



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

N° série :.....

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية و الجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences
biologiques

Spécialité : Toxicologie Fondamentale

THEME

Etude de la toxicité de certains additifs alimentaires

(E102, E330) chez les Rattes wistar

Présenté par

M^{me} AHMED SALAH Maimouna

M^{elle} SOUACI Khadidja

Devant le jury composé de :

Présidente : M^{me} HOUMRI N

M.A.A Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED

Examinatrice : M^{me} NADJI N

M.A.A Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED

Promotrice: M^{elle} GUEMOUDA M

M.C.B Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED

Année universitaire: 2018/2019

DEDICACE

*Je dédie ce travail à Ma famille **SOUACI***

Et aux personnes les plus chères au monde mes chers parents

A** ma très chère mère **FADHILA

Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder santé, longue vie et bonheur

A** mon très chère père **MED SALAH

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices qui tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

***A** mes sœurs*

IBTISSAM, , HAKIMA, ASSIA, FATMA

***A** mes frères*

*ABDRAHMAN, AZZEDDINE, YASSINE, KAMAL,
REDOANE*

***A** mon fiancé*

Med Aoun Cherrade

***A** mon binôme*

Maimouna qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et son famille.

Sans oublier mes amies

YAZZA, ROUMISSA, SAFA, HANA, SERINE

khadidja

Dédicaces

Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

Je dédie ce modeste travail :

*À mes chers parents **BELGASSEM** et **MOFIDA** qui ont fait beaucoup de sacrifices pour que j'arrive à ce stade de ma vie, que dieu les garde pour moi.*

*Spéciale dédicace à mon mari, **NOUREDDINE CHERRADE** pour son soutien, ses conseils, sa tolérance, sa patience et sa confiance envers moi.*

*Tous mes frères : **HOUSSAM EDDIN, TAHA, MOUSTAFA, ABDELMOUNEM, OUALID** et ma sœur **CHIFA** .*

et à toute ma grande et petite famille À tous mes collègues Sans oublier mes amies

YAZZA , ROUMISSA, SAFA, HANA ,SIRINE

*À mon binôme **KHADIDJA** et toute la famille **AHMED SALAH** et **BETTA** et **CHERRADE**.*

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

MAIMOUNA

Remerciements

*Ce travail a été réalisé au Laboratoire de la faculté des sciences et de la vie de l'Université Echahid Hamma Lakhdar-Eloued, sous la direction du **Monsieur le doyen Djahra Ali boutlilis**, et **Monsieur le chef de département Derouiche Samir**, Vous êtes un de nos maîtres dont le calme, la simplicité et l'amour constant du travail bien fait forcent notre admiration. Vous êtes des responsables, sympathiques et affectueux. Nous gardons un meilleur souvenir de l'accueil qui nous a été réservé dans le laboratoire. Veuillez accepter l'expression de mon profond respect.*

***Madame GUEMMOUDA Messaouda** (Directeur de mémoire), nous ne trouvons pas de mots pour exprimer nos sentiments à votre égard, nous vous dirons simplement merci pour tout ce que vous avez fait pour nous pour la réalisation de ce travail. Vous avez été intéressé dès le premier jour de notre rencontre par la réalisation de ce travail. Vous êtes pour nous une source inépuisable de connaissances et de savoir faire et surtout une référence à suivre. En acceptant de diriger cette mémoire malgré vos multiples occupations avec une inlassable patience et de m'a orienté tout le long de notre travail. Nous gardons un meilleur souvenir de travail au sein de votre équipe. Veuillez accepter l'expression de nos profonds respects
Merci Madame*

*Nos remerciements s'adressent également à **Madame HOUMRI Nawel** nous tenons à vous remercier vivement pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury, **Madame NADJI Nassima**, c'est un grand honneur que vous nous accordez en acceptant de bien vouloir participer au jury malgré vos multiples occupations. Nous vous remercions vivement pour votre disponibilité et de l'intérêt que vous portez à juger ce travail en vous demandant pardon
Merci à tous*

*Nous tenons également à remercier particulièrement **Melle GOUBI Sana** ingénieur du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie et tous les techniciens chacun et son nom, pour leur aide durant toute la période de notre travail. Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements chaleureux vont également à l'ingénieur du laboratoire VIRS au département des Sciences et Technologie à l'université el chahid Hamma Lakhdar- el Oued **Mr TLIBA Ali** pour leur aide et leur disponibilité.*

Résumé

L'objectif de la présente étude est d'évaluer l'effet de certains additifs alimentaires. Il s'agit de la tartrazine (E102) et l'acide citrique (E330), chez des ratte. Pour cela 14 ratte Wistar Albinos femelles âgés de 10 à 12 semaines. Ont été divisées en trois groupe ; le 1^{er} groupe témoins, le 2^{ème} groupe traitées par solution (3g de tartrazine E102 avec un litre d'eau de boisson), et le 3^{ème} groupe traitées par solution (3g de l'acide citrique E330 avec un litre d'eau de boisson), Après 30 jours de traitement, les ratte sont sacrifiés et quelques paramètres sont déterminés. L'analyse des résultats montre des changements notables dans les paramètres hématologique. Où nos résultats montrent une diminution significativement du nombre des GB, par contre une augmentation des nombre des globules rouges, taux d'hémoglobine, hématocrite, et volume globulaire moyenne. Par ailleurs, les résultats obtenus montrent un état de stress oxydant au niveau tissulaire causé par traitement par la tartrazine et l'acide citrique représenté dans une diminution remarquable du taux de Glutathion réduit (GSH), chez les ratte traitées par E330, par contre une augmentation du taux de Glutathion réduit, chez les ratte traitées par E102. D'autre part nos résultats montrent aussi qu'une augmentation non significative de la teneur tissulaire de malondialdéhyde(MDA). En constatant que la présente étude suggère que l'additif alimentaire avoir un effet sur la santé où il peut provoquer le stress oxydatif et affecter les paramètres hématologique de l'organisme exposé.

Mots clés : Additifs alimentaires, la tartrazine (E102), l'acide citrique (E330), stress oxydatif.

المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير بعض الإضافات الغذائية: التارترازين (E102) وحمض الستريك (E330) على الجرذان . جرذان ويستار الـ 14 الذين تتراوح أعمارهم بين 10 إلى 12 أسبوعاً. تم تقسيمها إلى ثلاث مجموعات ؛ المجموعة الأولى غير معالجة (الشاهدة)، المجموعة الثانية المعالجة بالمحلول (3غ من E102 تارترازين مع لتر واحد من مياه الشرب) ، والمجموعة الثالثة المعالجة بالمحلول (3غ من حامض الستريك E330 مع لتر واحد من مياه الشرب) ، بعد 30 يوماً من العلاج ، تم ذبح الجرذان مع تحديد بعض العوامل. يظهر تحليل النتائج تغيرات ملحوظة في معايير الدم. حيث تظهر نتائجنا انخفاضاً في عدد كريات الدم البيضاء (GB) ، على النقيض من ذلك ، هناك زيادة في عدد كريات الدم الحمراء والهيموغلوبين (HB) والهيماتوكريت (HT) ومتوسط حجم الدم (VGM). بالإضافة إلى ذلك ، أظهرت النتائج حالة من الإجهاد التأكسدي على مستوى الأنسجة الناجم عن العلاج مع التارترازين وحمض الستريك الممثلة في انخفاض ملحوظ في مستويات GSH، في الفئران التي عولجت بـ E330 ، مقابل زيادة انخفاض مستويات GSH في الفئران التي عولجت بـ E102. من ناحية أخرى ، تظهر نتائجنا أيضاً أن هناك زيادة في محتوى أنسجة MDA. تبين أن هذه الدراسة تشير إلى أن الإضافات الغذائية لها تأثير على الصحة حيث أنها يمكن أن تسبب الإجهاد التأكسدي وتؤثر على المعايير الدموية للمستهلك .

الكلمات المفتاحية: الإضافات الغذائية ، التارترازين (E102) ، حامض الستريك (E330) ، الإجهاد التأكسدي.

Liste des abréviations

ACGIH : Conférence américaine des hygiénistes industriels gouvernementaux

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGPI : Acides gras polyinsaturés

ALA : D-aminolévulinique

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

BHA : Butylhydroxyanisol

BHT : Butylhydroxytoluène

BPF : Bonnes pratiques de fabrication

CCFA : Codex Comité of Food Additive/Comité du Codex sur les additifs alimentaires

CEE : Communauté économique européenne

CIRC : Centre International de Recherchesur le Cancer

CYP : Cytochromes P

DJA : Dose journalière admissible

DL : Dose létale

DTNB : Acide 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoïque) ou réactif d'Ellman

E102 : Tartrazine

E330 : Acide citrique

EDTA : Acide Ethylene Diamine TetraAcétique

EFSA : European Food Safety Authority

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FAO : Food and Agriculture Organization

GB : Nombre des globules blancs

GR : Nombre des globules rouges

GSH : Glutathion réduit

GS-SG : Glutathion oxydé

Liste des abbreviations

H₂O₂ : Peroxydes d'hydrogène

HB : Taux d'hémoglobine

HT : Hématocrite

JECFA : Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

LDL : Lipoprotéines de densité légère

MDA : Malondialdéhyde

MnSOD : Superoxydes dismutases à manganèse

MPO : Myéloperoxydase

NADPH : Nicotinamideadéninedinucléotide phosphate

NGAA : Norme générale pour les additifs alimentaires

NOAELs : No Observable Adverse Effect Levels

OMS : Organisation mondiale de la Santé

SIN : Système international de numérotation

SIN ou INS : International Numbering System

SOD : Superoxydedismutase

TCMH : Taux corpusculaire moyen en hémoglobine

TDAH : Troubles déficitaires de l'attention avec ou sans hyperactivité

TPODACP : Test de provocation oral en double aveugle contre placebo

UE : Union européenne

VGM : Volume globulaire moyen

Liste des figures

figure	Titre	Page
1	Différentes classes des additifs alimentaires	08
2	Structure chimique de la tartrazine.	22
3	Détoxication de la tartrazine.	24
4	Structure chimique de l'acide citrique	29
5	Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie	36
6	Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules	37
7	Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés	39
8	Structures chimiques du glutathion réduit (GSH)	42
9	Protocole expérimentale de l'étude	45
10	Nombre des globules blancs ($10^3/\mu\text{l}$) des rattes traitées pendant 04 semaines à tartrazine et à l'acide citrique comparé à celui des rats témoins .	50
11	Nombre des globules rouges ($10^6/\mu\text{l}$) des rattes traitées pendant 04 semaines à tartrazine et à l'acide citrique comparé à celui des rats témoins.	51
12	Teneurs en hémoglobine (g/dl) des rats traitées pendant 04 semaines à la tartrazine et l'acide citrique comparées à celui des rats témoins .	52
13	Valeurs de l'hématocrite (%) des rats traitées pendant 04 semaines à la Tartrazine et l'acide citrique comparées à celui des rats témoins .	52
14	Volume globulaire moyen (fl) des rats traitées pendant 04 semaines à la tartrazine et l'acide citrique comparées à celui des rats témoins .	53
15	Taux corpusculaire moyen en hémoglobine (pg) des rats traitées pendant 04 semaines à la tartrazine et l'acide citrique comparées à celui des rats témoins .	54
16	Taux de malondialdéhyde tissulaire (MDA), dans le foie de groupe témoins, et les groupes traités par l'E102 et E330 .	55

Liste des figures

17	Taux de glutathion réduit (GSH) au niveau de foie chez les groupes, témoins et traites.	56
18	Cercle relatif représentant la proportion de personnes qui consomment du beurre quotidiennement, hebdomadairement et mensuellement(N= 262personnes).	56
19	Cercle relatif représentant la proportion de personnes qui consomment de boissons gazeuses quotidiennement, hebdomadairement et mensuellement(N= 262personnes).	57
20	Cercle relatif représentant la proportion de personnes qui consomment de Confiture quotidiennement, hebdomadairement et mensuellement(N= 262personnes).	58
21	Cercle relatif représentant la proportion de personnes qui consomment de fromage quotidiennement, hebdomadairement et mensuellement(N= 262personnes).	58

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
1	Catégories d'additifs utilisés dans l'Union Européenne.	05
2	Évaluations réalisées par le Comité mixte FAO / OMS d'experts sur E330.	31
3	Espèces réactives de l'oxygène (ERO) radicalaires et non-radicalaires.	35
4	Composition de régime standard.	43
5	Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.	46
6	Taux de malondialdéhyde tissulaire chez le groupe témoin et les groupes traités (Tartrazine : E102, Acide citrique : E330).	54
7	Taux de glutathion réduit (GSH) dans le foie, chez le groupe témoins et les groupes traités par le tartrazine (E102) et l'acide citrique (E330) ; $m \pm s$ (m : moyenne, s : écart type).	55

Sommaire

Introduction	
PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : additifs alimentaires	
I. Additifs alimentaires	03
I.1. Définition	03
I.2. Histoire des additifs alimentaires	03
I.3. Classification des additifs alimentaires	04
I.3.1. Selon la CEE	05
I.3.2. Selon le Codex Alimentarius	07
I.3.3. Selon la réglementation algérienne	07
I.3.3.1. Additifs maintiennent la fraîcheur et préviennent la dégradation des aliments	09
I.3.3.2. Additifs affectent les caractéristiques physico-chimiques	10
I.3.3.3. Additifs amplifient/améliorent les qualités sensorielles	11
II. Champ d'application	12
II.1 Additifs alimentaires incorporés dans la présente norme	12
II.2. Denrées alimentaires dans lesquelles des additifs alimentaires peuvent être utilisés	12
II.3. Denrées alimentaires dans lesquelles des additifs alimentaires ne peuvent pas être utilisés	13
II.4. Limites maximales d'utilisation pour les additifs alimentaires	13
II.5. Justification de l'utilisation des additifs	13
II.6. Bonnes pratiques de fabrication (BPF)	14
II.7. Description de la norme	14
III. Doses limitées	15
III.1. Dose journalière admissible (DJA)	15
III.2. Concentration maximale	16
IV. Risques des additifs alimentaires sur la santé	17
IV.1. Antioxydants et conservateurs	17
IV.2. Edulcorants artificiels	18
IV.3. Modificateur de goût	18
IV.4. Colorants	18
IV.5. Effet cocktail des additifs	19
Chapitre II: Généralité sur E102 et E330	
I. Tartrazine(E102)	21
I.1. Structure chimique	21
I.2. Propriétés physico-chimiques	21
I.3. Utilisation	21
I.4. Dose journalière	22
I.5. Toxicité	23
I.5.1. Toxicocinétique	23
I.5.2. Toxicité aiguë	24
I.5.3. Toxicité sub-chronique et chronique	24
I.5.4. Mutagénicité et Génotoxicité	25
I.5.5. Cancérogénicité	25

I.5.6. Toxicologie de la reproduction	26
I.5.7. Neurotoxicité	27
I.5.8. Immunotoxicité et hypersensibilisé	28
II. L'acide citrique E330	29
II.1. Définition de l'acide citrique	29
II.2. Caractéristiques	30
II.3. Utilisation	31
II.4. Effets sur la santé	32
Chapitre III : stress oxydatif	
I. Définition	34
II. Radicaux libres	34
III. Conséquences du stress oxydatif	36
III.1. Oxydation de l'ADN	37
III.2. Oxydation des lipides	37
III.3. Oxydation des protéines	39
IV. Système de défense antioxydant	40
IV.1. Systèmes de défense enzymatique	41
IV.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)	41
IV.1.2. Catalases	41
IV.1.3. Glutathions peroxydases	41
IV.2. Systèmes de défense non enzymatiques	42
IV.2.1. Glutathion réduit (GSH)	42
DEUXIEME PARTIE : PARTIE PRATIQUE	
Chapitre I : Matériel et Méthodes	
I. Matériel biologique et conditions d'élevage	43
I.1. Traitement des rattes	43
I.2. Sacrifice et prélèvement de sang et des organes	43
II. Etudes biochimiques	45
II.1. Dosage des protéines tissulaire	45
II.2. Dosage de Malondialdéhyde (MDA) tissulaire	45
II.3. Dosage de glutathion réduit (GSH) tissulaires	46
III. Paramètre hématologique	47
IV. Enquête	47
V. Analyse statistique	48
Chapitre II: Résultats et Discussion	
I. Résultats	49
I.1. Etude statistique	49
I.2. Evaluation des paramètres hématologiques	49
I.2.1. Nombre des globules blancs (GB)	49
I.2.2. Nombre des globules rouges (GR)	50
I.2.3. Taux d'hémoglobine (Hb)	50
I.2.4. Hématocrite (HT)	51
I.2.5. Volume globulaire moyenne (VGM)	52
I.2.6. Taux corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH)	52
I.3. Evaluation des paramètres du stress oxydant	53

I.3.1. Taux de malondialdéhyde (MDA)	53
I.3.2. Taux de Glutathion réduit (GSH)	54
I.4. Résultats d'enquête	55
I.4.1. Beurre	55
I.4.2. Boissons gazeuses et les jus	56
I.4.3. Confiture	56
I.4.4. fromage	57
II. Discussion générale	58
II.1. Effet de la tartrazine sur les paramètres hématologiques	59
II.2. Effet de la tartrazine sur les paramètres de stress oxydatif	61
I.3. Enquête	62
Conclusion	65
Références bibliographiques	66
Annexes	76
Résumé	

Introduction

Historiquement, le sel est un des premiers additifs alimentaires qui a été utilisé dès l'antiquité pour la conservation des aliments. En Égypte, l'utilisation des épices et arômes servait à améliorer l'aspect de certains mets. Au début des années 60, un laboratoire coopératif français publia une première étude sur des « substances volontairement ajoutées aux aliments »(Matougui, 2011). Se traduit par les additifs alimentaires qui sont les « substances non nutritives ajoutées intentionnellement aux aliments, le plus souvent en faible quantité pour en améliorer l'apparence, la saveur, la consistance ou la propriété de conservation », on y a injecté des arômes et des exhausteurs de goût. Pour allonger leur durée de vie, on y a ajouté des conservateurs. Puis, pour les rendre plus attrayants, on y a ajouté des colorants tape-à-l'œil. Actuellement, plus de 300 additifs sont utilisés dans l'Union européenne, classés en une vingtaine de catégories selon leurs effets technologiques sur l'aliment **l'OMS et FAO (1955)**.

Aujourd'hui, de plus en plus d'ouvrages et de spécialistes de la santé dénoncent la toxicité d'un grand nombre d'additifs alimentaires, qui tout en étant autorisés, sont souvent dangereux pour notre santé, peu testés mais très utiles pour les industriels. Un grand nombre de ces additifs sont chimiques et rajoutés intentionnellement par les industries agroalimentaires.

Notre corps n'est pas fait pour en consommer d'aussi grandes quantités et encore moins celui de nos enfants. D'où l'importance ici de la célèbre citation : « *il vaut mieux prévenir que guérir* ».

L'alimentation joue un rôle vital dans l'organisme car elle est la source d'énergie de toutes les fonctions cellulaires. Cependant, les aliments peuvent contenir des additifs nocifs potentiellement toxiques que généralement l'humain ignore. Cette idée est due à une méconnaissance des effets, des conditions d'emploi, des structures et des réglementations qui régissent leurs utilisations pour une meilleure sécurité du consommateur (**Parent-Massin&De Saint Blanquat, 2002**).

Les additifs ont fait la preuve de leur innocuité aux niveaux d'utilisation proposés sont autorisés en alimentation. La plupart des additifs sont aujourd'hui considérés comme inoffensifs, d'autres sont plutôt douteux, voire même dangereux

Introduction

selon des rapports d'études. En ce qui concerne la nourriture : ce n'est pas parce qu'un aliment industriel a un goût irrésistible qu'il est forcément bon pour votre santé. En effet, cet aliment « favori » (boisson, dessert, chips, plat préparé, sucrerie ou autres) va vous procurer du plaisir pendant une minute au plus, le temps qu'il satisfasse vos papilles gustatives (avec l'aide de nombreux produits artificiels). Puis, cet aliment ira dans votre système digestif, pour passer dans vos organes, vos cellules, ainsi que tout votre organisme. Ce qui en restera, ne sera « expulsé » dans vos selles ou dans vos urines que 24 ou 48 heures plus tard, selon l'état de votre transit intestinal. Entre temps, la plupart des ingrédients et des additifs auront forcément laissé des traces dans votre organisme, certains d'entre eux ont même la lugubre capacité de commencer à détruire votre système nerveux, votre système immunitaire, voire même de faire baisser votre vue, le tout assez rapidement, à votre insu et ce, malgré ce qui avait été annoncé sur l'emballage ou par la publicité.

L'objectif général de cette étude est donc d'évaluer les effets de l'ingestion subchronique de la tartrazine et de l'acide citrique sur certaines fonctions et organes des rattes wistar. Nous avons choisi les rattes wistar albinos comme modèle animal expérimental car cette souche est très utilisée en toxicologie. Dans un premier temps, notre travail porte d'abord sur l'analyse des effets de la consommation orale subchronique de la tartrazine et l'acide citrique aux doses de 3g/l sur les paramètres hématologiques, les paramètres de stress oxydatif.

Le document est structuré en deux parties. La première partie porte sur la synthèse bibliographique, rappelant des généralités sur les additifs alimentaires, généralités sur la tartrazine et l'acide citrique et le stress oxydatif.

Dans la seconde partie, la méthodologie de travail est développée, les différents résultats obtenus et la discussion et une conclusion.

Pour cela on a effectué ce travail pour montrer les effets toxiques des deux additifs alimentaires (E102, E330) chez les rattes wistar.

I. Additifs alimentaires

I.1. Définition

Selon le codex : Le Codex Alimentarius définit un additif alimentaire comme étant toute substance qui n'est pas normalement consommée en tant que denrée alimentaire, ni utilisée normalement comme ingrédient caractéristique d'une denrée alimentaire, qu'elle ait ou non une valeur nutritive, et dont l'addition intentionnelle à une denrée alimentaire dans un but technologique (y compris organoleptique) à une étape quelconque de la fabrication, de la transformation, de la préparation, du traitement, du conditionnement, de l'emballage, du transport ou de l'entreposage de ladite denrée entraîne, ou peut, selon toute vraisemblance, entraîner (directement ou indirectement) son incorporation ou celle de ses dérivés dans cette denrée ou en affecter d'une autre façon les caractéristiques. Cette expression ne s'applique ni aux contaminants, ni aux substances ajoutées aux denrées alimentaires pour en préserver ou en améliorer les propriétés nutritionnelles (**Codex alimentarius, 2018**).

* L'additif est une substance ajoutée volontairement, donc connue en quantité et en qualité ;

* Il est employé dans un but déterminé, pour jouer un rôle reconnu utile;

*Il demeure dans l'aliment, lui ou ses dérivés s'il se transforme(**Vierting,2008**).

Les additifs sont des substances chimiques ou naturelles qui, ajoutées à notre alimentation, remplissent différents rôles tels que :

_ Conserver.

_ Lier.

_ Emulsifier.

_ Colorer.

_ Aromatiser, etc.

I.2. Histoire des additifs alimentaires

L'utilisation de ces substances par l'homme remonte à des siècles, quoiqu'elle se manifeste aujourd'hui comme une technique à la mode.

*** Antiquité :**

. **4000 ans avant Jésus-Christ** : Utilisation du sel, pour conserver les aliments rares (viande par exemple).

. **1600 ans avant Jésus-Christ** : les hébreux qui utilisaient l'eau salée de la mer morte. Les Grecs et les Romains possédaient un art évolué de l'utilisation du sel mélangea des épices, de l'huile, du vinaigre, et connaissaient l'usage du salpêtre. En Égypte, ont utilisé des colorants et des arômes pour augmenter l'attrait de certains produits alimentaires et les Romains ont eu recours au salpêtre (ou nitrate de potassium), aux épices et colorants pour la conservation et l'amélioration de l'apparence des aliments.

. **Au XIXème siècle** : l'industrialisation des colorants en Amérique du Nord.

. **Au XXème siècle** : découverte des émulsifiants, des levures et des gélifiants, commercialisation massive des additifs dans les aliments. Les développements scientifiques dans l'alimentation et les avancéestechnologiques récentes ont abouti à la découverte de nouvelles substances qui peuvent remplir de nombreuses fonctions dans les denrées alimentaires. .

Au début des années 60 : un laboratoire coopératif français publia une première étude sur des « substances volontairement ajoutées aux aliments » .

En 1912 : la notion des additifs chimique a fait son apparition, associée au principe de la liste positive d'autorisation en France. .

En 1972 : un décret obligeant les industriels à inscrire sur leurs produits la liste des composants principaux et des produits d'addition. .

En 1985 : établissement de la numération conventionnelle, Colorant (E100-E199); Conservateur (E200-E299)(Matougui, 2011).

En 1988 : autorisation de l'utilisation des édulcorant(Matougui, 2011).

En 1993 : la directive sur les colorants a été adoptée.

I.3. Classification des additifs alimentaires

Les numéros E sont des codes numériques pour les additifs alimentaires, qui ont été évalués au sein de l'Union Européenne. Les additifs sont théoriquement classés selon leur catégorie, mais la liste s'allonge d'année en année, si bien que de plus en plus d'additifs se

retrouvent classés dans une catégorie qui ne reflète pas leur fonction première. On retrouve, par exemple, le sorbitol, un édulcorant, dans la catégorie des E4XX (Macioszek, 2004).

I.3.1. Selon la CEE

Il a été établie par la directive européenne 89/107/CEE avec 25 catégories et un code a été utilisé au niveau européen : Il se compose de la lettre "E" suivie d'un numéro permettant d'identifier facilement la catégorie « Exxx » allant de E100 a E1520 (Directive du Parlement européen : (94/34/CE ; 89/107/CEE) (Tableau 01).

Tableau 01 : Catégories d'additifs utilisés dans l'Union Européenne (Macioszez, 2004)

Codes	Catégories	Fonction dans l'aliment
E100 à E180	Colorants	Intensifier ou donner une couleur
E200 à E285	Conservateurs	Allonger la durée de conservation en inhibant le développement des bactéries ou des moisissures
E300 à E321	Antioxydants (anti oxygène)	Limiter les phénomènes d'oxydation (rancissement des graisses ou brunissement des fruits et légumes coupés, par exemple)
E325 à E380	Acidifiants/Correcteurs d'acidité	Agir sur le degré d'acidité
E400 à E495	Agents de texture (épaississants, stabilisants, émulsifiants, gélifiants, texturants)	Donner une consistance particulière

<p>E500 à E585</p>	<p>Catégorie «fourre-tout» comprenant des poudres à lever, l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique, des phosphates, des correcteurs d'acidité</p>	<p>Remplir des rôles varies</p>
<p>E620 à E650</p>	<p>Exhausteurs de goût</p>	<p>Renforcer ou améliorer le goût d'un aliment par une action sur l'intensité de notre perception gustative</p>
<p>E900 à E914</p>	<p>Agents d'enrobage</p>	<p>Donner un aspect externe particulier (aspect brillant ou couche protectrice)</p>
<p>E938 à E949</p>	<p>Gaz d'emballage/gaz propulseurs</p>	<p>Allonger la durée de conservation des aliments</p>
<p>E950 à E968</p>	<p>Édulcorants</p>	<p>Conférer une saveur sucrée</p>
<p>E1100 à E1105</p>	<p>Enzymes alimentaires</p>	<p>Faciliter la fabrication de certains produits alimentaires</p>
<p>E1404 à</p>	<p>Amidons modifiés</p>	<p>Épaissir une préparation</p>

E1451		
-------	--	--

I.3.2. Selon le Codex Alimentarius

Il s'agit du système international de numérotation (SIN ou INS ; International Numbering System) ; il a été mis au point par la Codex Comité of Food Additive (CCFA) en vue de fournir un système numérique, internationalement reconnu, permettant l'identification des additifs alimentaires et, entre autres, les colorants alimentaires dans la liste d'ingrédients (**Codex alimentarius,2018**).

I.3.3. Selon la réglementation algérienne

La liste algérienne des additifs alimentaires, fixée par l'arrête interministérielle du 14 février 2002 paru au journal officiel algérien n°31, est plus restreinte par rapport à celle de la CEE ou du Codex.

Elle ne contient que 13 catégories : les colorants, les conservateurs, les anti-oxygènes, les épaississants- gélifiants et émulsifiants, les acidifiants, les correcteurs d'acidité, les stabilisants, les antiagglomérants, les exhausteurs de goût, les agents d'enrobage, les sels de fonte, les poudres de lever et les édulcorants(**Figure 01**).

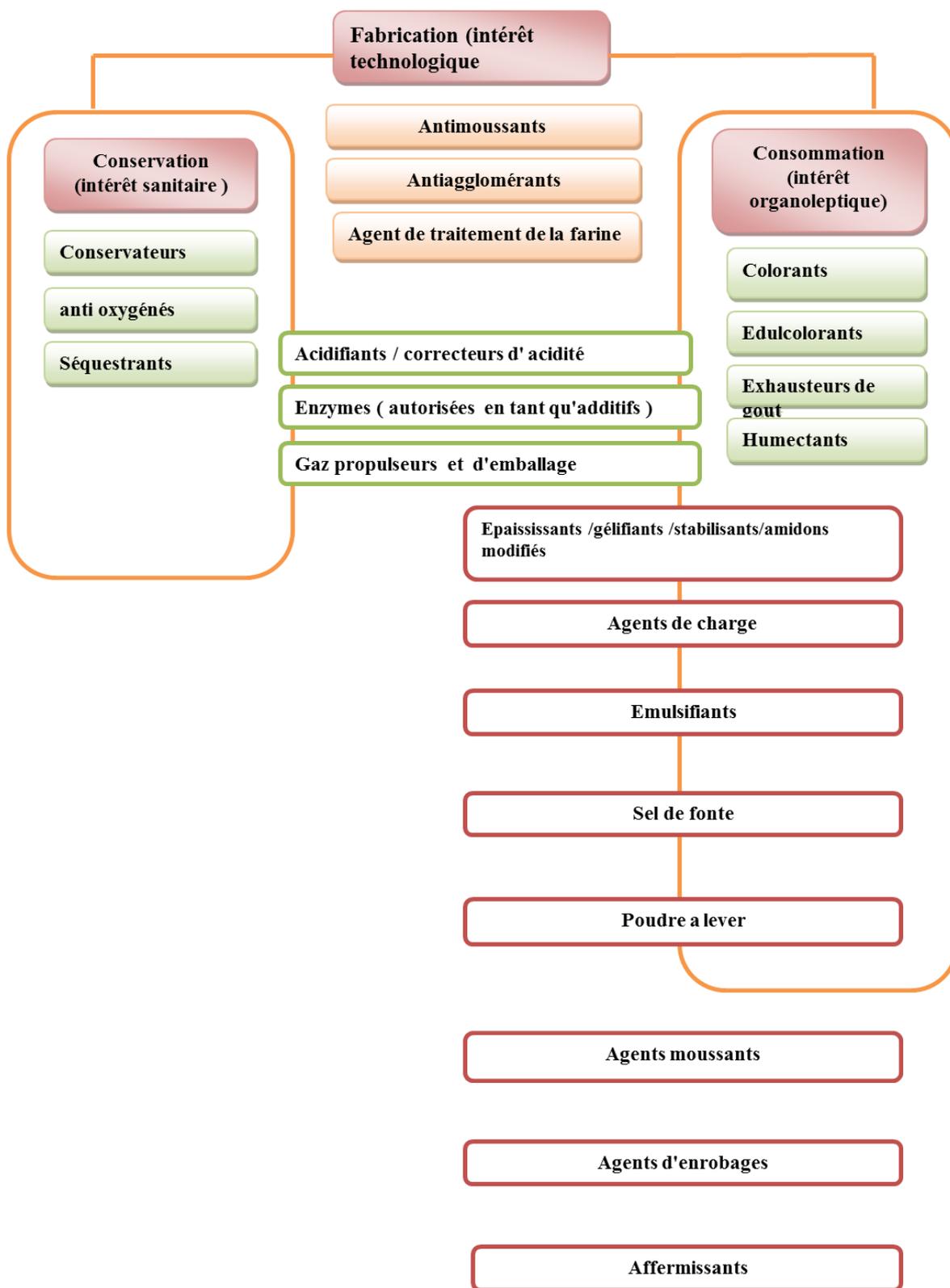


Figure 01. Différentes classes des additifs alimentaires (Arzour & Belbacha, 2015).

Les additifs sont généralement classés selon leurs propriétés principales d'utilisation, et la fonction qu'ils assurent dans la denrée alimentaire, on cite :

I.3.3.1. Additifs maintiennent la fraîcheur et préviennent la dégradation des aliments

1. Conservateurs E200 à E299

Les conservateurs sont des substances dont l'effet directe retarde ou empêche d'indésirables modifications microbiologiques dans les denrées alimentaires, en particulier ils bloquent les levures, les moisissures et les bactéries

Ils participent au maintien de la qualité sanitaire des aliments en empêchant ou en ralentissant le développement microbien. Les conservateurs ont une action bactériostatique (notamment contre *Clostridium Botulinum* qui produit une toxine dangereuse); elles donnent une coloration rosée à la charcuterie et participent au goût du produit (goût salé) (**Lavoisier, 2009**), Exemple : nitrates et nitrites (E249 - E252).

2. Gaz d'emballage

C'est des complexes de substances avec des ions métalliques qui pourraient contribuer à la détérioration des produits alimentaires en augmentant le taux d'oxydation. Les agents réducteurs qui limitent la formation d'ions métalliques en accélérant le processus d'oxydation. Pierre van de Weghe, UMR 6226 Sciences Chimiques de Rennes Equipe Produits Naturels, Synthèses, Chimie Médicinale (2011/2012).

Exemple : Le dioxyde de carbone (E290).

3. Séquestrant

Ils forment des complexes chimiques avec les ions métalliques, ils protègent les aliments contre les réactions d'oxydation induites par la présence des métaux. Exemple : acide citrique (E330)(**Lavoisier, 2009**).

4. Antioxydants (E300)

C'est des substances qui sont ajoutées à faible dose a des matières spontanément oxydables a l'air, ils sont capables d'empêcher l'action de l'oxygène libre, appelée auto-oxydation, c'est des molécules naturellement présentes dans de nombreux aliments et qui ont une fonction de capteurs des radicaux libres (s'opposent aux phénomènes de stress oxydant).

Leur rôle est de prolonger la durée de conservation des aliments en les protégeant contre les altérations dues à l'oxydation, comme le rancissement des corps gras et les

changements de couleur, prévenir les maladies cardio-vasculaires et les cancers ou de protéger les yeux(Lavoisier, 2009), Exemple : l'acide ascorbique (vitamine C).

I.3.3.2. Additifs affectent les caractéristiques physico-chimiques

1. Agents de texture : Un texturant alimentaire de (E338 à E495), est un additif alimentaire qui permet de modifier les propriétés physiques d'un plat sans en modifier sensiblement le goût et la saveur. On compte notamment :

2. Agent gélifiants

Ils permettent de confectionner des produits ayant la consistance d'un gel ou d'une gelée (Lavoisier, 2009), Exemple : L'alginat de sodium (E401), l'agar-agar (E406).

3. Épaississants

Ils permettent d'augmenter la viscosité d'un produit pour lui donner une consistance plus épaisse, moins liquide (Lavoisier, 2009), Exemple : la gélatine (E400 – 406) ou la pectine (E440).

4. Stabilisateurs

Les stabilisants permettent de maintenir l'état physico-chimique du produit, pour stabiliser sa texture, sa couleur, son onctuosité, etc(Lavoisier, 2009), Exemple : Le Polyvinylpyrrolidone (E1201).

5. Emulsifiants

Ils sont composés de molécules dont une partie se lie fortement à l'eau et l'autre aux matières grasses. Ces deux fonctions d'une même molécule permettant des liaisons, assurent le mélange intime et stable de substances qui, sans cela, ne seraient pas miscibles entre elles. Un exemple d'émulsifiant utilisé en cuisine est la moutarde qui permet de faire une émulsion à partir du vinaigre et de l'huile, deux aliments initialement non miscibles. (Lavoisier, 2009).

Exemple : la lécithine(E322) et les mono et di-glycérides d'acides gras alimentaires (E471).

6. Agents antiagglomérants

Les aliments en poudre ou en granules absorbent facilement l'humidité, provoquant l'agglutination des particules et la formation de grumeaux, ces agents aident à prévenir la formation de grumeaux et à conserver la fluidité du produit(Lavoisier, 2009),Exemple :

Silicate de calcium (E552), qui est utilisé pour empêcher l'agglutination du sel de table ou de la poudre à lever.

7. Agents d'enrobage

Ce sont des substances qui, lorsqu'ils sont appliqués à la surface externe d'un aliment, lui confère un aspect brillant ou le recouvre d'un revêtement protecteur. Ils sont utilisés pour les confiseries, les fruits et les produits de boulangerie. **(Lavoisier, 2009)**.

Exemple : La cire d'abeille blanche (E901).

8. Agents de charge

Additif alimentaire qui leste une denrée alimentaire sans en modifier sensiblement la valeur calorifique disponible **(Lavoisier, 2009)**, Exemple : La cellulose (E460).

I.3.3.3. Additifs amplifient/améliorent les qualités sensorielles

Ont pour but d'Augmenter et améliorer les caractéristiques organoleptiques tel que :

1. Exhausteurs de goût (E600)

Ce sont des substances qui n'ont pas de goût propre mais dont la présence contribue à renforcer le goût ou l'odeur d'une denrée **(Lavoisier, 2009)**, Exemple : Ils sont numérotés d'E620 (acide glutamique) à E641 (L-leucine).

2. Edulcorants (E900)

Ce sont des molécules qui possèdent une saveur sucrée notablement supérieure à celle du saccharose. Elles n'ont pas ou qu'une très faible valeur énergétique.

L'aspartame(E951) a un pouvoir sucrant environ 200 fois supérieur à celui du saccharose**(Lavoisier, 2009)**, Exemple : Aspartame (E951).

3. Acidifiant E270-E580

L'acidification d'un produit correspond à une baisse de pH jusqu'à un seuil où les micro-organismes ne peuvent plus se développer. C'est un procédé de conservation traditionnelles sont utilisés comme conservateur ou pour modifier la saveur **(Lavoisier, 2009)**,Exemple : L'acide gluconique E574.

4. Colorants (E100-E199)

Les colorants alimentaires ajoutent de la couleur à une denrée alimentaire, ou rétablissent sa couleur naturelle. (Lavoisier, 2009), Exemple : le colorant caramel (E150), E102: Tartrazine.

II. Champ d'application

II.1 Additifs alimentaires incorporés dans la présente norme

Seuls les additifs alimentaires énumérés ci-après sont considérés propres à être utilisés dans les aliments, conformément aux dispositions de la présente norme. Ne seront envisagés pour inclusion dans la présente norme que les additifs alimentaires pour lesquels une dose journalière admissible (DJA) a été établie ou dont l'utilisation a été estimée sûre, conformément à d'autres critères par le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA) et auxquels un numéro du Système international de numérotation (SIN) a été attribué par le Codex. L'emploi d'additifs, conformément aux dispositions de la présente norme, est considéré comme justifié d'un point de vue technologique (OMS, 2018).

II.2. Denrées alimentaires dans lesquelles des additifs alimentaires peuvent être utilisés

La présente norme énonce les conditions dans lesquelles des additifs alimentaires peuvent être utilisés dans les aliments, que ceux-ci fassent ou non l'objet d'une norme Codex. L'utilisation d'additifs dans les aliments faisant l'objet d'une norme Codex est soumise au respect des conditions d'utilisation établies par les normes Codex relatives à des produits et par la présente norme. La Norme générale pour les additifs alimentaires (NGAA) devrait être la seule référence faisant foi pour les additifs alimentaires.

Les renseignements fournis par les Comités de produit peuvent également être pris en considération par le Comité du Codex sur les additifs alimentaires (CCFA), lors de l'examen des dispositions relatives aux additifs alimentaires, pour des aliments similaires ne faisant pas l'objet d'une norme. Lorsqu'une denrée alimentaire ne relève pas d'un Comité de produit, il incombe au CCFA d'évaluer les besoins technologiques (OMS, 2018).

II.3. Denrées alimentaires dans lesquelles des additifs alimentaires ne peuvent pas être utilisés

Les catégories d'aliments ou les aliments individuels pour lesquels l'emploi d'additifs alimentaires n'est pas acceptable ou pour lesquels l'emploi devrait être limité sont définis dans la présente norme (OMS, 2018).

II.4. Limites maximales d'utilisation pour les additifs alimentaires

L'établissement de limites maximales pour les additifs alimentaires dans les différents groupes d'aliments vise essentiellement à garantir que la quantité d'additifs ingérés, toutes sources confondues, ne dépasse pas la dose journalière admissible (DJA).

Les additifs alimentaires visés par la présente norme et les limites maximales correspondantes sont fondés en partie sur les dispositions relatives aux additifs alimentaires de normes Codex de produits établie antérieurement ou sur les résultats d'une analyse effectuée à la demande des gouvernements visant à vérifier qu'une limite maximale d'utilisation proposée est compatible avec la DJA (OMS, 2018).

II.5. Justification de l'utilisation des additifs

L'utilisation d'additifs alimentaires ne se justifie que si elle comporte un avantage, ne présente pas de risque appréciable pour la santé des consommateurs, n'induit pas ceux-ci en erreur, remplit une ou plusieurs des fonctions technologiques.

a) Introduire les ingrédients ou composants nécessaires dans des denrées alimentaires manufacturées destinées à certains groupes de consommateurs ayant des besoins diététiques particuliers;

c) Améliorer la conservation ou la stabilité d'un aliment ou ses propriétés organoleptiques, à condition de ne pas en altérer la nature, la substance ou la qualité de façon à tromper le consommateur;

d) Servir d'adjuvant dans la fabrication, la transformation, la préparation, le traitement, l'emballage, le transport ou l'entreposage de l'aliment, à condition que l'additif ne soit pas utilisé pour masquer les effets de l'utilisation de matières premières de mauvaise qualité ou de méthodes ou techniques indésirables (y compris le manque d'hygiène) (OMS, 2018).

II.6. Bonnes pratiques de fabrication (BPF)

Tous les additifs alimentaires visés par les dispositions de la présente norme doivent être utilisés conformément aux bonnes pratiques de fabrication, ce qui signifie que:

a) La quantité d'additif ajoutée à l'aliment ne dépasse pas celle raisonnablement nécessaire pour obtenir l'effet voulu dans l'aliment.

b) La quantité d'un additif qui, par la suite de son utilisation au cours des opérations de fabrication, de transformation ou d'emballage, devient un constituant de l'aliment et qui n'est pas destiné à produire un effet physique ou tout autre effet technologique dans l'aliment lui-même, est réduite dans toute la mesure raisonnablement possible.

c) L'additif est de qualité alimentaire appropriée et il est préparé et manipulé comme un ingrédient alimentaire (OMS, 2018).

II.7. Description de la norme

La présente norme comporte trois parties essentielles:

a) Préambule

b) Appendices

i. L'appendice A est un document d'orientation aux fins de l'examen des concentrations maximales d'additifs à DJA numérique du JECFA.

ii. L'appendice B énumère les catégories du système de classification des denrées alimentaires utilisées pour élaborer et structurer les tableaux 1, 2, et 3 de la norme. Elle indique aussi les descripteurs de chaque catégorie et sous-catégorie d'aliments.

iii. L'appendice C regroupe les références croisées du système de classification des denrées alimentaires et des normes Codex de produit.

c) Dispositions relatives aux additifs alimentaires

i. Le Tableau 1 précise, pour chaque additif ou groupe d'additifs alimentaires (par ordre alphabétique) à DJA numérique du JECFA, les catégories de denrées alimentaires (ou les denrées alimentaires) pour lesquelles l'utilisation de l'additif est admise, les concentrations maximales pour chaque denrée alimentaire ou catégorie de denrées alimentaires, et les fonctions technologiques.

ii. Le Tableau 2 reprend pour l'essentiel les mêmes informations que le tableau 1, mais classées selon les catégories de denrées alimentaires.

iii. Le Tableau 3 énumère les additifs à DJA non spécifiées ou non limitées du JECFA et dont l'utilisation est autorisée dans les denrées alimentaires en général, à condition d'en limiter la quantité à la dose la plus faible possible nécessaire pour obtenir l'effet voulu et à être conforme aux bonnes pratiques de fabrication .

L'appendice du Tableau 3 énumère les catégories de denrées alimentaires et les denrées alimentaires individuelles exclues des conditions générales du tableau 3. Les dispositions du tableau 1 et 2 régissent l'utilisation des additifs dans les catégories d'aliments énumérées à l'appendice du tableau 3.

Sauf disposition contraire, les concentrations maximales pour les additifs au tableau 1 et 2, sont fixées pour le produit fini tel qu'il est consommé.

Les tableaux 1, 2 et 3 n'incluent pas les utilisations de substances comme auxiliaires technologiques(**Codex Alimentaire d'OMS, 2018**).

III. Doses limitées

III.1. Dose journalière admissible (DJA)

Elle est exprimée en milligramme par kilogramme de poids corporel, c'est l'estimation de la dose présente dans les aliments ou l'eau de boisson, en fonction du poids corporel, qui peut être ingérée tous les jours pendant toute une vie, sans risque pour la santé du consommateur. La valeur sera affectée d'un facteur de sécurité, tenant compte à la fois des variabilités inter et intra espèces et la qualité des expérimentations pour aboutir à la DJA applicable pour l'homme, généralement ce facteur est de 100. La DJA sera donc égale à la DES par 100. (**Jacquot et al.,2011**). La DJA ne représente pas un seuil de toxicité mais un niveau d'exposition jugé sans risque pour la santé durant toute une vie (**Kayraldiz&Topaktas, 2007**). Une DJA de 1 signifie qu'une personne de 60 kg peut absorber une dose de 60 mg par jour sans risque pour la santé

Exemples :

E102 (tartrazine) : DJA = 7.5 mg/kg

E120 (cochenille) : DJA = 5 mg/kg

E150b (caramel) : DJA = 200 mg/kg (**OuldElhkim et Al; 2007**)

Il existe différentes classes de DJA

*** DJA temporaire**

On peut fixer une DJA temporaire en attendant que les données complémentaires soient fournies dans un délai déterminé, en supposant que les données sont déjà suffisantes pour assurer la sécurité d'emploi de l'additif (**Jacquot *et al.*, 2011**).

Exemple : en 2009, l'EFSA a réévalué la sécurité du jaune orangé S (E110), où elle était fixée par une DJA temporaire de 1mg/kg, en recommandant que d'autres tests soient réalisés. Actuellement l'EFSA a décidé d'augmenter la DJA (**EFSA, 2014**).

*** DJA sans limite ou non spécifiée**

Attribuée aux substances très faiblement toxiques, compte tenu des données chimiques, biochimiques et toxicologiques disponibles, la dose admissible de la substance dans les aliments ne constitue pas un danger pour la santé. Pour cette raison l'établissement d'une DJA exprimée en mg/kg n'est pas jugé nécessaire (**Jacquot *et al.*, 2011**).

*** Dose Journalière Admissible non fixée**

Elle n'est pas fixée quand les données toxicologiques sont insuffisantes.

Exemple :

* Brun FK (E154): le groupe scientifique n'a pas pu parvenir à une conclusion quant à sa sécurité, en raison de limites significatives concernant la disponibilité des données toxicologiques (**Jacquot *et al.*, 2011**).

* Rouge alluraAc (E129): le comité a décidé de ne pas fixer une DJA pour ce colorant en raison de l'absence d'études sur son métabolisme et de l'insuffisance de la seule étude à long terme sur le rat utilisable pour l'évaluation (**FAO/OMS, 1974**).

- DJA supprimée ou suspendue :

Elle est supprimée quand de nouvelles données toxicologiques indiquent l'éventualité d'un effet indésirable, mais les données sont insuffisantes pour conclure (**Jacquot *et al.*, 2011**).

Exemple :

la DJA du Rouge 2G (E128) a été suspendue en raison de l'insuffisance d'éléments concernant la cancérogénicité éventuelle d'un de des métabolites (**Jacquot *et al.*, 2011**).

III.2. Concentration maximale

un additif est la concentration la plus élevée de l'additif établie pour être effectivement efficace dans un aliment ou une catégorie d'aliments et retenue sans danger

par la Commission du Codex Alimentarius. Elle est en général exprimée en mg d'additif/kg d'aliment. La concentration maximale ne correspond en général ni à la concentration optimale, ni à la concentration recommandée, ni à la concentration normale. Dans le cadre des BPF, la concentration optimale recommandée ou la concentration normale varient pour chaque application d'additif et dépendent tant des effets techniques recherchés que de la denrée spécifique à laquelle l'additif doit être ajouté, en tenant compte du type de matière première, de la transformation des aliments et du stockage après fabrication, du transport et de la manipulation par les distributeurs, les détaillants et les consommateurs (OMS, 2018).

IV. Risques des additifs alimentaires sur la santé

La plupart des additifs sont aujourd'hui considérés comme inoffensifs, d'autres sont plutôt douteux, voire même dangereux selon des rapports d'étude (Andre, 2013).

Les additifs sont présents dans une multitude d'aliments, principalement les aliments transformés, industrialisés. Mais on les retrouve également dans les viandes, les crustacés, les boissons. Il faut apprendre à lire les étiquettes, et ce n'est pas toujours simple. Règle générale, plus l'étiquette des ingrédients est longue, plus il y a des risques de retrouver des indésirables, mais attention, ils peuvent être présents même dans un aliment contenant très peu d'ingrédients.

Les additifs les plus dangereux, qu'il faut absolument éviter à tout prix, parmi ces additifs, il y en a qui sont interdits dans certains pays et autorisés dans d'autres pays.

IV.1. Antioxydants et conservateurs

Les benzoates (de sodium, de potassium, de calcium, acide benzoïque et autres) : Ils se retrouvent dans certains aliments transformés et certaines boissons. On les utilise pour augmenter le temps de préservation.

Risques : des réactions allergiques; ils nuiraient à la croissance des très jeunes enfants.

Les BHT et BHA (butyldroxytoluène et butylhydroxyanisole) utilisés pour empêcher l'oxydation des huiles et matières grasses. Ils se retrouvent dans des produits tels que les huiles grasses, shortening, croustilles, céréales, beignes, pâtisseries, certaines poudres à boissons, base de bouillons, fruits séchés, etc.

Risques : allergies, hyperactivité chez l'enfant, perturbation endocrinienne, cancer.

Les nitrites et nitrate de sodium : Ils sont utilisés principalement dans la conservation des viandes transformées (toutes les charcuteries) et dans certains fromages.

Risques : Cancers, anémies (Sous l'effet de la cuisson ou de certaines transformations dans l'organisme ils forment des nitrosamines, composés cancérigènes).

Sulfites (dioxyde de soufre, disulfite de sodium, disulfite de potassium, anhydrosulfureux) Ils se retrouvent dans certains médicaments, le vin, cidres, bières, mélasse, jus de fruits surgelés, etc.)

Risques : Réactions allergiques, maux de tête, avitaminose, nausées, troubles gastrointestinaux Le gallates de propyle. également pour protéger les aliments de l'oxydation des graisses.

Risques : allergies, hyperactivité chez l'enfant, perturbation endocrinienne, cancer (**Cahier No 10 – les additifs alimentaires, 2017**)

IV.2. Edulcorants artificiels

Acésulfame K (ou de potassium) : Un édulcorant artificiel. On le retrouve dans les desserts, les boissons gazeuses, certains cafés et thés instantanés, la gomme à mâcher et autres produits présentés comme faibles en calories.

L'aspartame : Autre édulcorant artificiel très fréquent. On le retrouve également dans toute une gamme de produits basses calories.

Risques : Cancer (Il se décompose en substances cancérigènes, le formaldéhyde et l'acide formique)(**Cahier No 10 – les additifs alimentaires, 2017**)

IV.3. Modificateur de goût

Glutamate monosodique, il rehausse le goût et est un des favoris des plats chinois. On le retrouve dans une grande variété d'aliments : potages, viandes, crustacés, volailles, vinaigrettes, légumes préparés, etc.

Risques : asthme et allergies, migraines, nausées(**Cahier No 10 – les additifs alimentaires, 2017**)

IV.4. Colorants

La liste est très longue. Les plus dangereux sont de couleur rouge : l'amarante, érythrosine, cochenille A; de couleur jaune : la tartrazine, chrysoïne S (L'amarante est

interdite aux Etats-Unis et en France, mais pas au Canada; la chrysoïne S est interdite en France).

Risques : principalement des réactions allergiques, cancers, urticaire, migraines, très dangereux pour les enfants (**Cahier No 10 – les additifs alimentaires, 2017**).

IV.5. Effet cocktail des additifs

Ce que l'on appelle "effet cocktail des additifs", n'est autre que les risques potentiels liés à l'ingestion simultanée d'additifs dans notre organisme. Plusieurs dizaines d'additifs différents, présents dans les aliments transformés industriellement mais aussi dans des produits bruts comme le beurre, le lait cru ou le pain (**Donna, 2007**).

Les effets combinés de ces substances ingérées simultanément sont encore méconnus, si bien que la réglementation actuelle n'en tient pas compte pour fixer les doses maximales d'incorporation des additifs dans les produits alimentaires. Certains additifs peuvent être inoffensifs lorsqu'ils sont consommés isolément, et toxiques lorsqu'ils sont combinés à d'autres molécules. Dans d'autres cas, un additif dont la nocivité pour la santé est avérée pourrait bien décupler sa toxicité lorsqu'il est absorbé avec d'autres substances.

C'est ainsi que les effets néfastes des combinaisons d'une catégorie de conservateurs (E210 à E213, benzoates) avec six colorants de synthèse (E102, E104, E110, E122, E124, E129) sur le comportement des enfants ont été démontrés par une équipe de chercheurs britanniques en 2007. Ces combinaisons sont susceptibles de provoquer des troubles de déficit de l'attention chez les enfants et hyperactivité.

Les E200, E201, E202 et E203 (sorbates) conservateurs très utilisés en industrie agroalimentaire, sont susceptibles de réagir avec d'autres additifs. D'après une étude publiée en 1998, ils pourraient réagir avec les E249 à E252 (nitrite et nitrates): la combinaison de ces molécules perturbe les systèmes enzymatiques et peut aboutir à la formation de composés mutagènes (risque d'altération de L'ADN). Des spécialistes mettent en garde les femmes enceintes car cette association pourrait provoquer des malformations congénitales.

En 2005, une équipe de chercheurs britanniques a publié les résultats d'une étude menée sur trois ans, portant sur les interactions de quatre additifs alimentaires. Ils ont d'abord étudié les effets isolés du E951 (aspartame), du E621 (glutamates de sodium) et de deux colorants, les E104 (jaune de quinoléine) et le E133 (bleu brillant), puis les effets des

combinaisons du glutamate avec le bleu brillant et ceux de l'aspartame avec le jaune de quinoléine sur les cellules nerveuses de souris de laboratoire (**Gouget, 2011**).

Les résultats ont montrés que ces quatre additifs sont de puissants inhibiteurs de la croissance des cellules nerveuses mais, surtout, que ces substances, une fois combinées, décuplent leur toxicité sur les cellules nerveuses: E133+E1621:toxicité multipliée par 4 et E104+E451:toxicité multipliée par 7.Cette étude montre que la toxicité des substances combinées n'est pas simplement le résultat de la somme additionnelle des toxicités individuelles des molécules, mais bien une multiplication des toxicités (**Brunelliere, 2010**).

Ces quatre additifs se retrouvent dans un grand nombre de produits alimentaires et l'inquiétude porte encore une fois sur les enfants dont les cellules du cerveau sont en pleine croissance (**Gouget, 2011**).

D'autres recherches avancent que le mélange E952/E954 est probablement cancérigène. L'E952, acide cyclamique, est autorisé en France dans les boissons, les bonbons et chewing-gums sans sucre. L'E954, saccharine, est présent dans certains édulcorants de table, mais aussi dans des complexes de multivitaminés, dans les dentifrices et autres produits d'hygiène buccale, et bien sûr, dans les produits light (sodas, confiseries, et autres) (**Binstock, 1998**).

I. Tartrazine(E102)

I.1. Structure chimique

Ce colorant fait partie des colorants synthétiques mono azoïques. C'est le sel trisodique de 4,5-dihydro-5-oxo-1-(4-sulfophenyl)-4-[4-sulfophenyl-azo]-1H-pyrazole-3-acide carboxylique. Sa formule chimique est : $C_{16} H_{12} Na_3 O_9 S_2$ et son poids moléculaire $PM = 534,37 \text{ g/mole}$ (Kaporet *al.*, 2001; Agité et de Saint Blanquat, 2002). Elle se présente sous forme de poudre jaune orange inodore (Agité et De Saint Blanquat, 2002) (figures 17 et 18).

La tartrazine est connue également sous différents noms suivant son emploi:

- E 102, Food yellow 4 : usage alimentaire
- FD&C N°5: usage alimentaire, médicamenteux et cosmétique
- C.I. ACID YELLOW 23, CI 19140: usage cosmétique (Chavéron, 1999).

I.2. Propriétés physico-chimiques

Le pH de la tartrazine est acide (Chavéron, 1999), bien soluble dans l'eau et peu soluble dans l'éthanol (Agité et De Saint Blanquat, 2002), elle absorbe l'humidité de l'air et incompatible avec les agents oxydants forts, les agents réducteurs forts, les acides forts. Elle devient rouge en milieu alcalin (Agité et De Saint Blanquat, 2002). Tous les colorants, particulièrement les colorants monoazoïques changent de couleur en milieu alcalin et acide en présence de métaux tels que ; le zinc, étain, fer et cuivre à haute température à cause de l'effet réducteur de l'hydrogène libéré (Scotter & Castle, 2003). La photodégradation de la tartrazine par rayonnement ultraviolet produit des composés aromatiques, de faible poids moléculaire, plusieurs acides organiques et des ions inorganiques (Feng *et al.*, 2006).

Les produits de la décomposition thermique de la tartrazine sont: les oxydes de carbone, les oxydes d'azote, les oxydes de soufre et les oxydes de sodium (Agité et De Saint Blanquat, 2002).

I.3. Utilisation

Beaucoup de produits alimentaires contiennent de la tartrazine à des proportions variables. Elle se trouve principalement dans les jus de fruits (Vidottiet *al.*, 2005), boissons, glaces, biscuits, bonbons, chocolats, sauces et moutarde, elle est utilisée aussi pour envelopper des produits de charcuteries, de la confiserie, des croutes de fromage

(Moll 1995; Husainet *al.*, 2006). En UE, la quantité maximale permise de tartrazine ajoutée dans les aliments est de 500 mg/kg (Scotter & Castle, 2003).

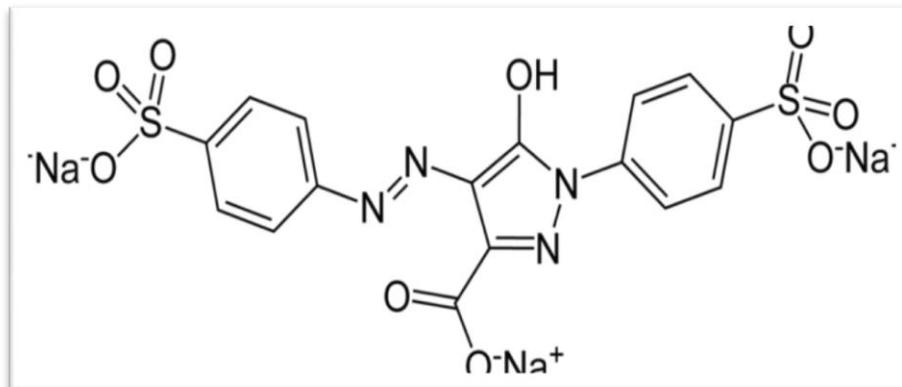


Figure02. Structure chimique de la tartrazine D'après Kapor *et al.*, 2001.

I.4. Dose journalière

La DJA de la tartrazine est fixée à 7,5 mg/kg de poids corporel (JECFA, 1996). Selon les pays et le type d'étude, l'estimation de la dose journalière de la tartrazine varie considérablement de 0,000671 (Yamada & Ishiwata, 2000) à 14 mg/personne (Louekariet *al.*, 1990; Toledo *et al.*, 1992) dans la population générale. Yamada et Ishiwata (2000) estiment que la consommation de la tartrazine par personne est de 0,523 mg/j dans la population japonaise, cette estimation est basée sur des données de production de tartrazine.

La différence des habitudes alimentaires entre les pays peut aussi expliquer cette variabilité, par exemple la consommation des colorants par les japonais est probablement inférieure à celle des américains, en plus les enfants sont connus à être une population particulièrement exposée à la tartrazine due à leur consommation en aliments riches en additifs alimentaires (bonbons, boissons, etc) et leur poids corporel est relativement petit par rapport à la quantité d'aliments consommés. Les études qui évaluent la consommation quotidienne de la tartrazine par les enfants montrent qu'ils n'excèdent pas les 13% de leur DJA (Louekariet *al.*, 1990; Toledo *et al.*, 1992). En UE, elle représente 52% de leur DJA (European Commission, 2001), alors qu'en France, elle représente 37,2% de leur DJA (OuldElhkimet *al.*, 2007).

Par contre, au Kuwait une étude évaluant la consommation quotidienne des colorants artificiels chez des enfants de 5 à 14 ans, a montré que la consommation journalière de la tartrazine représente le double de la DJA chez les enfants de 7 ans (Husainet *al.*, 2006).

Cependant, en Inde les enfants âgés de 6 à 8 ans sont exposés à 6,4% de leur

DJA. (Rao *et al.*, 2004). Récemment, l'étude de Rao et Sudershan (2008) ont montré que les enfants consomment des quantités importantes d'aliments solides colorés (2 à 465 g/J) et liquides (25 à 840 ml) et que les deux colorants principalement consommés sont la tartrazine et le sunsetyellow. Cette forte consommation est attribuée à l'ingestion excessive des aliments contenant de fortes concentrations de colorants. Les enfants de la tranche d'âge 6-18 ans consommaient le double de la DJA de la tartrazine en période estivale.

D'après ces études les enfants des pays en voie de développement dépassent leur DJA, cependant aucune étude n'est réalisée sur le territoire national pour évaluer la quantité des colorants alimentaires consommés par la population algérienne.

I.5. Toxicité

I.5.1. Toxicocinétique

L'absorption de la tartrazine prise par voie orale est très faible chez l'être humain et les animaux de laboratoire. Les études de toxicocinétiques publiées dans la littérature montrent que moins de 2% de la tartrazine ingérée est absorbée (Murdoch *et al.*, 1987). La majeure partie de la tartrazine prise par voie orale est métabolisée dans le côlon par la flore intestinale (Chung *et al.*, 1992).

Le métabolisme de la tartrazine chez les animaux a été étudié par plusieurs auteurs (JECFA, 1964; Bertagniet *al.*, 1972; Ryan, 1972; Khera & Munro, 1979; Chung *et al.*, 1992). Les métabolites urinaires majeurs issus de la réaction de réduction effectuée par les bactéries intestinales sont l'acide sulfonique et l'aminopyrazolone (Roxonet *al.*, 1967; Chung *et al.*, 1978; Watabe *et al.*, 1980). Chung *et al.* (1978) suggèrent que les accepteurs d'électrons extracellulaires peuvent stimuler la réduction du colorant azoïque. Cette réduction peut être catalysée par une réaction enzymatique selon la souche bactérienne et selon le potentiel redox des colorants azoïques (Bragger *et al.*, 1997). L'aminopyrazolone est ensuite dégradée en acide 4-hydrazinobenzenesulfonique puis en acide sulfonique (Ryan, 1972). Bien que la majorité de ces métabolites peuvent être sécrétés dans les fèces, une faible quantité de la molécule intacte de la tartrazine et de ses métabolites peuvent être réabsorbés (Honohan *et al.*, 1977). La tartrazine et ses métabolites ont été retrouvés dans le côlon des souris 24h après ingestion d'une seule dose de tartrazine par voie orale (exposition aiguë) (Poulet *et al.*, 2009).

L'administration intraveineuse ou intra péritonéale de la tartrazine chez différentes espèces d'animaux a montré que les composés issus de la réduction ne sont pas formés dans le foie. Et selon l'étude de Kuno et Mizutani (2005), utilisant des microsomes

hépatiques bovins, sources d'enzymes tels que les cytochromes (CYP2A6) et l'UDP-glucuronosyl transferase (UGT1A6 et UGT2B7), la tartrazine n'est pas le substrat de ces enzymes.

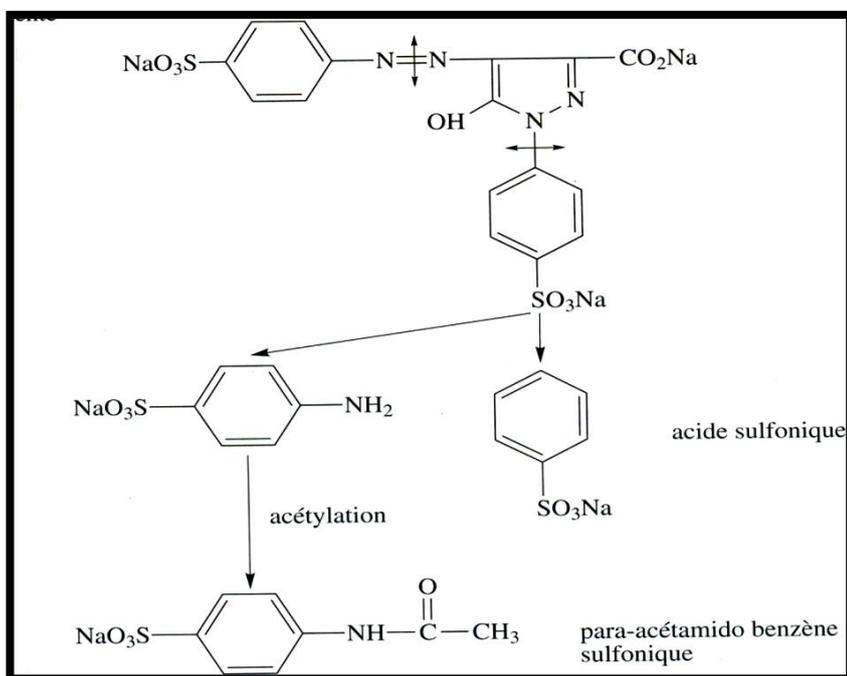


Figure03. Détoxification de la tartrazine d'après **Chavéron, 1999.**

Aucune trace de tartrazine n'est retrouvée dans l'urine des volontaires après ingestion de 100 mg de ce colorant (**Jones et al., 1964**). La réduction de la tartrazine par la flore intestinale (les azoréductases) est confirmée par **Watabeet al. (1980)**; **Chung et al. (1992)** et **Poulet al.(2009)**.

I.5.2. Toxicité aigue

Dans les rapports présentés à l'organisation mondiale de la santé (OMS), la dose létale orale chez des souris DL_{50} est rapportée à 12750 mg/kg de poids corporel (Institut national des sciences d'hygiène au Japon, 1964). Chez les rats, la DL_{50} par injection intrapéritonéale a été estimée à 2 mg/kg de poids corporel et la DL_{50} par voie intraveineuse est évaluée à 1 mg/kg de poids corporel (**Deutsche Forschungsgemeinschaft, 1957**).

I.5.3. Toxicité sub-chronique et chronique

Aucune étude de toxicité orale sub-chronique n'a été réalisée. Cependant, les études disponibles dans la littérature sur la tartrazine sont des études de toxicité chronique appelées aussi des études de cancérogénicité (**Maekawaet al., 1987**; **Borzelleca&Hallagan, 1988a**; **Borzelleca&Hallagan,1988b**).

I.5.4. Mutagénicité et Génotoxicité

La majorité des études disponibles dans la littérature montrent que la tartrazine ne possède pas un potentiel mutagène (**Brown et al., 1978**).

En revanche, d'autres recherches portant sur l'effet mutagénique et génotoxique de la tartrazine montrent qu'elle induit des aberrations chromosomiques dans les cellules somatiques des hamster chinois (**Ishidate et al., 1981**) et des rats ainsi que sur des fibroblastes des cellules de *Muntiacus muntjac in vitro* (**Patterson & Bulter, 1982**). Cette anomalie n'est pas démontrée chez la souris (**Durnevet et al., 1995**). Par contre, **Ishidate et al., (1984)** ont montré une augmentation de l'incidence de cellules polyploïdes après 48h de traitement avec de la tartrazine sur une lignée de fibroblastes d'hamster chinois en culture et **Giri et al. (1990)** ont montré une augmentation des aberrations chromosomiques et des échanges des chromatides sœurs dans les cellules de la moelle osseuse des souris et des rats après ingestion aiguë et chronique de fortes doses de tartrazine. Une augmentation des échanges des chromatides sœurs des cellules péritonéales en culture d'hamster chinois a été aussi démontrée par **Fischer et al. (1990)**.

La technique de Comet (Cometassay) montre que la tartrazine induit des altérations d'ADN (formation d'adduits) du côlon de souris à la dose de la DJA (**Sasaki et al., 2002**). Mais récemment, ces résultats n'ont pas été confirmés par un test de micronoyau (micronucleus assay). Ce test est particulièrement convenable pour la détection de la génotoxicité au niveau de l'intestin et du côlon (**Vanhauwaert et al., 2001**). Les auteurs suggèrent que les altérations d'ADN montrées par la technique de Comet sont de nature transitoire, ils peuvent être réparés et ne causent pas ainsi d'anomalies chromosomiques et que la tartrazine posséderait plutôt un effet cytotoxique transitoire (augmentation du processus mitotique). Cette action a été démontrée auparavant par **Stefanidou et al. (2003)** en utilisant comme modèle le protozoaire *Tetrahymena pyriformis*. Ils concluent que la tartrazine n'est pas génotoxique chez les souris après exposition orale aiguë en utilisant le test de micronoyau (**Poulet et al., 2009**).

Cependant, les impuretés de la tartrazine commercialisée contribuent à la génotoxicité de ce colorant chez l'insecte *Drosophila melanogaster* (**Kawai et al., 1993**) et aucune étude n'est effectuée sur la génotoxicité de ce colorant quand celui-ci est photosensibilisé.

I.5.5. Cancérogénicité

Les études conduites par **Maekawa et al. (1987)** chez les rats, et par **Borzelleca et**

Hallagan chez la souris (**1988a**) et chez les rats (**1988b**) montrent que la tartrazine n'a pas un potentiel carcinogène chez les deux espèces.

La carcinogénicité a été examinée chez les rats F344 recevant de la tartrazine dans de l'eau *ad libitum* à la concentration de 0,1%, 1% et 2% pendant deux ans. Dans cette, étude les auteurs concluent que la tartrazine n'est pas carcinogène chez les rats ayant ingéré de la tartrazine dans de l'eau jusqu'à la concentration de 2% (**Maekawa et al., 1987**). Dans une autre étude, des souris Charles River CD-1 ont été exposées à des concentrations de 0%, 0,5%, 1,5% et 5% de tartrazine dans leur aliment pendant 104 semaines a démontré que la tartrazine n'est pas carcinogène aux doses allant jusqu'à 5% (8103 et 9735 mg/kg pc/j chez les mâles et chez les femelles respectivement (**Borzelleca & Hallagan, 1988a**). De plus, les mêmes auteurs (**Borzelleca & Hallagan, 1988b**) ont exposé des rats Charles River CD et puis pendant 104 semaines à la tartrazine dans l'aliment à des concentrations de 0,1%, 1%, 2% et 5%. Ils n'ont pas remarqué d'effet-dose dans F₀ et F₁ génération. Ils déduisent que la tartrazine n'est pas carcinogène aux doses allant jusqu'à 5% (2641 et 3348 mg/kg pc/j) chez les rats mâles et femelles.

Parmi les produits dérivés de ce colorant, la benzidine (**Privalet et al., 1993**) qui peut révéler des potentialités cancérigènes et qui a été l'une des premières substances classées par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), dès 1972, dans la catégorie « Cancérogène pour l'homme » regroupant les substances pour lesquelles la certitude scientifique et médicale est parfaitement établie (**Pascuito & Michel, 2004**).

I.5.6. Neurotoxicité

Il y a plus de trente ans, des chercheurs ont avancé l'hypothèse que l'essentiel de l'hyperactivité mise en cause dans les troubles d'apprentissage pouvait être attribuée aux additifs alimentaires principalement les colorants artificiels. Depuis, de nombreux chercheurs se sont attachés à valider cette théorie.

Feingold (1975) a suggéré que les colorants alimentaires étaient des substances pharmacologiquement actives quelles pouvaient induire ou aggravée les symptômes de l'hyperactivité chez les enfants. Des études ont confirmé que les colorants alimentaires pouvait provoquer des symptômes cliniques de l'hyperactivité (**Boris & Mandel, 1994**) et pouvaient altéré l'activité électrique cérébrale des enfants avec TDAH (troubles déficitaires de l'attention avec ou sans hyperactivité (**Uhlig et al., 1997**). En plus, une amélioration des troubles de l'attention a été constatée chez ces enfants après éviction des colorants synthétiques de l'alimentation (**Borris et Mandel, 1994**).

Les études de neurotoxicité établies auparavant chez les animaux, montraient que la tartrazine ajoutée dans l'aliment à des doses de 1 et 2% exerçait un faible effet sur le développement neuromoteur des rats femelles (**Sobotka et al., 1977**).

Récemment, des études de multi générations (deux et trois générations), sur des souris nourries avec la tartrazine mélangée à l'aliment à des doses de 0,05%, 0,15% et 0,45% montrent peu de modifications neurologiques chez les souris traitées à 0,45% pendant la période de la lactation à l'exception de quelques paramètres neurocomportementaux qui sont affectés chez les mâles du même groupe (**Tanaka et al., 2008**).

Des études et analyses ont toutefois mis en évidence un lien non négligeable entre l'alimentation et le trouble de l'attention avec hyperactivité. En 2004, des chercheurs ont examiné les résultats de 15 études cliniques en double aveugle, avec permutation, faisant appel à des colorants alimentaires comparables dont la tartrazine (**Schab&Trinh, 2004**). Celles-ci ont établi que chez les sujets astreints à un régime sans colorants alimentaires artificiels, les améliorations moyennes du comportement se situaient entre 33 % et 50 % des améliorations généralement obtenues en cas de traitement médicamenteux. Ces améliorations concernaient les enfants souffrant de trouble de l'attention avec hyperactivité et les enfants normaux, ce qui infirme l'hypothèse selon laquelle les enfants « hyperactifs » et « normaux » pourraient réagir différemment à ces substances. Une autre étude a confirmé ces résultats chez les enfants d'âge préscolaire (**Bateman et al., 2004**).

L'étude clinique comparative en double aveugle menée sur 298 enfants de 3, 8 et 9 ans, a sélectionné deux groupes et soumis à chacun d'entre eux, sous forme de boisson, soit un placebo, soit un mélange de colorants : celui qui avait consommé le mélange de colorants et de E 211 (conservateur) présentait un niveau plus élevé d'hyperactivité que l'autre groupe (**McCannet al., 2007**).

Sinn (2008) et Newmark (2009) affirment qu'il existe une étroite relation entre l'alimentation et TDAH, un régime alimentaire riche en sucre et colorants alimentaires accentue les TDAH. Il a été remarqué aussi que les taux du fer (**Konofalet al., 2004**), zinc (**Arnold & DiSilvestro, 2005**) et omega-3 (**Sinn & Howe, 2008**) sériques sont diminués chez ces malades. Auparavant, il a été démontré une diminution du taux sérique du zinc lors de la consommation de la tartrazine chez les personnes présentant des TDAH, suggérant une élimination métabolique du zinc sous influence d'un stress chimique (**Ward et al., 1997**).

Conformément au règlement (CE) n° 1333/2008 sur les additifs alimentaires, les denrées alimentaires qui contiennent certains colorants alimentaires doivent être étiquetées de manière spécifique. Dans l'UE, les produits contenant les colorants E 110, E 104, E 122, E 129, E 102 et E 124 devront porter la mention « peut avoir des effets indésirables sur l'activité et l'attention chez les enfants » (**Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008**).

I.5.7. Immunotoxicité et hypersensibilisé

La tartrazine mise en culture avec des lymphocytes humains exerce une activité immunosuppressive (**Koutsogeorgopoulou et al., 1998**). L'ingestion chronique de la tartrazine dans de l'eau de boisson provoque une augmentation du nombre des lymphocytes et des éosinophiles de la muqueuse gastrique chez les rats (**Moutinhoet al., 2007**).

C'était le plus fréquent des colorants azoïques mis en cause dans les années 1980 avec une prévalence de 0,12 % pour **Young et al. (1987)** dans la population générale. La tartrazine était rendue responsable d'aggravation de la dermatite atopique de l'adulte (**Van Bever et al. (1989)**), de l'urticaire et l'asthme particulièrement chez les patients intolérants à l'aspirine. La réaction se caractérise par des symptômes rhino-bronchiques ou pulmonaires, des céphalées, des œdèmes et de l'eczéma (**Juhlin, 1981; Collins Williams, 1985**).

Des réactions indésirables à la tartrazine s'ajoutent aux précédentes comme, l'exacerbation de dermatite atopique et des troubles gastro-intestinaux de l'adulte qui ont été rapportées dans certains travaux de **Morales et al., (1985)**. Les allergies à la tartrazine peuvent être considérées comme des réactions idiosyncrasiques (sensibilité anormale, d'origine génétique à une molécule toxique (**Chavéron, 1999**)).

Cependant, les mécanismes physiopathologiques de ces réactions demeurent peu connus. L'intolérance à la tartrazine a été reportée chez 6–50% des personnes intolérantes à l'aspirine (**Weber et al., 1979**), suggérant une possible réaction croisée entre la tartrazine et l'aspirine. L'inhibition de la cyclo-oxygénase, a été souvent citée comme mécanisme expliquant l'intolérance à la tartrazine. Ce mécanisme n'est pas démontré par **Stevenson (1991)**.

L'intolérance à la tartrazine et /ou additifs alimentaires a été aussi remarquée chez des enfants atopiques qui présentent une réaction à de multiples substances chimiques (**Inomataet al., 2006**) et un diagnostic négatif à l'allergie aux protéines alimentaires.

La démonstration de son rôle néfaste a entraîné son interdiction dans plusieurs pays

scandinaves. L'agence brésilienne de surveillance sanitaire a exigé l'étiquetage des médicaments contenant la tartrazine. De même, une étude récente d'OuldElhkimet *al.* (2007) a proposée d'étiqueter sérieusement les produits destinés à l'alimentation humaine et de mentionner la présence de la tartrazine.

II. L'acide citrique E330

II.1. Définition de l'acide citrique

L'acide citrique (acide faible) est un acide tricarboxylique α -hydroxylé de formule brute $C_6H_8O_7$ et de poids moléculaire 192 g/mol (ANSM, 2017)

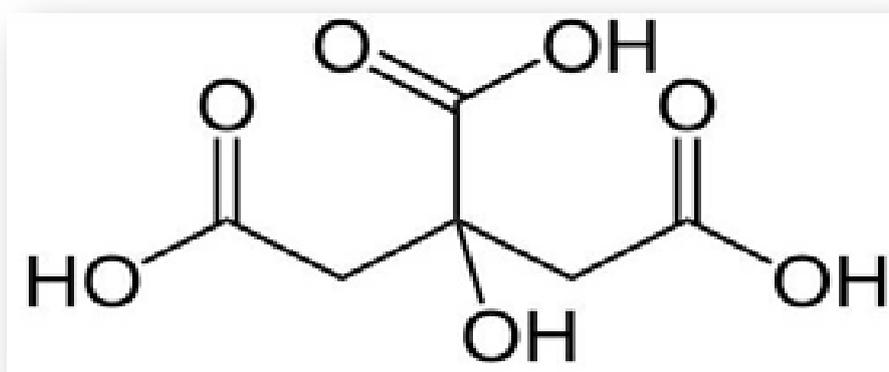


Figure 04. Structure chimique de l'acide citrique (ANSM, 2017)

L'acide citrique est un acide tricarboxylique organique, présent dans la plupart des fruits, en particulier les agrumes tels que le citron et l'orange. Sa formule moléculaire est $C_6H_8O_7$

C'est un bon conservateur et antioxydant naturel qui est ajouté industriellement en tant qu'additif dans l'emballage de nombreux aliments tels que les conserves de légumes en conserve. Cet acide organique peut être utilisé dans le domaine alimentaire et celui de la médecine. Dans le secteur alimentaire, il est utilisé comme additif alimentaire. Obtenu par fermentation fongique, il sert comme acidifiant dans le soda, agent de levuration et correcteur d'acidité. Il peut aussi être bio synthétisé par le biais des moisissures ou des micro-organismes. Dans le secteur médical, l'acide citrique sert à fabriquer des produits pharmaceutiques ou cosmétiques. Associé au calcium, il est utilisé pour conserver les produits sanguins.

En biochimie, il apparaît comme un métabolite intermédiaire dans le cycle de l'acide tricarboxylique, un processus mis en œuvre par la plupart des êtres vivants. (**Aquaportail, 2007**)

II.2.Caractéristiques

L'acidité de l'acide citrique est due aux trois groupes carboxyle -COOH qui peuvent perdre un proton dans les solutions. Si cela se produit, un ion citrate est produit. Les citrates sont de bons contrôleurs de pH pour les solutions acides. Les ions citrates forment des sels avec de nombreux ions métalliques. L'acide citrique est une poudre cristalline blanche. Il peut exister sous forme anhydre (sans eau), ou sous forme de monohydrate contenant une molécule d'eau pour chaque molécule d'acide citrique. La forme anhydre cristallise dans l'eau chaude, tandis que la forme monohydrate cristallise dans l'eau froide. Le monohydrate peut être converti en la forme anhydre en le chauffant à plus de 74°C. L'acide citrique partage les caractéristiques chimiques des autres acides carboxyliques. Lorsqu'il est chauffé à plus de 175 °C, il se décompose produisant du dioxyde de carbone et de l'eau (**Aquaportail, 2007**)

Cet acide est aussi appelé :

- E330 (dénomination additif alimentaire)
- Acide 2-hydroxy propane-1,2,3-tri carboxylique
- acide 3-carboxy-3-hydroxypentanedioïque

L'acide citrique joue un rôle important en biochimie comme métabolite du cycle de Krebs, une voie métabolique majeure chez tous les organismes aérobies. Il complète la dégradation du pyruvate formé à partir du glucose par la glycolyse, libérant ainsi le dioxyde de carbone et quatre autres atomes d'hydrogène qui sont pris en charge par des molécules de transport d'électrons. Ainsi, chez l'homme, environ 2 kg d'acide citrique sont formés et métabolisés tous les jours. Cette voie physiologique est très développée et capable de traiter des quantités très élevées d'acide citrique dans la mesure où elle se produit à de faibles concentrations (**ANSM, 2017**).

Tableau 02 : Évaluations réalisées par le Comité mixte FAO / OMS d'experts sur E330 (BoğaPekmezekmeket *al.*, 2013).

SIN	330
JECFA NO	2018
Nome chimique	2-hydroxy-1,2,3-propane-acide tricarboxylique 2-hydroxy-1,2,3-propane-acide tricarboxylique ,monohydrate
classe fonctionnelle	Acidulants, synergiste à antioxidant, sequestrant, agent aromatisant
dernière évaluation	1973
IAD	sans limites
commentaires	Groupe IAD à E330et son calcium, potassium, sodium et sel ammonim
rapports	NMRS 53/ TRS 539 JECFA 17/35

II.3. Utilisation

L'acide citrique (anhydre ou monohydraté) est largement utilisé dans l'industrie pharmaceutique et l'industrie agroalimentaire. Son utilisation principale est liée à sa capacité à ajuster le pH des solutions. L'acide citrique monohydraté est utilisé dans la préparation de granulés effervescents alors que l'acide citrique anhydre est communément utilisé dans la préparation de comprimés effervescents. Dans les produits alimentaires, l'acide citrique est utilisé comme exhausteur de goût et acidifiant dans les boissons gazeuses. et pour rehausser le gout de certains aliments tels que les biscuits apéritifs, les bonbons, les sodas et les plats préparés. Il est utilisé pour préserver les aliments.

De façon plus générale et ce quel que soit le secteur industriel, l'acide citrique est donc un agent acidifiant, un antioxydant, un agent tampon, un agent chélatant et un exhausteur de goût. Les diverses utilisations possibles en font donc une substance à laquelle nous sommes quotidiennement exposés.

Après extraction des données de la base du médicament, l'acide citrique est présent en tant qu'excipient dans plus de 200 spécialités pharmaceutiques commercialisées ayant obtenues une AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) nationale. Les teneurs en acide citrique par unité dans les spécialités pharmaceutiques indiquées s'échelonnent entre 0.015-4300 mg (ANSM, 2017).

II.4. Effets sur la santé

L'irritation, en particulier des yeux, mais aussi des voies respiratoires et de la peau, est le principal effet toxicologique observé après exposition à des fumées d'acide citrique.

L'acide citrique est un agent chélatant puissant et il a été démontré que l'acide citrique peut réduire la biodisponibilité du fer et du calcium.

Les valeurs des NOAELs (No Observable Adverse Effect Levels) après administration orale, sont assez élevées comme par exemple : une NOAEL de 1200 mg / kg / j (étude de cancérogénèse chez le rat), une NOAEL de 2500 mg/kg/j (étude de toxicité reproduction chez le rat), une NOAEL de 7500 mg/kg/j (étude de toxicité reproduction chez la souris)

Données de la Toxicité des Animaux:

DL50 (voie orale, rat) : 3000 mg/kg

DL50 (orale, souris) : 5400 mg/kg

De plus, l'acide citrique n'a pas montré de caractère génotoxique que ce soit après des études in vitro et in vivo (doses testées allant jusqu'à 3 g/kg)(ANSM, 2017)

Une augmentation du taux de cancer de la vessie a été observée chez les rats ayant reçu de l'acide citrique (voie d'administration non précisée) après pré-traitement avec des doses orales de cancérogènes connus de la vessie (par rapport à ceux recevant seulement les substances cancérogènes de la vessie connus). Toutefois, ces effets ont été jugés comme étant un effet secondaire de l'augmentation de la consommation d'eau et pas un effet direct de l'exposition à l'acide citrique. Cette étude a été évaluée comme étant valide avec restrictions (ChiefMedical, 2016).

L'acide citrique n'est pas connu pour être cancérigène. Aucune information humaine ou animale fiable n'a été trouvée. L'acide citrique est une partie normale du métabolisme du corps et de l'alimentation humaine.

Le Centre international de Recherche sur le Cancer (CIRC) n'a pas évalué la cancérogénicité de ce produit chimique. La Conférence américaine des hygiénistes industriels gouvernementaux (ACGIH) ne possède aucune liste de ce produit chimique. Le US National Toxicology Program (NTP) n'a pas listé ce produit chimique dans son rapport sur les cancérigènes (**ChiefMedical, 2016**).

Sur la base de plusieurs études toxicologiques réalisées chez l'animal, l'acide citrique n'est pas suspecté d'être ni cancérigène (voie orale, dose testée 2 g/kg/j, rat) ni reprotoxique (espèces testées : rat, souris, lapin, hamster) ni tératogène (espèces testées : rat, lapin, hamster). Dans les études plus générales après administration répétées par voie orale (espèces testées : rat, souris, chien), les effets toxiques majeurs se limitent majoritairement à des les changements dans la formulation sanguine et à une modification de la cinétique d'absorption / excrétion des métaux (**ANSM, 2017**).

L'acide citrique n'est pas connu pour être toxique pour la reproduction. Aucune information humaine n'a été trouvée. Aucun effet sur la reproduction n'a été observé chez des rats ou des souris exposées par voie orale à l'acide citrique (**ChiefMedical, 2016**).

L'acide citrique n'est pas connu pour causer toxicité pour le développement. . Aucune information humaine n'a été trouvée. Aucun effet sur le développement n'a été rapporté dans les études non publiées dont les rats, les lapins ou les hamsters ont été exposés par voie orale à l'acide citrique (**ChiefMedical, 2016**).

L'acide citrique n'est pas connu pour être mutagène. Aucune information humaine n'a été trouvée. Aucun résultat négatif n'a été obtenu lors de tests sur des animaux vivants, des cellules de mammifères, de bactéries et de levures (**ChiefMedical, 2016**).

I. Définition

Selon **Sies et Jones (2007)** le stress oxydatif est défini comme, étant la déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants en faveur des oxydants, entraînant une perturbation de la signalisation redox et du contrôle et / ou des dommages moléculaires. De plus, Le terme «stress oxydant» implique que l'équilibre physiologique entre la création de ROS et la capacité de détoxifier ces molécules a été perturbé, ce qui a entraîné un stress et des dommages pour les systèmes cellulaires. Il est important de noter que cela peut indiquer soit une élévation anormale de la génération de ROS, soit une déficience des systèmes de défense anti-oxydants(**Jon et al., 2018**).

II. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) qui possède sur son orbite externe un ou plusieurs électrons non appariés. Cette particularité lui confère une réactivité avec les différents constituants de la cellule (**Halliwell&Gutteridge, 2007**). En effet, ces molécules étaient considérées comme des sous-produits toxiques de la chimie *in vivo*, mais sont maintenant considérées comme des régulateurs essentiels de la signalisation cellulaire et jouent un rôle essentiel dans la facilitation des dommages et des adaptations qui accompagnent un exercice(**Thannickaletal., 2000; Pouvoirs et al., 2010**).

Les radicaux dérivés d'oxygène représentent la classe la plus importante d'espèces radicalaires générées dans les systèmes vivants (**Miller et al., 1990**). En effet, bien que l'oxygène (Dioxygène) soit indispensable à la vie, paradoxalement il constitue lui-même une source importante de radicaux libres. L'ajout d'un électron à la molécule de dioxygène forme le radical anion superoxyde ($O_2^{\cdot -}$), principalement au niveau de la mitochondrie (**Cadenas &Sies, 1998**).

Les radicaux libres comme l'anion superoxyde sont peu réactifs et jouent un rôle physiologique important en participant à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes, à la destruction par apoptose des cellules tumorales, à la différenciation cellulaire, à la régulation de la dilatation capillaire, au fonctionnement de certains neurones, notamment ceux de la mémoire, et à la régulation des gènes (**Drôge, 2002**).

D'autres espèces dérivées de l'oxygène comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ne sont pas des radicaux libres mais sont très réactifs (Halliwell, 2006). L'ensemble de ces espèces radicalaires et non radicalaires sont regroupées sous le nom commun d'ERO, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde ($ONOOH$), ne sont pas des radicaux libres, mais sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelée espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003) (Tableau 03).

Tableau 03. Espèces réactives de l'oxygène (ERO) radicalaires et non-radicalaires (Halliwell, 2006)

Espèces réactives de l'oxygène (ERO)	
Radicalaire	Non radicalaire
Radical superoxyde O_2^{\bullet}	Peroxyde d'hydrogène: H_2O_2
Radical hydroxyle: OH^{\bullet}	Ion hypochlorite: $HOCl$
Peroxyde: RO_2^{\bullet}	Ozone: O_3
Alkoxyde: RO^{\bullet}	Oxygène singulet: O_2^1
Hydroperoxyde: HO_2^{\bullet}	Peroxynitrite: $ONOO^-$

Les radicaux libre peut être induit par des facteurs endogènes et exogènes, produit à des concentrations faibles / modérées sous forme de signaux moléculaires régulant une série de processus physiologiques, tels que la défense contre les agents infectieux, le maintien du tonus vasculaire, le contrôle de la ventilation et la production d'érythropoïétine, et la transduction du signal à partir des récepteurs membranaires dans divers processus physiologiques (Djordjević *et al.*, 2008). De plus, dans certaines situations pathologiques (cancer), la production d'ERO est plus importante et prolongée, et la réponse antioxydant insuffisante. Le déséquilibre est durable. Cette rupture de l'homéostasie redox peut avoir plusieurs origines exogène, telque : l'intoxication aux métaux lourds, irradiations, la pollution de l'air et de l'eau, le tabac, l'alcool, les drogues (cyclosporine, tacrolimus, gentamycine et bléomycine), les solvants industriels, la cuisine (viande fumée, huiles usées et graisse), et les

radiations qui, à l'intérieur du corps, carence en antioxydants apportés par l'alimentation ou anomalies génétiques (Migdaletal, 2011 ; Phaniendraetal, 2015). En revanche au niveau moléculaire les sources endogènes de RONS comprennent la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) oxydase, la myéloperoxydase (MPO), la lipoxygénase et l'angiotensine II (Salisbury et al,2015), la NADPH oxydase est la source principale de l'anion superoxyde radicalaire ($O_2^{\cdot -}$) qui se forme lors de la réduction d'un électron de l'oxygène moléculaire, avec des électrons fournis par NADPH, pendant la respiration cellulaire(Liguori $etal$, 2018)(figure 5).

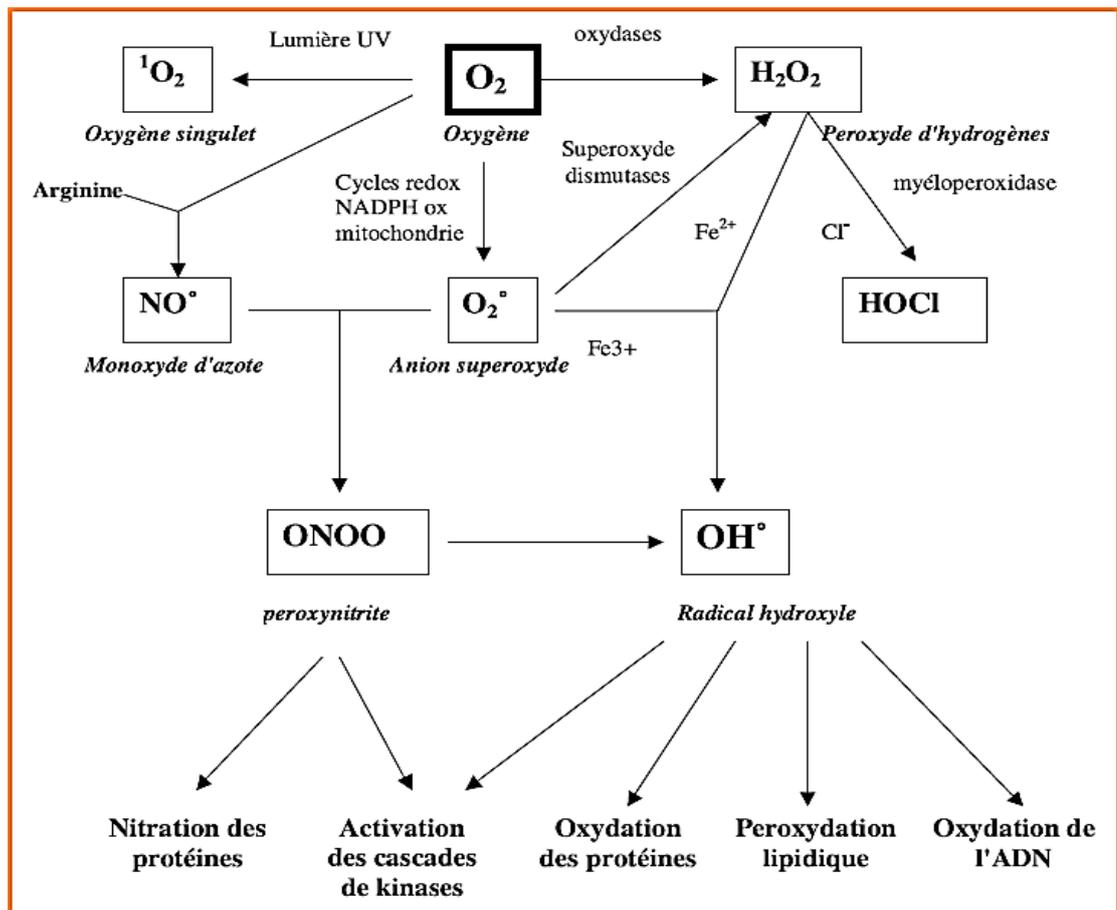


Figure05. Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

III. Conséquences du stress oxydatif

Le stress oxydatif peut provoquer la mort cellulaire par altération de l'ADN, peroxydation des lipides et modification de la structure et du fonctionnement des protéines(Ming-ShuoSun $etal$, 2018).

III.1. Oxydation de l'ADN

Le stress oxydatif cause principalement des dommages passifs à l'ADN. Les dommages à l'ADN actifs sont médiés par les endonucléases de l'ADN, qui contiennent principalement une désoxynucléase activée par la caspase, un facteur induisant l'apoptose et une endonucléase G, qui entraînent la fragmentation de l'ADN double brin. Les dommages passifs à l'ADN sont causés par la réaction directe de l'ADN avec les ROS ou indirectement avec les produits générés par la réaction des ROS et des lipides ou protéines, entraînant des modifications des bases nucléotidiques, telles que des sites apuriniques / apyrimidiniques (Li *et al.*, 2011) (figure 06).

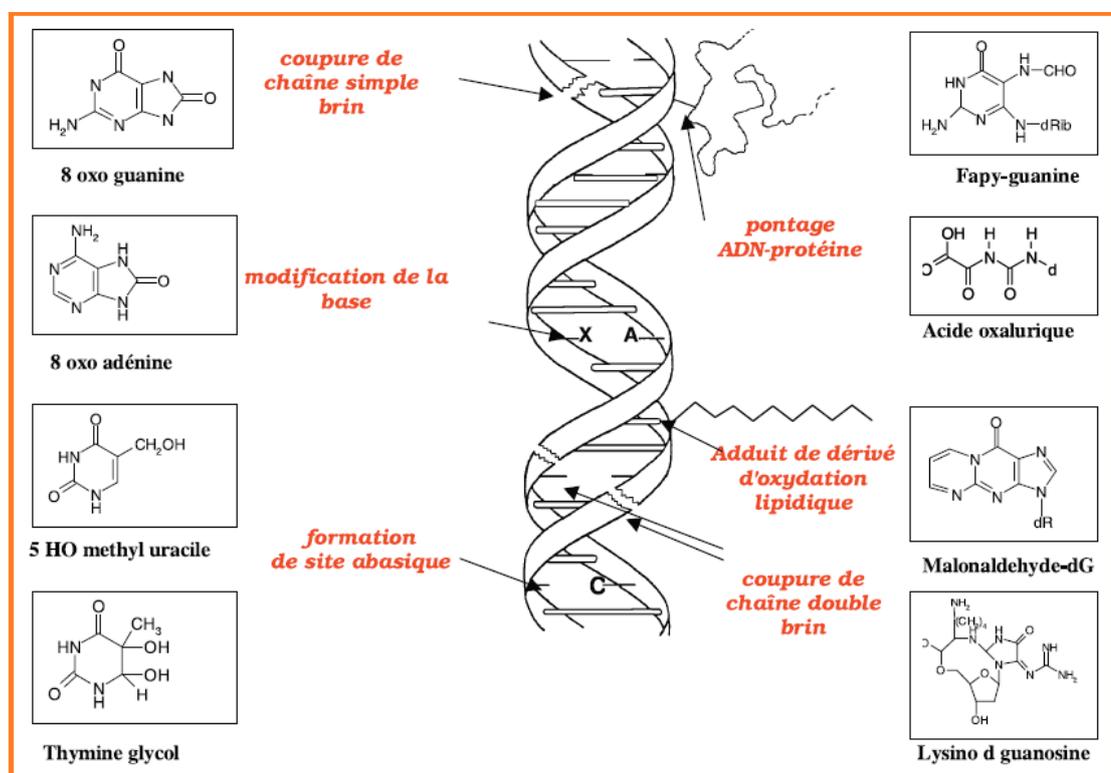


Figure 06. Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules (Favier, 2003)

III.2. Oxydation des lipides

La peroxydation lipidique est considérée comme une cible utile pour l'évaluation du stress oxydatif car le radical hydroxyle est la forme la plus réactive des ROS et peut initier la peroxydation lipidique en attaquant les acides gras polyinsaturés (AGPI) acides gras à longue chaîne avec plus d'une double liaison (Francis, 2014 ; Michael *et al.*, 2018)

Les lipides sont oxydés par trois mécanismes distincts; oxydation enzymatique, non enzymatique, oxydation par les radicaux libres, et oxydation non enzymatique, non radicalaire. Chaque mécanisme d'oxydation donne des produits spécifiques. La susceptibilité relative des lipides à l'oxydation dépend du milieu réactionnel ainsi que de leur structure inhérente. Les hydroperoxydes lipidiques sont les principaux produits primaires, mais ils constituent des substrats pour diverses enzymes et subissent également diverses réactions secondaires (Niki *et al.*,2005). Les hydroperoxydes phospholipidiques, par exemple, sont réduits en hydroxydes correspondants par des sélénoprotéines in vivo. Les hydroperoxydes ensuite subissent une fragmentation afin de produire une large gamme de produits intermédiaires réactifs, tels que la Prostaglandine F_{2a} isomère F₂-isoprostanés (F₂-IsoPs) et malondialdéhyde (MDA) (Niki *et al.*,2005 ; Catalá, 2009).

L'attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes ou les phospholipides membranaires. Les conséquences seront différents :

- ▶ l'attaque des lipides circulants aboutissant à la formation de LDL (lipoprotéines de densité légère) oxydées qui, captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires.

- ▶ l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Favier, 2003)(figure07).

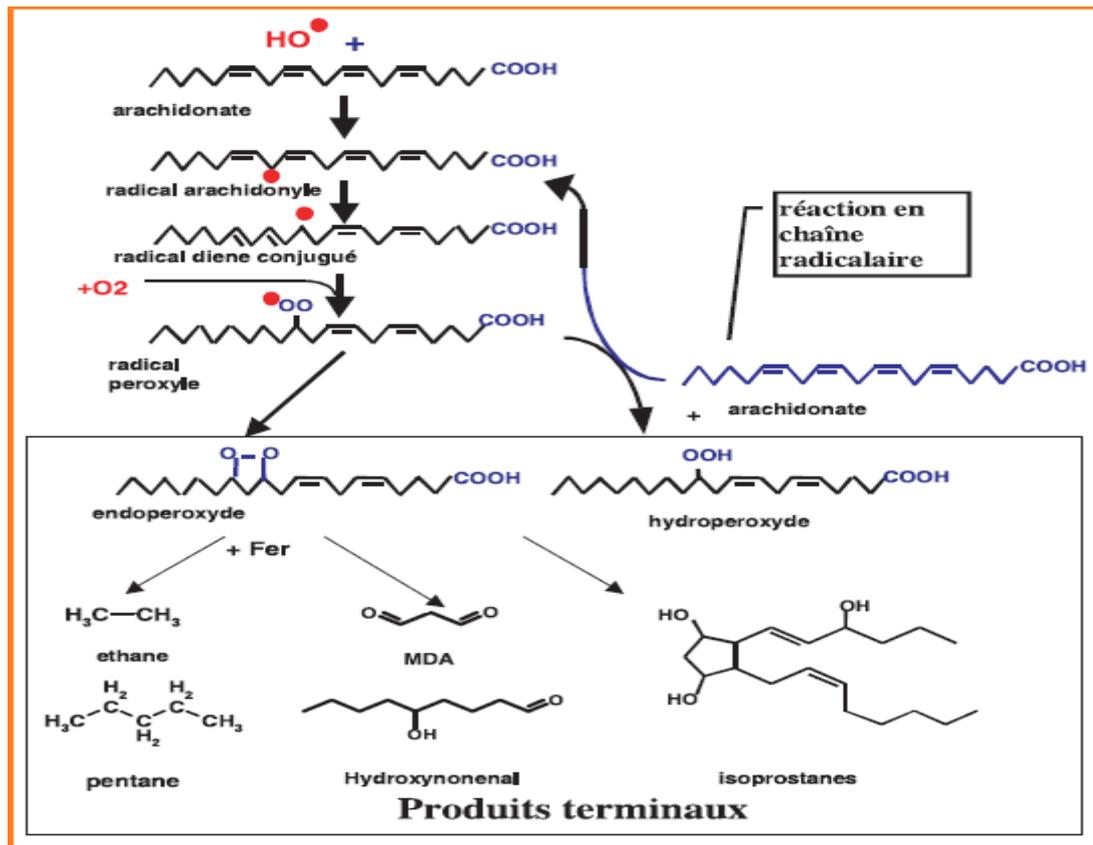


Figure07. Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier, 2003)

III.3. Oxydation des protéines

L'oxydation des protéines est définie comme la modification covalente d'une protéine induite soit par les réactions directes avec des espèces réactives de l'oxygène (ROS), soit par des réactions indirectes avec des sous-produits secondaires du stress oxydatif. Les ROS peuvent provoquer une oxydation à la fois des chaînes latérales d'acides aminés et des squelettes protéiques, entraînant une fragmentation des protéines ou une protéine - protéine. liens transversaux. Bien que tous les acides aminés puissent être modifiés par les ROS, la cystéine et la méthionine qui sont les plus susceptibles aux changements oxydatifs en raison de la grande réactivité du groupe soufre dans ces acides aminés. Les modifications oxydatives des protéines peuvent modifier leurs propriétés physiques et chimiques, notamment la conformation, la structure, la solubilité, la sensibilité à la protéolyse et les activités enzymatiques (Zhangetal., 2013).

IV. Système de défense antioxydant

Un antioxydant est simplement défini comme une molécule capable de prévenir ou de ralentir l'oxydation d'autres molécules. Il le fait même à une concentration relativement faible, jouant ainsi divers rôles physiologiques dans le corps et la santé (**Mandaletal, 2009**). Une molécule antioxydante est suffisamment stable pour donner un électron à un radical libre déchaîné et pour le neutraliser, empêchant ainsi les dommages oxydatifs(**Loboetal, 2010**).

Les systèmes de défense antioxydants se composés d'enzymes (ex. la glutathion peroxydase), de vitamines (A, C, E), d'oligoéléments (ex. le sélénium), de protéines (ex. la ferritine). En situation physiologique, ces systèmes antioxydants ont la capacité de réguler parfaitement la production des ERO(**Pincemail, 2002**).

Le système immunitaire est également extrêmement vulnérable à l'équilibre oxydant et antioxydant, car une production incontrôlée de radicaux libres peut altérer sa fonction et son mécanisme de défense (**Aslaniet al., 2016**).

Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie (ex. le tabagisme), ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit. Déterminer le statut de stress oxydant d'un individu devient donc un sujet de priorité en termes de prévention de maladies (**Pincemailetal, 2002**)

La nature des antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'ils se trouvent dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire (**Bonnefont-Rousselot et al., 2003**). Il existe 3 types d'antioxydants:

- ▶ Les enzymes qui existent à l'état endogène : les superoxydesdismutases (SOD), lacatalase (CAT), le glutathion peroxydase (GPx).
- ▶ Les molécules antioxydantes ou «piégeurs» de radicaux libres comme la vitamine Evitamine C, les caroténoïdes, l'acide urique, le glutathion et les groupements thiols.
- ▶ Les protéines chélatrices du fer, comme la transferrine et l'hémosidérine, ou du cuivrecomme la céruloplasmine et l'albumine.

IV.1. Systèmes de défense enzymatique

IV.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Est une enzyme essentielle de défense contre les ERO. Elle est capable de transformer par dismutation de l'anion superoxyde, première espèce toxique en une molécule d'oxygène et de peroxyde d'hydrogène qui est beaucoup moins réactif. Le peroxyde d'hydrogène formé est pris en charge par les catalases et les glutathion peroxydases à sélénium (**Zelko et al., 2002**). Le mécanisme réactionnel est catalysé par un métal situé au centre de l'enzyme qui permet de distinguer les superoxydesdismutasesà manganèse (MnSOD) protégeant la mitochondrie, de celles à cuivre-zinc protégeant lecytosol (cCu-ZnSOD), la face externe de la membrane des cellules épithéliales (ecCu-ZnSOD) ou le plasma sanguin (pCu-ZnSOD).

IV.1.2. Catalases

les catalases sont des hémoprotéines tétramériques qui, avec un atome de fer par sous-unité, ont une masse d'environ 240 KDa. Elles catalysent la réduction du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et en oxygène moléculaire. Les catalases sont des enzymes peroxysomales dont le rôle est de prévenir les peroxydations des molécules biologiques induites par l'eau oxygénée (H₂O₂). Les catalases sont présentes dans tout le règne animal et se retrouvent aussi chez les végétaux. Elles sont sensibles à certains contaminants inducteurs de stress oxydatif au niveau des membranes cellulaires, comme les HAP, PCB ou certains pesticides (Livingstone, 1993) et les métaux (**Labrotetal., 1996a**). Cependant, les résultats sont parfois contradictoires *in vivo*, certains auteurs montrent une induction de l'activité (**Di Giulio et al., 1989 ;1993**), d'autres une inhibition (**Labrotet al., 1996**). Cette enzyme se localise essentiellement dans les peroxysomes en forte concentration dans le foie et les hématies (**Putnam et al., 2000**).

IV.1.3. Glutathions peroxydases

constituent l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection car elles sont capables de détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres hydroperoxydes résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras polyinsaturés, en couplant la réduction de l'hydroperoxyde avec l'oxydation d'un substrat réducteur comme le glutathion, le cytochrome c (cytochrome c peroxydases) et le NADH (NADH peroxydases). Pratiquement toutes les glutathions peroxydases

contiennent, dans leurs sous-unités, un à quatre atomes de sélénium et sont retrouvées dans le plasma, dans le cytosol et dans la membrane cellulaire (Ursini, 1995).

IV.2. Systèmes de défense non enzymatiques

D'autres composés, tels que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique) et les caroténoïdes, apportés par les aliments, agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules ou ions stables (Krinsky, 1989; Halliwell, 1994).

IV.2.1. Glutathion réduit (GSH)

Le GSH est produit de manière intracellulaire à partir de trois acides aminés - glutamate, cystéine et glycine (Koji & Toshio, 2013), le glutathion tripeptide est le composé thiol présent à la concentration la plus élevée dans les cellules de tous les organes. Le glutathion a de nombreuses fonctions physiologiques, notamment son implication dans la défense contre les espèces réactives de l'oxygène (Dringen, 2000).

Les études menées que le GSH est impliqué dans les processus physiologiques cellulaires essentiels défense antioxydante, désintoxication des xénobiotiques, homéostasie rédox intracellulaire, support / stockage de la cystéine, signalisation cellulaire, fonction des protéines, expression génique et différenciation / prolifération des cellules. Ainsi, un dysfonctionnement du métabolisme du GSH peut provoquer des événements cellulaires mortels (Koji & Toshio, 2013).

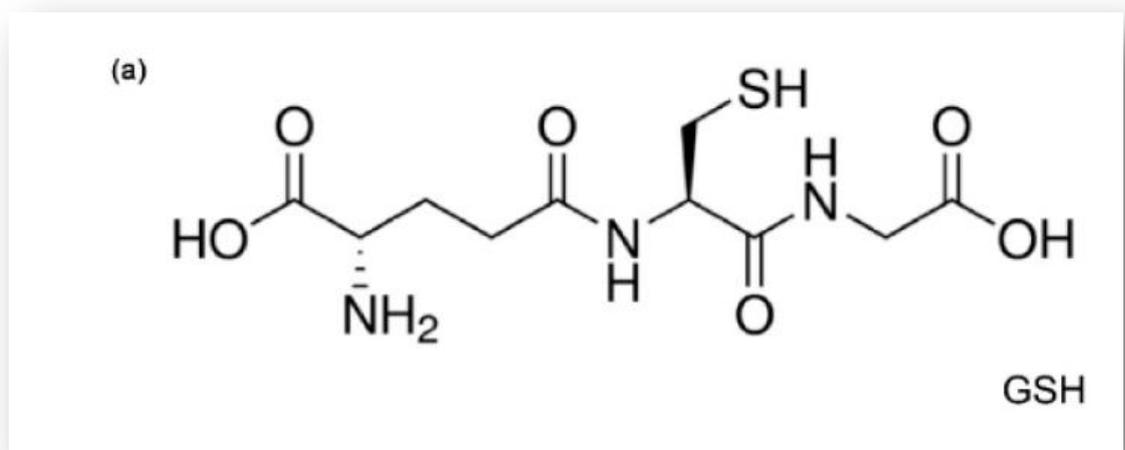


Figure 08. Structures chimiques du glutathion réduit(GSH). (Bo Young Chung et al,2016)

I. Matériel biologique et conditions d'élevage

Notre étude a été réalisée sur quatorze (14) rattes femelles de type Wistar Albinos âgés de 10 à 12 semaines. Ces animaux amenés de l'institut pasteur d'Alger, et élevés à l'animalerie au niveau de la faculté des sciences de la nature et de vie département de biologie à l'université d'El-oued. Dans des conditions environnementales favorables, température 20C°, et l'humidité 64.5 % et un cycle de la lumière 12h/24h, les rattes sont logées dans des cages en plastique, chaque cage regroupe cinq rattes, ces cages sont nettoyés une fois chaque deux jour jusqu'à la fin de l'expérimentation, avec un accès libre à l'eau et à la nourriture par un régime standard.

Tablea04 : Composition de régime standard. (Southon et *al.*, 1984)

Matières premières	Quantité (g/kg)	Pourcentage (%)
Mais	326	32,6
Saccharose	326	32,6
Protéine	168	16,8
Cellulose	40	4
Minéraux	20	2
Vitamine	20	2
Huile	40	4

I.1. Traitement des rattes

Premièrement, les rattes ont été soumet à une période d'adaptation pendant 2 mois, ensuite, elles sont regroupées en 3 groupes.

* **Groupe 01 (témoin)**: 4 rattes témoins saines recevant un régime standard avec eau de boisson normal pendant 4 semaines (**T**).

* **Groupe 02**(traité par tartrazine E102): 5 rattes recevant chaque jour une solution composée de 3g de tartrazine par litre d'eau pendant 4 semaines.

* **Groupe 03** (traité par acide citrique E330): 5 rattes recevant chaque jour une solution composée de 3g d'acide citrique par litre d'eau pendant 4 semaines.

I.2. Sacrifice et prélèvement de sang et des organes

Après 4 semaines de traitement les rattes de 3 lots sont mis à jeûne pendant 16 heures puis ont été sacrifiées après l'anesthésiés par le chloroforme (94%). le sang est immédiatement recueilli dans des tubes contient l'anticoagulant EDTA pour utiliser dans le dosage des paramètres hématologiques (GR, GB, HB, ...etc). Les animaux sacrifiés ont été disséqués pour le prélèvement d'organe (foie) qui est soigneusement prélevé, et rincés avec l'eau physiologique et conservé pour faire le dosage des biomarqueurs de stress, les étapes sont présentés dans le schéma suivant :

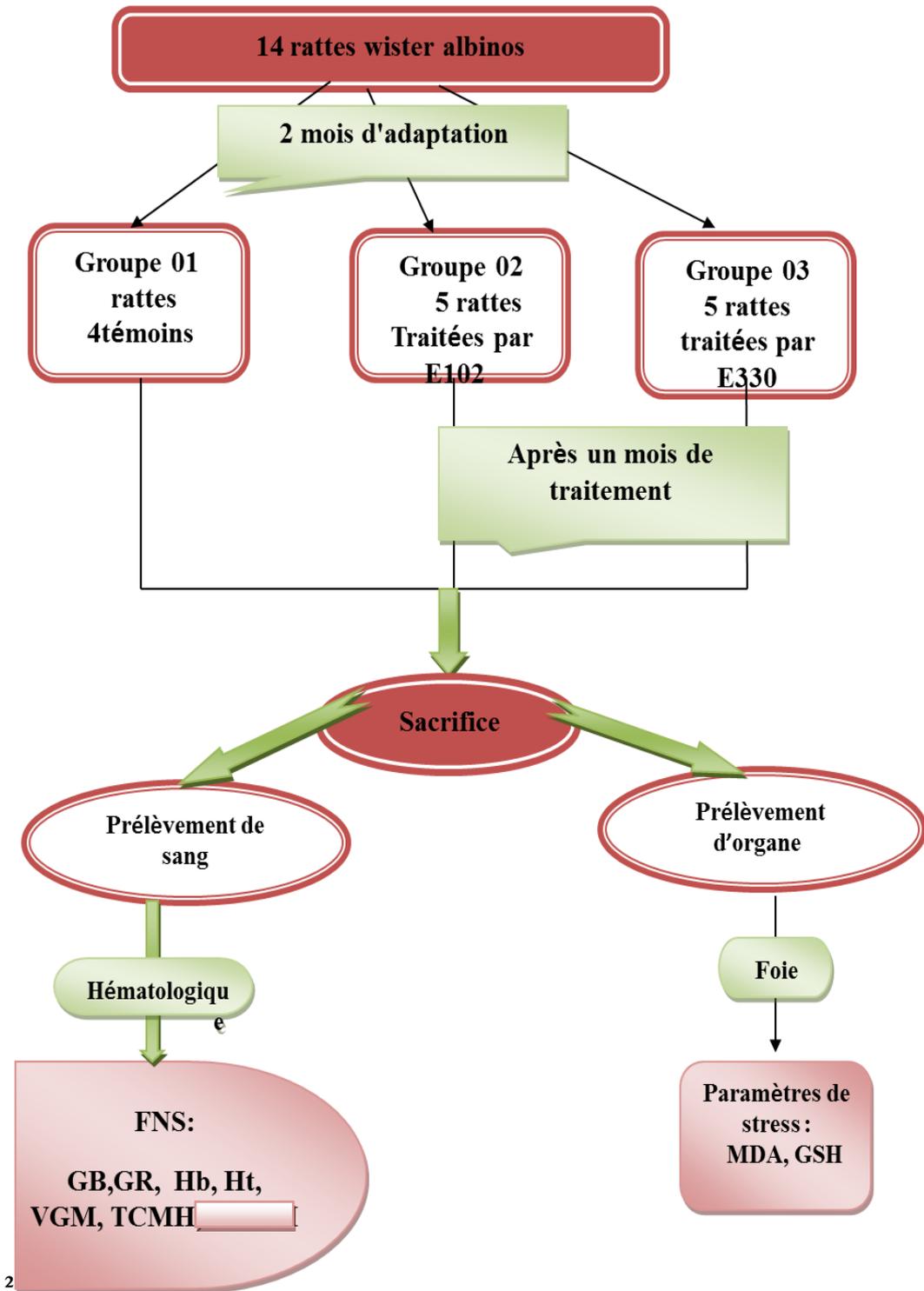


Figure 09. Schéma récapitulatif de traitement au prélèvement de sang et le foie.

II. Etudes biochimiques

II.1. Dosage des protéines tissulaire

❖ Principe

La quantification des protéines a été faite selon Bradford (1976) sur une fraction aliquote de 0,1 ml de l'homogénat, avec 4 ml de Bleu Brillant de Coomassie (G250, Merk) comme réactif (50 mg de Bleu Brillant de Coomassie, 25 ml d'éthanol (95%), 50 ml d'acide orthophosphorique (85%) et compléter à 500 ml avec l'eau distillée).

Les absorbances ont été lues à une longueur d'onde de 595 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre, et la gamme d'étalonnage réalisée à partir d'une solution d'albumine à 1mg/ml (**Tableau 04**).

Tableau 05 : Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution d'albumine (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

II.2. Dosage de Malondialdéhyde (MDA) tissulaire

Les composés carbonylés à l'instar du malondialdéhyde réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour donner des chromophores de couleur rose absorbant à 532nm (**Yagi, 1976**).

Pipeter dans les tubes à essai en verre et à vis, 200µl d'échantillon, 800 µl de réactif TBA et fermer hermétiquement. Chauffer le mélange au bain Marie à 100°C pendant 15 minutes. Puis refroidir dans un bain d'eau froide pendant 30 minutes en laissant les tubes ouverts pour permettre l'évacuation des gaz formés lors de la réaction. Centrifuger à 3000 tours/minutes pendant 5 minutes et lire l'absorbance du surnageant à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La concentration de TBARS (Thiobabaturicreactivespecies) a été déterminée en utilisant le coefficient d'extinction moléculaire du MDA ($\epsilon = 1,53 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Les résultats ont été exprimés en $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine.

$$\text{MDA } (\mu\text{mol}/\text{mg de protéine}) = \frac{(\text{Do échantillon} / 1,53 \times 10^5)}{\text{mg de protéine}}$$

Remarque

Pour la préparation de la solution TBA : peser 375 mg de TBA, 20g de TCA, 0.01g de BHT, puis ajouter 25 ml de HCL 1 N et 50 ml d'eau distillée. Mélanger tous dans un bécher. La solution obtenue a été chauffée à 40°C dans un bain Marie jusqu'à dissolution complète du TBA, puis transférée dans une fiole de 100ml et le volume complété à l'eau distillé jusqu'au de jauge.

II.3. Dosage de glutathion réduit (GSH) tissulaires

Le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de **Weckberker et Cory (1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion. 200 mg de tissu (foie, rein) ont été mis en présence de 8 ml d'une solution d'Éthylène Diamine Tétracétique (EDTA) à 0,02 M, puis ont été broyés.

❖ Mode opératoire

- ✓ Prélever 800 μl de l'homogénat.
- ✓ On ajoute 200 μl d'une solution d'acide sulfosalicylique (0,25%).
- ✓ Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- ✓ Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- ✓ Prélever 500 μl du surnageant.
- ✓ Ajouter 1 ml du tampon Tris-EDTA (EDTA (0.02M)), tris-EDTA à pH 9,6)
- ✓ Mélanger et ajouter 25 μl de DTNB à 0,01 M (dissous dans le méthanol absolu).
- ✓ Laisser pendant 5 min à une température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développe instantanément.

✓ Lecture des absorbances à longueur d'onde 412 nm contre le blanc. (500µl d'eau distillé + 1 ml de tampon tris-EDTA + 25µl DTNB).

Calcul : Le taux du glutathion réduit est obtenu par la formule suivante :

$$\text{GSH } (\mu\text{M})/(\text{mg de proteïne}) = \frac{D_o \times 1 \times 1,525}{13,1 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg de proteïne}}$$

DO : Densité optique à 412 nm.

1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,8 ml homogénat + 0,2 ml SSA).

1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH (0,5 ml surnageant + 1 ml Tris-EDTA + 0,025 ml DTNB).

13,100 : Coefficient d'extinction du groupement (-SH) à 412 nm.

0.5 : Volume du surnageant utilisé en ml.

0.8 : Volume du l'homogénat utilisé en ml.

On note que la concentration du GSH est mesurée par rapport à la quantité des protéines en mg. C'est pour cela ce dosage doit être accompagné par le dosage des protéines.

III. Paramètre hématologique

La formule de numération sanguine (FNS) a été réalisée par l'analyseur automatique(F.N.S COMPLETE Mode : ST-Tous). Le tube de sang total avec l'EDTA (anticoagulant) est placé dans l'automate ; et la mesure de la FNS commence. Les résultats s'affichent automatiquement sur l'écran, et sont ensuite imprimés. Les paramètres déterminés sont : globule rouge (GR), globule blanc (GB), hémoglobine (Hb), Hématocrite (Ht), volume globulaire moyenne (VGM), Taux corpusculaire moyenne en hémoglobine(TCMH). Le dosage a été réalisé au niveau du laboratoire de l'hôpital du 19 mars El-Oued.

IV. Enquête

Avec un œil plus vigilant, notre enquête a scruté différents produits alimentaires contiennent les additifs à étudiés, et les plus consommés tels que les boissons gazeuses, confiture, beurre, fromage.

V. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne et l'écart type (moyen \pm s), les moyennes et les écart-types sont présentés dans des histogrammes par l'utilisation de l'office Excel 2007. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel MINITAB 15 EN. La signification de différence entre le groupement témoin et traité est vérifiée par l'utilisation de test d'ANOVA à un seul facteur contrôlé.

I. Résultats

I.1. Etude statistique

L'évaluation statistique est effectuée par le test d'ANOVA. Les résultats sont donnés sous forme de moyennes et écart-types (ES). Alors, nous avons utilisé un logiciel MINITAB 15 et EXCEL (office 2007) qui nous aident pour faire l'analyse.

Ce test nous donne le degré de signification P où on dit que la différence :

NS : Différence non significative $P > 0,05$.

* : Différence significative $P < 0,05$.

** : Différence hautement significative $P < 0,01$.

*** : Différence très hautement significative $P < 0,001$.

I.2. Evaluation des paramètres hématologiques

I.2.1. Nombre des globules blancs (GB)

Les résultats obtenus après 04 semaines de traitement par la tartrazine et l'acide citrique nous permettent d'enregistrer une valeur moyenne de nombre des globules blancs de $(3,16 \times 10^3/\mu\text{l})$ chez les rattes traitées à tartrazine, et $(3,24 \times 10^3/\mu\text{l})$ chez les rattes traitées à l'acide citrique qui sont proche à celle chez les rattes témoins $(3,84 \times 10^3/\mu\text{l})$, l'analyse statistique des résultats montre qu'il n'existe pas une différence significative ($p_{E102} = 0.430$; $p_{E330} = 0.357$ ($p > 0,05$)) entre le groupe témoin et traitées (figure 10).

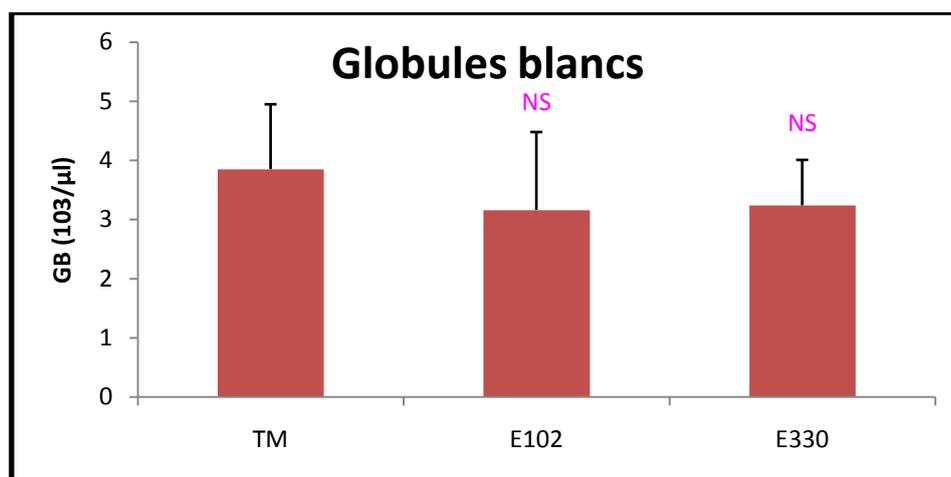


Figure 10. Nombre des globules blancs des rattes traitées par le tartrazine (E102) et l'acide citrique (E330), et des rattes témoins ; ($n=5$), Ns : une différence non significative ($p > 0,05$).

I.2.2. Nombre des globules rouges (GR)

Les résultats obtenus après un mois de traitement par le tartrazine et l'acide citrique nous permettent d'enregistrer une valeur moyenne de nombre des globules rouges de $(7,23 \times 10^6/\mu\text{l})$ chez les rattes traitées à tartrazine, et $(6,67 \times 10^6/\mu\text{l})$ chez les rattes traitées à l'acide citrique qui sont supérieures à celle chez les rattes témoins $(5,65 \times 10^6/\mu\text{l})$, l'analyse statistique des résultats montre qu'il existe une augmentation hautement significative ($p=0,012 < 0,05$) du taux des globules rouges chez les rattes traitées à l'acide citrique (E330) comparées aux témoins, et le groupe traité par le tartrazine (E102) n'enregistre pas une différence avec le témoin ($p=0,076 (p > 0,05)$) (figure 11).

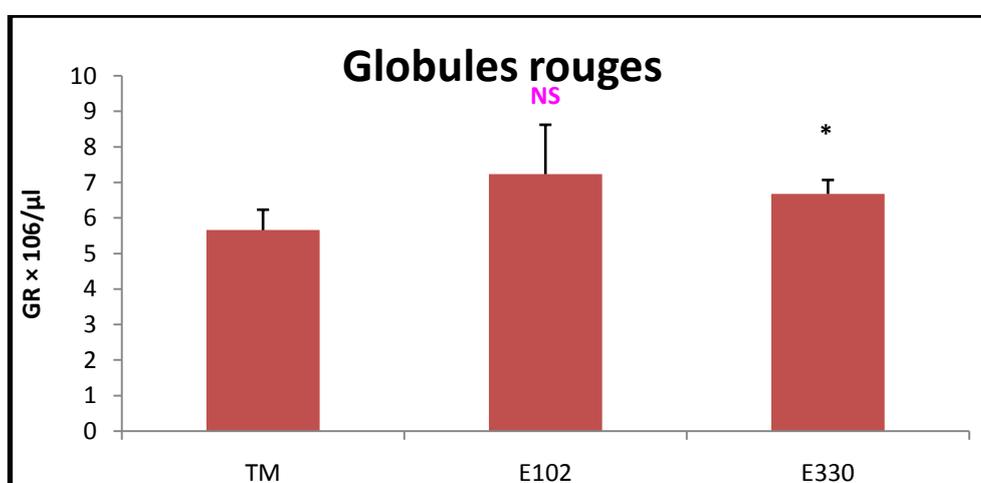


Figure 11. Nombre des globules rouges ($10^6/\mu\text{l}$) des rattes témoins et traitées par le tartrazine (E102) et l'acide citrique (E330). (r = 5, Ns : $p > 0,05$: une différence non significative, * : $p < 0,05$: une différence significative).

I.2.3. Taux d'hémoglobine (Hb)

Les résultats ont montré une valeur moyenne d'hémoglobine de 15,56 g/dl chez les rattes traitées à tartrazine, et de 14,06 g/dl chez les rattes traitées à l'acide citrique qui sont supérieures à celles chez les rattes témoins (11,52 g/dl) (figure 12).

Nos résultats indiquent une augmentation hautement significative (** $p < 0,01$) du taux d'hémoglobine chez les rattes traitées par l'acide citrique ($p=0,01$) en comparant avec les témoins, le groupe traité par le tartrazine n'indique pas une différence significative avec les témoins ($p=0,06 (p > 0,05)$).

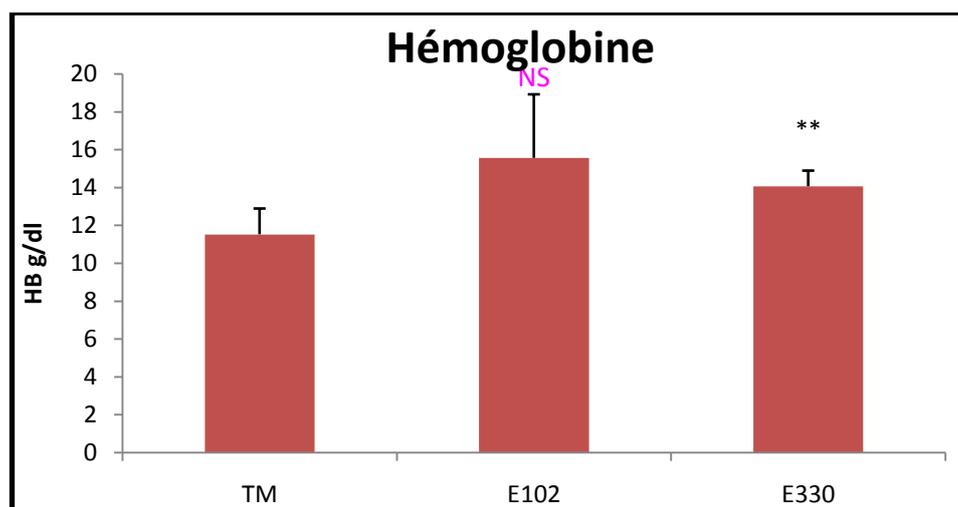


Figure12. Taux d'hémoglobine (g/dl) des rattes témoins et traitées par le tartrazine (E102), et l'acide citrique (E330); (r = 5, Ns: $p > 0,05$: une augmentation non significative, $**p < 0,01$: une différence hautement significative).

1.2.4.Hématocrite (HT)

Les résultats nous permettent d'enregistrer une valeur moyenne du taux d'Hématocrite de 46,26 %chez les rattes traitées à tartrazine, et 43,78% chez les rattes traitées à l'acide citrique qui sont supérieur à celle chez les rattes témoins 34,72% (Figure13)Nos résultats indiquent une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) de l'hématocrite chez les rattes traitées à l'acide citrique avec une valeur de $p=0.007$, et une augmentation significative ($*p < 0,05$) chez le groupe traité par le tartrazine ($p=0.04$) par apport au témoin.

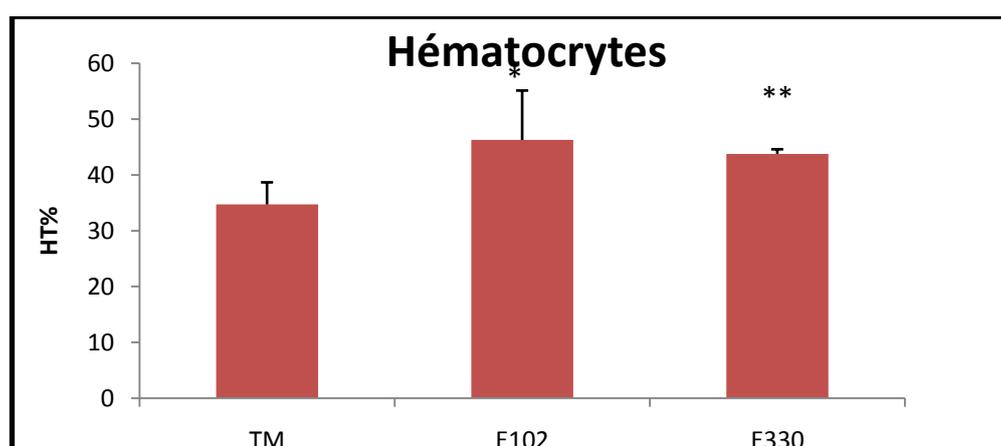


Figure13. Valeurs de l'hématocrite (%)des rattes témoins, et les rattes traitées par tartrazine (E102) et l'acide citrique (E330); (r =5), $*p < 0,05$: une augmentation significative, $**p < 0,01$: une augmentation hautement significative.

I.2.5. Volume globulaire moyenne (VGM)

Les résultats obtenus nous permettent d'enregistrer une valeur moyenne de Volume globulaire de 63,94fl chez les rattes traitées par le tartrazine et de 65,56fl chez les rattes traitées par l'acide citrique qui sont supérieurs à celles des rattes témoins (61,02fl) (Figure14).

L'analyse statistique des résultats indique une différence hautement significative du volume globulaire (**p < 0,01) chez les rattes traitées à l'acide citrique (p=0,004), et une augmentation non significative (p > 0,05) chez le groupe traité par le tartrazine (p=0,088).

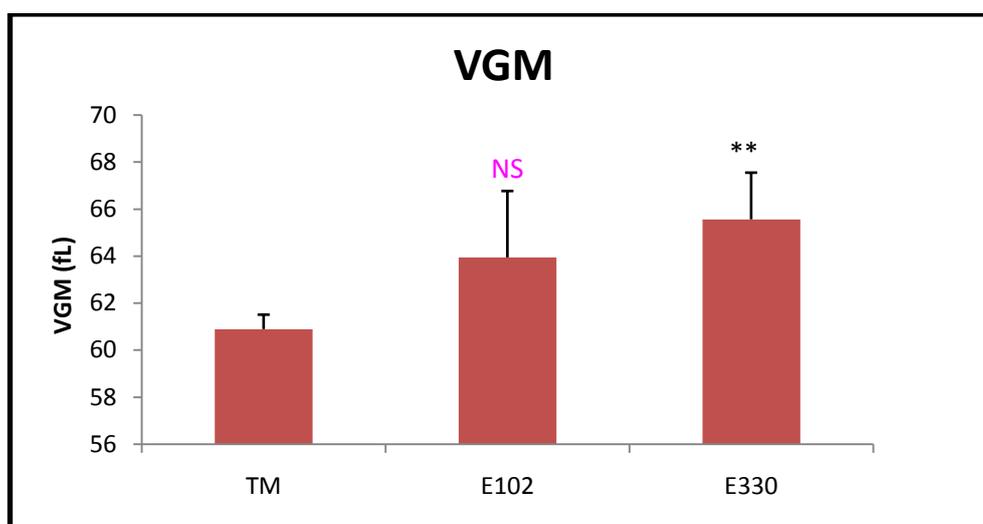


Figure14 .Volume globulaire moyen (fl) des rattes témoins et traitées (par E102 et E330) ; (r =5, Ns : p > 0,05 : une augmentation non significative, **p < 0,01: une augmentation hautement significative)

I.2.6. Taux corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH)

Les résultat sont montré une valeur moyenne de taux corpusculaire moyenne en hémoglobine de 21,38pg chez les rattes traitées à tartrazine, et de 21,02pg chez les rattes traitées à l'acide citrique qui sont supérieur à celle chez les rattes témoins 20,35pg(figure15).

Nos résultats indiquent qu'il n'y a aucune différence significative (p > 0,05) entre les groupes traités et le groupe témoin (p E102= 0.091; pE330 =0.102 (p > 0,05)).

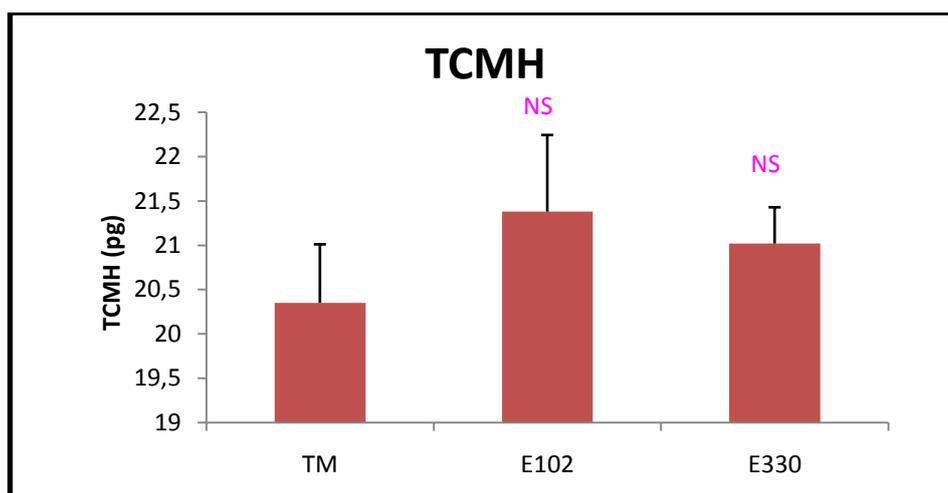


Figure 15. Taux corpusculaire moyenne en hémoglobine (pg) des ratte témoins et traitées (E102 : tartrazine et E330 : acide citrique ($r = 5$, NS $p > 0,05$)).

I.3. Evaluation des paramètres du stress oxydant

I.3.1. Taux de malondialdéhyde (MDA)

Le tableau ci-dessous résume les résultats du taux de malondialdéhyde chez tous les groupes au niveau tissulaire.

Tableau 06: Taux de malondialdéhyde (MDA) tissulaire chez le groupe témoin et les groupes traités (Tartrazine : E102, Acide citrique : E330).

Lots	Tm	E102	E330
Foie	6,97 ± 0,18	7,787 ± 2,40	8,10 ± 0,82

Les résultats obtenus après 04 semaines de traitement par le tartrazine et l'acide citrique nous permettent de déterminer une valeur moyenne de malondialdéhyde (MDA) de 7,78 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine chez les ratte traitées par le tartrazine, et de 8,10 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine chez les ratte traitées par l'acide citrique qui sont supérieures à celles chez les ratte témoins (6,97 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine).

Les résultats indiquent qu'il n'y a aucune différence significative ($p > 0,05$) entre les groupes traités et le groupe témoin ($p_{E102} = 0,679$; $p_{E330} = 0,199$ ($p > 0,05$)).

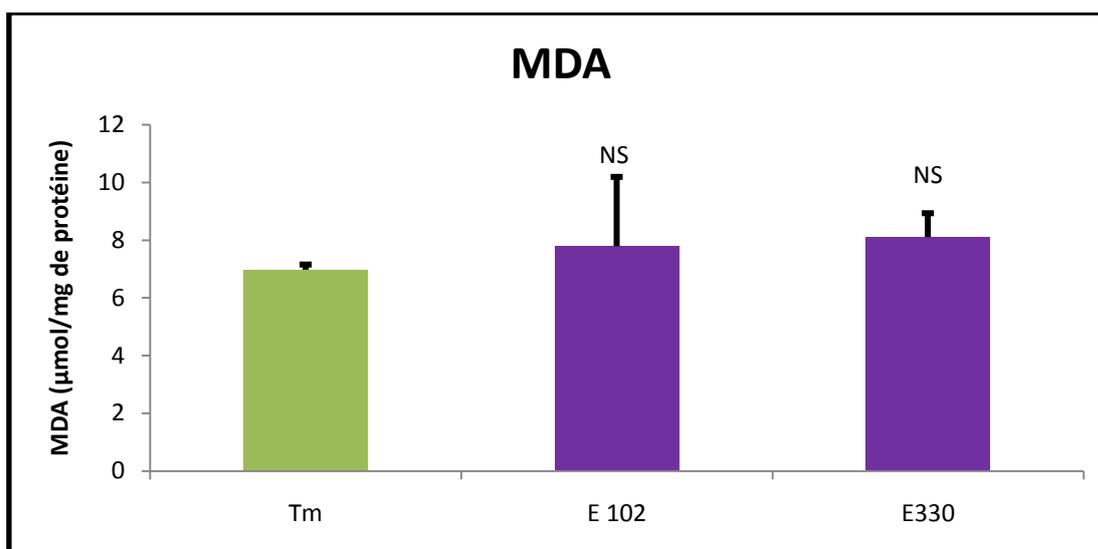


Figure 16. Taux de malondialdéhyde tissulaire (MDA), dans le foie de groupe témoins, et les groupes traités par l'E102 et E330 ; NS : $p > 0,05$.

I.3.2. Taux de Glutathion réduit (GSH)

Les résultats de l'étude de l'influence d'un traitement par le tartrazine et l'acide citrique nous permettent d'enregistrer une valeur moyenne du taux de Glutathion réduit (GSH), de $6,12 \mu\text{mol/mg}$ de protéine chez les rattes traitées par le tartrazine qui est supérieur à celle chez les rattes témoins ($4,87 \mu\text{mol/mg}$ de protéine), et de $3,55 \mu\text{mol/mg}$ de protéine chez les rattes traitées à l'acide citrique qui est inférieur à celle chez les rattes témoins ($4,87 \mu\text{mol/mg}$ de protéine) (tableau07).

Tableau07 : Taux de glutathion réduit (GSH) dans le foie, chez le groupe témoins et les groupes traités par le tartrazine (E102) et l'acide citrique (E330) ; $m \pm s$ (m : moyenne, s : écart type).

Lots	Tm	E102	E330
GSH ($\mu\text{mol/mg}$ de protéines)	$4,87 \pm 0,58$	$6,12 \pm 1,13$	$3,55 \pm 0,04$

L'analyse de la variance à un seul facteur contrôlé révèle qu'il n'y a aucune différence significative ($p > 0,05$) entre les groupes traités et le groupe témoin chez les rattes ($p_{E102} = 0,299$; $p_{E330} = 0,086$ ($p > 0,05$)).

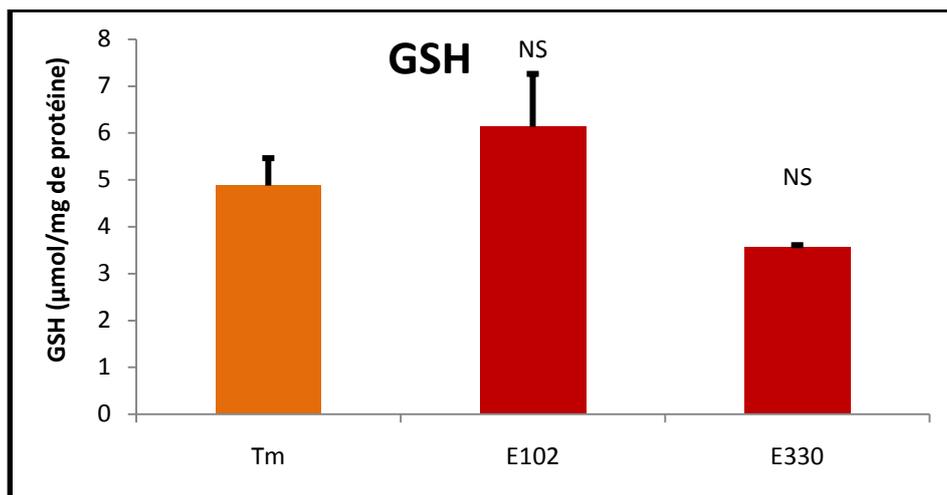


Figure 17. Taux de glutathion réduit (GSH) au niveau de foie chez les groupes, témoins et traités ; Ns: non significative $p > 0,05$).

I.4. Résultats d'enquête

I.4.1. Beurre

Ces résultats indiquent une forte consommation quotidienne de beurre (77% du nombre total de personnes), Alors que nous avons enregistrés de faibles taux de consommation hebdomadaire (16%) et mensuelle de (7%).

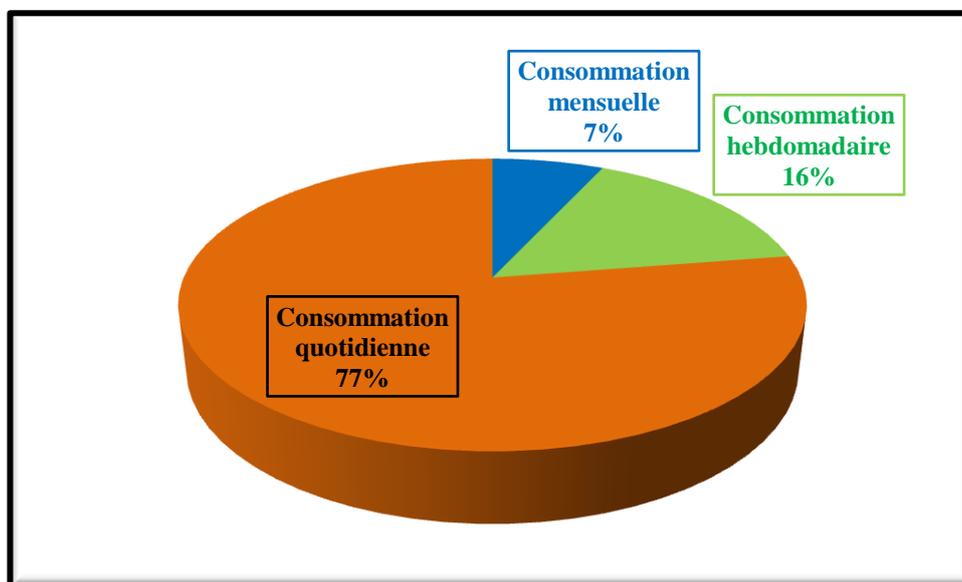


Figure 18. Cercle relatif représentant la proportion de personnes qui consomment du beurre quotidiennement, hebdomadairement et mensuellement (N= 262 personnes).

I.4.2. Boissons gazeuses et les jus

Nos résultats montrent une forte consommation hebdomadaire de boissons gazeuses et les jus (53% du nombre total de personnes) par les consommateurs, Alors que nous avons enregistré de valeur moyenne de consommation quotidienne de 33%, et faibles (mensuelle) de 14%.

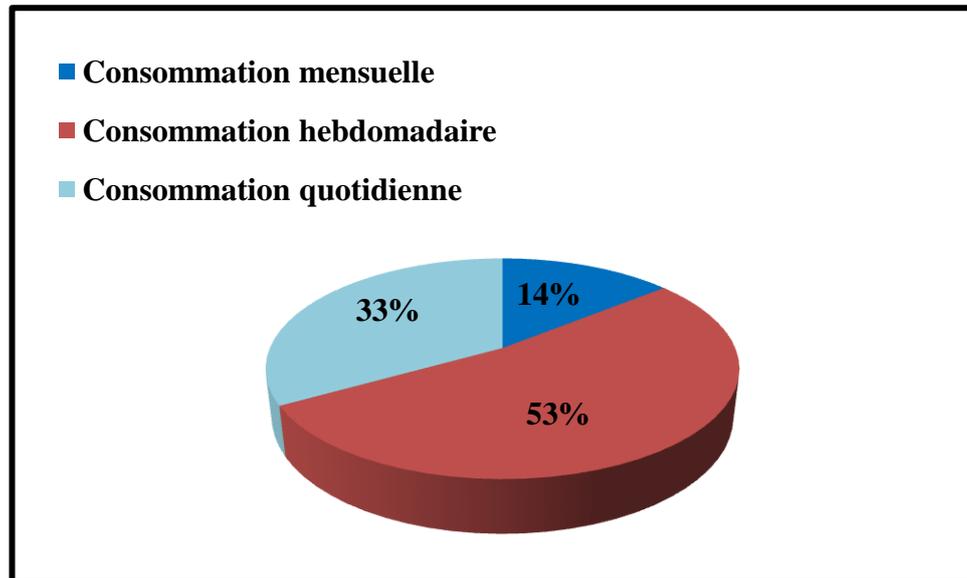


Figure 19. Cercle relatif représentant la proportion de personnes qui consomment de boissons gazeuses quotidiennement, hebdomadairement et mensuellement (N= 262 personnes).

I.4.3. Confiture

Ces résultats indiquent une forte consommation quotidienne de beurre (60% du nombre total de personnes) par les consommateurs, Alors que nous avons enregistré de valeur moyenne de consommation hebdomadaire de 28% et faibles mensuelle de 12%.

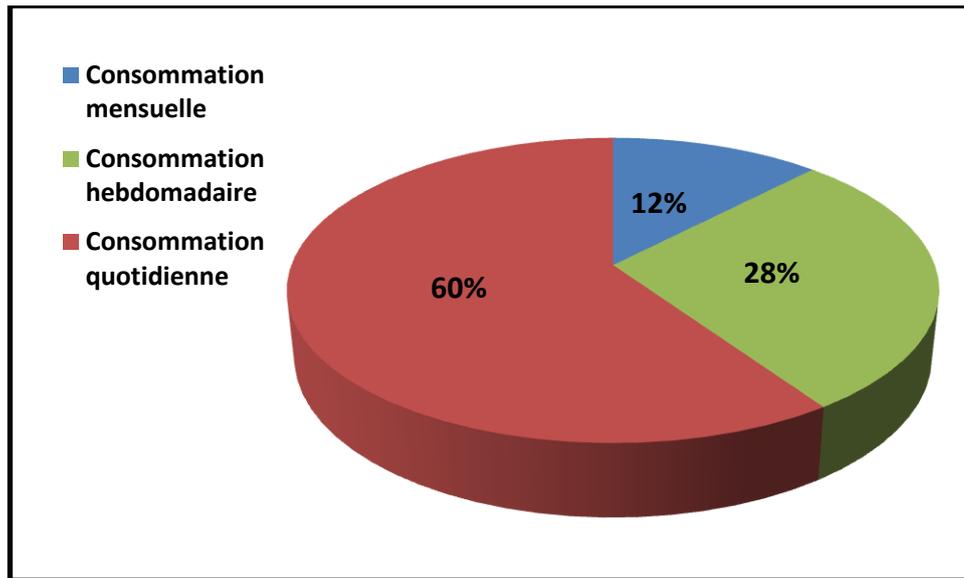


Figure 20. Cercle relatif représentant la proportion de personnes qui consomment de Confiture quotidiennement, hebdomadairement et mensuellement(N= 262 personnes).

I.4.4.Fromage

Ces résultats indiquent une forte consommation hebdomadaire de fromage (48% du nombre total de personnes) par les consommateurs, Alors que nous avons enregistré des valeurs moyennes de consommation mensuelle de 27% et quotidienne de 25%.

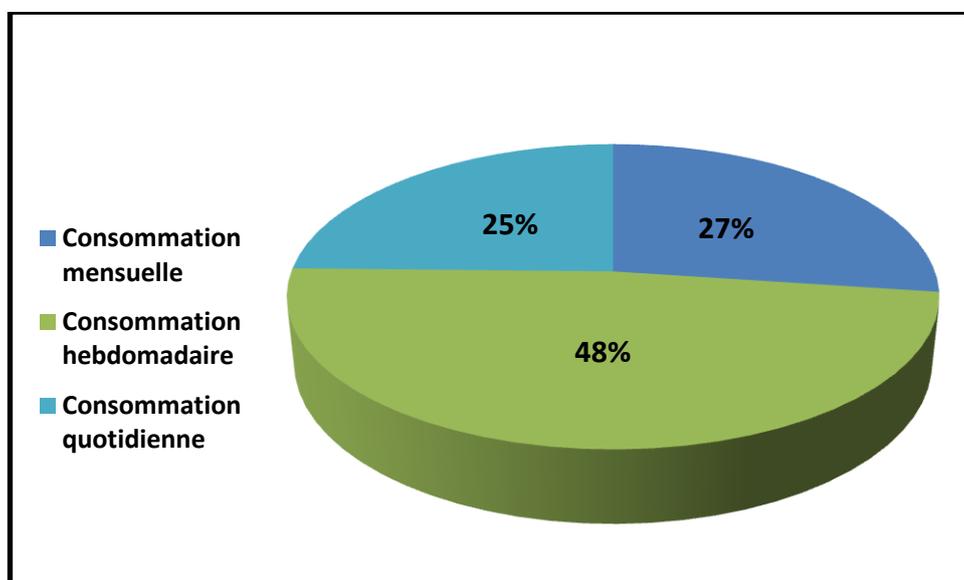


Figure 21. Cercle relatif représentant la proportion de personnes qui consomment de fromage quotidiennement, hebdomadairement et mensuellement(N= 262 personnes).

II. Discussion générale

Notre travail a pour but d'étudier les propriétés toxicologiques du tartrazine (E102) et de l'acide citrique (E330) sur certaines fonctions et organes chez les rattes Wistar. Nous avons analysé l'impact de la consommation subchronique de la tartrazine et l'acide citrique sur les paramètres hématologiques, des paramètres de stress oxydatif, la physiologie du foie.

L'évaluation du risque en toxicologie alimentaire présente des caractéristiques qui lui sont propres. La sécurité du consommateur doit pouvoir être assurée à partir de données issues exclusivement d'études réalisées sur l'animal pour une consommation journalière pendant une vie entière. Les études toxicologiques chez l'homme ne sont pas autorisées pour des raisons éthiques, sauf dans des cas exceptionnels, pour les molécules introduites intentionnellement dans l'aliment.

La DJA est déterminée à partir de la DES, Pour la tartrazine, elle est fixée par le Comité Conjoint d'Experts sur les Additifs Alimentaires (**JECFA**) (1996) à 7,5 mg/kg pc/j. Cependant, l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) a été mandatée par la Commission Européenne pour effectuer une réévaluation systématique des additifs alimentaires autorisés en accordant la plus haute priorité aux colorants afin de faire en sorte que la sécurité de tous ces additifs soit régulièrement évaluée en tenant compte des études les plus récentes et de tout nouvel élément probant (**Vierling, 2008**).

De même, des études menées par **Rowe (1994)** et **Eigenmann(2004)**, rapportent que des changements du comportement ainsi que des troubles du sommeil ont été observés chez l'homme et particulièrement chez l'enfant, en plus de manifestations dermatologiques après consommation des aliments contenant des colorants synthétiques (tartrazine et autres). En plus, une amélioration des troubles de l'attention a été constatée chez des enfants après éviction des colorants synthétiques de l'alimentation (**Borris&Mandel, 1994**).

Certaines études et analyses ont toutefois mis en évidence un lien non négligeable entre l'alimentation et les troubles de l'attention avec ou sans hyperactivité (TDAH) (**Bateman et al., 2004 ; Schab& Trinh, 2004;Sinn, 2008; Newmark, 2009**). Celles-ci ont établi que chez les sujets astreints à un régime sans colorants alimentaires artificiels (dont la tartrazine), les améliorations moyennes du comportement se situaient entre 33% et 50% et sont généralement obtenues en cas de traitement médicamenteux. Ces améliorations

concernaient les enfants souffrant de trouble de l'attention avec hyperactivité et les enfants normaux (**Bateman et al., 2004; Schab&Trinh,2004**).

Enfin dans un autre travail évaluant l'effet de l'ingestion chronique d'un colorant synthétique, le métanylyellow, sur le taux des neurotransmetteurs (dopamine, adrénaline et sérotonine) ainsi que sur l'activité de l'acétylcholine estérase chez les rats Wistar en croissance et adultes a montré que le taux de ces amines a été remarquablement affecté au niveau de l'hypothalamus et du striatum et que l'activité de l'acétylcholine estérase a été réduite dans ces deux régions cérébrales. Il a été montré que le métanylyellow prédispose le système nerveux central à une neurotoxicité chez les animaux en croissance et adultes (**Nagaraja&Desiraju,1993**).

Nos résultats sont également en partie en accord avec les travaux entrepris par **Osman et al. (1995)** qui rapportent que les colorants synthétiques (Fast green, sunsetyellow) administrés quotidiennement par voie orale respectivement à des doses de 12,5 mg/kg et 5 mg/kg pendant un mois augmentent le poids des organes, particulièrement celui du foie et des reins chez les rattes.

II.1.Effet de la tartrazine sur les paramètres hématologiques

L'étude de l'effet de la tartrazine sur les paramètres hématologiques porte sur les globules blancs, les globules rouges, l'hématocrite, l'hémoglobine, le volume globulaire moyen, la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, le taux corpusculaire moyen en hémoglobine.

Les données de notre expérimentation animale montrent que la tartrazine entraîne une augmentation non significative du nombre des globules rouges et de l'hémoglobine chez les rattes traitées à tartrazine. De même, une augmentation hautement significative du nombre des globules rouges et de l'hémoglobine chez le groupe traité à l'acide citrique. Cette élévation du nombre des globules rouges peut être un signe de polyglobulie qui a lieu lors d'une déshydratation (**Balcells, 1998**).

Nos résultats sont comparables à ceux de **Sobotkaet al. (1977)** qui observent une augmentation du taux des globules rouges et de l'hémoglobine chez des rats exposés et pendant la période de la lactation à la dose de 0, 1 et 2% de tartrazine.

En revanche, les résultats obtenus par **Aboel-Zahabet al.(1997)**, après administration d'un mélange de colorants synthétiques (Sunset yellow E110, tartrazine E102, carmoisine E122, et le brillant bleu E133) à des rats pendant 30 et 60 jours,

montrent une diminution significative du nombre des globules rouges ainsi que du taux d'hémoglobine.

Dans une autre étude, l'administration subchronique d'un colorant synthétique, l'orange II, à des rats par voie orale à des doses de 0,1 et 0,5 et 3% diminue le nombre des globules rouges et le taux de l'hémoglobine mais ne modifie pas les autres paramètres hématologiques (**Singh et al., 1987**).

L'hématocrite correspond au pourcentage relatif occupé par les globules rouges par rapport à la quantité de sang total. Une augmentation significative du taux de l'hématocrite est observée chez le groupe traité à la tartrazine (E102), Un hématocrite élevé est un signe d'hémoconcentration (**Balcells,1998**).

L'augmentation du volume globulaire moyen (VGM) est observée chez le groupe traité à l'acide citrique et une augmentation non significative de VGM chez les rattes traitées à tartrazine. Un VGM > 94 fl/l traduit une anémie macrocytaire observée lors d'un déficit en vitamine B12 et lors des hépatopathie(**Balcells, 1998**).

La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) est la quantité moyenne d'hémoglobine contenue dans les hématies. Aucune différence significative du taux corpusculaire moyen en hémoglobine (TCMH), et la même chose dans la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) n'est remarquée chez tous les groupes expérimentaux.

Les données de la littérature sont divergentes, certaines montrent une augmentation du VGM et du CCMH et un taux normal du TCMH suite à la consommation du metanylyellow(**Prasad et al., 1983**)et d'autres ne montrent aucune modification de ces différents paramètres après administration subchronique de colorant orange II par voie orale à des doses de 0,1, 0,5 et 3% à des rats (**Singh et al., 1987**).

Nos résultats indiquent une diminution non significative des globules blancs chez tous les groupes traités par le tartrazineet l'acide citrique, traduisant une leucopénie résultant probablement d'une atteinte de la moelle osseuse par la tartrazine.Il a été montré en effet que la moelle osseuse peut être une cible pour certains toxiques qui peuvent détruire ses cellules produisant ainsi une diminution du nombre des globules rouges et/ou des globules blancs (**Robert &Buidinsky, 2000**).

En revanche, nos résultats ne concordent pas avec ceux de **Prasad et al.(1983)** et de **Mackenzie et al. (1992)**qui indiquent, au contraire, une augmentation du nombre des

globules blancs. De même, **Holmes et al. (1978)** ne montrent aucune modification du taux des globules blancs suite à une consommation du colorant synthétique carmoisine(E122).

II.2. Effet de la tartrazine sur les paramètres de stress oxydatif

Concernant l'état du stress oxydatif, l'un des marqueurs biologiques les plus fréquemment utilisés fournissant une indication du niveau de la peroxydation lipidique est la concentration plasmatique de malondialdéhyde (MDA), l'un de plusieurs sous-produits du processus de peroxydation lipidique (**Guéraudetal., 2015**). Nos résultats montrent que le taux de l'MDA tissulaires était significativement élevé chez les rattes traitées au tartrazine et l'acide citrique par rapport au témoin.

Les cellules germinales sont particulièrement hypersensibles à dommages dus au stress oxydatif en raison de leur propre membrane plasmique qui contient une grande quantité d'acides gras polyinsaturés (**Alvarez &Storey, 1995**) et une faible concentration de la défense enzymes de récupération (**Sharma &Agarwal, 1996**).

Une fonction majeure de GSH est la détoxification et l'élimination d'espèces réactives de l'oxygène. Ces composés sont conjugués avec GSH soit spontanément, soit par voie enzymatique dans des réactions catalysées par la GSH-S-transférase (GSTs). Dans notre étude expérimentale, les résultats montrent une diminution non significative des niveaux de glutathion dans le foie chez les rattes traitées par l'acide citrique (E330) par rapport au témoin. **Yu(1994)**, ont montré une diminution de l'activité de GSH chez les rats intoxiqués à l'oxyde de fer. Cette baisse de GSH est expliquée par l'augmentation du taux des radicaux libres, qui peut due à l'accumulation d'ALA sous l'effet de l'oxyde de fer (**Yu,2000**). Selon **Yu(1994)** l'exposition in vitro d'ALA à des cellules de hamster (CHO) entraîne une baisse du glutathion réduit (GSH), une augmentation du glutathion oxydé (GSSG) et une augmentation du MDA. Cette étude est conforme à nos résultats et montre qu'il existe une diminution de la concentration de GSH chez les rattes traitées par E330, et une augmentation du taux de MDA chez toutes les rattes traitées par rapport au témoin.

Nous avons supposé que l'activité inférieure de GSH réduit ou diminution possible des protéines totales pourrait être la principale cause de l'atténuation de SH dans le foie. Nos résultats sont en accord avec les études précédentes qui a démontré que les additifs colorants alimentaires et plus précisément des composés azoïques tels que la tartrazine

peut surproduire les ROS et augmenter le stress oxydatif dans le foie, les reins et le cerveau. (Boussada M et al, 2017)

I.3. Enquête

La Commission du Codex Alimentarius rédige régulièrement de nouveaux critères généraux pour les Additifs alimentaires, dans le but d'établir une harmonisation des normes sur le plan international. Seuls les additifs évalués par le JECFA y sont inclus (EUFIC, 2006).

En Algérie :

Les colorants alimentaires ne sont pas dirigés par des lois propres à eux; la réglementation en vigueur traite tous les additifs regroupés. Cette réglementation est sous formes de décrets et d'articles publiés dans le journal officiel algérien.

La définition des additifs, les conditions de leurs emplois, leurs spécifications d'identités et de puretés ainsi que leurs étiquetage figurent dans le décret exécutif numéro 92-25 du 13 janvier 1992 relatif aux conditions et aux modalités d'utilisation des additifs dans les denrées alimentaires et le journal officiel numéro 30 du 16 mai 2012 .

Il existe un certain vide juridique en ce qui concerne la législation spécifique régissant les colorants alimentaires.

Après comparaison des deux listes des colorants alimentaires autorisées en journal officiel des communautés européennes « **directive 94/36/CE** » (Directive du Parlement européen : (94/34/CE ; 89/107/CEE) et celui de la république algérienne n°31 du 5 mai 2002 (**Journal officiel Algérien N°31 et N°30**) on observe :

Le nombre des colorants de la liste autorisé est différente, dans la liste CEE on compte 43 colorants par contre ceux d'Algérie c'est 40. Quelques colorants ont été autorisés en CEE (E128 Rouge 2G, E129 Rouge Allura AC, E150) mais retiré de la liste algérienne. Dans la liste algérienne d'autres colorants ont été autorisés (SIN 161c, 161d) respectivement (Kryptoxanthine, Rubixanthine).

Concernant la liste exhaustive des colorants autorisés en Algérie (**journal officiel Algérien numéro 30 du 16 mai 2012**) et ceux autorisés en union européenne (journal officiel de l'union européenne: **RÈGLEMENT (UE) N° 1129/2011**)(**Journal officiel de l'Union Européenne, 2012**); le nombre des colorants autorisé en Algérie est de 55, alors qu'en Union Européenne il est de 44 colorants.

Deux colorants sont autorisés en Algérie et interdits en UE : le rouge 2G (E128) et le vert solide (E143). Alors qu'il a été démontré que, dans le corps humain, le Rouge 2G se transforme en grande partie en une substance appelée aniline. Sur la base d'études conduites sur l'animal, le groupe scientifique EFSA a conclu que l'aniline devrait être considérée comme cancérigène.

Conclusion

Notre travail s'inscrit dans le contexte d'une évaluation du risque toxicologique de la tartrazine et l'acide citrique sur certaines fonctions et organes chez les rattes Wistar Albinos femelles. Nous avons analysé l'effet de la consommation subchronique de la tartrazine et l'acide citrique par voie digestive, sur les paramètres hématologiques, les paramètres de stress oxydatif.

L'étude hématologique montre que la consommation des liquides (solution de tartrazine et solution de l'acide citrique) provoque une augmentation significative de nombres des globules rouges, taux d'hémoglobine et hématoците et volume globulaire moyenne, l'analyse hématologique montre également une diminution significative du nombre des GB.

Les résultats de la toxicité orale subchronique de la tartrazine et l'acide citrique obtenus lors du suivi des animaux indiquent un état de stress oxydant au niveau tissulaire représenté par une diminution remarquable du taux de Glutathion réduit (GSH), chez les rattes traitées par E330 et E102. D'autre part nos résultats montrent aussi qu'une augmentation du taux de malondialdéhyde (MDA).

Notre travail indique que l'effet de l'acide citrique plus important que l'effet de tartrazine au niveau des paramètres des strass et l'hématologique.

Après avoir mené une enquête que la consommation journalière des aliments contenant les deux additifs étudiés est importante, et aléatoire, ce qui pouvait entraîner la propagation de certaines maladies telles que les allergies, la pression artérielle, gastro-intestinales.

Mentionner la quantité de ces additifs dans les ingrédients des produits alimentaires, ou remplacer ces additifs par d'autres ceux qui moins dangereux.

Références bibliographiques

- Adel Matougui, 2011.**Histoire des additifs alimentaires, *Toxikoa*, 12p
- Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, 2017.**
- Agité C, De Saint Blanquat G, 2002.** Colorants autorisés en alimentation humaine in Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agro-alimentaire. *Multon Jean- Louis, Ed.* Technique et Documentation, Lavoisier, Apria, 357-386.
- Alain Favier, 2003.** Le stress oxydant (Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique). *Mécanismesbiochimiques.* p1-8.
- ARZOUR A , BELBACHA K, 2015,**Le risque toxicologique des colorants alimentaires,*MémoireMaster,Université des Frères Mentouri Constantine*, 84p.
- Bateman B, Warner JO, Hutchinson E, Dean T, Rowlandson P, Gant C, Grundy J, Fitzgerald C, Stevenson J, 2004.** The effects of a double blind, placebo controlled, artificial food colourings and benzoate preservative challenge on hyperactivity in a general population sample of preschool children. *Archives of Disease in Childhood*, 89: 506-511.
- Béatrice de reynal-jean-louismulton, 2009.**Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires, *4eme edition Lavoisier*, 35-50.
- Berger.Y(service de la consommation et des affaires vétérinaires SCAV),2004 .**les additifs utilisations et législations. *Epalinges*, 60p.
- Bertagni P, Hiron PC, Millburn P, Osiyemi FO, Smith RL, Turbert HB, Williams RT, 1972.** Sex and species differences in the biliary excretion of tartrazine and lissamine fast yellow in the rat, guinea-pig and rabbit. The influence of sex hormones on tartrazine excretion in the rat.*J Pharm Pharmacol*, 24: 620-624.
- Binstock. G, 1998.**Sorbate-Nitrite Reaction in meatproducts, *Buenos Aires*, 43: 354-368.
- Boris M, Mandel FS,1994.** Foods and additives are common causes of the attention deficit hyperactive disorder in children. *Ann Allergy*, 72: 462-468.

Borzelleca JF, Hallagan JB, 1988a. Chronic toxicity/carcinogenicity studies of FD& C Yellow No. 5 (tartrazine) in rats. *Food Chem Toxicol*, 26: 179-187.

Borzelleca JF, Hallagan JB, 1988b. A chronic toxicity/carcinogenicity study of FD & C Yellow No. 5 (Tartrazine) in mice. *Food Chem Toxicol*, 26 : 189-194.

Bouga et al, 2013. Evaluation of E330 –induced developmental toxicity using FETAX, *Turkish journal of biology* .265-272 .

Bourrier T, 2006. Intolérances et allergies aux colorants et additifs. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 46: 68-79.

Boussada M et al, 2017. Assessment of a sub-chronic consumption of tartrazine (E102) on sperm and oxidative stress features in Wistar rat. *International Food Research Journal* 24(4), 1473-1481 .

BRADFORD M.M., 1976- A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Academic Press. Vol. 72 (57): 248-254.

Bragger JL Lloyd AW Soozandehfar SH Bloomfield SF Martin

GP, 1997. Investigations into the azo reducing activity of a common colonic microorganism *Int J Pharm*, 157: 61-71.

Brown J, Roehm G, Brown R, 1978. Mutagenicity testing of certified food colors and related azo, xanthene and triphenylmethane dyes with the salmonella/microsome system. *Mutat Res*, 56: 249-271.

Brunellere, Y, (2010). Décrypter les étiquettes alimentaires. *Ed Paris*, 481-496
Cahier No 10 – les additifs alimentaires; 2017

Camille Migdal, Mireille Serres, 2011. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 405-12 .

Catalá, A, 2009. Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chem Phys Lipids*, 157, 1–11.

Chavéron H, 1999. Introduction à la toxicologie nutritionnelle. *Edition Technique et documentation*, Paris, 224p.

- Chef medical, 2016.**Fiche signalétique acide citrique ,solution à 20 %calgary ,
AB,Canada .p7
- Chung KT, Stevens JR E, Cerniglia CE,1992.**The reduction of dyes by the
intestinal microflora.*Crit Rev Microbiol*, (3)175-190.
- Codex alimentarius CODEX STAN 192, 1995.** norme générale pour les additifs
alimentaires, *FAO/ OMS,502p*
- Collins TF, Black TN, O'Donnell Jr, MW, Bulhack P, 1992.** Study of the
teratogenic potential of FD & C yellow No. 5 when given in drinking-water. *Food
ChemToxicol*, 263-268.
- Directive du Parlement européen :** (94/34/CE ; 89/107/CEE)
- Djordjević VB, Zvezdanović L, Ćosić V,2008.** Oxidative stress in human
diseases.*pubmed*, 158-165.
- Donna, M. (2007).**Food additives and hyperactive.P. 3-7-8-9.
- Dröge W, 2002.** Les radicaux libres dans le contrôle physiologique de la fonction
cellulaire .*PhysiolRev*, 47–95 .
- Drummond GR, Selemidis S, Griendling KK, Sobey CG, 2011.**Combating
oxidative stress in vascular disease: NADPH oxidases as therapeutic targets.*Nat Rev
Drug Discov*.10p
- Durnev AD, Oreshchenko AV, Kulakova AV, Beresten NF. 1995.** Analysis of
cytogenetic activity of food dyes. *Vopr Med Khim*, 50-53.
- EFSA, 2014.**Reconsideration of the temporary ADI and refined exposure assessment
for Sunset Yellow FCF (E 110).*EFSA Journal 2014*; 12(7):3765 [39 pp.].
- Elisabeth V, 2008.** Aliment et biossons:Technologie et aspects réglementaires. Ed
FAO/OMS, 1974. Evaluation de certains additifs alimentaires. 18em rapport du
comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires -Rome 3-14 juin 1974
- Feingold B, 1975.**WhyYour Child Is Hyperactive. Random House, *New Y*, 256p.
- Feng X, Zhu S, Hou H. 2006.**Photolytic degradation of organic azo dye in

aqueous solution using Xe-excimer lamp. *Environ Technol*, 27(2):119-26.

Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P, Fenn WO. Oxygen poisoning and x-irradiation: A mechanism in common, *Science*,623–626 .

Gouget, C. (2011). Additifs alimentaires, *dongern*, P.(31-35-37-38-39-51-52-95).

Guéraud, F., Sylviane, T., Jean-Paul, S., LidijaMilkovic, Suzana, B., Neven, Z., Eric, G., Nathalie, N., Cécile, H., Fabrice, P., & Nathalie, P, 2015.Dietary polyunsaturated fatty acids and hemeiron induce oxidative stress biomarkers and acancer promoting environment in the colon of rats, *Free Radical Biology & Medicine* ,891-849.

Höhn A, König J, Grune T, 2013. Oxydation de protéines au cours du vieillissement et élimination des protéines oxydées .*J Proteomics* ,132–159.

Honohan T, Enderlin FE, Ryerson BA, Parkinson TM, 1977. Intestinal absorption of polymeric derivatives of the food dyes sunset yellow and tartrazine in rats, *Xenobiotica*, 765-774.

Http ://aquaportail.com,consulter le : 03/2007.

Husain A, Sawaya W, Al-Omair A, Al-Zenki S, Al-Amiri H, Ahmed N, Al- Sinan M, 2006.Estimates of dietary exposure of children to artificial food colours in Kuwait.*Food Addit Contaminants*, 23: 245-251.

IariaLiguori, GennaroRusso, Francesco Curcio,GiuliaBulli, Luisa Aran, David Della-Morte,GaetanoGargiulo,GianlucaTesta, Francesco Cacciatore, DomenicoBonaduce, and PasqualeAbete, 2018 .Oxidative stress, aging, and diseases.*Clinical interventions in Aging*, 757–772.

Inomata N, Osuna H, Fujita H, Ogawa T, Ikezawa Z, 2006.Multiple chemical sensitivities following intolerance to azo dye in sweets in a 5- year-old girl.*Allergol Int*, 203-205.

Institut national des sciences d’hygiène au Japon, 1964

Ishidate M, Sofuni J, Yoshikawa K, 1981.Chromosomal aberration tests in vitro as a primary screening tool for environmental mutagens and/or carcinogens. *Gann Monogr Cancer Res*, 27:95-108.

Ishidate M, Sofuni T, Yoshikawa K, Hayashi M, Nohmi T, Sawada M, Matsuka A, 1984. Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. *Food Chem Toxic*, 623-636.

Jacquot M, Fagot P, Voilley A, Lavoisier, 2012. la couleur des aliments : de la théorie à la pratique. *Cerevisia*, 76p

JECFA, 1996. Summary of evaluations performed by the joint FAO/WHO expert committee on food additives, 1956–1996. FAO/IPCS/WHO.

JECFA, 1964. Specifications for identity and purity and toxicological evaluation of food colours. In, *FAO Nutrition Meetings Report Series No. 38B*. WHO, Geneva.

Jon G. Steller , Jeffrey R. Alberts , et April E. Ronca, 2018 . Oxidative Stress as Cause, Consequence, or Biomarker of Altered Female Reproduction and Development in the Space Environment. *International journal of molecular sciences*, 3729p.

Kapor MA, Yamanaka H, Carneiro PA, Zanoni MVB, 2001. Electroanalise de colorants alimenticios: Determinação de indigo carmin e tartrazina. *Sao Paulo; Scielo Brazil*, 100-195.

Kawai K, Furukawa H, Kabasawa Y. 1993. Genotoxicity of food yellow No.5 impurities in *Drosophila melanogaster*. *Japanese Journal Of Toxicology And Environmental Health*, 332-335.

Kayraldiz A et Topaktas M, 2007. The in vivo genotoxic effects of sodium metabisulfite in bone marrow cells of rats. *Russian Journal of Genetics* , Volume 43, Issue 8, pp 905-909.

Khera KS, Munro IC, 1979. A review of the specifications and toxicity of synthetic food colors permitted in Canada. *CRC Crit Rev Toxicol*, 81-133.

Koutsogeorgopoulou L, Maravelias C, Methenitou G, Koutselini A, 1998. Immunological aspects of the common food colorants, amaranth and tartrazine. *Vet Hum Toxicol*, 1-4.

KOWWIN EPI Suite, 2000. US Environmental Protection Agency.

- Li P., Hu X., Gan Y., Gao Y., Liang W., Chen J, 2010.**Mechanistic insight into DNA damage and repair in ischemic stroke: exploiting the base excision repair pathway as a model of neuroprotection. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2011;14(10):1905–1918. doi: 10.1089/ars.3451.
- Livingstone D.R., Chipmanj.K., Lowe D.M., Minier C.,Mitchelmore C.L., Moore M.N., Peters L.D. and Piper.K, 2000.**Development of biomarkers to detect the effects of organic pollution on aquatic invertebrates: recent molecular, genotoxic, cellular and immunological studies on the common mussel (*Mytilusedulis L.*) and other mytilids. *Int. J. Pollut.*, 13 : 56-91.
- Louekari K, Scott A, Salminen S, 1990.**Estimation of food additives intakes. In: *Food Science and Technology*. Edited by Branen A, Davidson P, Salminen S, Dekker M, *Food additives*, Vol 35, *New York*, pp: 9-32.
- Macioszek, v. k, 2004.**Evaluation of the genotoxicity ,Paris. P. 35-36.
- Maekawa A, Matsuoka C, Onodera H, Tanigawa H, Furuta K, Kanno J, Jang JJ, Hayashi Y, Ogiu T, 1987.**Lack of carcinogenicity of tartrazine (FD & C Yellow No.5) in the F344 rat.*Food ChemToxicol*, 25: 891-896.
- Marie-laureAndr, 2013.** Les additifs alimentaires.*Ed jouvence*, P .(20-22-23).
- Marmion DM, 1991.** Hand book of U.S. colorants for foods, drugs, cosmetics and medical devices. Inter-Science Publication, *New York*, 573p.
- Miller JK, Brzezinska-Slebodzinska E, Madsen FC, 1993.**Stress oxydant, antioxydants et fonction animale .*J DairySci* 76 (9): 2812–2823.
- Ming-ShuoSun , Hang Jin,XinSun,Shuo Huang, Fu-Liang Zhang, Zhen-Ni Guo, and Yi Yang, 2018 .**Free Radical Damage in Ischemia-Reperfusion Injury: An Obstacle in Acute Ischemic Stroke after Revascularization Therapy.*Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume, Article ID 3804979*, 17 p
- Moll M, Moll N, 1995.**Sécurité alimentaire du consommateur. Technique et Documentation, *édition Lavoisier*, Paris, 300p.

Moutinho IL, Bertges LC, Assis RV, 2007. Prolonged use of the food dye tartrazine (FD&C yellow no. 5) and its effects on the gastric mucosa of Wistar rats, *Braz J Biol*, 67: 141-145.

Murdoch RD, Pollock I, Naeem S, 1987. Tartrazine induced histamine release in vivo in normal subjects. *J R Coll. Physicians, Londres*, 21: 257-261.

Nettis E, Colonardi A, Tursi A, 2003. Suspected tartrazine-induced acute urticaria/angioedema is only rarely reproducible by oral rechallenge. *ClinExp Allergy*, 33: 1725-1729.

Niki, E.; Yoshida, Y.; Saito, Y.; Noguchi, N, 2005. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 338, 668–676.

Organisation mondiale de la santé OMS, 2018. les additifs alimentaires.

OuldElhkim MO, Héraud F, Bemrah N, Gauchard F, Lorino T, Lambré C, Frémy JM, Poul JM, 2007. New considerations regarding the risk assessment on Tartrazine An update toxicological assessment, intolerance reactions and maximum theoretical daily intake in France. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 308-316.

Pascuito B, Michel A, 2004. Un colorant allergique dans des positions. *Le Figaro*, 27: 29-31.

Patterson RM, Bulter JS, 1982. Tartrazine-induced chromosomal aberrations in mammalian cells. *Food and Chemical Toxicology*, 20(4): 461-465.

Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy, 2015. Les radicaux libres: propriétés, sources, cibles et leur implication dans diverses maladies. *Indian J Clin Biochem.* 30 (1): 11–26.

Pierre van de Weghe, 2012. UMR 6226 Sciences Chimiques de Rennes Equipe Produits Naturels, Synthèses, *Chimie Médicinale* (2011/2012)

Pietriceli, Gianfranco Gabai, 2015. Équilibre oxydant / antioxydant en nutrition et santé animales: le rôle de l'oxydation des protéines, *In Veterinary science* 48: 1-13.

Polidori MC, Mecocci P, Frei B F, 2010. Plasma Vitamin C levels are decreased and correlated with brain damage in patients with intracranial hemorrhage or head trauma. *Stroke*.145-220p.

Poul M, Jarry G, OuldElhkim M, Poul JM, 2009. Lack of genotoxic effect of food dyes amaranth, sunset yellow and tartrazine and their metabolites in the gut micronucleus assay in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 443-448.

Powers SK, Duarte J, Kavazis AN, Talbert EE, 2010. Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation. *Experimental physiology*; 95 : 1–9 .

Prival M J, Peiperlan MD, Bell S J, 1993. Determination of combined benzidine in FD & C yellow no. 5 (tartrazine), using a highly sensitive analytical method. *Food and Chemical Toxicology*, (10)739-744.

Rafael R, 2018. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Biochemistry*, 1-10.

RAND G, 1995. Fundamentals of Aquatic Toxicology. Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment, Taylor and Francis Ltd, *CRC Press*, 1148 P

Rao P, Sudershan RV, 2008. Risk assessment of synthetic food colours: a case study in Hyderabad. India Int J Food Safety, *Nutrition and Public Health*, 68-87.

Roxon JJ, Ryan AJ, Wright SE, 1967. Reduction of water-soluble azo dyes by intestinal bacteria. *Food Cosmet Toxicol*, 367-369.

Ryan AJ. 1972. Factors involved in the metabolism of xenobiotics in mammals Aust J Pharm Sci, NS1: 30-34.

Salisbury D, Bronas U, 2015 . Espèces oxygénées et azotées réactives: impact sur le dysfonctionnement endothélial. *Infirmière Res*, 53–66.

Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K, Taniguchi K, Tsuda S, 2002. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutat Res*, 519:103-119.

Schab DW, Trinh NH, 2004. Do artificial food colors promote hyperactivity in children with hyperactive syndromes? A meta-analysis of double-blind placebo-controlled trials. *Journal of Developmental & Behavioral Pediatrics*, 25(6): 423-434.

Scotter MJ, Castle L, 2003. Chemicals interactions between additives in foodstuffs: a review. *Food additives and contaminants, first proofs*, 1-31.

Serra JA, Domnguez RO, deLustig ES, et al, 2001. Parkinson's disease is associated with oxidative stress: comparison of peripheral antioxidant profiles in living Parkinson's, Alzheimer's and vascular dementia patients. *J Neural Transm.*108(10)

Sies H, Jones D, 2007. Stress oxydatif. Dans: Fink G, éditeur. *Encyclopédie du stress (deuxième édition)* Academic Press, New York, USA. pp. 45–48

Site internet: www.les-additifs-alimentaires.com

Sobotka TJ, Brodie RE, Spaid SL, 1977. Tartrazine and the developing nervous system of rats. *J Toxicol Environ Health*, 2(5):1211-20.

SS Chauhan, Celi P, Ponnampalam EN, Leury BJ, Liu F, Dunshea FR, 2014
.Dynamique antioxydante chez l'animal vivant et implications pour la santé des ruminants et la qualité du produit (viande / lait): rôle de la vitamine E et du sélénium, *AnimProdSci*, 1525–1536.

Tanaka T, Takahashi O, Oishi S, Ogata A, 2008. Effects of tartrazine on exploratory behavior in a three-generation toxicity study in mice, *Reproductive Toxicology*, 26:156-163.

Thannickal VJ, Fanburg BL, 2000. Espèces réactives de l'oxygène dans la signalisation cellulaire. 279 : L1005 à L1028

Uhlig T, Merckenschlager A, Brandmaier R, Egger J, 1997. Topographic mapping of brain electrical activity in children with food-induced attention deficit hyperkinetic disorder. *Eur J Pediatr*, 156(7):557-61.

Vanhauwaert A, Vanparys P, Kirsch-Volders M, 2001. The in vivo gut micronucleus test detects clastogens and aneugens given by gavage. *Mutagenesis*, 39-50.

Vidotti EC, Cancino JC, Oliviera CC, Rolleberg ME, 2005. Simultaneous determination of food dyes by first derivative spectrophotometry with sorption onto polyurethane foam. *Analytical Sciences*, 149-153.

Watabe T, Ozawa N, Kobayashi F, Kurata H, 1980. Reduction of sulphonated water-soluble azo dyes by micro-organisms from human faeces. *Food Cosmet Toxicol*, 349-352.

Weber RW, Hoffman M, Raine DA, Nelson HS, 1979. Incidence of bronchoconstriction due to aspirin, azo dyes, nonazo dyes, and preservatives in a population of perennial asthmatics. *J Allergy Clin Immunol*, 32-7.

WECKBERCKER G., CORY J.G., 1988- Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters*. Vol. 40(3): 257-264.

Worm M, Vieth W, Ehlers I, Sterry W, Zuberbier T, 2001. Increased leukotriene production by food additives in patients with atopic dermatitis and proven food intolerance. *Clin Exp Allergy*, 265-73.

Yamada T, Ishiwata H, 2000. Daily intake study of food additives by age cohort based on the market basket method. <http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/pages/DI-study> (accessed 11 January 2006), 214-256.

Yoshikawa T., Yamamoto Y., Naito Y., 2000. Free radicals in chemistry, Biology and Medicine, Ed. Oica International, Londres. 30p

Yu, L., Liao, P.C., (2000). Estrogen and progesterone distinctively modulate methamphetamine-induced dopamine and serotonin depletions in C57BL/6J mice. *J Neural Transm*, 1139-1147P.

Annexes 01

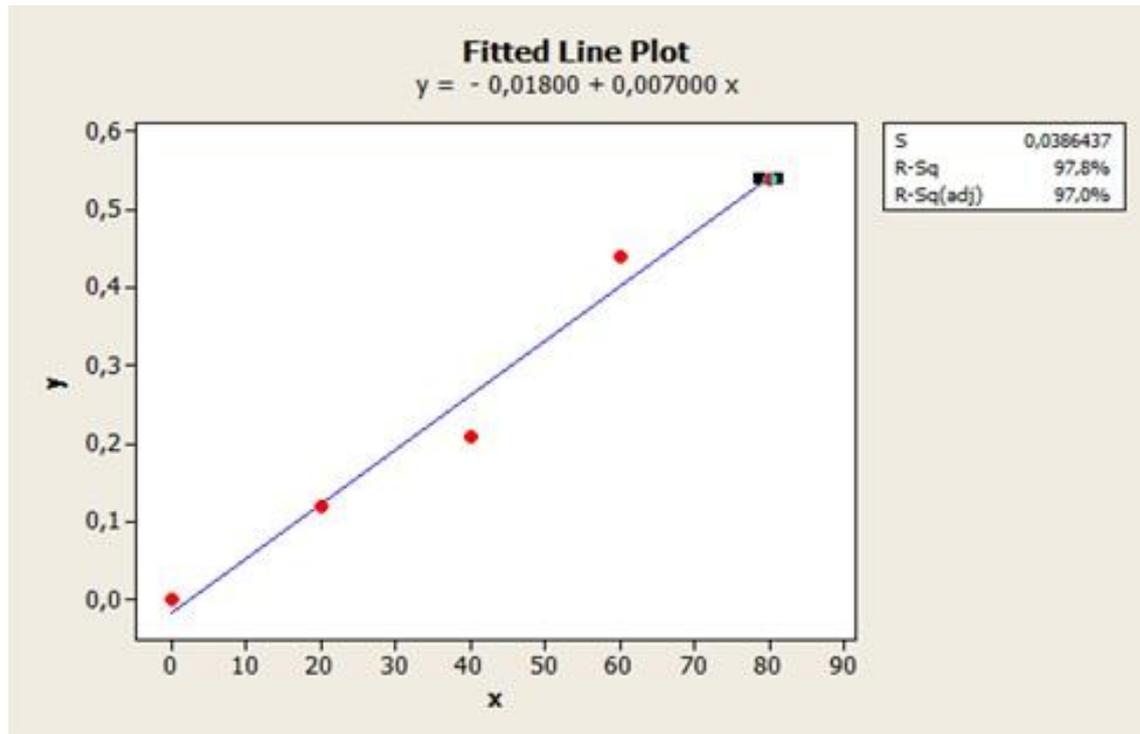
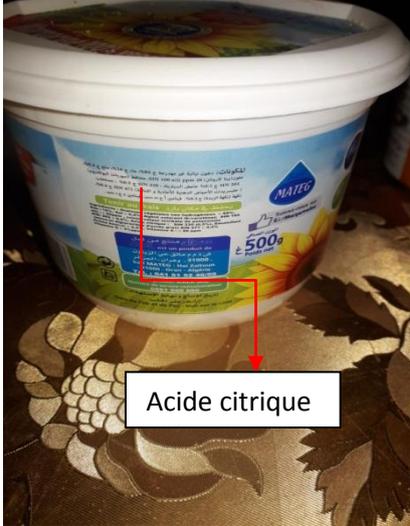


Figure : Courbe d'étalonnage utilisée pour le dosage des protéines tissulaire.

Annexe 02 Résultat d'enquête

Aliment	Etiquetage	L'observation
		<p>Acide citrique E330</p>



Acide citrique
et E102

Acide
citrique
E330 et
tartrazine
E102



Acide
citrique
E330

	 <p>Acide citrique</p>	<p>Acide citrique E330</p>
	 <p>tartrazine</p>	<p>tartrazine E102</p>

Résumé

L'objectif de la présente étude est d'évaluer l'effet de certains additifs alimentaires il s'agit de tartrazine (E102) et l'acide citrique (E330), chez des rattes. Pour cela 14 rattes Wistar Albinos femelles âgés de 10 à 12 semaines. Ont été divisées en trois groupes ; le 1^{er} groupe témoins, le 2^{ème} groupe traitées par solution (3g de tartrazine E102 avec un litre d'eau de boisson), et le 3^{ème} groupe traitées par solution (3g de l'acide citrique E330 avec un litre d'eau de boisson), Après 30 jours de traitement, les rattes sont sacrifiées et quelques paramètres sont déterminés. L'analyse des résultats montre des changements notables dans les paramètres hématologique. Où nos résultats montrent une diminution significativement du nombre des GB, par contre une augmentation des nombre des globules rouges, taux d'hémoglobine, hémocrite, et volume globulaire moyenne. Par ailleurs, les résultats obtenus montrent un état de stress oxydant au niveau tissulaire causé par traitement par la tartrazine et l'acide citrique représenté dans une diminution remarquable du taux de Glutathion réduit (GSH), chez les rattes traitées par E330, par contre une augmentation du taux de Glutathion réduit, chez les rattes traitées par E102. D'autre part nos résultats montrent aussi qu'une augmentation non significative de la teneur tissulaire de malondialdéhyde (MDA). En constatant que la présente étude suggère que l'additif alimentaire avoir un effet sur la santé où il peut provoquer le stress oxydatif et affecter les paramètres hématologique de l'organisme exposé.

Mots clés : Additifs alimentaires, la tartrazine (E102), l'acide citrique (E330), stress oxydatif.

المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير بعض الإضافات الغذائية: التارترازين (E102) وحمض الستريك (E330) على الجرذان. جردان ويستار الـ 14 الذين تتراوح أعمارهم بين 10 إلى 12 أسبوعاً. تم تقسيمها إلى ثلاث مجموعات؛ المجموعة الأولى غير معالجة (الشاهدة)، المجموعة الثانية المعالجة بالمحلول (3 غ من E102 تارترازين مع لتر واحد من مياه الشرب)، والمجموعة الثالثة المعالجة بالمحلول (3 غ من حامض الستريك E330 مع لتر واحد من مياه الشرب)، بعد 30 يوماً من العلاج، تم ذبح الجرذان مع تحديد بعض العوامل. يظهر تحليل النتائج تغيرات ملحوظة في معايير الدم. حيث تظهر نتائجنا انخفاضاً في عدد كريات الدم البيضاء (GB)، على النقيض من ذلك، هناك زيادة في عدد كريات الدم الحمراء والهيموغلوبين (HB) والهيماتوكريت (HT) ومتوسط حجم الدم (VGM). بالإضافة إلى ذلك، أظهرت النتائج حالة من الإجهاد التأكسدي على مستوى الأنسجة الناجم عن العلاج مع التارترازين وحمض الستريك الممثلة في انخفاض ملحوظ في مستويات GSH، في الفئران التي عولجت بـ E330، مقابل زيادة انخفاض مستويات GSH في الفئران التي عولجت بـ E102. من ناحية أخرى، تظهر نتائجنا أيضاً أن هناك زيادة في محتوى أنسجة MDA. تبين أن هذه الدراسة تشير إلى أن الإضافات الغذائية لها تأثير على الصحة حيث أنها يمكن أن تسبب الإجهاد التأكسدي وتؤثر على المعايير الدموية للمستهلك.

الكلمات المفتاحية: الإضافات الغذائية، التارترازين (E102)، حامض الستريك (E330)، الإجهاد التأكسدي.