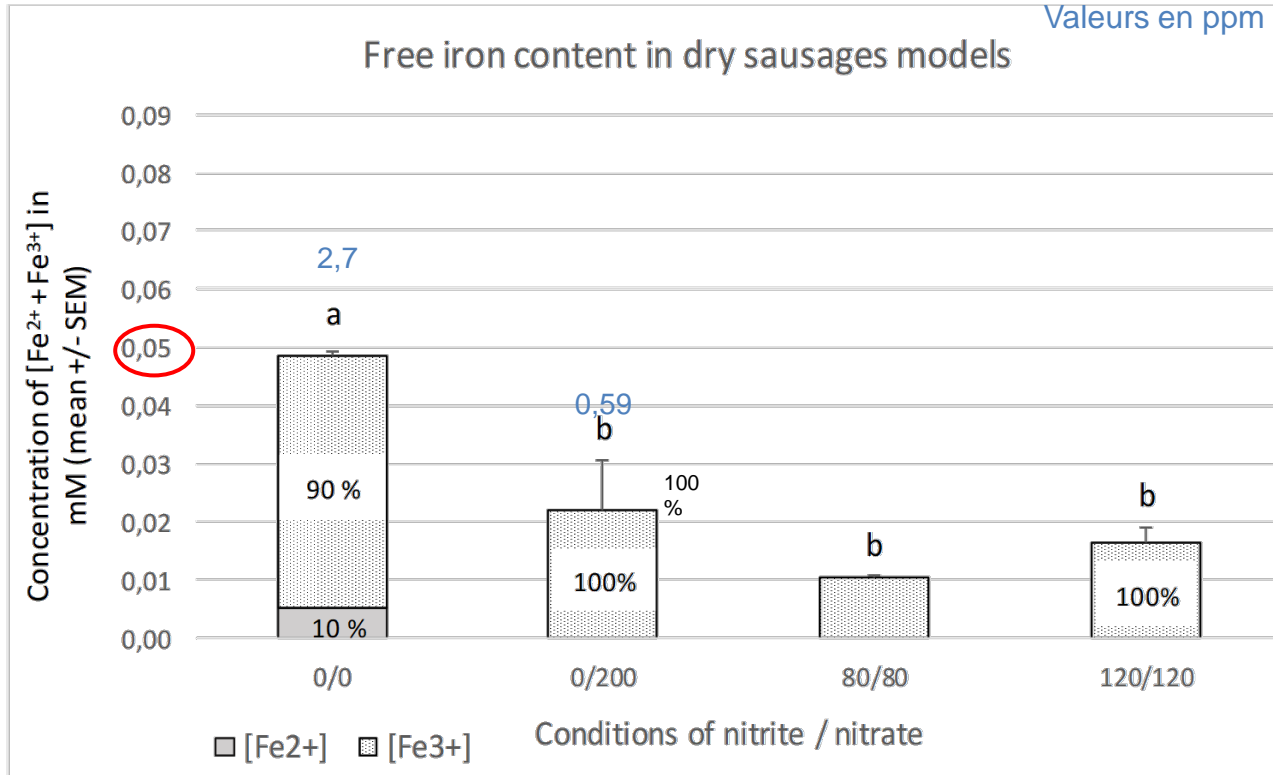


Comme dans le produit

moyenne +/- SEM
NS: non significatif
*** $p < 0,001$

Résultat WP1 : Saucisson sec (1)

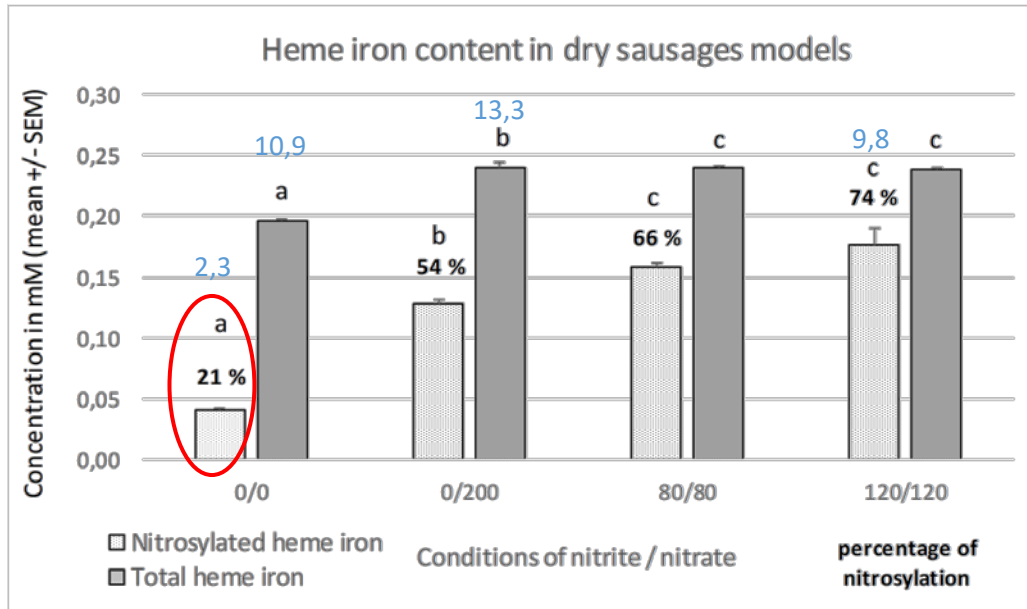
Valeurs en ppm (mg/ kg)



Résultat WP1 : Fer héminique

– Saucissons modèles

Valeurs en ppm (mg/ kg)



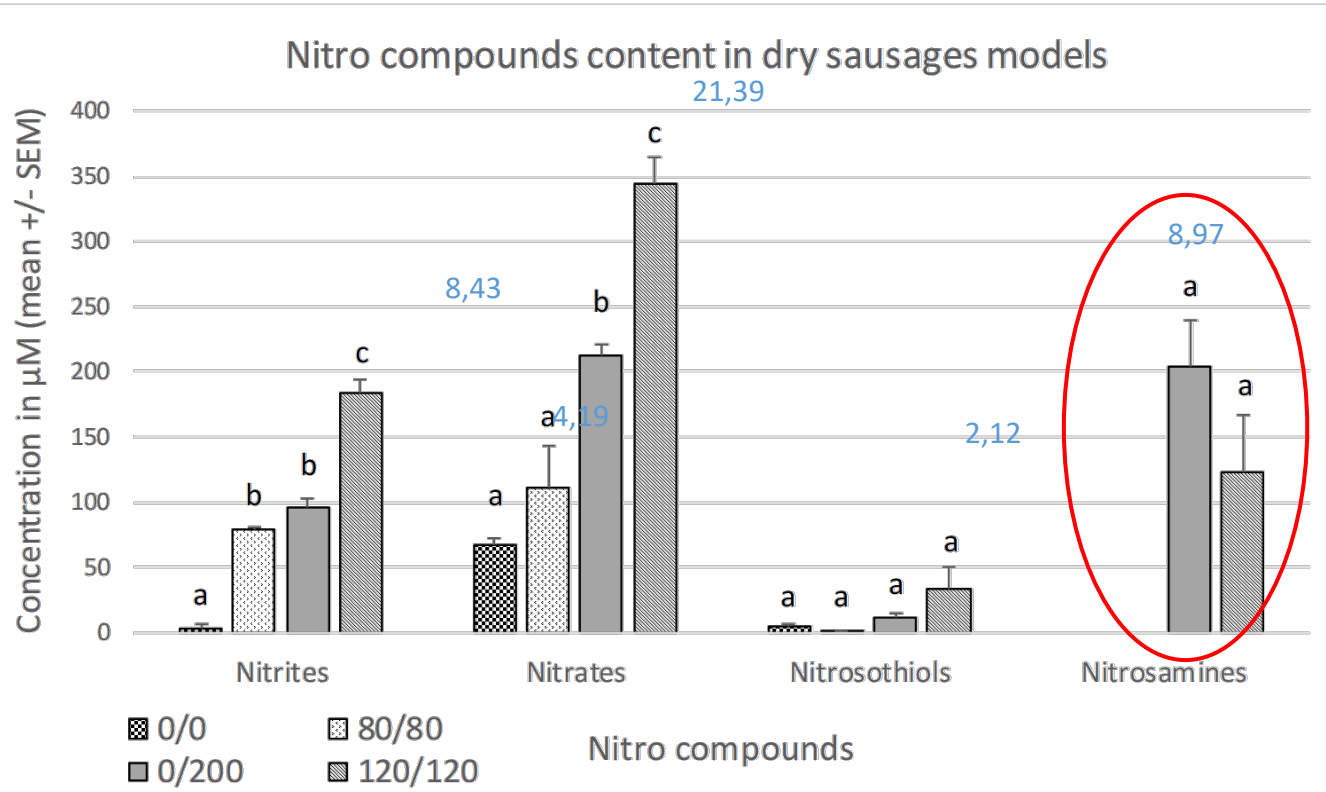
Condition **0/0** : 21% de nitrosylation
→ flore présente (bactéries ammonifiantes et nitrifiantes)



Taux de nitrosylation élevé surtout avec une part de nitrite dans le mélange

Composés nitrés – Saucissons modèles

Valeurs en ppm (mg/ kg)



Augmentation du taux de nitrites et nitrates résiduels avec les taux de nitrite et nitrate ajoutés

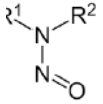


Présence plus forte de nitrosothiols à 120/120, mais effet non significatif

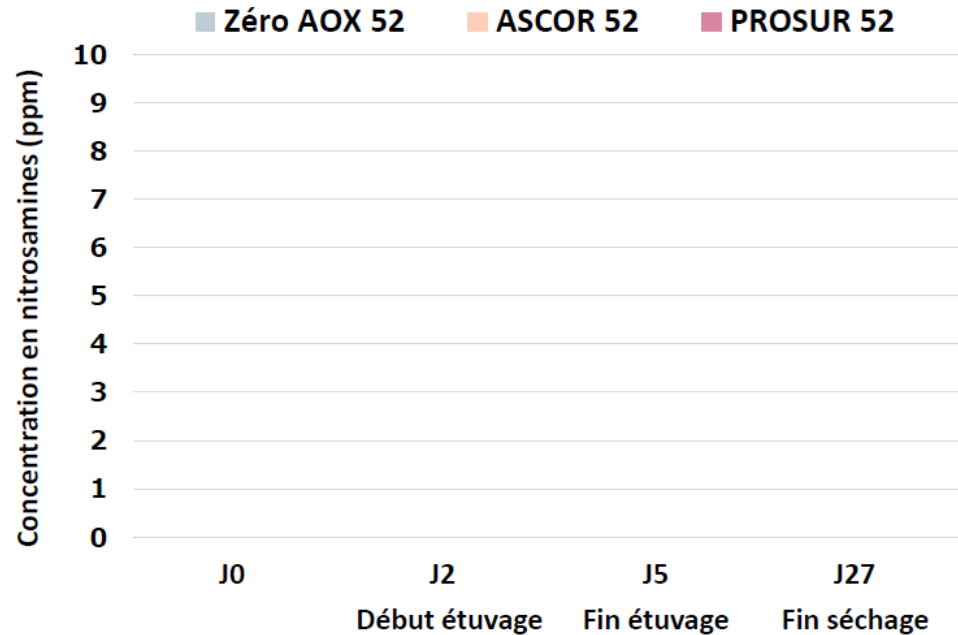


Présence de nitrosamines pour les 2 conditions les plus fortes de nitrite et nitrate ajoutés

**Infirmé dans le programme suivant :
NITROSASEC**



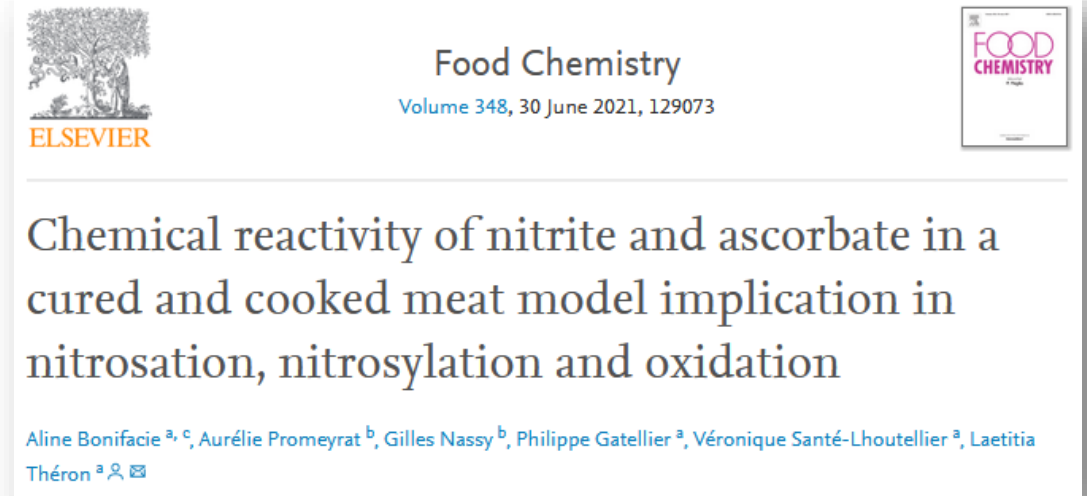
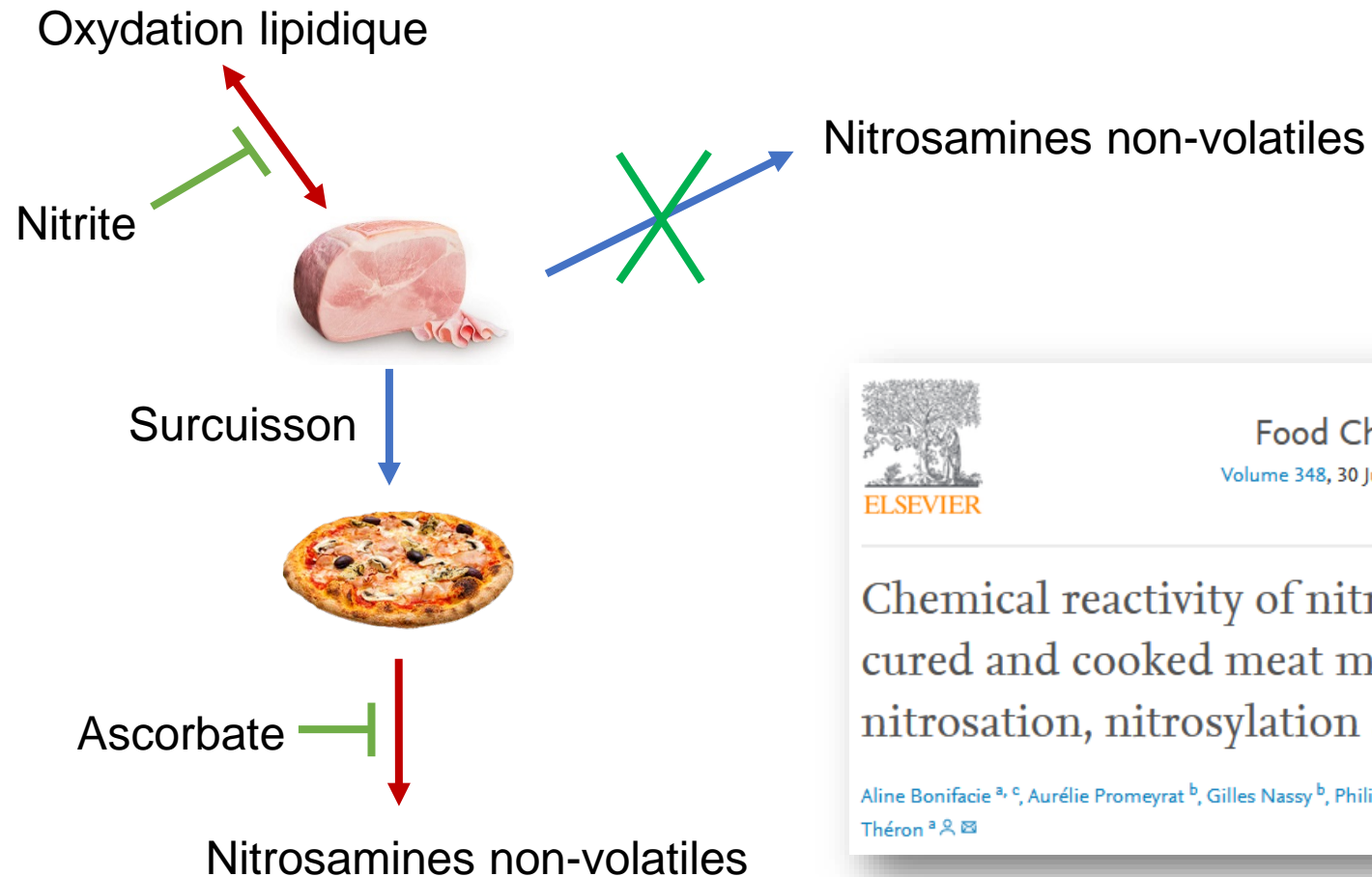
Volet 1 / Modèle saucisson – Nitrosamines



- Zéro AOX : 120/120 ; 0 ascorbate
- ASCOR 52 : 120/120 avec ascorbate
- Prosur 52 : 0/0 avec Prosur

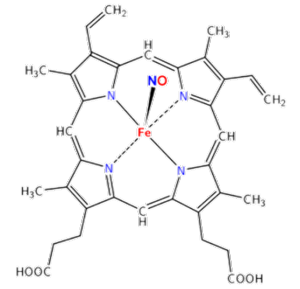
Absence de nitrosamines

Bilan des résultats dans les jambons modèle cuit et surcuit

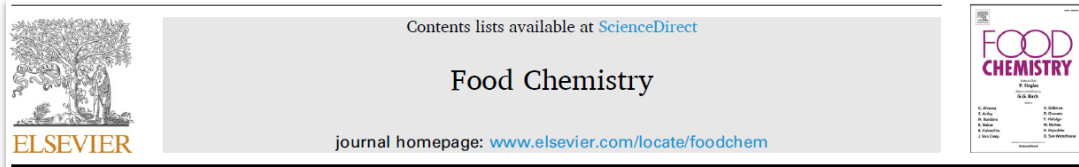


Conclusions

- ❖ Pas de nitrosamines non-volatiles dans les jambons cuits
- ❖ Formation de nitrosamines non-volatiles lors d'une surcuisson de produit cuits nitrités modèles
- ❖ Effet favorable de l'ascorbate contre la formation des nitrosamines non-volatiles à la surcuisson
- ❖ 40 ppm de nitrite est une dose suffisante pour
 - l'apport des propriétés antioxydante du nitrite dans le produit cuit modèle et au cours de sa digestion
 - la nitrosylation dans le produit cuit
- ❖ 80 ppm sont nécessaires aujourd'hui contre Cl.botulinum et pour ralentir Listeria
- ❖ 150 ppm sont nécessaire pour réduire le risque dans le sec
- ❖ Le compartiment gastrique apparaît comme un bioréacteur siège de la réactivité chimique des nitroso-composés qui apparaissent avec zéro nitrite et qui sont amplifiés avec le taux de nitrite



6 Publications



Chemical reactivity of nitrite and ascorbate in a cured and cooked meat model: implication in nitrosation, nitrosylation and oxidation

Aline Bonifacie^{a,c}, Aurélie Promeprat^b, Gilles Nassy^b, Philippe Gatellier^a, Véronique Santé-Lhoutellier^a, Laetitia Théron^{a,*}



Method Article


Determination of nitroso-compounds in food products

Aline Bonifacie^{a,b}, Laurent Aubry^a, Philippe Gatellier^a, Véronique Santé-Lhoutellier^a, Laetitia Théron^{a,*}



Article

New Insights into the Chemical Reactivity of Dry-Cured Fermented Sausages: Focus on Nitrosation, Nitrosylation and Oxidation

Aline Bonifacie^{1,2}, Philippe Gatellier¹, Aurélie Promeprat³, Gilles Nassy³, Laurent Picgirard⁴, Valérie Scislowski⁴, Véronique Santé-Lhoutellier¹  and Laetitia Théron^{1,*}



In vitro digestion of nitrite and nitrate preserved fermented sausages – New understandings of nitroso-compounds' chemical reactivity in the digestive tract

Eléna Keuleyan^a, Aline Bonifacie^{a,b}, Thierry Sayd^a, Angéline Duval^a, Laurent Aubry^a, Sylvie Bourillon^a, Philippe Gatellier^a, Aurélie Promeprat^c, Gilles Nassy^c, Valérie Scislowski^d, Laurent Picgirard^d, Laetitia Théron^a, Véronique Santé-Lhoutellier^{a,*}



Article

Design of an *In Vitro* Model to Screen the Chemical Reactivity Induced by Polyphenols and Vitamins during *In Vitro* Digestion: An Application to Processed Meat

Eléna Keuleyan¹, Aline Bonifacie^{1,2}, Philippe Gatellier¹, Claude Ferreira¹, Sylvie Blinet¹, Aurélie Promeprat³, Gilles Nassy³, Véronique Santé-Lhoutellier¹ and Laetitia Théron^{1,*}

ISTH VIRTUAL CONGRESS 2021 JULY 17-21 ISTH2021.ORG
HOSTED FROM PHILADELPHIA
SCIENCE CONQUERING DISEASE

What are the risks of nitrite and nitrate exposure of consumer eating processed food?
V. SANTE-LHOUTELLER¹, A. BONIFACIE^{1,2}, E. KEULEYAN¹, V. FERRARO¹, P. GATELLIER¹, A. PROMEPRAT³, G. NASSY³, L. PICGIRARD⁴ & L. THERON¹

1 Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement (INRAE), UR370 Qualité des Produits Animaux, F-63122 Saint Genès-Champanelle, France
2 IFIP – Institut du Porc, 7 Avenue du Général De Gaulle, F-94700 Maisons Alfort, France
3 IFIP – Institut du Porc, La motte au Vicomte, BP 35104, F-35561 Le Rheu Cedex, France
4 Association Pour le Développement de l'Industrie de la Viande (ADIV), 10, Rue Jacqueline Auriol, F-63039 Clermont-Ferrand, France

INRAE
ifip Institut du porc OADIV
ORIGINE DÉTERMINÉE



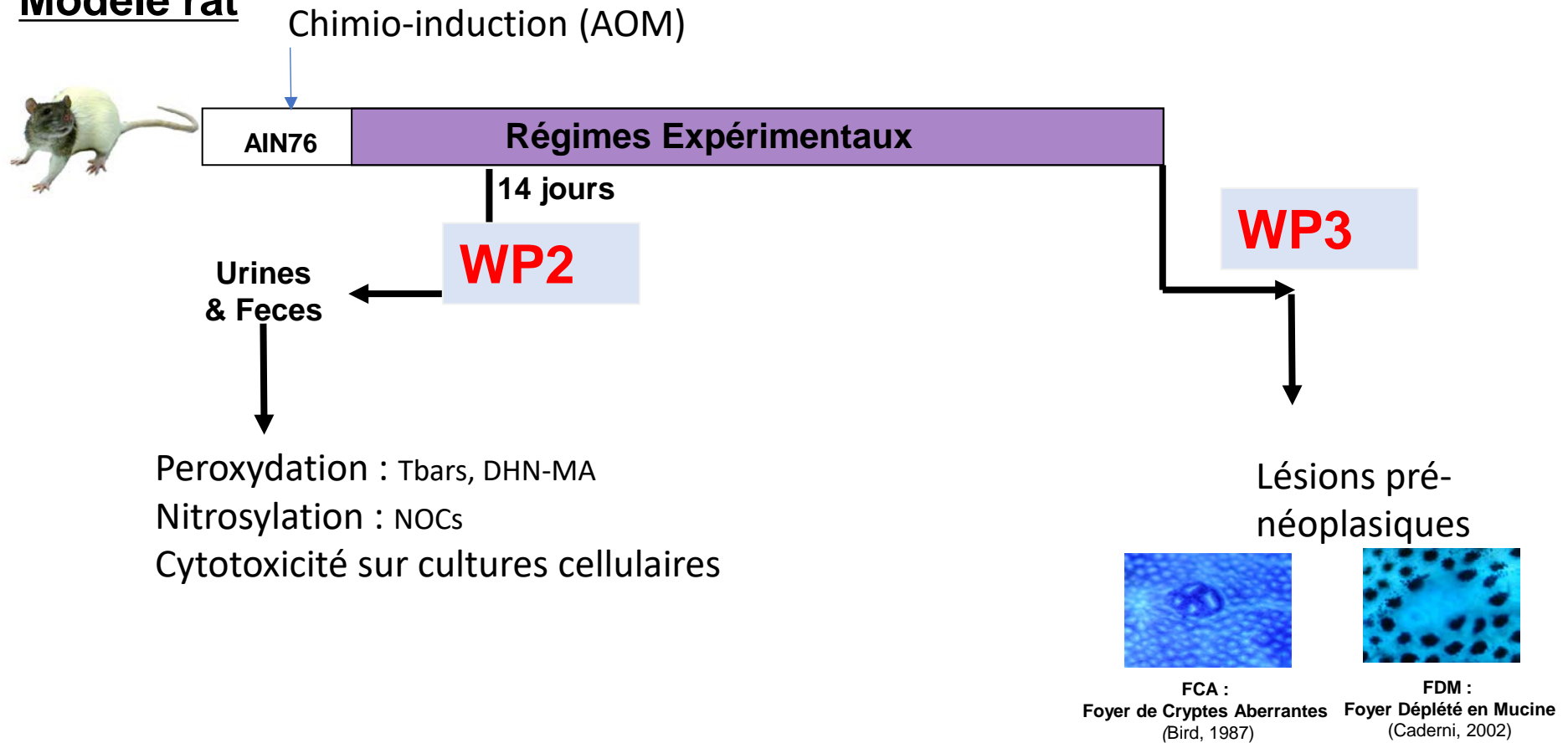
Partenaire de vos innovations

Résultats sur le modèle rat

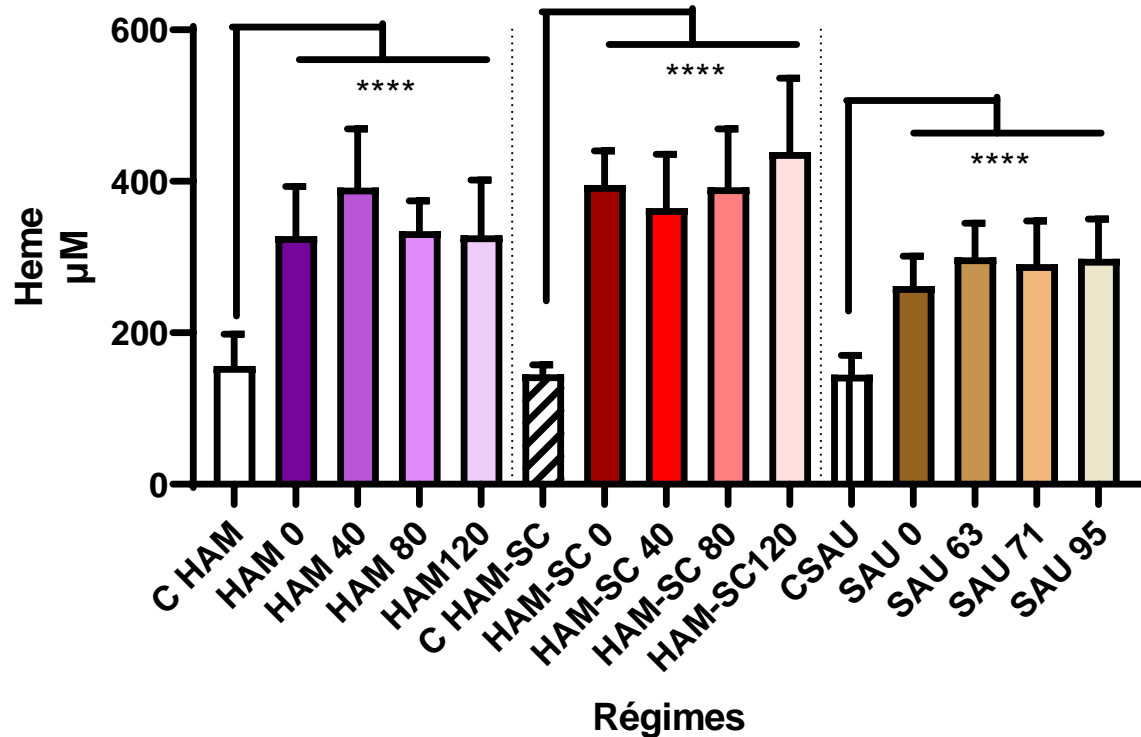


Modèle d'étude *in vivo*

Modèle rat



Résultat WP2 : Concentration lumineuse en fer hémique

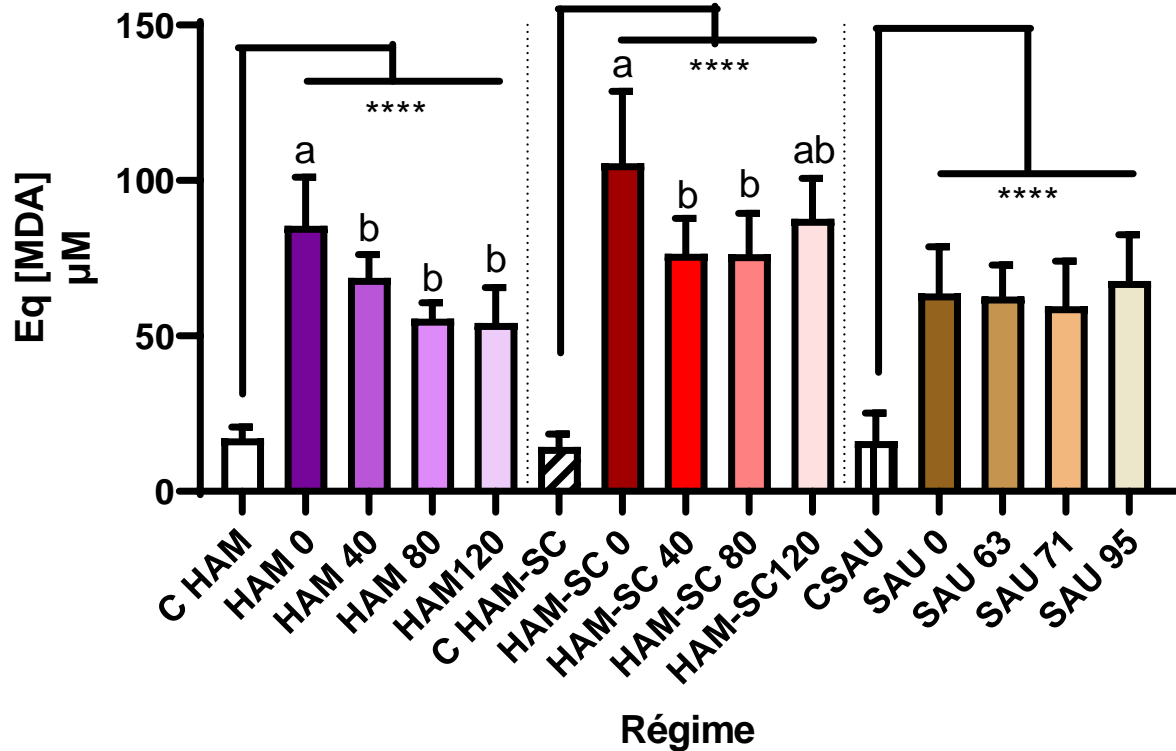


nom / lots	Charcuterie
CHAM	-
HAM-0	nitrites 0ppm
HAM-40	nitrites 40ppm
HAM-80	nitrites 80ppm
HAM-120	nitrites 120ppm
CHAM-SC	-
HAM-SC-0	nitrites 0ppm
HAM-SC-40	nitrites 40ppm
HAM-SC-80	nitrites 80ppm
HAM-SC-120	nitrites 120ppm
CSAU	-
SAU-0	nitrites/nitrites 0ppm NO
SAU-63	nitrites/nitrites 80/80ppm ≈ 63ppm NO
SAU-71	nitrites/nitrites 200/0ppm ≈ 71ppm NO
SAU-95	nitrites/nitrites 120/120ppm ≈ 95ppm NO

- Comme attendu, nous retrouvons du **fer hémique dans toutes les eaux fécales des rats ayant consommé des charcuteries modèles** en quantité très significativement plus importante que dans les eaux fécales des rats soumis à un régime témoin.
- Les différentes concentrations de nitrites/nitrates n'ont **pas eu d'effet sur la concentration d'hème** dans les eaux fécales

Résultat WP2 : Peroxydation lipidique luminale

nom / lots	Charcuterie
CHAM	-
HAM-0	nitrites 0ppm
HAM-40	nitrites 40ppm
HAM-80	nitrites 80ppm
HAM-120	nitrites 120ppm
CHAM-SC	-
HAM-SC-0	nitrites 0ppm
HAM-SC-40	nitrites 40ppm
HAM-SC-80	nitrites 80ppm
HAM-SC-120	nitrites 120ppm
CSAU	-
SAU-0	nitrites/nitrites 0ppm NO
SAU-63	80/80ppm ≈ 63ppm NO
SAU-71	200/0ppm ≈ 71ppm NO
SAU-95	120/120ppm ≈ 95ppm NO



Les TBARS fécaux, reflétant la peroxydation lipidique luminale colique, sont **très significativement augmentés dans les eaux fécales des rats nourris avec des charcuteries** par rapport aux eaux fécales des rats soumis à un régime témoin.

Jambons modèles: les nitrites permettent de diminuer cet index, et cela dès 40 ppm, sans réel effet dose

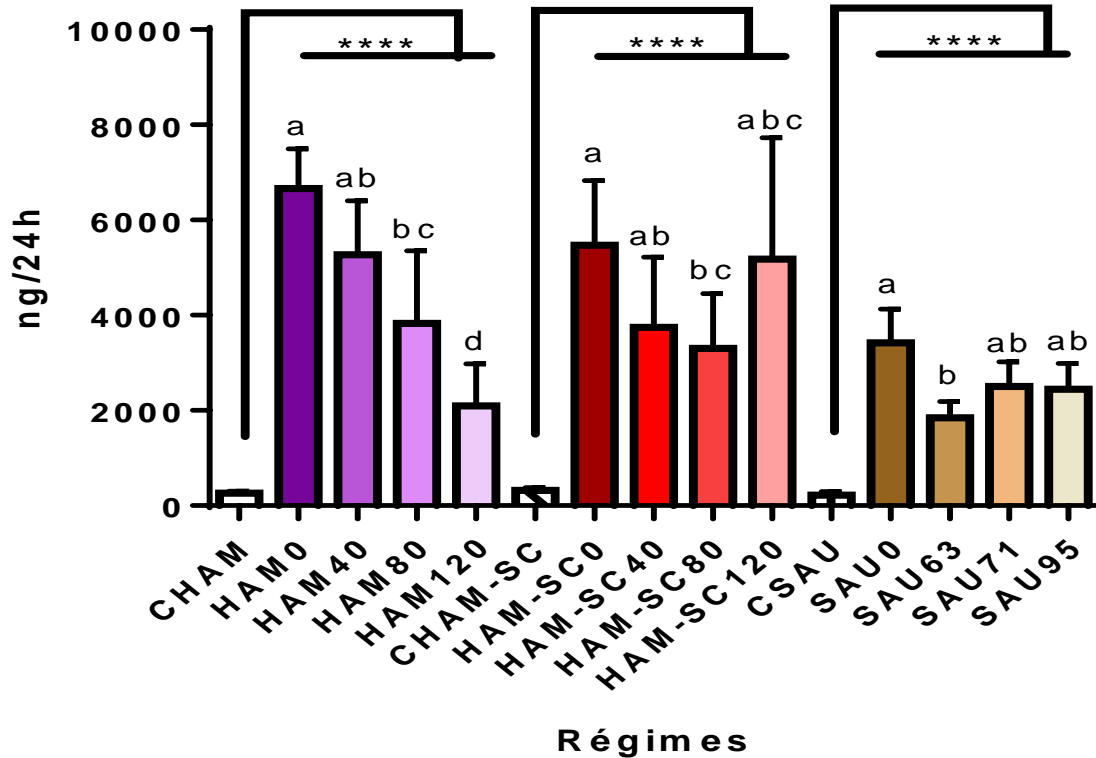
Jambons modèles surcuits : résultat comparable au jambon « normal »

Saucissons: pas d'effet des nitrites/nitrates

Marqueur urinaire de la peroxydation lipidique

nom / lots	Charcuterie
CHAM	-
HAM-0	nitrites 0ppm
HAM-40	nitrites 40ppm
HAM-80	nitrites 80ppm
HAM-120	nitrites 120ppm
CHAM-SC	-
HAM-SC-0	nitrites 0ppm
HAM-SC-40	nitrites 40ppm
HAM-SC-80	nitrites 80ppm
HAM-SC-120	nitrites 120ppm
CSAU	-
SAU-0	nitrites/nitrites 0ppm ≈ 0ppm NO
SAU-63	80/80ppm ≈ 63ppm NO
SAU-71	200/0ppm ≈ 71ppm NO
SAU-95	nitrites/nitrites 120/120ppm ≈ 95ppm NO

DHN-MA dans les urines



Le DHN-MA urinaire, reflétant la peroxydation lipidique « globale » (aliment, tractus digestif supérieur + intestin grêle + côlon), est aussi **très significativement augmenté dans les urines des rats nourris avec des charcuteries** par rapport aux urines des rats soumis à un régime témoin.

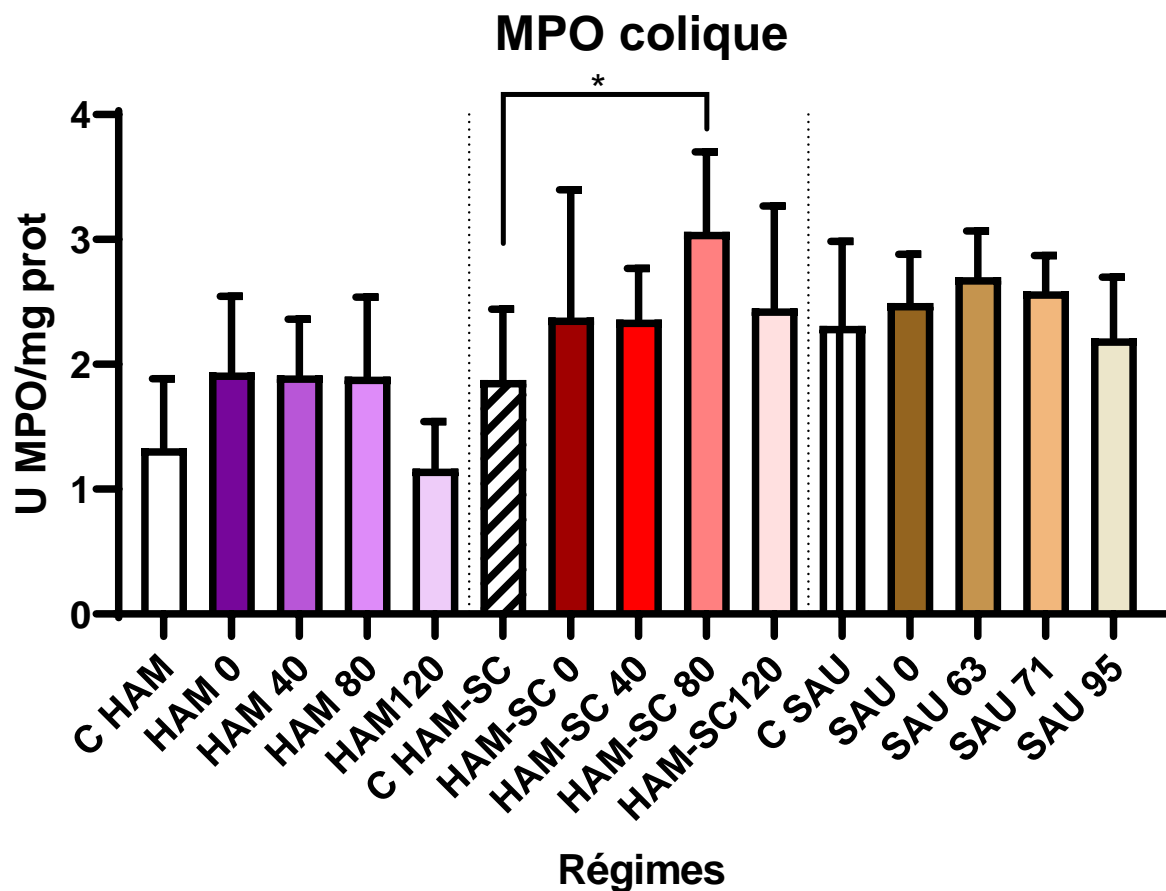
Jambons modèles : les nitrites permettent de diminuer ce biomarqueur, avec un effet dose

Jambon modèles surcuits : résultat comparable au jambon « normal », avec cependant un contre effet à la forte dose de nitrites (grosse variabilité dans les résultats)

Saucisson: seulement un effet des nitrates/nitrites 80/80 ?

Aucune des doses ne permet de retourner à la situation des témoins (DHN-MA et TBARS)

Résultat WP2 : Inflammation colique



nom / lots	Charcuterie
CHAM	-
HAM-0	nitrites 0ppm
HAM-40	nitrites 40ppm
HAM-80	nitrites 80ppm
HAM-120	nitrites 120ppm
CHAM-SC	-
HAM-SC-0	nitrites 0ppm
HAM-SC-40	nitrites 40ppm
HAM-SC-80	nitrites 80ppm
HAM-SC-120	nitrites 120ppm
CSAU	-
SAU-0	nitrites/nitrites 0ppm ≈ 0ppm NO
SAU-63	nitrites/nitrites 80/80ppm ≈ 63ppm NO
SAU-71	nitrites/nitrites 200/0ppm ≈ 71ppm NO
SAU-95	nitrites/nitrites 120/120ppm ≈ 95ppm NO

La MPO colique, reflétant l'inflammation de la muqueuse colique, **n'est pas significativement augmentée par les régimes charcuteries**, sauf de façon marginale par le jambon surcuit avec 80 ppm de nitrites.

■ Le nitrite a un rôle ambivalent :

- Favorable pour réduire l'oxydation et limiter l'apparition des aldéhydes (alcénals génotoxiques et cytotoxiques)
- Défavorable car augmente le taux de nitrosamines dans les produits surcuits ou le saucisson sans ascorbate
- Très efficace du point de vue microbiologique

■ L'ascorbate est complémentaire du nitrite

- En protégeant la forme Fe^{2+} du fer
- En favorisant la nitrosylation (Fe-NO) et défavorisant la nitrosation (nitrosamine)

■ Les charcuteries/salaisons sont peu exposées à la nitrosation (nitrosamines) sauf si

- Elles ont été surcuites: les nitrosamines apparaissent dans les produits et lors de la digestion.
- Elles ne sont pas protégées en milieu réducteur

■ Sur le modèle rat

- On retrouve l'effet oxydant des produits carnés riches en fer vs le témoin en particulier dans les fèces
- On retrouve l'effet anti oxydant du nitrite qui réduit cette oxydation sans l'éliminer.

■ Sur les produits **nitrités avec ascorbate** :

- Une bonne protection contre l'oxydation grâce au nitrite
- Pas de nitrosamine grâce à l'ascorbate

■ Sur les produits **nitrités surcuits**

- Beaucoup d'oxydation lors de la digestion
- Beaucoup de nitrosamines non volatiles dans le produit et durant la digestion

■ Sur les produits **consommés froids non protégés par de l'ascorbate et du nitrite** :

- Beaucoup de composés d'oxydation
- Présence de nitrosamines durant la digestion dont le taux diminue dans l'estomac durant la digestion

■ Pour les produits à risques des anti-oxydants de protection sont nécessaires :

- Charcuteries nitritées surcuites
- Charcuteries nitritées sans réducteur
- Charcuteries sans nitrite ni anti-oxydants

Projets complémentaires:

- WP3 ,
- Phytonut,
- Subnitrite,
- Nitrosasec



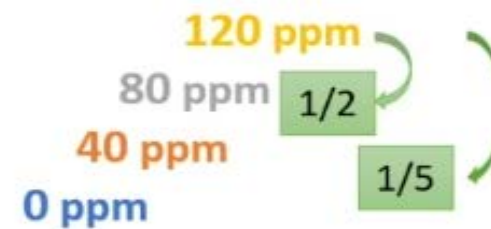
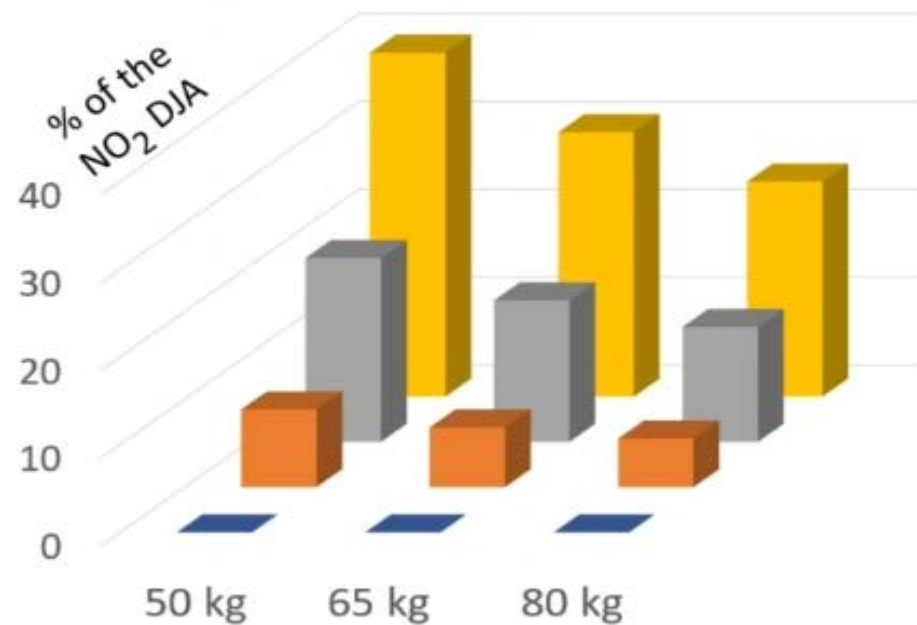
Partenaire de vos innovations

WP3 et Phytonut

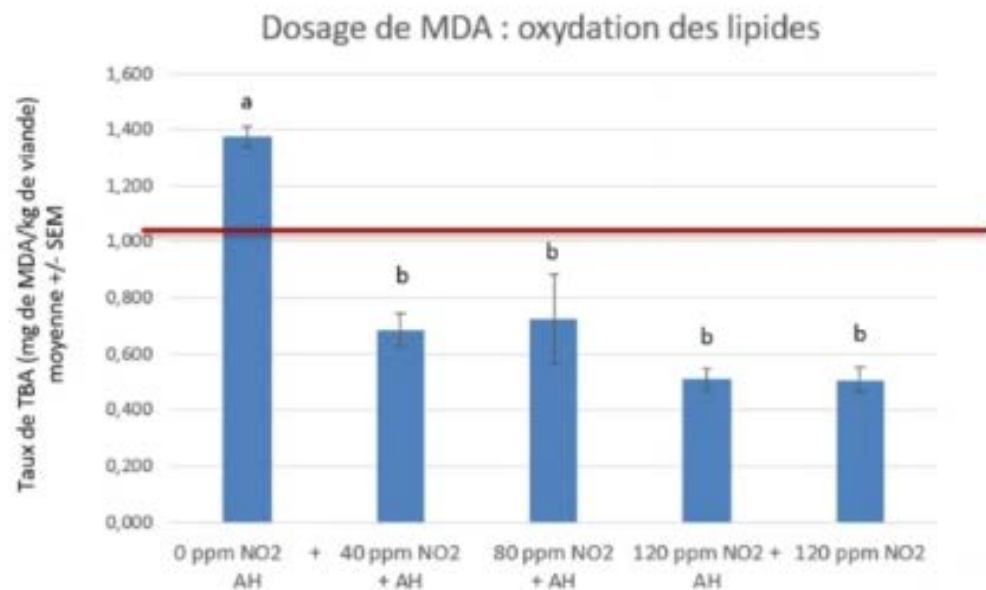


➤ Réduire l'exposition aux NO₂

NO₂ 0,07 mg/kg pc/jour -> tranche de jambon de 50g



➤ Jambon : Absence de nitrites -> oxydation



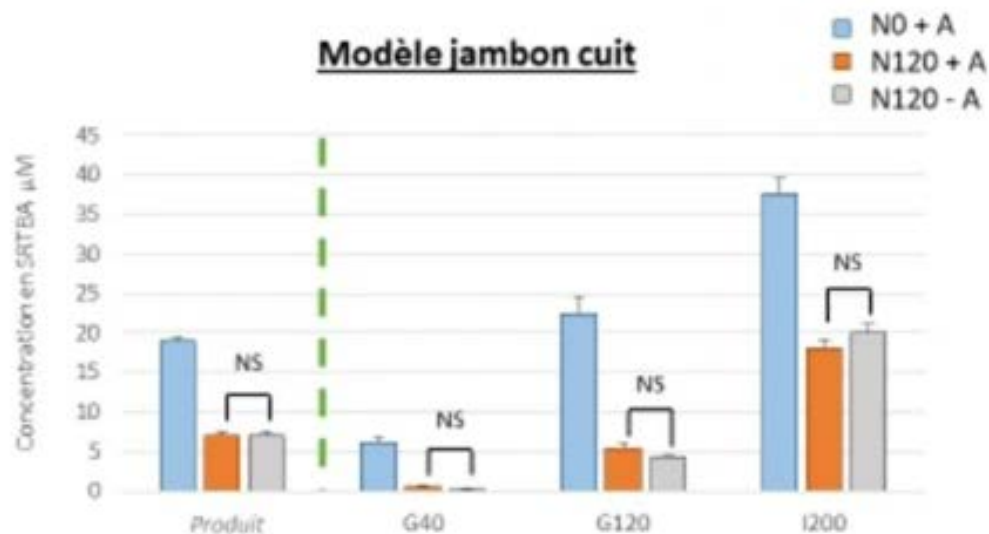
Relation entre les valeurs de TBA et la rancidité des produits.
Niveau de risque organoleptique



INRAE

Conseil Scientifique ADDUITS

➤ Digestion: source d'oxydation



moyenne +/- SEM
 NS: non significatif
 *** p<0,001

➔ Oxydation lipidique 2 fois plus forte en fin de digestion que dans le produit

➔ Oxydation lipidique au cours de la digestion

➔ Effet antioxydant du nitrite

➔ Comme dans le produit



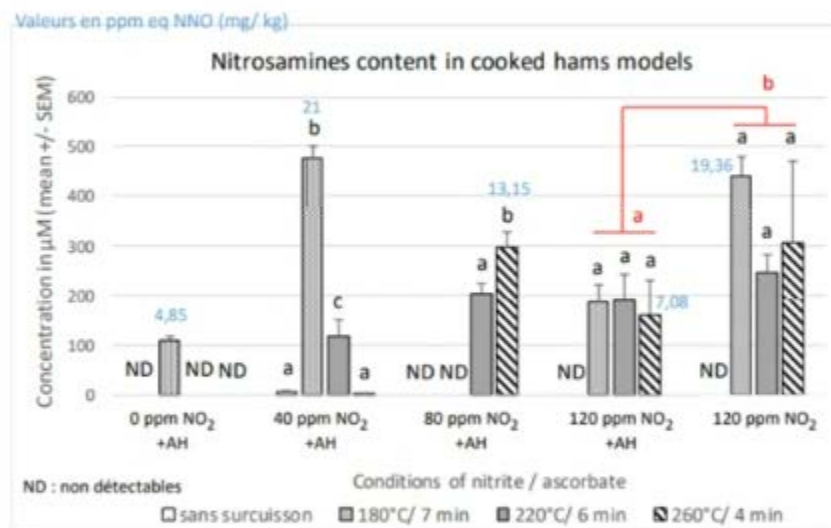
INRAE

Conseil Scientifique ADDUITS

M. Lopez, B. V. Santal, J. Bourdellier

➤ Jambons comme ingrédient

Rôle néfaste de la surcuisson



- ➔ Le nitrite ajouté a un effet sur les nitrosamines
- ➔ 0 ppm Nitrite : pas ou peu de nitrosamines formées
- ➔ De 40 à 120 ppm Nitrite, Très peu de nitrosamines détectées dans le jambon cuit modèle
- ➔ Un effet défavorable de la surcuisson
- ➔ Très peu de nitrosamine formées sans surcuisson
- ➔ Augmentation globale du taux de nitrosamines à la surcuisson

➔ L'ascorbate limite la formation de nitrosamines à la surcuisson (indépendamment des conditions temps/température de surcuisson)



INRAE

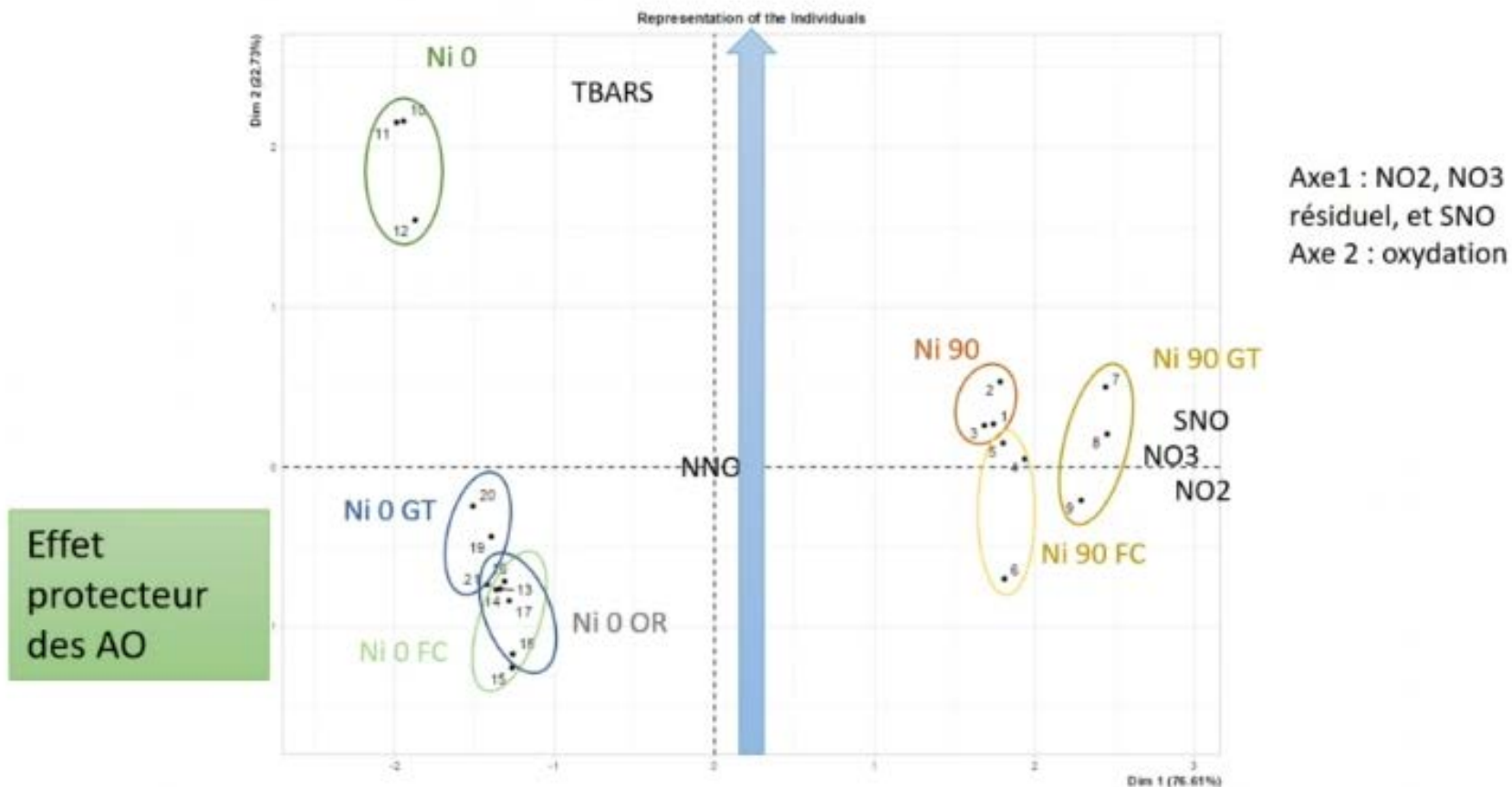
Conseil Scientifique ADDUITS

V Lopez & V Santé-Lhoutellier

> reformulation



Choix des AO -> thèse de Charlène Sirvins 2024



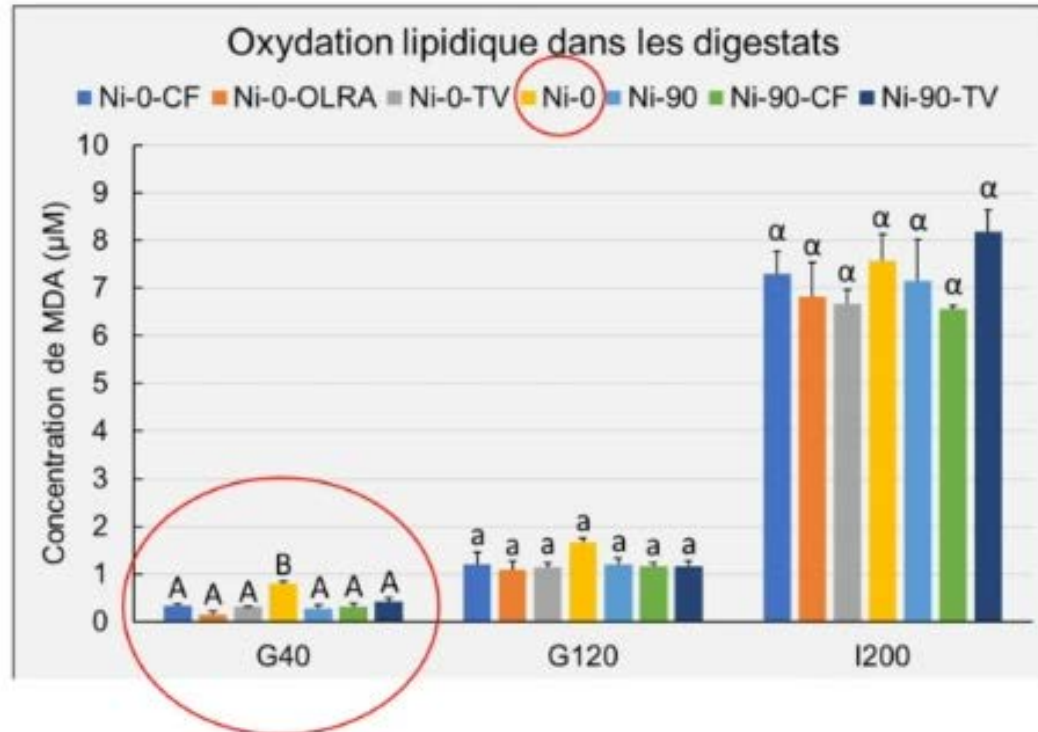
INRAE

Conseil Scientifique ADDUITS

V Lopez & V Santé-Ihoutellier

➤ Protection des AO au début de la digestion

Pas effet synergique 90ppm NO₂ et AO



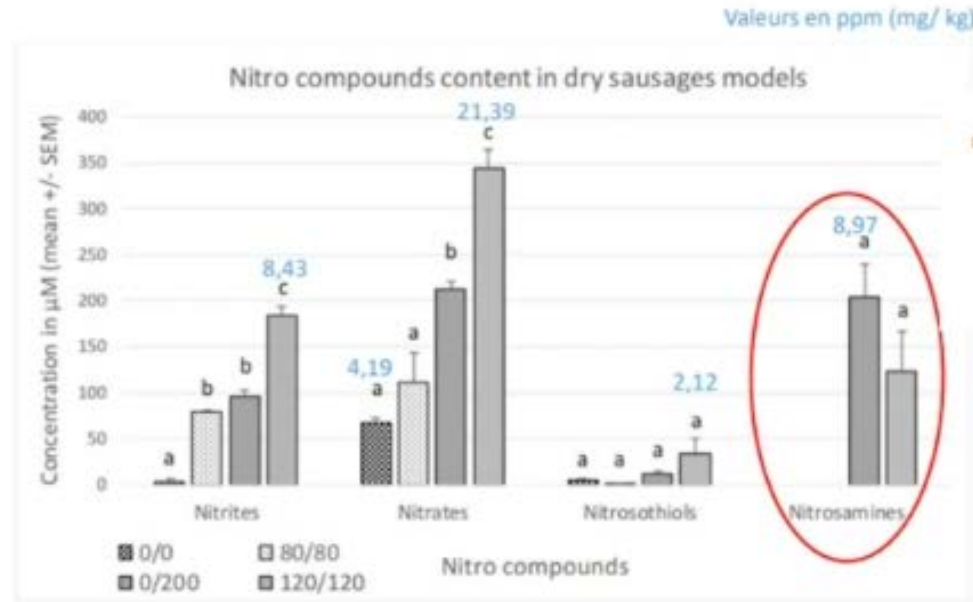
INRAE

Conseil Scientifique ADDUITS

V Lopez & V Santé-Lhoutellier

> Saucissons

Réduction des apports NO₂/NO₃ et absence



Présence de nitrosamines pour les 2 conditions les plus fortes de nitrite et nitrate ajoutés
Infirmé dans le programme suivant : NITROSASEC

Rôle des ferments / de la matière première?

Augmentation du taux de nitrites et nitrates résiduels avec les taux de nitrite et nitrate ajoutés



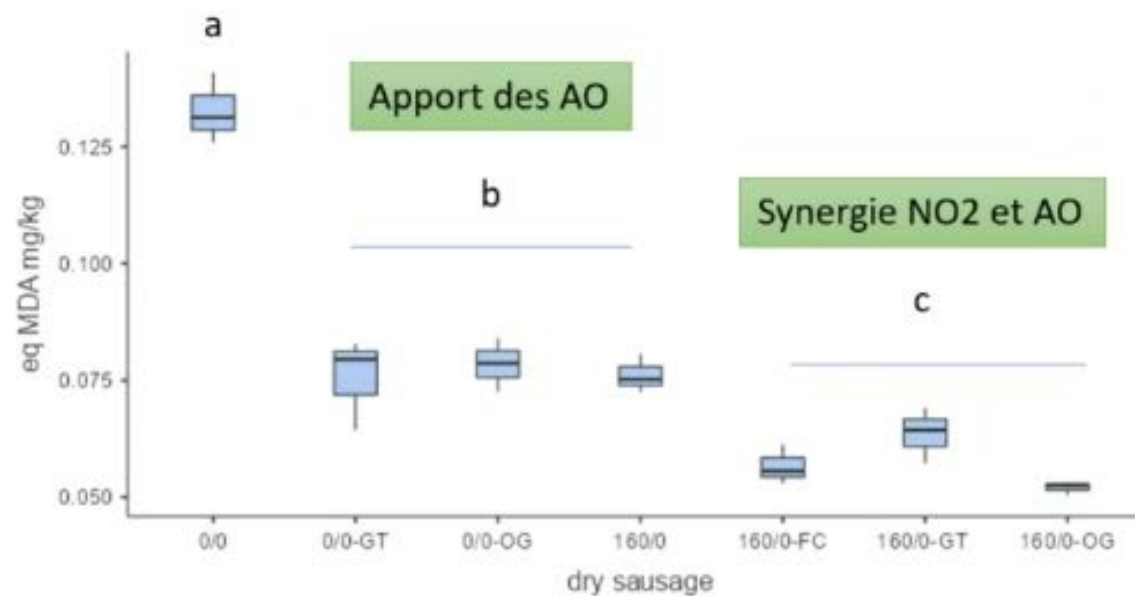
INRAE

Conseil Scientifique ADDUITS

V Lopez & V Santé-Lhoutellier

➤ Reformulation saucisson

Choix des AO -> thèse de Charlène Sirvins 2024

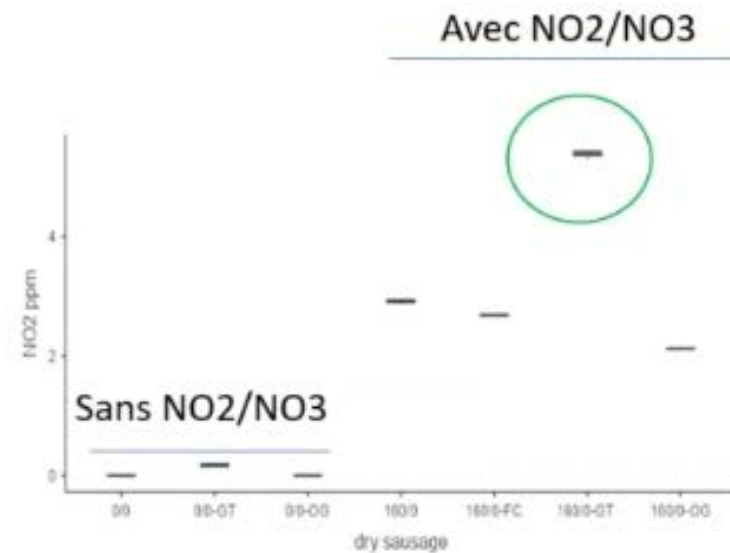
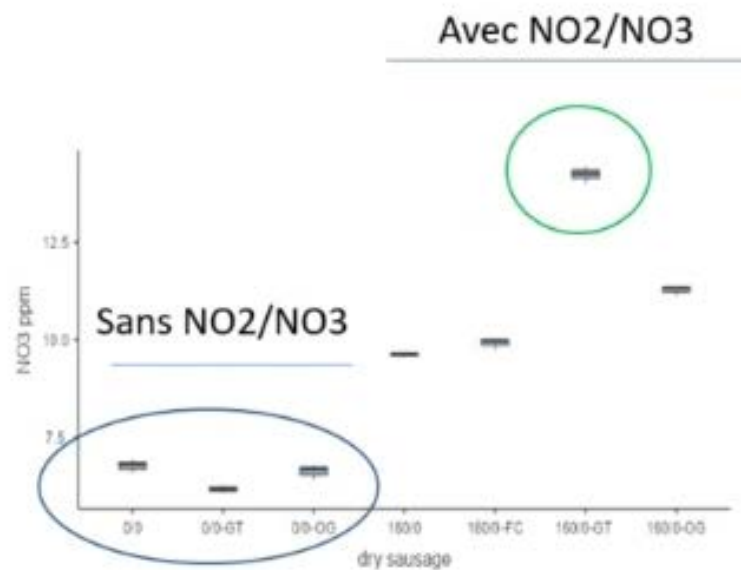


INRAE

Conseil Scientifique ADDUITS

V Lopez & V Santé-Lhoutellier

➤ NO3 et NO2 résiduels



Thé vert : apport de NO3

Absence de NNO et RSNO



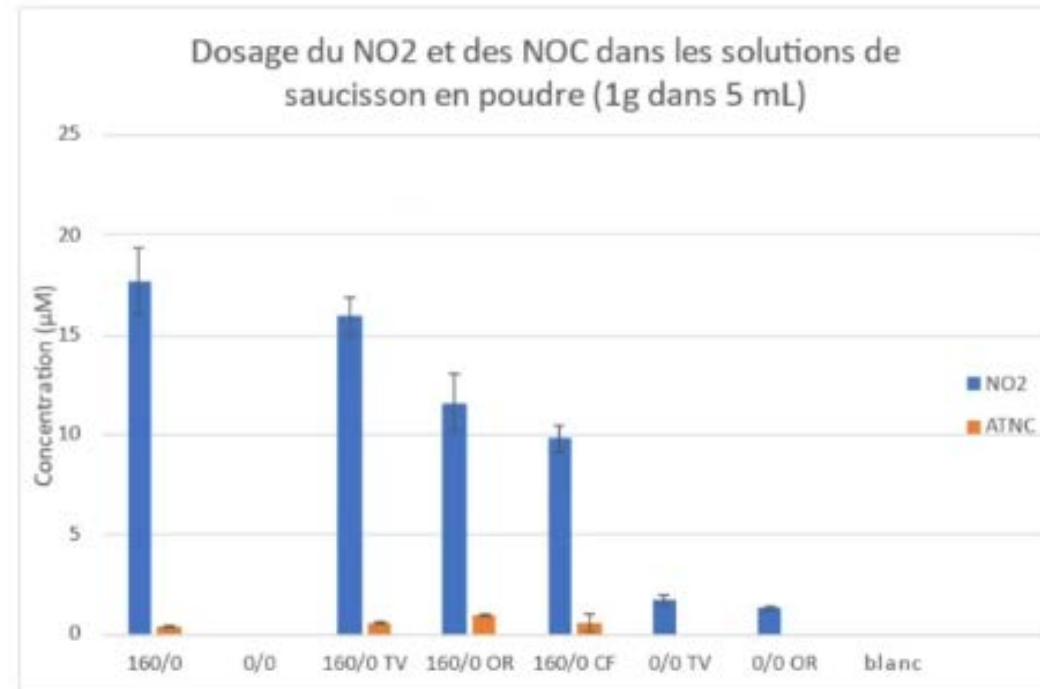
INRAE

Conseil Scientifique ADDUITS

Unité de Recherche Systèmes d'Élevage

➤ ATNC saucissons reformulés

Développement de méthodologie CLD88



Pas d'ATNC en absence de NO₃
Niveau NO₂ résiduel basal <2μM



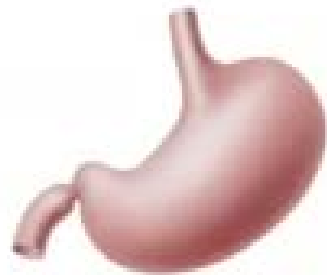
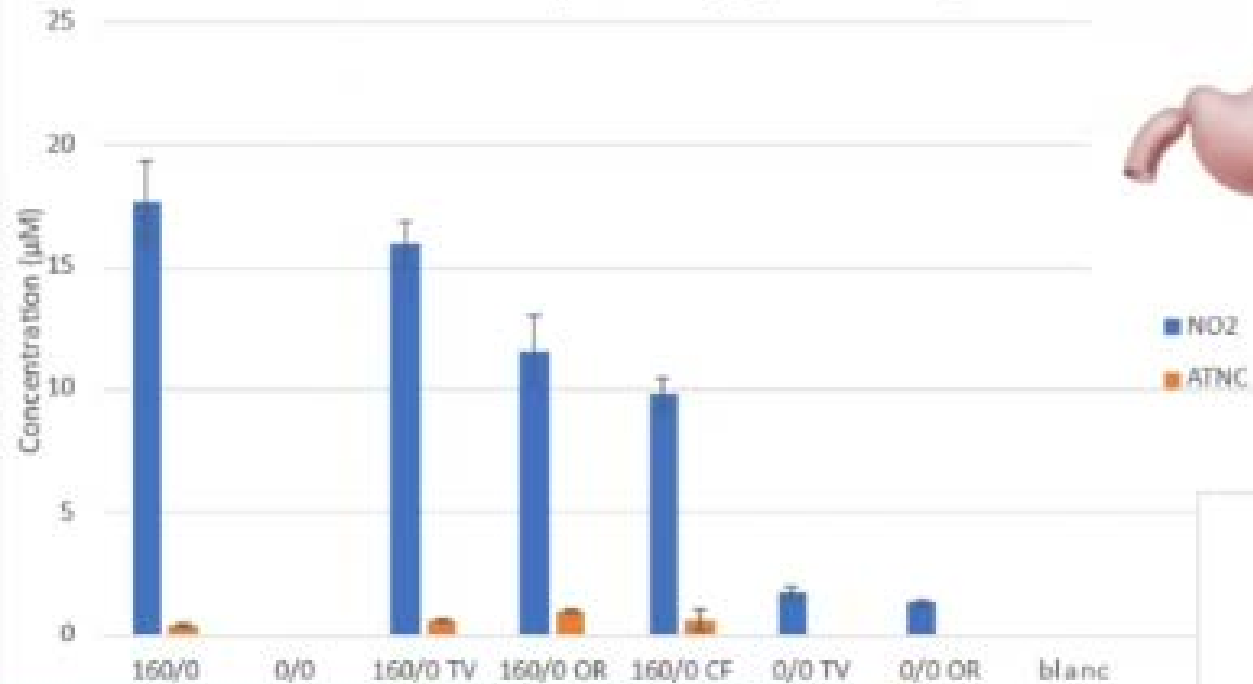
INRAE

Conseil Scientifique ADDUITS

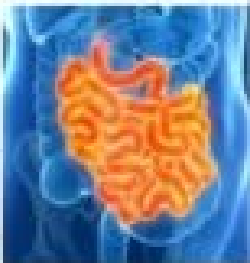
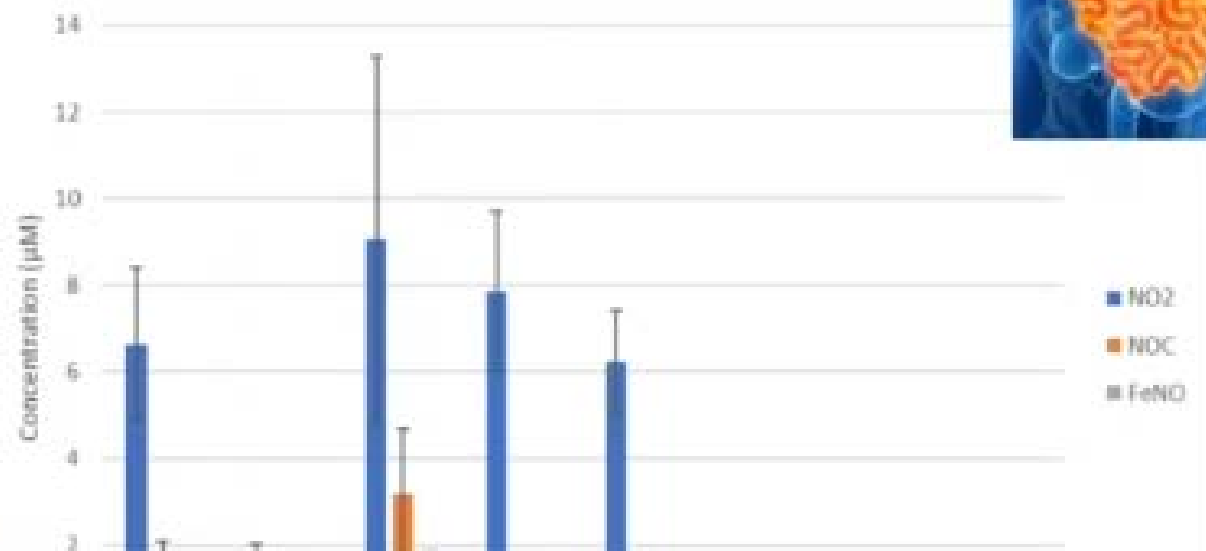
V Lopez & V Santé-Lhoutellier



Dosage du NO₂ et des NOC dans les solutions de saucisson en poudre (1g dans 5 mL)



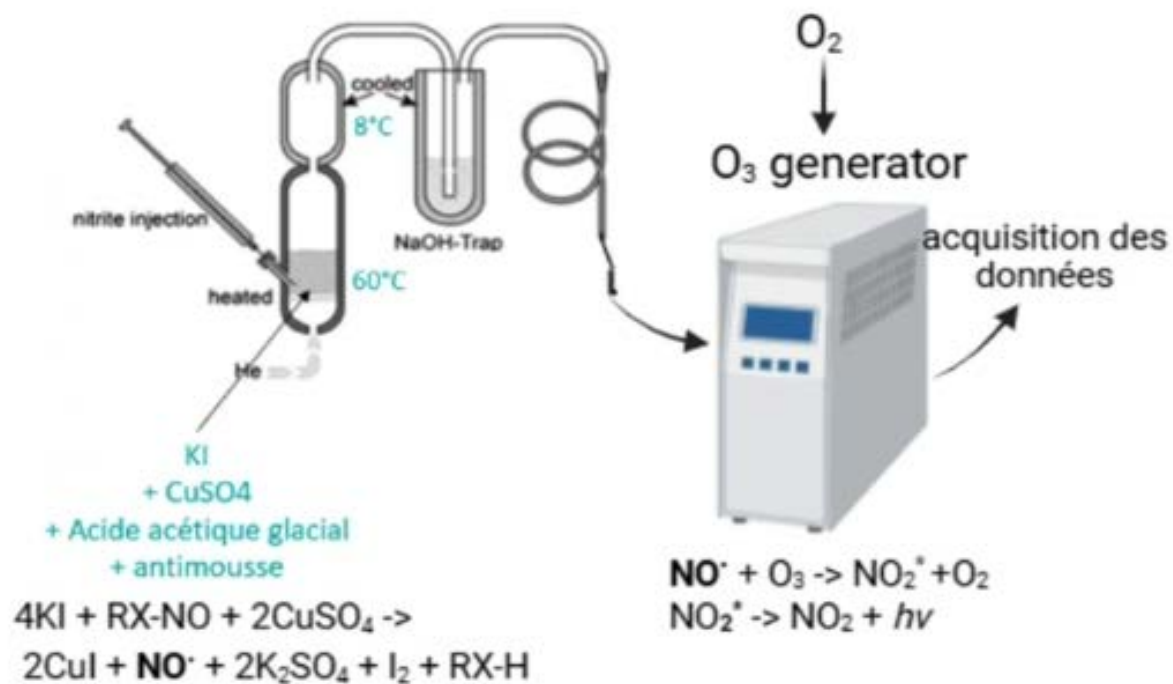
Concentration en NO₂ résiduels et ATNC dans les échantillons intestinaux I240



ATNC < 1 µM en présence de NO₃
NO₂ en présence de NO₃ ajoutés

➤ Dosage des composés nitrés et nitrosés par chimiluminescence dans des matrices carnées / digestats / eaux fécales

CLD88



INRAE

Conseil Scientifique ADDUITS

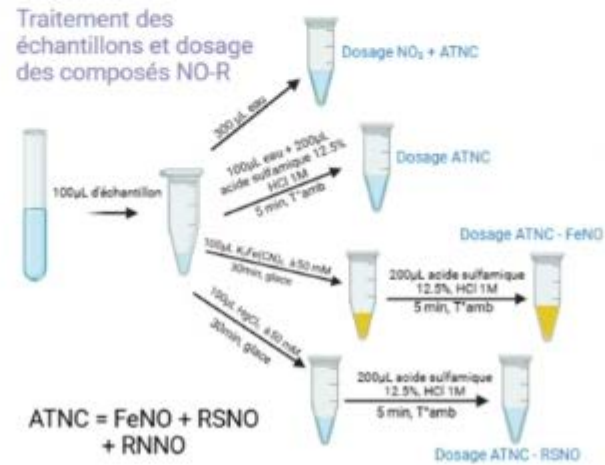
V. Lopez & V. Santé-Lhoutellier

➤ Dosage des composés nitrés et nitrosés par chimiluminescence dans des matrices carnées / digestats / eaux fécales

1. Phase d'extraction



2. Traitement des échantillons



➤ Prosur

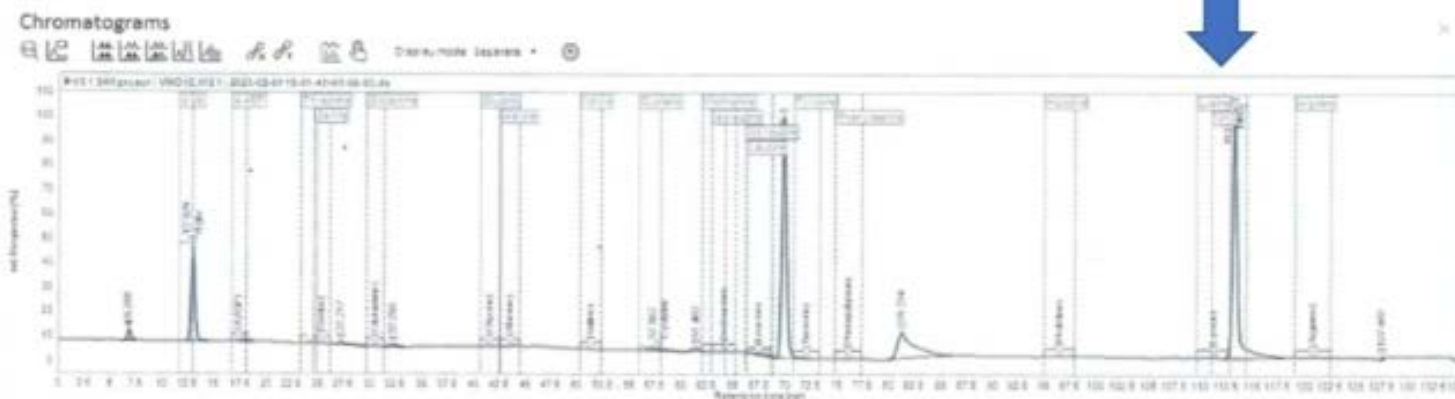
Analyse

- 4g lysine /100g de matière sèche
- Pas de nitrite résiduel, ni de nitrate résiduel

Apport sous forme d'hydrochlorure de lysine E642?

Analyse par HPLC montre le pic de lysine et d'hydrochlorure de lysine sorte exactement au même temps de rétention (éluant H₂O/détection UV)

-> pas conclusif sur la source de lysine



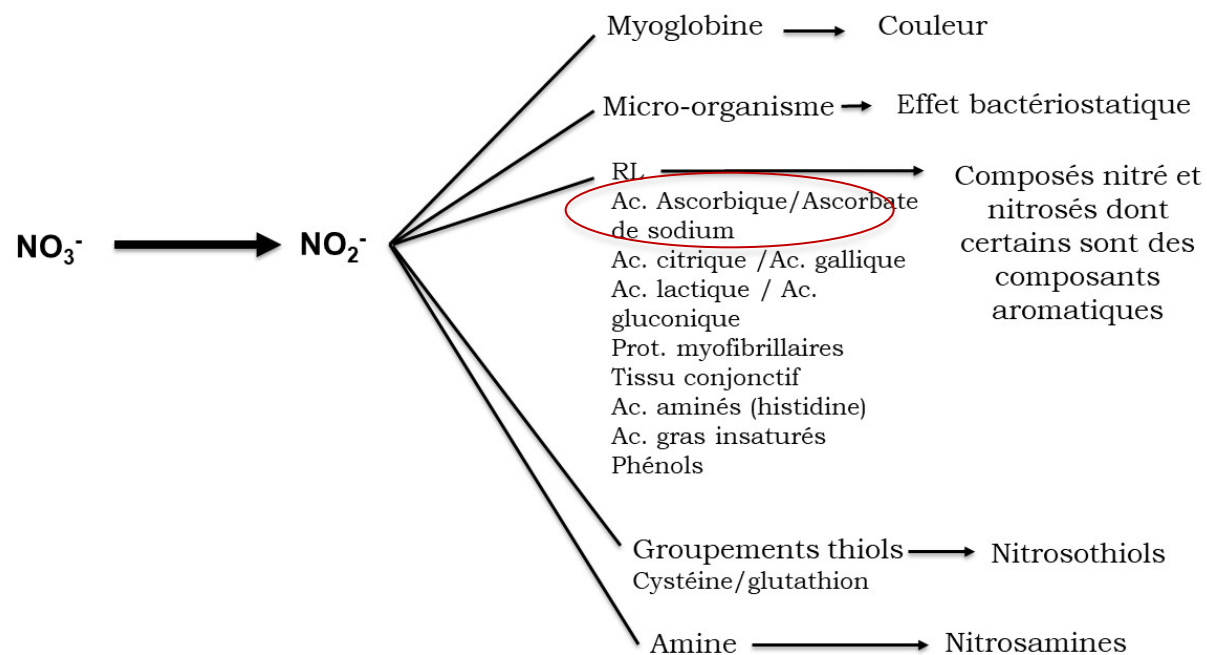
INRAE

Conseil Scientifique ADDUITS

V Lopez & V Santé-Lhoutellier

Hypothèses - Différents sites de fixation du NO....

Nitrites = trop réactif pour être libre

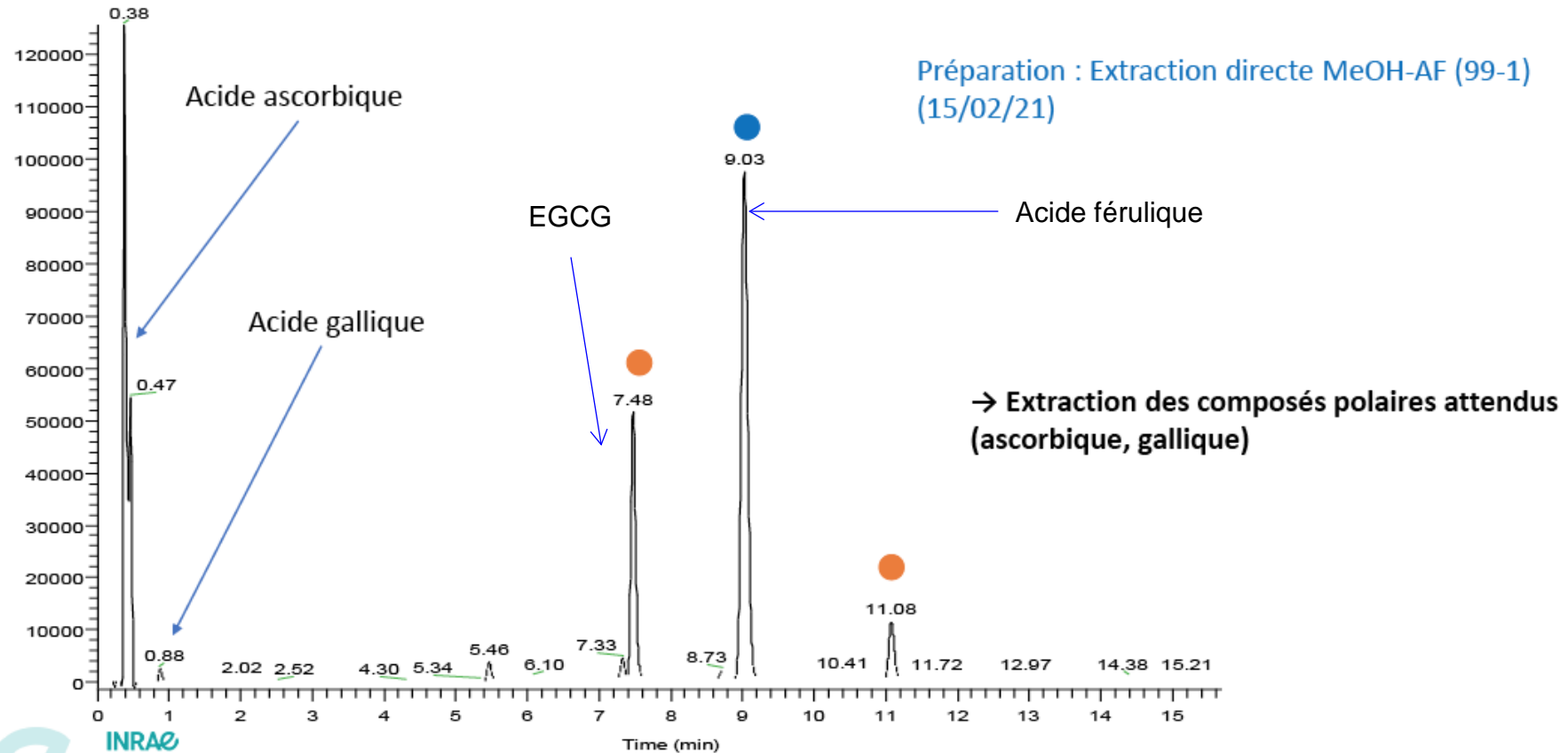


Le NO se fixe sur les doubles liaisons et se lie aux atomes de carbones

Adapté de Durand, CTSCCV (1996)

Natpre – extraction directe

➤ Identification des composés majoritaires

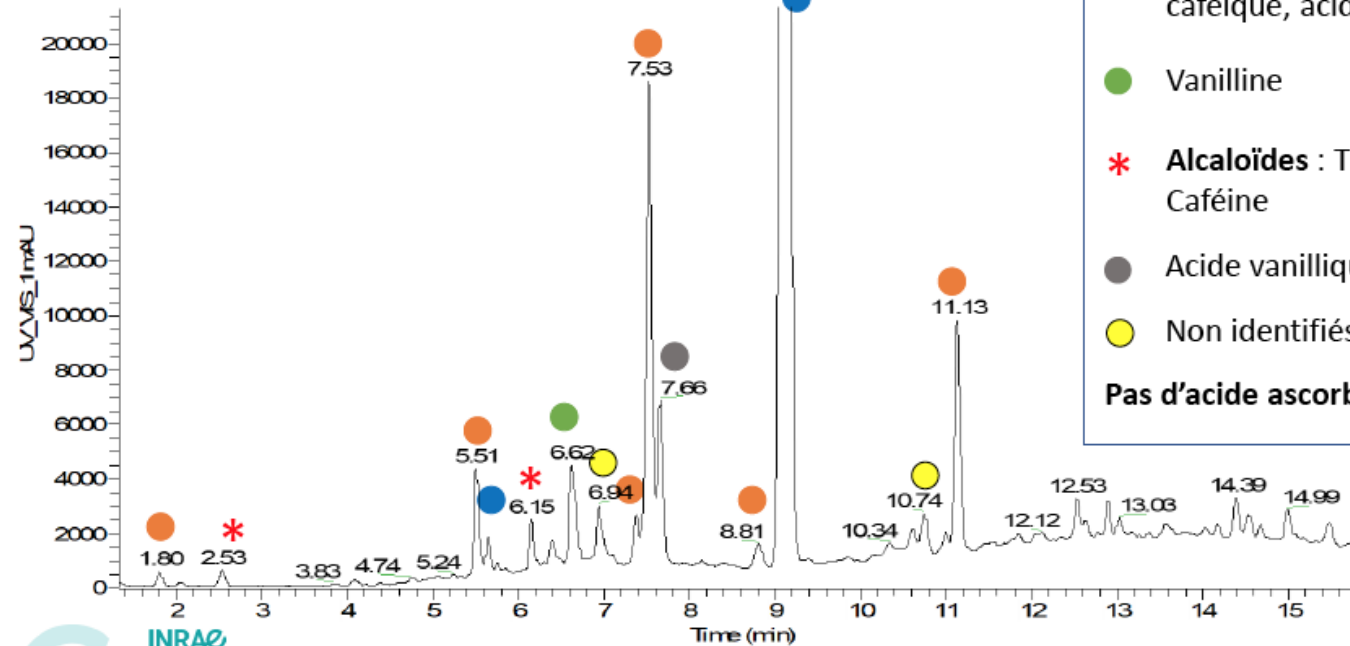


Natpre – extraction après élimination des composés polaires

➤ Identification des composés majoritaires

Préparation : SPE ; elution MeOH-AF (99-1) (29/01/21)

RT: 1.32- 15.88



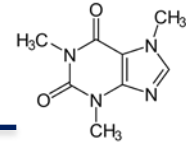
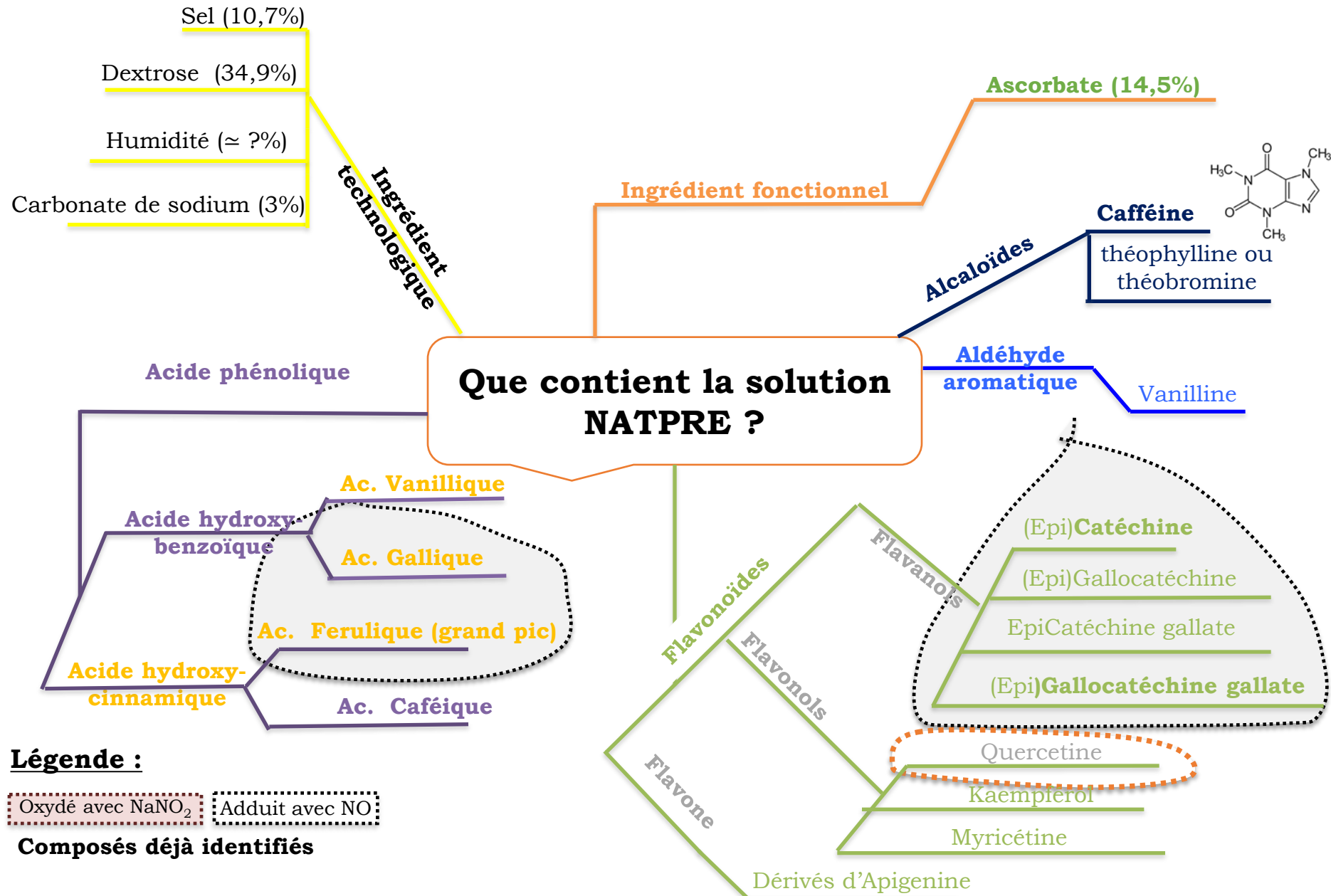
- **Flavanols** : galocatechine, epigallocatechine/catechine, epicatechine, galocatechine gallate, epigallocatechine gallate, epicatechinegallate
- **Acides hydroxycinnamiques** : acide cafeique, acide ferulique
- Vanilline
- * **Alcaloïdes** : Théophylline ou théobromine, Caféine
- Acide vanillique
- Non identifiés
- Pas d'acide ascorbique**



INRAE

Analyse de l'échantillon 112/81 PROSUR - IFIP
12/03/2021

p. 6



Légende :

Oxydé avec NaNO₂
Adduit avec NO

Composés déjà identifiés

Conclusion: pour supprimer le nitrite

Zéro nitrite sans Fe-NO très riche en antioxydants végétaux

- Couleur grise
- Arôme faible
- DLC raccourcie

Nitrate végétal : bouillon de légumes

- Identique au sel nitrité sur tous les plans. Equivalent à 80ppm de nitrite
- Evolution réglementaire: allégation interdite

« Arôme » Prosur

- Apport de NO par un vecteur encore inconnu
- Effets bactériostatiques selon les germes : A vérifier sur chaque recette
 - Sur listeria : aucun
 - Sur cl.botulinum avec d'autres extraits fonctionnels.
 - Durée de vie : à évaluer
- Evolution réglementaire en cours sur le statut d'additif

Extraction bactérienne du NO de l'Arginine (Lallemand)

- Très faible fonctionnalité (équivalent à quelques ppm de nitrite)
- Aucune protection microbiologique
- Très peu de couleur
- Aucune protection anti oxydante

Rôle protecteur de micronutriments végétaux dans la stabilité à l'oxydation et la formation de nitroso-composés lors de la fabrication et de la digestion de charcuteries reformulées



01/12/2020 → 01/12/2023



Convention CIFRE

ECOLE DOCTORALE
ED536 Avignon Université

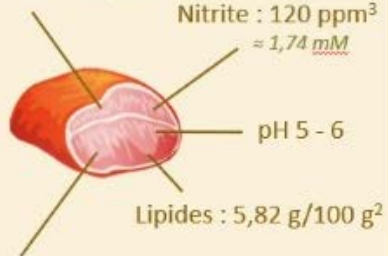


Synthèse des résultats de Phytonut : Détermination des mécanismes impliqués dans la capacité anti-nitrosante des composés phénoliques

Méthode : Modéliser la N-nitrosation dans le jambon cuit et lors de sa digestion

MODÉLISER LE JAMBON CUIT

Fer libre : 30 μM ¹
 Myoglobine : 50 μM
 Nitrite : 120 ppm³
 = 1,74 mM
 pH 5 - 6
 Lipides : 5,82 g/100 g²
 Protéines : 20,2 g/100 g²
 Source d'amines secondaires pour la nitrosation

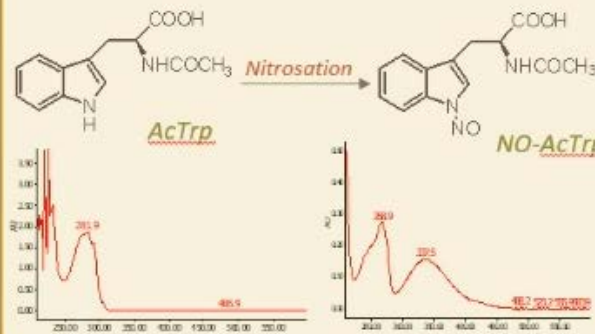


- Emulsion H/E à 5%
- 50 μM MbFe^{III}
- 1,7 mM NaNO₂
- 30 μM FeSO₄
- 3 mM AcTrp
- 1 mM antioxydant

¹ Bonifacie et al., 2021
² <https://ciqual.anses.fr>
³ Code des usages de la charcuterie

CHOIX DE L'AMINE SECONDAIRE MODÈLE

N-acétyltryptophane



CHOIX DES PH

pH 5

Produit / début de digestion gastrique



pH 2.5

Fin de digestion gastrique

CONDITIONS ANALYTIQUES

- » Echantillonnage à t30 min (t60 min)
- » Séparation par UHPLC/DAD/MS
- » Calcul du % d'inhibition de la N-nitrosation :

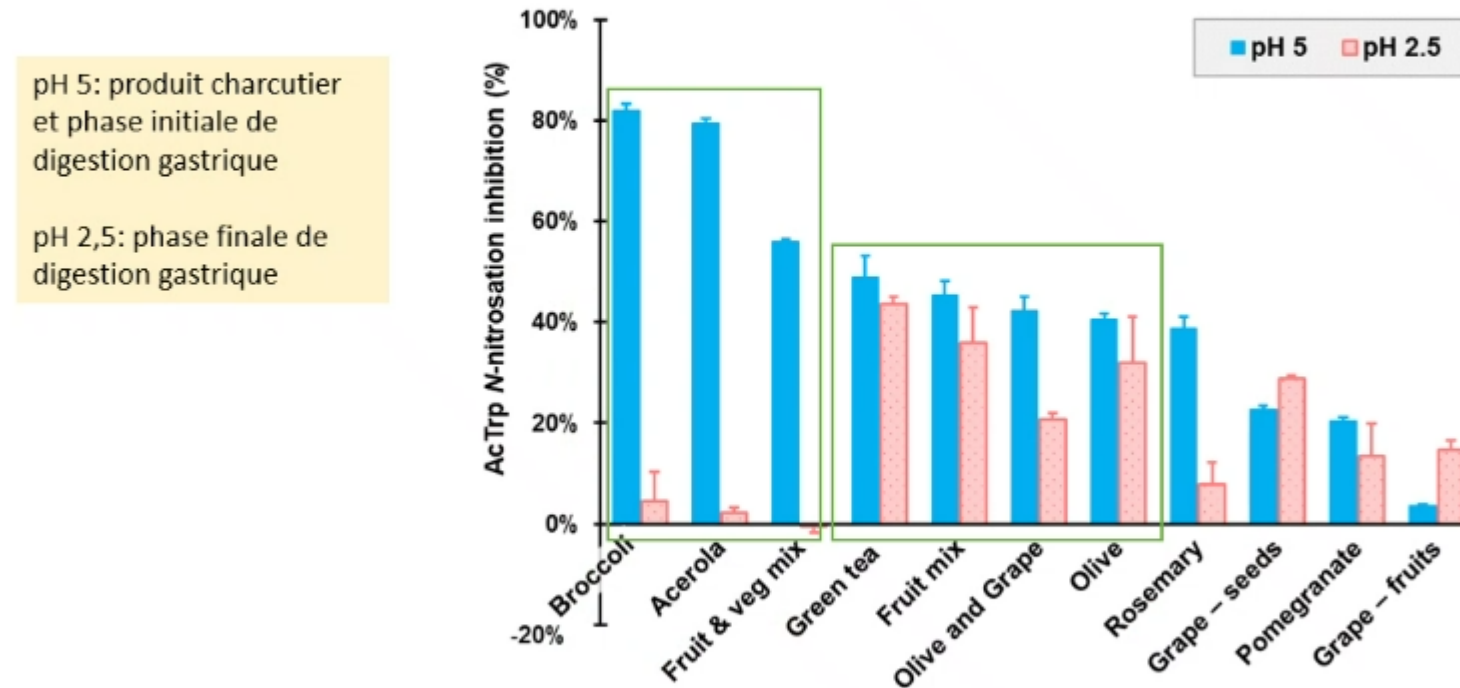


$$\frac{NOAcTrp_{Ctrl} - NOAcTrp_{EV}}{NOAcTrp_{Ctrl}}$$

p. 6

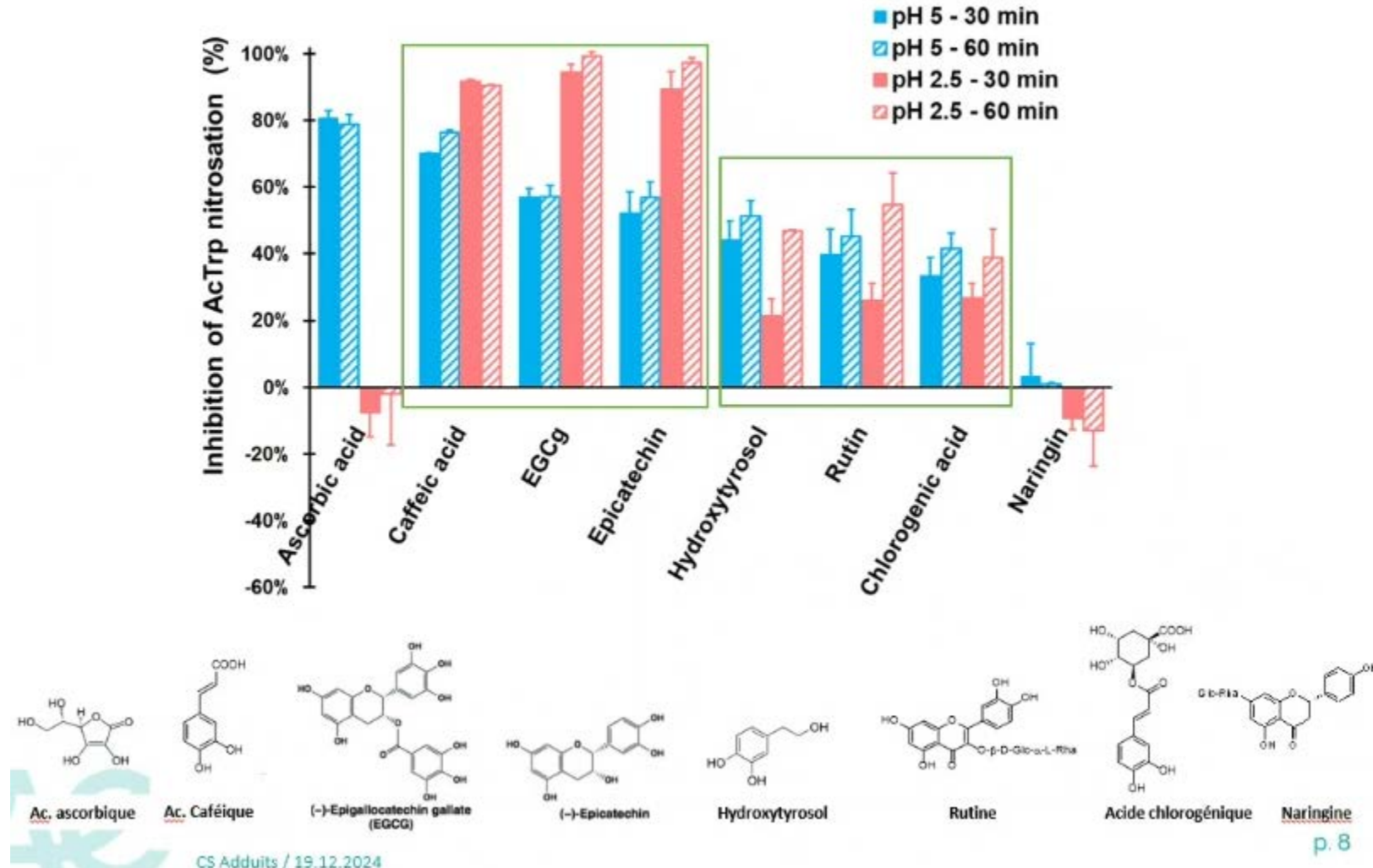
Claire Dufour

Figure 1. Inhibition by selected plant extracts (PE, 1 mM GA equiv.) of the *N*-nitrosation of *N*-acetyltryptophan (3 mM) in the presence of NaNO₂ (1.7 mM), metmyoglobin (50 μM) and FeSO₄ (30 μM) in a 5% o/w emulsion at pH 5 and 2.5 after 30 min of reaction at 37 °C. Mean ± SD (*n* = 2).

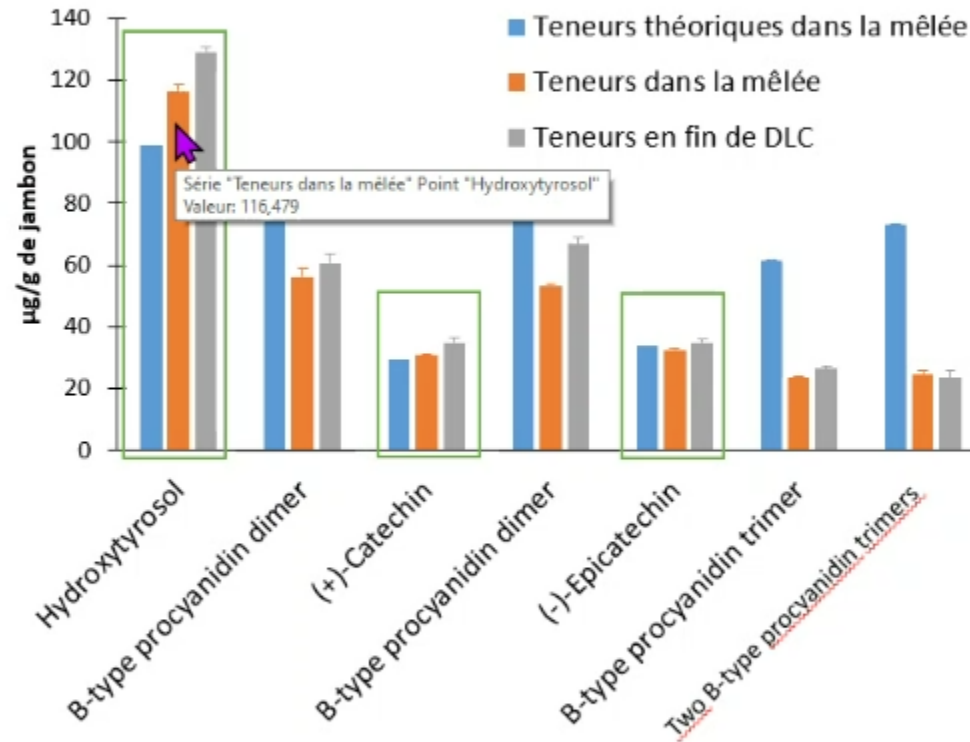


Capacité antinitrosante des extraits: *Thé vert* > *Cocktail de fruits* > *Olive-raisin* = *Olive*

Figure 2. Inhibition of AcTrp *N*-nitrosation in the presence of selected phenolic compounds (1 mM) in a 5% o/w emulsion containing *N*-acetyltryptophan (3 mM), myoglobin (50 μ M), NaNO₂ (1.7 mM) and FeSO₄ (30 μ M) at pH 5 and 2.5 after 30 min and 60 min of reaction at 37 °C. Mean \pm SD ($n \geq 3$).

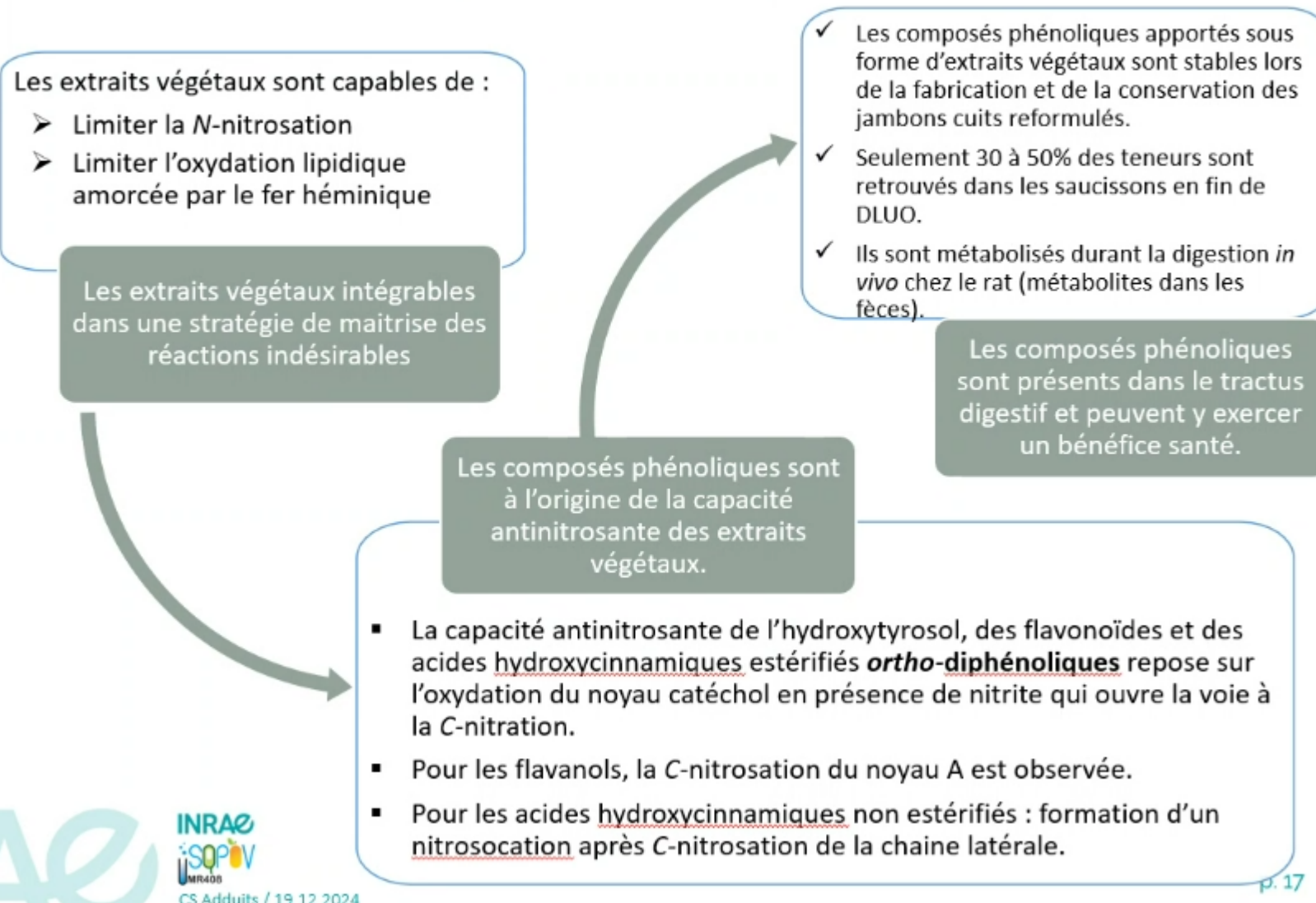


Impact du procédé de fabrication et de la conservation sur les teneurs en composés phénoliques de l'extrait olive/raisin dans le jambon DCNO (échelle pilote)



- Extraction plus faible des formes oligomériques (liaison au protéines)
- **Stabilité** des composés phénoliques au cours de la cuisson et de la conservation

Conclusion. Bénéfices des extraits végétaux riches en composés phénoliques dans la reformulation de charcuteries pour réduire tout ou partie des additifs nitrés utilisés

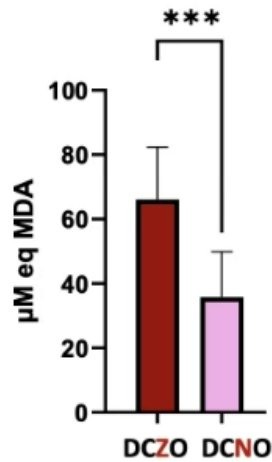


WP3 : effets des anti oxydants du modèle jambon sur le rat chimio induit

1- Peroxydation lipidique au niveau colique (TBARS)

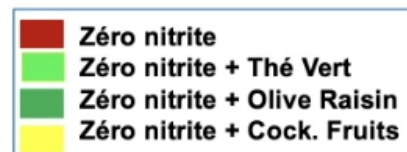
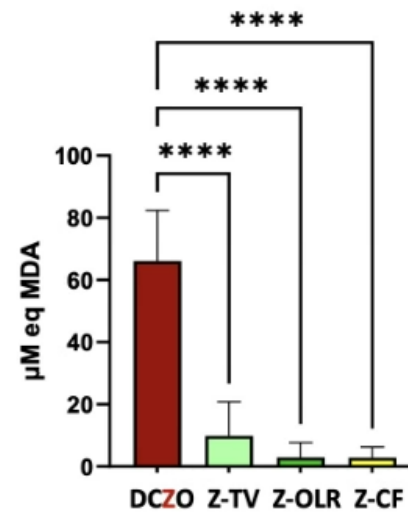
TBARS: Thiobarbituric Acid Reactive Substances

p value < 0.0001



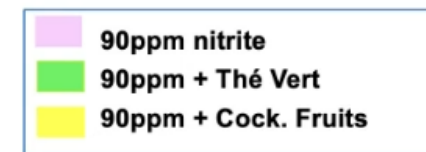
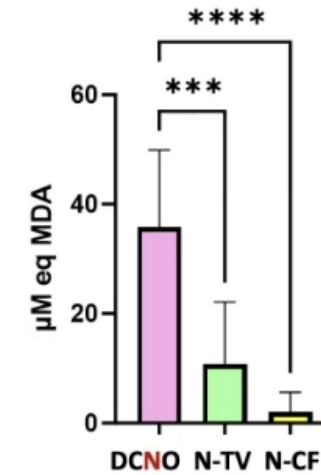
Effet Nitrite

p value < 0.0001



Groupes Zero nitrite

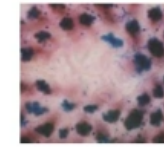
p value < 0.0001



Groupes nitrités

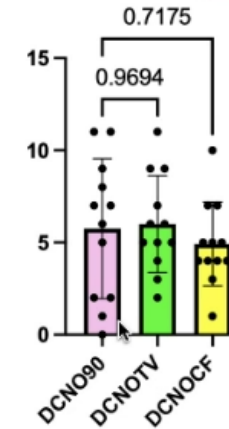
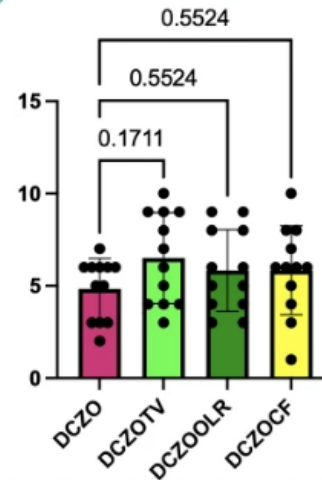
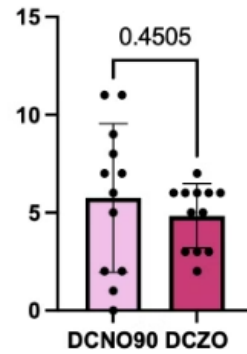
2- Lésions prénéoplasiques: MDF

Comptage en cours de validation



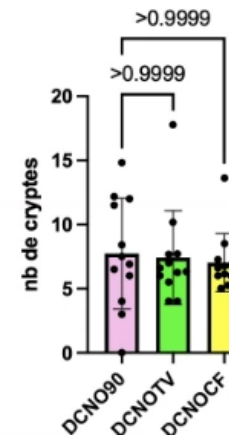
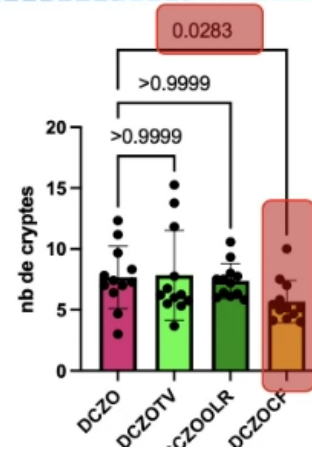
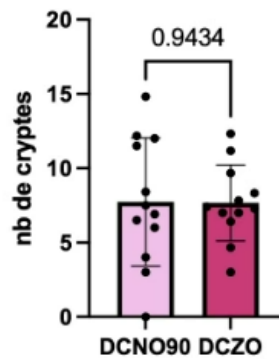
MDF: Mucin Depleted Foci

Number of MDF



Cf. Subnitrites:
Pas de différence entre 90ppm et 0 ppm

Size/multiplicity of MDF



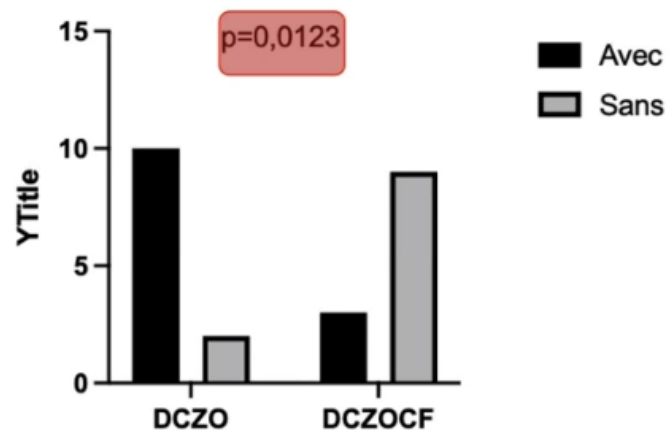
Effet du cocktail de fruits sur DCZO ?

Cf. conclusion de article Subnitrites:
antioxydant confère une protection supplémentaire en 0 nitrite

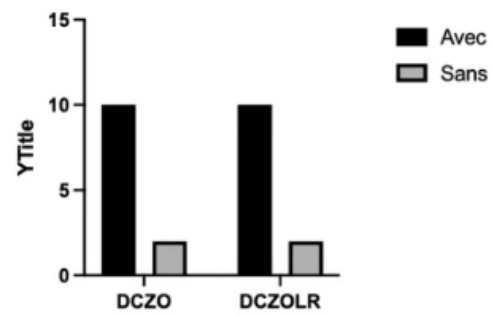
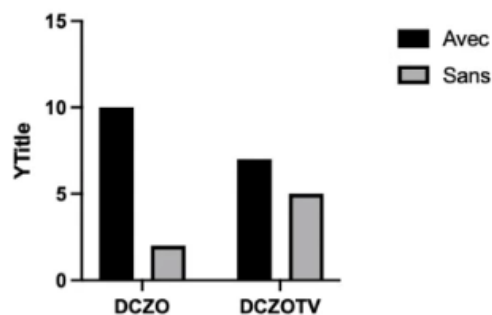
3- Lésions préneoplasiques de grosse taille : MDF de plus de 12 cryptes

Comptage en cours de validation

Événement plus faible donc analyse en incidence => avec ou sans MDF12c
Effet du mélange cocktail de fruits sur l'incidence de grosses lésions

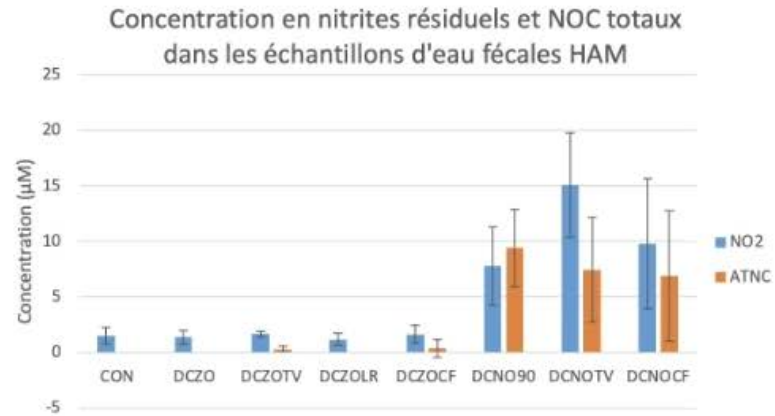


Effet protecteur sur les très grosses lésions du mélange cocktail de fruits

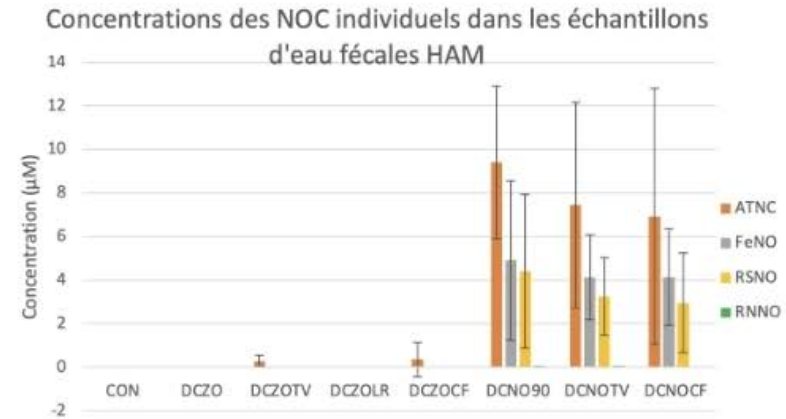


Tendance pour thé vert ?
Aucun effet de olive raisin

4- Composés N-nitrosés



DCZO (cf Santerelli 2010-DCZO, Gueraud 2023-NiO) induit une absence d'ATNC fécaux et un taux très faible de nitrites



In vivo : Pas d'activité anti-nitrosante des extraits testés sur le DCNO90

5- Conclusions

NUTRITION AND CANCER
<http://dx.doi.org/10.1080/01635581.2017.1263745>



Red Wine and Pomegranate Extracts Suppress Cured Meat Promotion of Colonic Mucin-Depleted Foci in Carcinogen-Induced Rats

Nadia M. Bastide^a, Nathalie Naud^a, Gilles Nassy^b, Jean-Luc Vendeuvre^b, Sylviane Taché^a, Françoise Guéraud^a, Ditte A. Hobbs^c, Gunter G. Kuhnle^c, Denis E. Corpet^a, and Fabrice H. F. Pierre^a

^aINRA UMR1331, TOXALIM (Research Center in Food Toxicology), Université de Toulouse, ENVT, INP, Toulouse, France; ^bFIP-Institut du Porc, Paris, France; ^cDepartment of Food and Nutritional Sciences, University of Reading, Whiteknights, UK

- 1- Confirmation *in vivo* de l'efficacité des extraits végétaux pour limiter la peroxydation lipidique locale et systémique dans un contexte nitrité (Bastide *et al* 2017, 120ppm)
- 2- Démonstration *in vivo* de l'efficacité des antioxydants pour limiter la peroxydation lipidique locale et systémique dans un contexte non-nitrité (*première démonstration in vivo*)
- 3- Démonstration de l'efficacité du modèle proposé par SQPOV (thèse Charlène SIRVINS) pour sélectionner des extraits végétaux efficaces *in vivo* pour limiter la peroxydation.
- 4- Démonstration de l'efficacité du cocktail de fruits pour limiter l'effet promoteur (taille des lésions et incidence de grosses lésions) dans un contexte non nitrité...mais pas d'effet des autres mélange dans un contexte non nitrité.
- 5- Mais... Pas d'effet des mélanges testés dans un contexte nitrité
=> absence d'effet physiopathologique associé à une absence d'effet sur la nitrosation fécale

WP3 : effets des anti oxydants du saucisson sec sur le rat chimio induit

Conditions expérimentales

SAUNA Saucisson sec 160ppm nitrate de sodium

SAU Saucisson sec sans nitrate

SAUNA-TV Saucisson sec nitraté + Thé vert

SAUNA-OR Saucisson sec nitraté + Olive Raisin

SAUNA-CF Saucisson sec nitraté + Cocktail de Fruits

SAU-TV Saucisson sec sans nitrate + Thé vert

SAU-OR Saucisson sec sans nitrate + Olive raisin

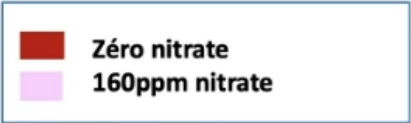
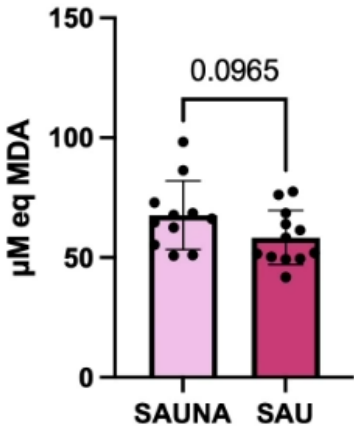
End-point primaire: limitation de nitrosation et nitrosylation

End-point primaire: limitation de peroxydation

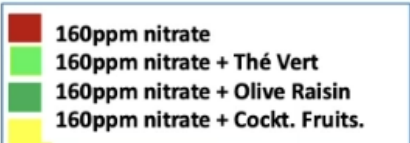
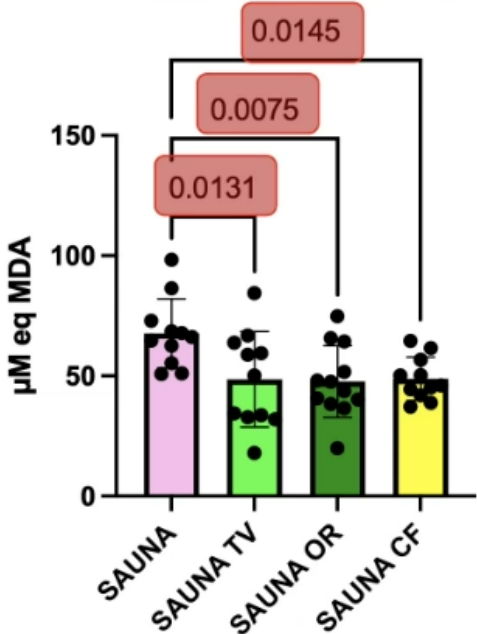
1- Peroxydation lipidique au niveau colique (TBARS)

TBARS: Thiobarbituric Acid Reactive Substances

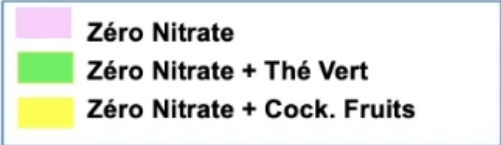
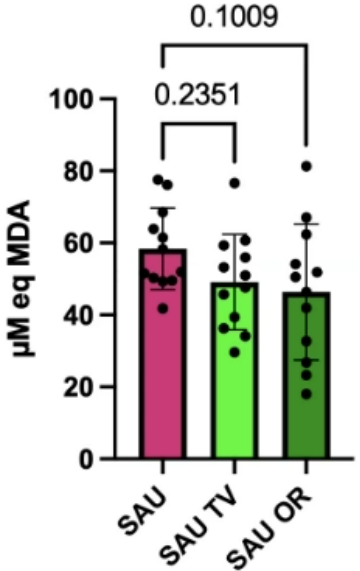
Protection significative en condition nitratée



Effet Nitrate



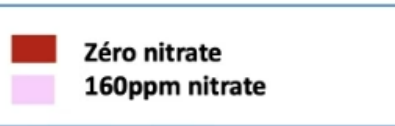
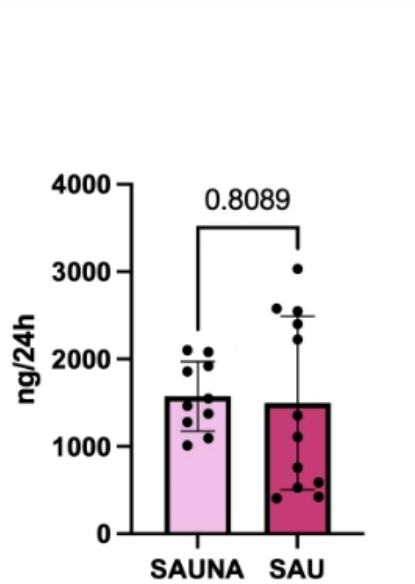
Groupes nitratés



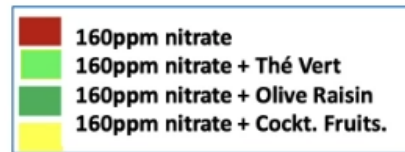
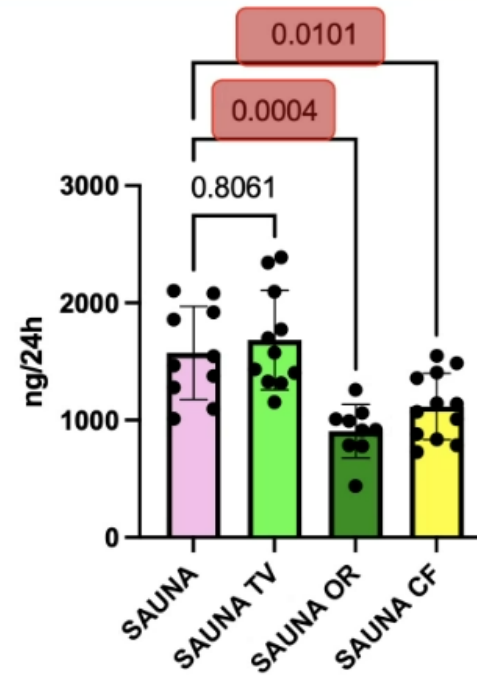
Groupes non nitratés

2- Peroxydation lipidique au niveau systémique (DHN-MA)

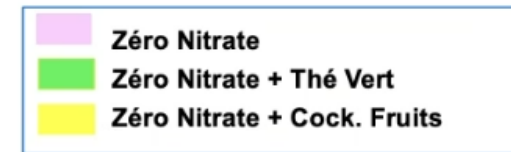
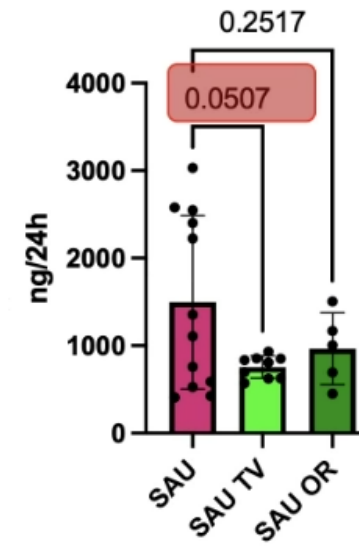
DHN-MA: 1,4 DiHydroxyNonane Mercapturic Acid



Effet Nitrate



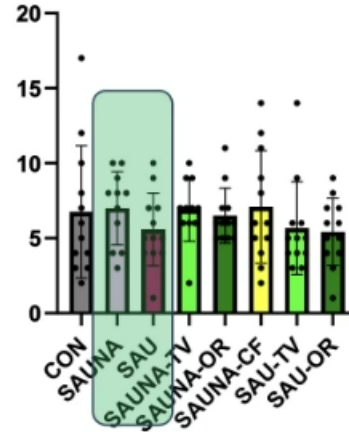
Groupes nitrates



Groupes non nitrates

4- MDF

Nombre de lésions (avec tumeurs)



Comptage en cours de validation

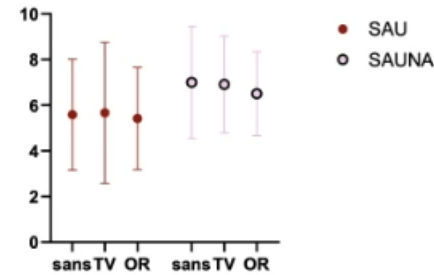
Différence entre les groupes « saucisson » plus subtiles que pour l'étude « jambon »

=> Tendance à une diminution pour le groupe « sans nitrates » par rapport au groupe 160ppm

Analyse factorielle pour étudier l'effet de la présence ou absence de nitrates dans tous les groupes.

=> la présence de nitrates provoque une augmentation du nombre de lésions

Anova Nb de lésions



Par contre, pas d'effet des facteurs Polyphénols quelque soit le contexte nitraté.

Source of Variation	% of total variation	P value	P value summary	Significant?
Interaction	0.08247	0.9719	ns	No
polyphenols	0.4381	0.8600	ns	No
nitrates	6.878	0.0330	*	Yes

5- Conclusions biomarqueurs

- 1- Pas d'impact du retrait des nitrates sur la peroxydation lipidique **locale et systémique**
=> confirmation de WP2
- 2- Démonstration *in vivo* de l'efficacité des antioxydants pour **limiter la peroxydation lipidique locale dans un contexte nitraté (première démonstration *in vivo*)**
- 3- Démonstration de l'efficacité du modèle proposé par SQPOV (thèse Charlène SIRVINS) **pour sélectionner des extraits végétaux efficaces *in vivo* contre la peroxydation.**
- 4- Démonstration **que la présence de nitrates augmente le nombre de lésions**
- 5- **MAIS sans effet des mélanges dans un contexte nitraté et non nitraté**
=> baisse trop faible de la peroxydation?
=> dosage des NOCs à venir pour expliquer cet effet physiopathologique

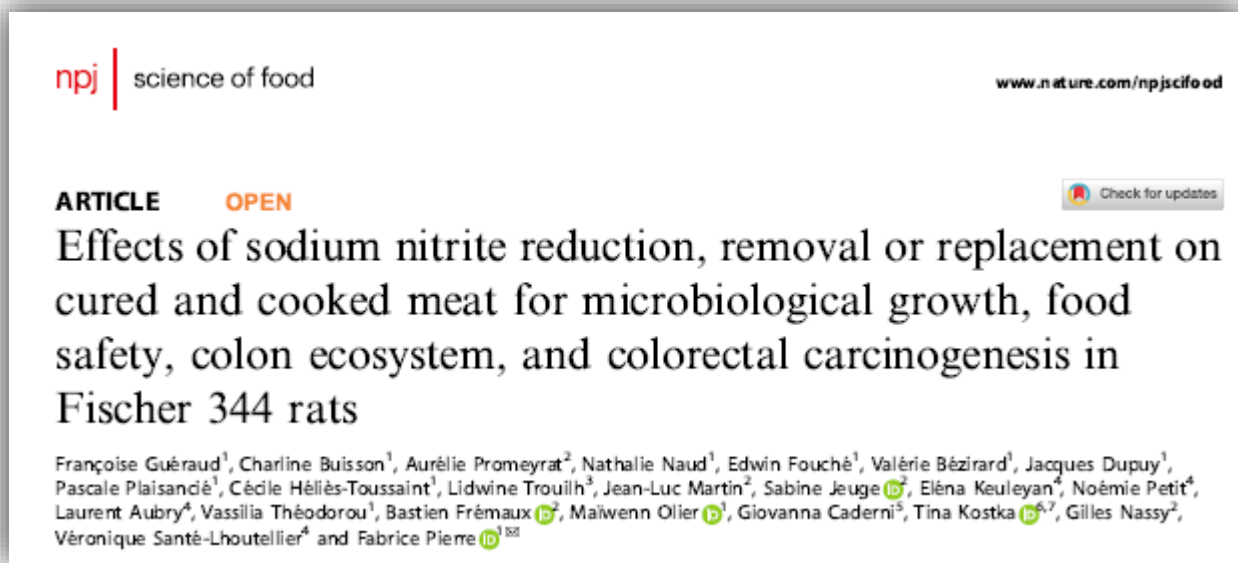


Subnitrite

Rôle des phyto-micronutriments dans l'inhibition de l'oxydation lipidique et la formation de nitroso-composés lors de la fabrication et de la digestion de charcuteries modèles.

Fabrice Pierre – Bastien Frémaux

Résultats publiés de Subnitrite



Publié 7 octobre 2023

INRAE
la science pour la vie, l'humain, la terre

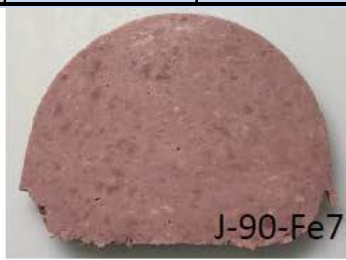
ifip —
Institut du porc

Résultats de la publication « Subnitrite »

- **Protocole**
- **Résultats sur la réduction du nitrite: 120 ppm, 90 ppm, 0 ppm**
 - Analyses sur le produit type jambon
 - Microbiologie
 - Physico-chimie
 - Analyses sur le rat chimio-induit
 - Sur fèces et urine: oxydation; NOCs, nitrosamines
 - Sur colon : lésions et cryptes aberrantes
- **Résultats sur la substitution du nitrite: 120 ppm; Bouillon, Prosur, Lallemand**
 - Analyses sur le produit type jambon cuit
 - Microbiologie
 - Physico-chimie
 - Analyses sur le rat chimio-induit
 - Sur fèces et urine: oxydation; NOCs, nitrosamines
 - Sur colon : lésions et cryptes aberrantes

Protocole Subnitrite

	Modalité	taux de fer mg/kg	T° de cuisson	Type nitrite	Taux de nitrite (mg/kg) NaNO ₂ -	Taux d'ascorbate ppm	Sel g/Kg
TEM-	CON	0	0	0	0	0	0
TEM+	Ni-120	12	65	sel nitrité	120	300	18
	Ni-90	12	65	sel nitrité	90	300	18
Zéro gris	Ni-0	12	65	sel nitrité	0	300	20
BL	VS	12	65	Bouillon légumes	80	300	18
Prosur	PRE	12	65	Prosur	0	1200	18
Lallemand	YE	12	65	Lallemand	0	0	20

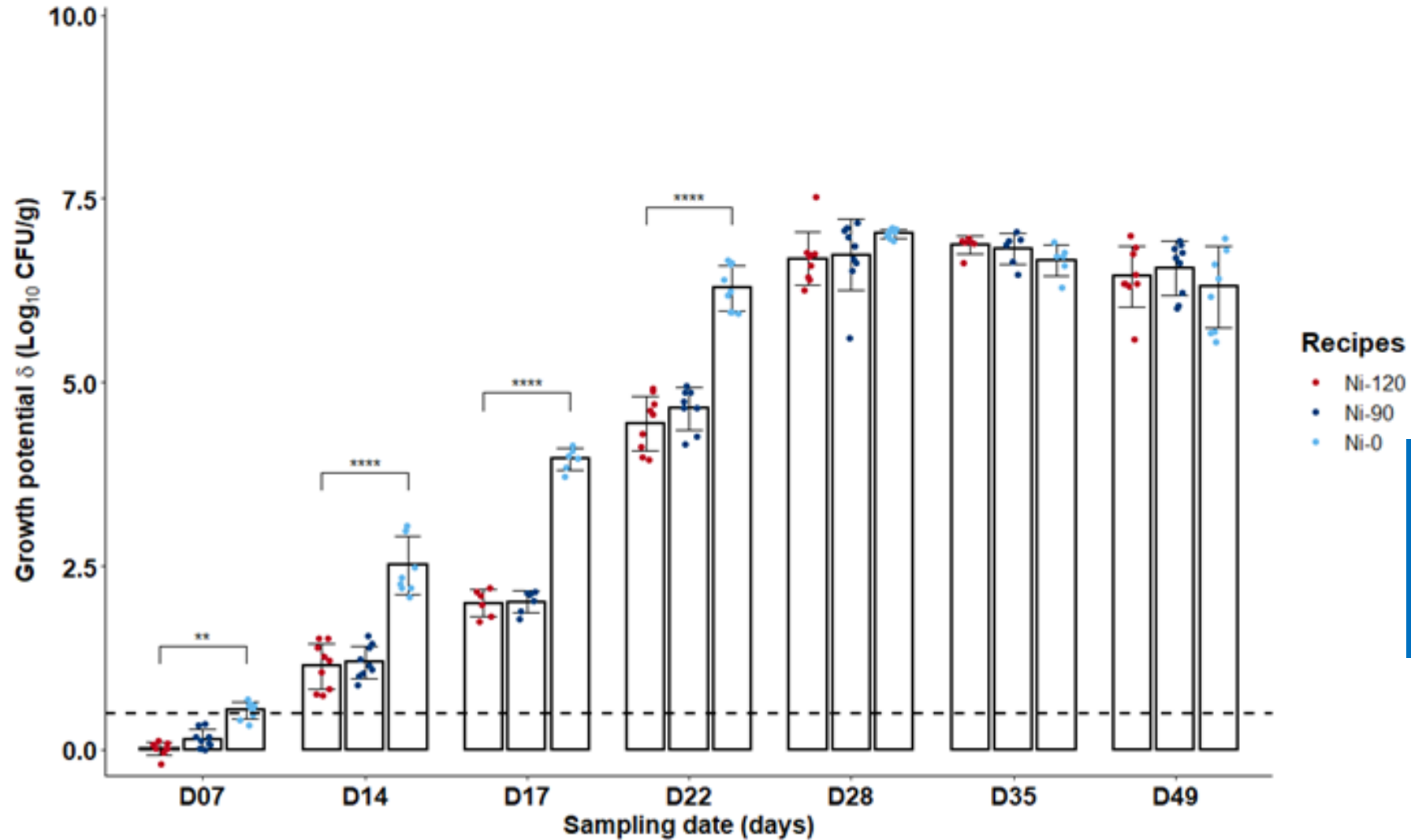


Résultats de réduction : physico-chimie sur produits

- Baisse du Fe-NO
- Oxydation maîtrisée à 120 et 90 mais pas à 0
- Peu de nitrosamines non volatiles, en particulier sur le 0

	Ni-120	Ni-90	Ni-0
Total heme iron (μM)	189 ± 40 ^α	146 ± 5 ^α	111 ± 9 ^b
Nitrosylated iron (μM)	110 ± 11 ^α	83 ± 6 ^b	10 ± 1 ^c
% Nitrosylated iron	58	57	9
TBARS (μg MDA/g)	0.041 ± 0.006 ^α	0.042 ± 0.004 ^α	0.303 ± 0.002 ^b
Total free iron (mg/kg)	4.92 ± 0.04 ^α	6.45 ± 0.04 ^b	5.97 ± 0.01 ^c
Total non volatile N-nitrosamines (mg/kg)	2.09 ± 1.02 ^{αb}	4.08 ± 0.28 ^α	1.27 ± 0.17 ^b
Nitrosothiols (mg/kg)	2.05 ± 0.25 ^α	1.38 ± 0.21 ^α	0.00 ± 0.00 ^α
Residual nitrites (mg/kg)	9.36 ± 0.23 ^α	6.76 ± 0.11 ^b	0.00 ± 0.00 ^c
Residual nitrates (mg/kg)	24.95 ± 1.07 ^α	14.59 ± 0.97 ^b	4.51 ± 0.01 ^c

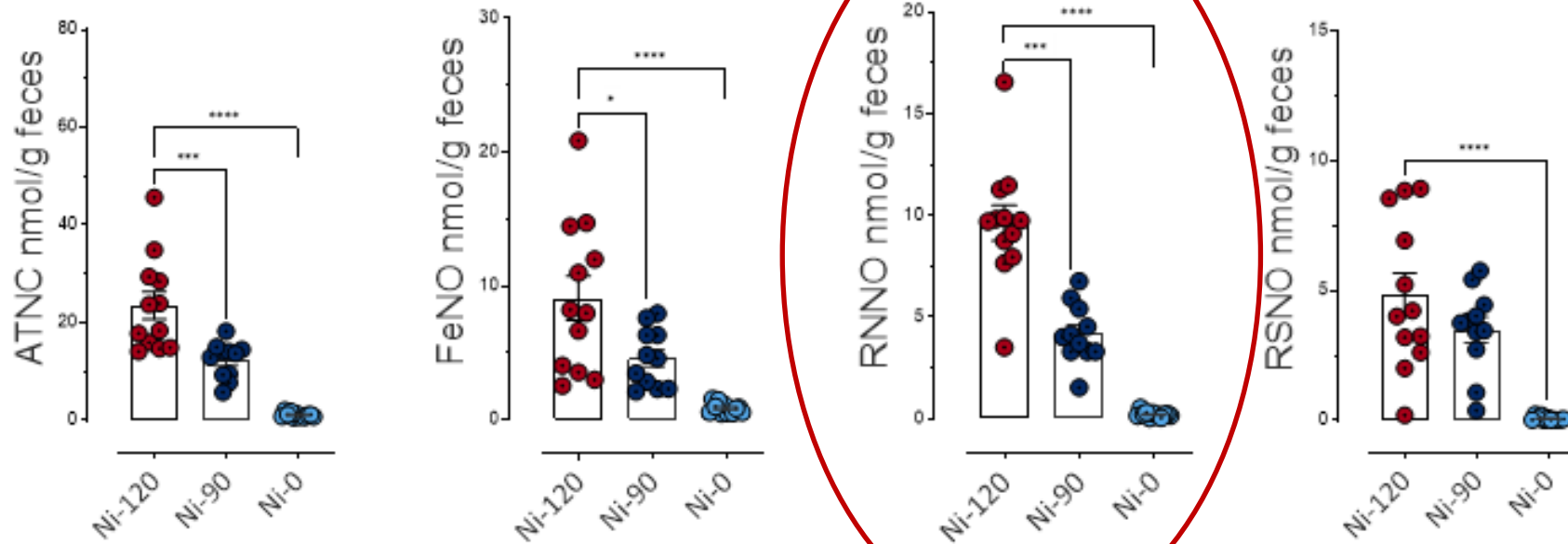
Résultats de réduction : listeria mono sur produits



• Ralentissement net de la croissance de listeria mono pour 90 et 120 ppm vs 0 ppm

Résultats de réduction : nitrosamines endogènes sur rats

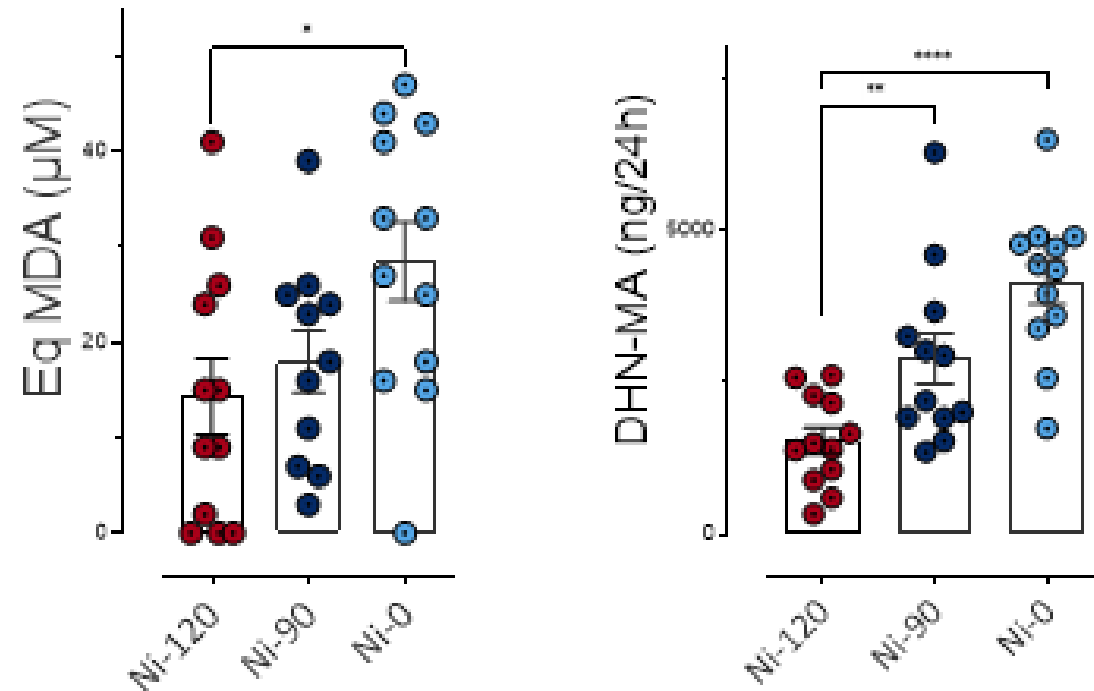
A



La réduction à 90 ppm est favorable vs 120 ppm : Nitrosamines endogènes normalisées

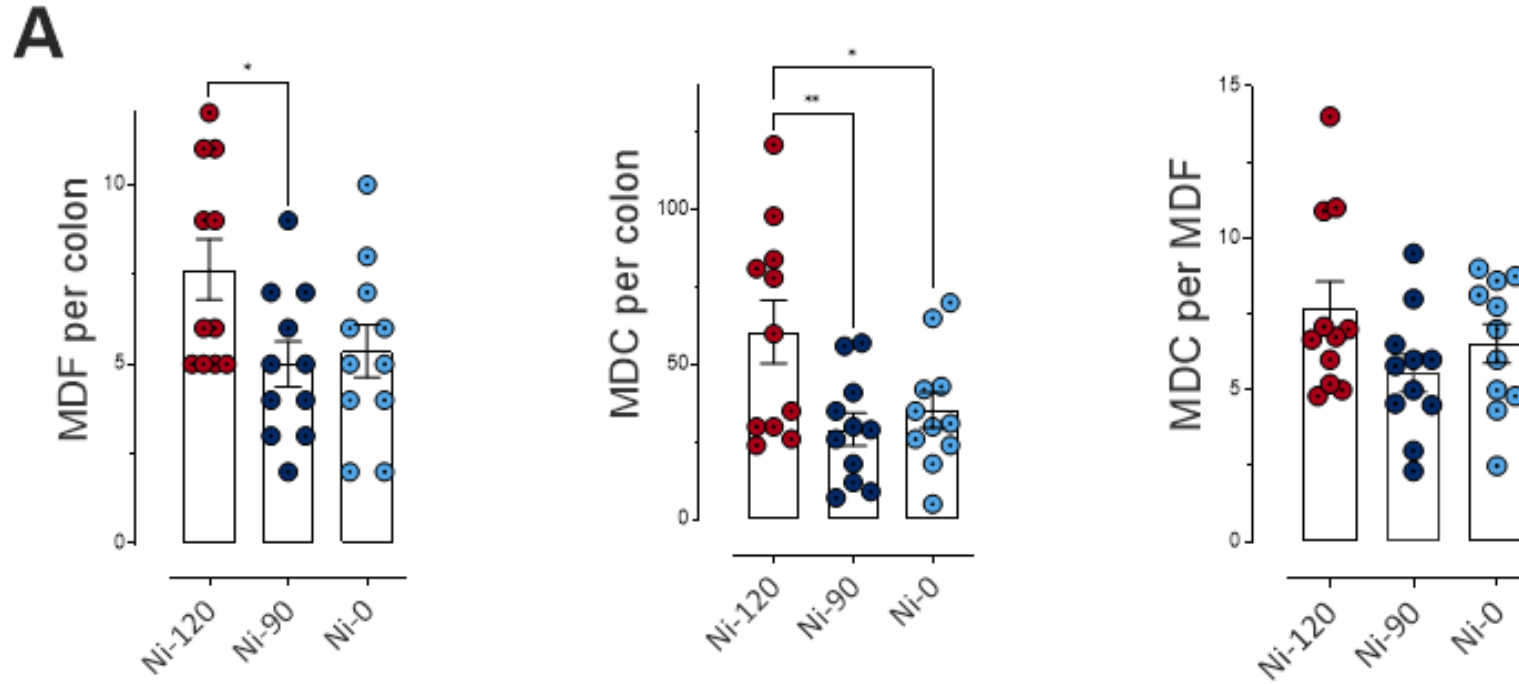
Résultats de réduction : oxydation sur rats

B



La réduction à 90 ppm est favorable vs 0 ppm : oxydations fécale et urinaires maîtrisées bien que dose dépendante.

Résultats de réduction : lésions sur colon des rats



MDF : lésions par colon
MDC : crypte déplétée par colon ou par MD

La réduction à 90 ppm est favorable vs 120 ppm : normalisation des lésions (MDF et MCF) chez le rat statistiquement identique à 0 nitrite.

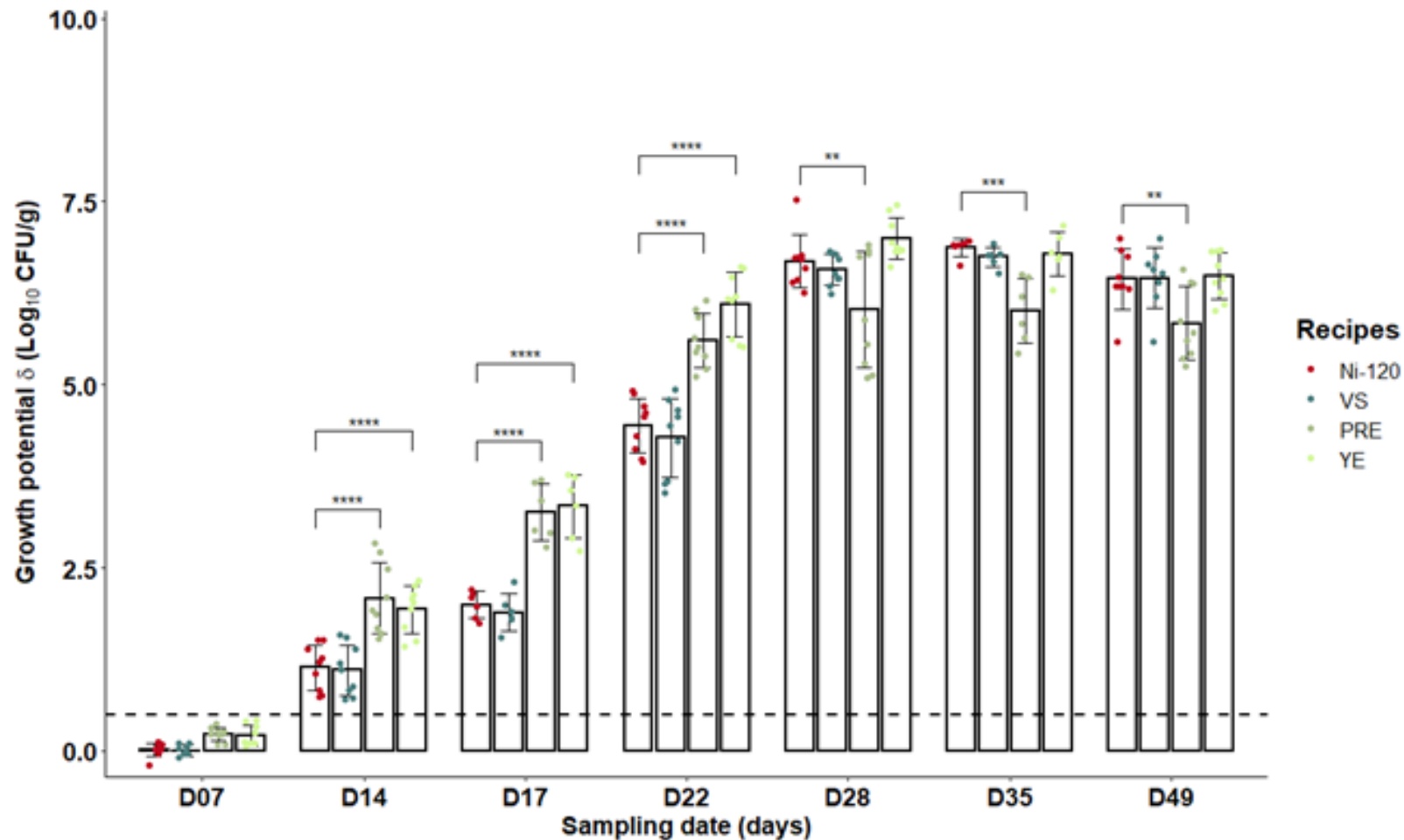
Résultats de substitution : analyses physico-chimiques sur produits

- Baisse du Fe-NO avec YE.
- Oxydation maîtrisée pour YE et PRE. Forte oxydation pour YE.
- Très peu de nitrosamines volatiles sauf pour PRE de manière surprenante.

	Ni-120	VS	PRE	YE
Total heme iron (μM)	189 ± 40 ^α	153 ± 12 ^α	156 ± 18 ^α	142 ± 2 ^α
Nitrosylated iron (μM)	110 ± 11 ^α	108 ± 7 ^α	NA	20 ± 2 ^b
% Nitrosylated iron	58	70	NA	14
TBARS (μg MDA/g ham)	0.041 ± 0.006 ^α	0.032 ± 0.002 ^α	0.041 ± 0.001 ^α	0.158 ± 0.021 ^b
Total free iron (mg/kg)	4.92 ± 0.04 ^α	4.21 ± 0.01 ^b	2.42 ± 0.01 ^c	5.48 ± 0.03 ^d
Total non volatile N-nitrosamines (mg/kg)	2.09 ± 1.02 ^α	1.57 ± 0.88 ^α	7.09 ± 2.24 ^b	0.55 ± 0.14 ^c
Nitrosothiols (mg/kg)	2.05 ± 0.25 ^α	0.68 ± 0.47 ^b	0.98 ± 0.33 ^b	0.15 ± 0.03 ^c
Residual nitrites (mg/kg)	9.36 ± 0.23 ^α	13.56 ± 0.50 ^b	0.19 ± 0.03 ^c	0.08 ± 0.02 ^c
Residual nitrates (mg/kg)	24.95 ± 1.07 ^α	23.35 ± 1.04 ^b	2.79 ± 1.03 ^c	3.20 ± 0.10 ^c

Les polyphénols du Prosur perturbent l'analyse du Fe-NO

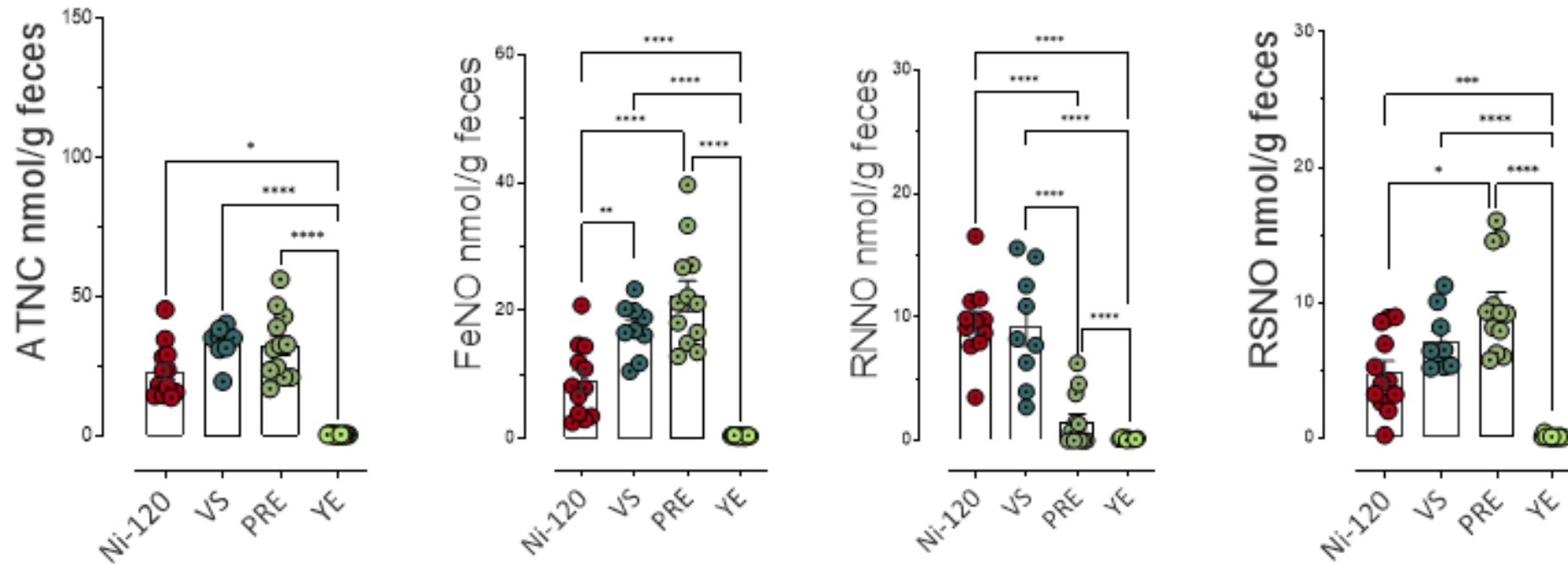
Résultats de réduction : listeria mono sur produit



Bouillon de légumes se comporte comme le témoin à 120 ppm.
Prosur et Lallemand ne freinent pas la croissance de listeria.

Résultats de substitution : Fe-NO et nitrosamines endogènes sur rats

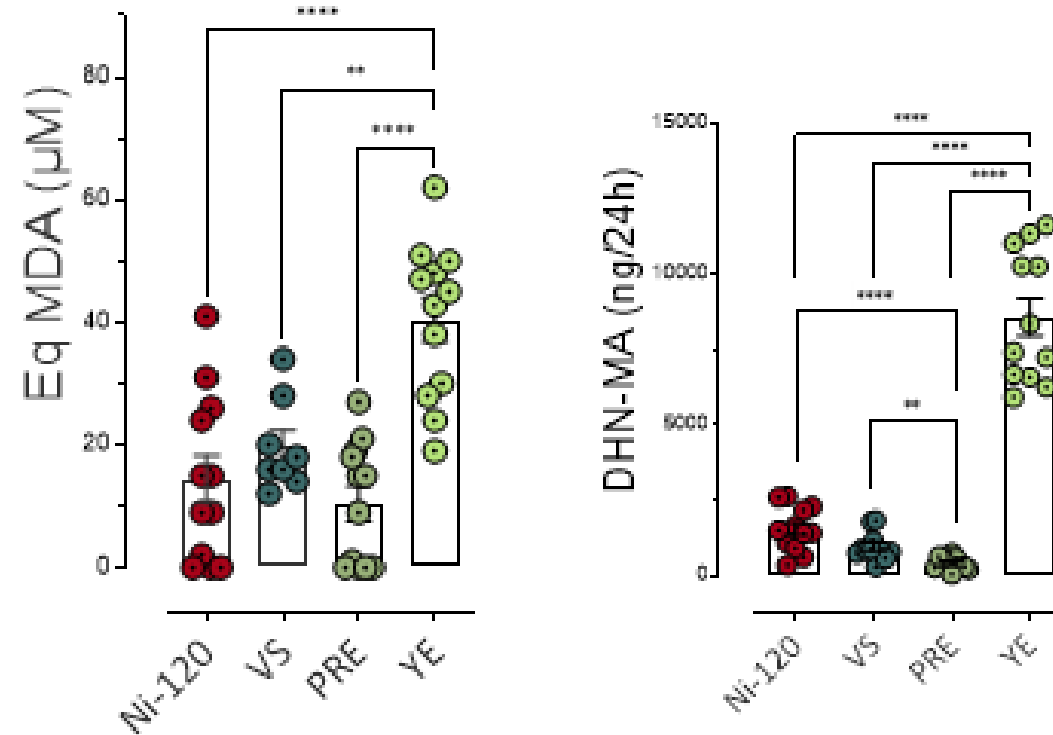
A



- Fe-NO dans les fèces des rats pour toutes les solutions sauf Lallemand. Fort sur Prosur
- Nitrosamines endogènes RNNO absentes dans Lallemand et présentes sur les autres modalités et en particulier sur Prosur

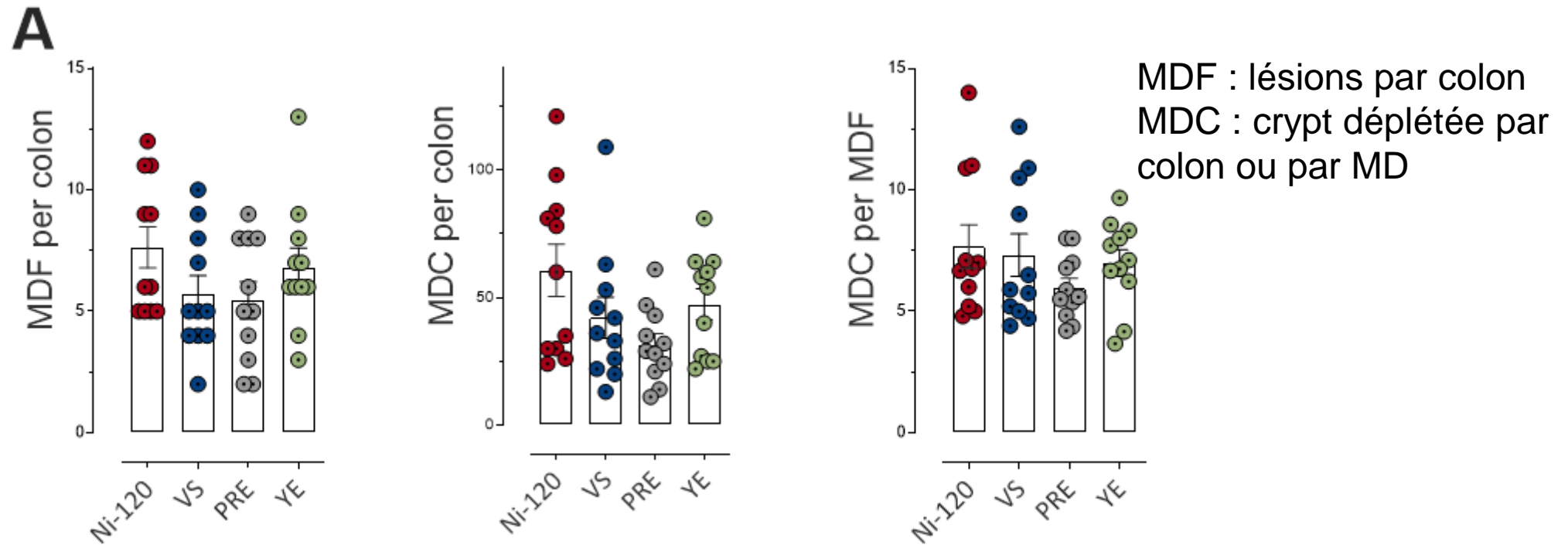
Résultats de substitution: oxydations fécale et urinaire chez le rat

B



- Forte oxydation fécale (MDA) et urinaire (DHN-MA) sur Lallemand
- Faible oxydation en particulier pour Prosur et bouillon

Résultats de substitution : MDC sur colon du rat



- Pas d'écart significatif entre les différentes modalités

Nitrosamines volatiles dans le produit

µg/kg	n	NDMA	NMEA	NDEA	NDiBA	NDBA	NDMA + NDEA	
Ni-120	3	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1	
Ni-0	3	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1	
PRE	3	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1	
YE	3	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1	
VS	3	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1	
N-Nitrosodiméthylamine (NDMA)								
N-Nitrosométhyléthylamine (NMEA)								
N-Nitrosodiéthylamine (NDEA)								
N-nitrosodiisobutylamine (NDiBA)								
N-Nitrosodibutylamine (NDBA)								
Somme NDMA + NDEA								

- Absence de nitrosamines volatiles toxiques

Conclusion de la publication Subnitrite

	Ni-120	Ni-90	Ni-0	Bouillon	Prosur	Lallemand
Sur Produit type jambon modèle						
Listeria mono	Light Green	Light Green	Yellow	Light Green	Yellow	Yellow
Oxydation	Green	Light Green	Yellow	Light Green	Green	Red
Analyse sur rat chimio induit	White	White	White	White	White	White
Oxydation	Green	Light Green	Yellow	Light Green	Green	Red
Nitrosamines endogènes	Light Yellow	Light Green	Green	Light Yellow	Light Green	Green
Lésions et cryptes aberrantes	Yellow	Light Green	Light Green	Yellow	Yellow	Yellow

Valorisation (1)

Projet	Sujet	publications
Adduits WP1, WP2	Effet de la baisse ou de la suppression des nitrites sur les produits et leur digestion.	4 publications 2 posters
Subnitrite	Comparaison des formulations du marché : baisse de nitrite et suppression des nitrites	1 publication
Adduits WP3 Phytonut	Quantification des effets des molécules et extraits anti-oxydants et anti-nitrosants sur les produits et leur oxydation	1 publication sur la méthode 1 publication sur les résultats
Reassured :	Etudes des spores	En cours

Valorisation (2) : Un site internet

<https://adduits.ifip.asso.fr/index.php>

The image displays two overlapping screenshots of the Adduits website. The top screenshot shows the public homepage at <https://adduits.ifip.asso.fr/index.php>. It features a green header with the Adduits logo and a main banner with the text: "Un programme de recherche pour une innovation adaptée aux nouvelles demandes sociétales dans le respect des traditions et de l'excellence des produits charcutiers". Below the banner is a photograph of a charcuterie platter. A sidebar on the left lists navigation options: Contacts, Suivi de Projet, Bibliographie, Calendrier, and PhytoNut. The bottom screenshot shows a project management dashboard at <https://adduits.ifip.asso.fr/backoffice/index.php>. It has a teal sidebar with the same navigation menu. The main content area is titled "Suivi de projet" and contains a grid of project cards. Each card represents a work package (WP) and includes an icon and a "Voir les documents" button. The cards are: WP0: Coordination et Gestion des réunions (orange); WP1: Fabrication des charcuteries modèles et analyses (purple); WP2: Etude digestive (pink); WP3: Stratégie nutritionnelle (purple); WP4: Validation sur l'homme (pink); WP5: Valorisation scientifique (blue); Etudes complémentaires (orange); and a summary card "Une vision générale du programme Adduits" (dark grey) with a "Voir le schéma" button. The browser's taskbar at the bottom shows various open applications and the system clock.

Plan du gouvernement

Gilles Nassy

Synthèse du plan nitrite du gouvernement

Un sujet toujours très médiatique et très polémique

Le gouvernement suit les recommandations de l'ANSES qui sont prudentes :

- Maintien des doses autorisées
- Exigence de sécurité microbiologique

Le gouvernement répond aux députés :

- Un plan d'action dévoilé le 23 mars
- Le nouveau Code des Usages qui apporte une réponse immédiate.
- Un plan de R&D qui permettra de poursuivre les réductions/substitutions
- L'importance d'accompagner les artisans et les PME.
- L'importance de ne pas pénaliser la compétitivité des entreprises françaises avec une surtransposition

Déclinaison au niveau opérationnel :

Nombreuses réunions de travail

Un plan de R&D à 3 niveaux :

- Nouveau code des usages avec une réduction de 120 ppm à 90 ppm.
 - Lancement immédiat avec accompagnement des artisans et PME



- Plan de réduction réalisable à horizons 6 mois à 2 ans
 - microbiologique, peroxydation, nitrosamines: Adiv et Ifip
- Plan de réductions plus volontaires à horizon plus de 2 ans
 - Plan de Recherche : INRAe, Ifip, Adiv

Nitrites et nitrates : Valeurs à tester en phase 2 et 3

	> sous 6 à 12 mois	--> sous 5 ans recherche du minimum
lardons, poitrines (produite à griller)	90	80-60-40-20-0
lonzo, coppa, ... (produits prêts à consommer)	100	
Jambons cuits	80	60-40-20-0
Filet et Jambon de poulet	80	60-40-20-0
Saucisses à griller (chipo)	0	
Saucissons secs	90	
Saucisses cuites	80	
Pâtés	90	80-60-40-20-0
Rillettes	60	40-20-0
Andouilles/andouillettes	80	

Etape 2 : Plan microbiologique

Liste des analyses de la phase "contrôle" du plan nitrite de la DGAL (Plan du gouvernement)

Famille charcutière	Produits	Préparation	Modalités			Microbio								Délai	
			Témoin -	cible	Témoin +	Fab	DVM*	Lm*	Challenge test procédé						
									Perfringens*	Botu	Salmo	Campylobacter	B.céréus		
Pièces crues	- Lardons, poitrines	sans cuisson	0	90 ppm	120	Ifip	3	3	(3)		3				oct-23
		avec cuisson	0	90 ppm	120	Inrae									
Pièces cuites	- Pièces cuites de porc (jambons, épaules, r	sans cuisson	0	80 ppm	120	Ifip	3	3	3						nov-23
		avec sur-cuisson	0	80 ppm	120	Inrae									
	- Pièces cuites de volaille (jambon, blanc de	sans cuisson	0	80 ppm	120	Adiv	3	3	3			3			nov-23
		avec sur-cuisson	0	80 ppm	120	Inrae									
Saucisses à cuire	- Saucisses de porc (chipolatas)	sans cuisson		0 ppm	120	Ifip	3	3			3				aout-23
		avec sur-cuisson		0 ppm	120	Inrae									
		avec oxygène		0 ppm		Ifip	3	3			3				aout-23
	- Saucisses de volaille	sans cuisson	0	80 ppm	120	Adiv	3	3	0			3			sept-23
		avec sur-cuisson	0	80 ppm	120	Inrae									
		avec oxygène		0 ppm		Adiv	3	3	0			3			sept-23
Saucisses et saucissons secs	- Ménage		0/0	110/90	120/120	Adiv	3	3	3		3				oct-23
	- Ménage Trad			160/0	200/0	Adiv	2	2	2						oct-23
	- Grosses pièces		0/0	110/90	120/120	Adiv	3	3	3		3				déc-23
	- Grosses pièces Trad			160/0	200/0	Adiv	2	2	2						déc-23
	- Petit calibre		0/0	0/90	0/120	Ifip	3	3	3		3				févr-24
Saucisses et saucissons cuits	- Saucisses/saucissons cuits pate fine		0	80 ppm	120	Ifip	3	3	3						avr-24
	- Saucisses/saucissons cuits avec marquants														
	- Mortadelles, roulades		0	80 ppm	120	Ifip	3		3						avr-24
Rillettes	- Rillettes		0	60 ppm	120	Ifip	3	3	3						mai-24
	- Rillettes stérilisées		0	40 ppm	120	Ifip	3								mai-24
Pâtés	- Mousse de foie, mousse de canard		0	90	120	Ifip	3	3							juin-24
	- Pâtés de Campagne, breton, de Rennes		0	90	120	Ifip	3	3	3***						juin-24
	- Pâtés en croûte		0	90	120	Adiv	3	3					3***		juin-24
	- Pâté stérilisé		0	40	120	Adiv	3								juin-24
Andouilles, andouillettes	- Andouillette	sans cuisson	0	80	120	Adiv	3	3	3						mars-24
		avec cuisson	0	80	120	Adiv	3	3	3						mars-24
						Total	64	55	40	0	18	9	3		

Etape 2 : Physicochimie

Liste des analyses de la phase "contrôle" du plan nitrite de la DGAL (Plan du gouvernement)

Famille charcutière	Produits	Préparation	Modalités			Physicochimie** a valider par Inrae Quapa												
			Témoign -	cible	Témoign +	Nitrosamines			Résiduels			Fer héminique		nitrosylé				
						Fab	Compo	Tbars	Nitrosothiols	Non volatiles	Volatiles	nitrites	nitrites		nitrites	Total		
Pièces crues	- Lardons, poitrines	sans cuisson	0	90 ppm	120	ADIV	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	oct-23	
		avec cuisson	0	90 ppm	120	Inrae	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	dec-23
Pièces cuites	- Pièces cuites de porc (jambons, épaules, r	sans cuisson	0	80 ppm	120	Ifip	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	nov-23	
		avec sur-cuisson	0	80 ppm	120	Inrae	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	dec-23	
	- Pièces cuites de volaille (jambon, blanc de	sans cuisson	0	80 ppm	120	Adiv	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	nov-23
		avec sur-cuisson	0	80 ppm	120	Inrae	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	dec-23
Saucisses à cuire	- Saucisses de porc (chipolatas)	sans cuisson		0 ppm	120	Ifip	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	août-23	
		avec sur-cuisson		0 ppm	120	Inrae	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	sept-23
		avec oxygène		0 ppm		Ifip												
	- Saucisses de volaille	sans cuisson	0	80 ppm	120	Adiv	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	dec-23
		avec sur-cuisson	0	80 ppm	120	Inrae	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	sept-23
		avec oxygène		0 ppm		Adiv												
Saucisses et saucissons secs	- Ménage		0/0	110/90	120/120	Adiv	3	3			3	3	3	3	3	3	mars-24	
				160/0	200/0	Adiv												
	- Grosses pièces		0/0	110/90	120/120	Adiv	3	3			3	3	3	3	3	3	3	févr-24
				160/0	200/0	Adiv												
	- Petit calibre		0/0	0/90	0/120	Ifip	3	3			3	3	3	3	3	3	3	mars-24
						Ifip	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Saucisses et saucissons cuits	- Saucisses/saucissons cuits pate fine		0	80 ppm	120													
						Ifip	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	mai-24
	- Saucisses/saucissons cuits avec marquants																	
		- Mortadelles, roulades		0	80 ppm	120	Ifip	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Rillettes	- Rillettes		0	60 ppm	120	Ifip												
		- Rillettes stérilisées		0	40 ppm	120	Ifip											
Pâtés	- Mousse de foie, mousse de canard		0	90	120	Ifip	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	juin-24
			0	90	120	Ifip	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	juin-24
	- Pâtés de Campagne, breton, de Rennes		0	90	120	Adiv	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	juin-24
		- Pâtés en croûte		0	90	120	Adiv	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	juin-24
	- Pâté stérilisé		0	40	120													
Andouilles, andouillettes	- Andouillette	sans cuisson	0	80	120	Adiv	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	juin-24	
		avec cuisson	0	80	120	Adiv	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	juin-24
						Total	63	63	54	54	63	63	63	63	63	63		

Etape 3

Priorisation	Numéro du doc word	Catégorie	Produits (exemples)	Propositions (mg/kg exprimés en éq nitrite de sodium et nitrate de sodium)			Potentiels du projet de recherche	Délai de mise en œuvre ("0" fait ; "1" moins de 6 mois ; "2" moins de deux ans ; "3" plus)*
				Nitrite (seul)	Nitrate (seul)	mélange Nitrite / Nitrate		
1	Etude 1	Pièces cuites	Pièces cuites de porc (jambons, épaules, rôtis)	80 et 0 ppm	/	/	Controler la hausse de peroxydation lors du retrait & contrôler la nitrosylation/nitrosation dans les produits encore nitrités via respectivement des antioxydants ou antinitrosants à intégrer au procédé de production	1 (sur 2023)
1	Etude 6 (déjà financée)	Saucisses, ons secs	Autres saucisses - saucissons secs	modifier le ration de nitrites/nitrates en présence ou non d'antinitrosant/antioxydant (à définir début 2023 dont 0ppmNaNO2/150 ppm NaNO3, 0/80ppm et 60/90ppm)			Identifier un ratio nitrites/nitrates permettant de limiter expositin aux composés nitrosés. En fonction des résultats, cette étude pourra être à l'origine d'une étude 6bis pour identifier ferments et/ou antioxydants	1 (sur 2023)
1	Etude 7	Additifs	Additifs	/	/	/	Analyse bénéfiques / risques du rôle des nitrites en utilisant les DALYs	1 à partir de 2023?
2	Etude 2	Pièces cuites	Pièces cuites de porc (jambons, épaules, rôtis)	effet dose des nitrites de 0 à 120ppm: 0, 20, 40, 80, 120 ppm	/	/	Valider l'effet dose des nitrites jusqu'à l'évaluation physiopathologique permettant de poursuivre la trajectoire de diminution jusqu'au retrait si identification d'alternatives crédibles/efficaces	2 (sur 2024)
2	Etude 3	Pièces cuites	Pièces cuites de porc (jambons, épaules, rôtis)	/	/	/	Valider l'effet des alternatives sur les néoformations endogènes et sur le risque de CRC	2 (sur 2024)
2	Etude 5	Pièces cuites	Pièces cuites de porc (jambons, épaules, rôtis)	<80ppm + antinitrosant ou 0 ppm + antioxydant	/	/	Extrapolation à l'Homme: Augmenter le niveau de preuve des résultats issus des études 1 et 2 via une étude chez des volontaires sains avec l'appui des CRNHs	2 (à partir de 2024)
2	Etude 9	Matières premières		/	/	/	Stratégies de réduction de la contamination des matières premières	2 à partir de 2023
2	Etude 9	Matières premières		/	/	/	Prévalence des pathogènes sur matière première (dont STEC, EHEC)	2 à partir de 2023
2	Intégré dans PSCP	Epidémiologie					EPIC: débiter évaluation épidémiologique au niveau européen	délais à préciser avec acteurs mobilisés pour le pspc
2	Intégré dans PSCP	Rappel.gouv					Utiliser les données de rappel.gouv	délais à préciser avec acteurs mobilisés pour le pspc
3	Etude 4	Tout produit	Tout produit	en fonction des résultats de procédure	en fonction des résultats de procédure	en fonction des résultats de procédure	Besoins de recherches identifiés suite à application de la procédure de contrôle: En fonction des résultats de la procédure cad suivi de peroxydation et nitrosation/nitrosylation, les travaux viseront à identifier des des antioxydants ou antinitrosants à intégrer au procédé de production	3 (à partir de 2025)
3	Etude 8	Tous produits	Tous produits	/	/	/	Evaluer les conséquences organoleptiques et sur le consentement à payer des modificatins apportées au procédés de production.	3 à partir de 2025?
3	Etude 10	Elevage	/	/	/	/	Enrichir de la ration des porcs pour maîtriser la hausse de la peroxydation dans les produits faiblement ou non nitrité.	3 à partir de 2025

Bilan, remerciements

- Trois laboratoires de l'INARe : Toxalim, Quapa, Squpov
- Deux doctorantes
- Deux Instituts techniques : IFIP, ADIV
- 25 entreprises partenaires + la Fict

- Un budget partagé 50/50 entre les entreprises et l'INRAe
- 7 publications + de nombreux posters
- Des références citées de nombreuses fois dans l'avis de l'ANSES 2022
- Une présence des entreprises à chaque réunion

Merci aux chercheurs, aux entreprises et à Aurélie Promeyrat qui a piloté le programme pour l'Ifip.

Partenaire de vos innovations



@ Gilles.nassy@ifip.asso.fr

📞 06-83-70-39-03

📍 IFIP – le Rheu

 IFIP - Institut du porc

 IFIP - WebTV

 @IFIP_inst_porc