

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département : de Biologie Moléculaire et  
Cellulaire



كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم : البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

## Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Sciences de  
La Nature et de la Vie**  
Filière : Sciences Biologiques

Option : Toxicologie Fondamentale et Appliquée

### Thème

Contrôle de la qualité des boissons gazeuses : Taux d'un colorant alimentaire la  
tartrazine E102

#### Membres de Jury

Président (e) : Dr khen I  
Examineur : Dr Bounar A  
Encadrant : Dr Balli N

#### Présenté par

Souaadi Mouna  
Souyet Khawla

Année Universitaire 2022-2023

Numéro d'ordre (bibliothèque) : .....



## **Remerciements**

*Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné la capacité et le courage d'achever ce travail et qui nous a aidé à surmonter toutes les difficultés et les épreuves que nous ont pu rencontrer au cours de la préparation de ce mémoire.*

*Cette étude a été réalisée au sein du laboratoire de la faculté des sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Mohammed Seddik Ben yahia–Jijel-. C'est avec une certaine émotion et beaucoup de sincérité que nous voudrions remercier toutes les personnes ayant contribué à la réalisation de ce travail.*

*Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement du **Dr Balli Nassima**, on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nous remercions également les membres de jury ; **Dr.Khen I** qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury. Et **Dr.Bounar A** d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.*

*Un grand merci à **Dr. Cheraitia Hassen**, l'enseignant de mathématiques pour ses aides et ses conseils précieux pour le traitement statistiques de nos données.*

*Nous tenons à remercier **M<sup>elle</sup> Zazoun Sabrina** pour son aide et son soutien. Ses précieux conseils, ses encouragements constants et sa gentillesse nous ont été d'une aide inestimable.*

*Toute notre reconnaissance envers les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail et tout particulièrement nos familles.*

***Je remercie toutes les personnes qui m'ont encouragé.***



*Dédicaces*

*Je dédie mon travail :*

*Aux personnes les plus chères au monde Mes chers parents*

*A ma mère WAHIBA et mon père ALI*

*Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leurs soutien tout au long*

*De mes études, que dieu les garde pour moi.*

*A mes adorables sœurs*

*OUMAIMA, DOUAA et FAREILE*

*Aux meilleur frères du monde FAROUK et YOUSSEF*

*Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse.*

*A mes cousines SARA, FATIMA et KAWTER*

*Pour leurs encouragements permanant et leurs soutiens moral.*

*A Tous les membres de ma grande famille' souyet'*

*A mon partenaire*

*Mona qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail.*

*" Merci à tous "*

*khawla*





## *Dédicaces*

Le début priez notre Maître Muhammad, que la paix soit sur lui, l'anneau des prophètes et des missionnaires et ses généreux propriétaires et disciples au Jour de la Religion.

Qu'ils trouvent ici l'hommage de ma gratitude qui, si grande qu'elle puisse être, ne sera jamais à la hauteur de leur éloquence et leur dévouement et mes paroles à :

Aucune dédicace ne pourra exprimer la profondeur de mes sentiments tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon bien-être à ma chère mère " *WAHIBA* " qu'Allah la préserve et préserve son âge et ses soins.

Vous représentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi mon cher père "*BACHIR*" Que dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie pour que vous demeuriez le flambeau illuminant mon chemin.

A mes sœurs, "*IBTISSEM* ", "*SOUHILA* ", "*BOUCHRA* ", "*SAMAH*", "*CHAIMA* " et "*AICHA*", et ma belle nièce "*RATIL* ".

A celle qui m'a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail "*KHAWLA* ".

Aux trésors les plus précieux et les plus beaux mes amis qui ont toujours été à mes côtés dans les bons et les mauvais moments :

"*ZINEB*", "*CHAIMA*", "*MARWA*", "*WISSEL*", "*HOUDA*", "*MARIA*" et "*NADA*", que Dieu vous accorde le succès et guide vos pas.

A mes chers collègues : "*TAHANI*", "*FERDAOUS* ", "*ASMA* " et "*TRAKI* " ...

Et enfin, je dédie ce succès à "*la famille SOUAADI* ".

*MOUNA*



**Sommaire**

Table de matières .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
Liste des tableaux .....	IV
Liste des figures .....	V
Liste des abréviations .....	VI
Introduction .....	1

*Chapitre 1**Colorants alimentaires*

1.1. Généralités sur les colorants alimentaires .....	3
1.1.1. Définition et bref rappel historique .....	3
1.1.2. Caractérisation et utilisations.....	4
1.1.3. Codification .....	5
1.1.4. Classification .....	5
1.1.5. Réglementation .....	7
1.1.5.1. Dans le monde .....	7
1.1.5.2. Réglementation algérienne .....	8
1.2. Colorants autorisés en Algérie : Etude de cas : la Tartrazine (E102) .....	8
1.2.1. Identification, propriétés physicochimiques et utilisations .....	8
1.2.2. Aliments colorés par l'E102 .....	10
1.2.3. Toxicité.....	11
1.2.3.1. Toxicocinétique .....	11
1.2.3.2. Toxicodynamique .....	12

*Chapitre 02**Contrôle de qualité des aliments colorés : cas de Tartrazine*

2.1. Méthodes d'évaluation de qualité des aliments colorés .....	17
2.1.1. Méthodes d'extraction d'E102 .....	17
2.1.1.1. Extraction Liquide – Liquide(ELL).....	17
2.1.1.2. Extraction en Phase Solide (EPS).....	18
2.1.1.3. Filtration membranaire .....	19
2.1.1.4. Autres méthodes .....	19
2.1.2. Méthodes analytiques .....	19
2.1.2.1. Méthodes spectrophotométriques .....	20
2.1.2.2. Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) .....	21

2.1.2.3. Chromatographie sur Couche Mince (CCM) .....	21
2.1.2.4. Chromatographie Liquide – Spectrométrie de Masse en tandem (CL-SM) .....	21
2.1.2.5. Méthode de capteur électrochimique .....	22
2.1.2.6. Méthodes de Polymère à Imprimé Moléculaire (PIM) .....	23
2.1.2.7. Méthodes Electrophorèse Capillaire (EC) .....	23
2.1.2.8. Autres méthodes de détection .....	24

### *Chapitre 03*

#### *Matériel et méthodes*

3.1. Présentation et objectifs de l'étude .....	25
3.2. Matériel d'analyse .....	25
3.3. Description générale des boissons retenues .....	26
3.4. Analyses de contrôle de qualité .....	27
3.4.1. Analyse qualitative par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) .....	27
3.4.1.1. Préparation des solutions standards d'E102 et jaune orangé E110 .....	27
3.4.1.2. Extraction des colorants synthétiques hydrosolubles .....	28
3.4.1.3. Identification des colorants extraits par CCM .....	29
3.4.3.4. Calcul du Rapport frontal (Rf) .....	32
3.4.3.5. Etude de la capacité de rétention de la laine .....	33
3.4.2. Analyse quantitative par spectrophotométrie UV-Vis .....	33
3.4.2.1. Préparation de la solution standard E102 .....	33
3.4.2.2. Appareillages .....	33
3.4.2.3. Principe de la technique .....	33
3.4.2.4. Validation analytique .....	34
3.5. Traitement statistique des données .....	37

### *Chapitre 04*

#### *Résultats et discussion*

4.1. Résultats d'identification d'E102 tpar CCM .....	38
4.1.1. Résultats d'optimisation et de développement dans la phase (a): Isopropanol/Eau distillée/Ammoniaque : 7/1/2) .....	38
4.1.2. Résultats de caractérisation dans la phase (d) :(Butanol /Ethanol /Eau distillée/Ammoniaque :10 / 5 / 5 / 2) .....	39
4.1.3. Résultats de la capacité de rétention de la laine .....	40
4.2. Résultats d'analyse quantitative par spectrophotométrie .....	43
4.2.1. Résultats de l'analyse de validation de la méthode .....	43

4.2.1.1. Résultats de l'optimisation de la longueur d'onde maximale.....	43
4.2.1.2. Vérification de la linéarité .....	44
4.2.1.3. Résultats de la fidélité.....	44
4.2.1.4. Résultats de la Limite De Détection (LDD) et la Limite De Quantification (LDQ) ..	47
4.2.1.5. Résultats de détermination des teneurs en Tartrazine dans les boissons gazeuses ....	48
Conclusion.....	51
Références bibliographiques .....	51
Résumé	



## **Liste des tableaux**

Tableau 01. Classification des colorants selon leurs compositions chimiques.....	6
Tableau 02. Aliments colorés par la tartrazine commercialisés dans la wilaya de Jijel.....	11
Tableau 03. Voies d'excrétion d'E102.....	12
Tableau 04. Codification des boissons gazeuses et la composition en colorants mentionnée sur l'étiquette de composition.....	25
Tableau 05. Description générale des boissons gazeuses retenus et la liste des ingrédients ....	30
Tableau 06. Composition et volumes des phases mobiles testés.....	30
Tableau 07. Résultats des Rapports frontaux dans la phase mobile (a).....	38
Tableau 08. Résultats des Rapports frontaux dans la phase mobile (d).....	39
Tableau 09. Pourcentage de rendement de la méthode d'extraction pour les témoins négatifs 9 et 10.....	41
Tableau 10. Résultat de fidélité inter jour de la méthode spectrophotométrique de dosage d'E102 .....	45
Tableau 11. Résultat de fidélité intra jour de la méthode spectrophotométrique de dosage d'E102. ....	46
Tableau 12. Limites de détection et de quantification. ....	48
Tableau 13. Les teneurs en Tartrazine dans les échantillons de boissons gazeuses.....	48

**Liste des figures**

Figure1. Structure chimique de la tartrazine.....	9
Figure 2.Certains produits contenant de la tartrazine.....	10
Figure 3. Le standard analytique de la tartrazineet le colorant alimentaire E110 .....	28
Figure 4. Protocole d'extraction des colorants synthétiques hydrosolubles par la laine .....	29
Figure 5. Composition en solvants et volumes des phases testés ; A : standard de la tartrazine, B : E110 ; C : échantillon 1 ;D : échantillon 2 .....	31
Figure 6. Le développement des plaques dans les cuves chromatographiques en verre. ....	32
Figure 7. Développement du chromatogramme et méthode de Calcul du Rapport frontal (Rf) .....	32
Figure 8. Schéma de principe du spectrophotomètre UV.....	34
Figure 9. Composantes croissantes de la variabilité : répétabilité, fidélité intermédiaire et reproductibilité .....	35
Figure 10. Chromatogrammes des extraits développés dans la phase 'a' (Isopropanol/ Eau distillée/Ammoniaque : 7/1/2).....	39
Figure 11. Chromatogrammes des extraits 6,7,9,10 et 11 dans la phase mobile (d) (Butanol /Ethanol /Eau distillé/Ammoniac:10 / 5 / 5 / 2).....	40
Figure12. Spectre d'absorption optimal de la tartrazine (C=100ug.ml <sup>-1</sup> ) à425nm. ....	43
Figure 13. Courbe d'étalonnage de la Tartrazine mesurée à 425 nm.....	44
Figure 14. Résultats graphiques de la Fidélité inter-jour.....	45
Figure 15. Résultats graphiques de la Fidélité intra-jour au niveau de concentration d'E102 (0.78µg.m <sup>-1</sup> ) .....	46
Figure 16. Résultats graphiques de la Fidélité intra-jour au niveau de concentration d'E102 (1.56 µg.ml <sup>-1</sup> ).....	47
Figure 17. Résultats graphiques de la Fidélité intra-jour au niveau de concentration d'E102 (3.125 µg.ml <sup>-1</sup> ).....	47

## Liste des abréviations

<b>Symbole</b>	<b>Nomenclature</b>
<b>AFC</b>	Food Contact Materials
<b>AOAC</b>	Association of Official Analytical Chemists
<b>AQA</b>	L'Apport Quotidien Acceptable
<b>CAT</b>	Catalase
<b>CCEM</b>	Chromatographie Capillaire Electrocinétique Micellaire
<b>CCFA</b>	Codex Commette of Food Additive
<b>CCM</b>	Chromatographie sur Couche Mince
<b>CEC</b>	Commission Européenne et Conseil
<b>CEE</b>	Communauté Economique Européenne
<b>CL-SM</b>	Chromatographie Liquide – Spectrométrie de Masse
<b>CLUP</b>	Chromatographie Liquide Ultra-Performante
<b>CLUP-SMIEP/SM</b>	Chromatographie Liquide Ultra-Performante couplée à la Spectrométrie de Masse en tandem Ionisation par Electro Pulvérisation
<b>CPG</b>	Chromatographie par Perméation sur Gel
<b>CPG</b>	Chromatographie en Phase Gazeuse
<b>CRC</b>	Critical Reviews in Canada
<b>CV</b>	Coefficient de Variation
<b>DEPA</b>	Danish Environmental Protection Agency
<b>DJA</b>	Dose Journalière Admissible
<b>DRD</b>	Détecteur à Réseau de Diodes
<b>DRD</b>	Détecteur à Réseau de Diodes
<b>E100</b>	Curcumin
<b>E102</b>	Tartrazine
<b>E110</b>	Jaune orangé
<b>E124</b>	Rouge ponceau 4R
<b>E128</b>	Rouge2G
<b>E131</b>	Bleu patenté
<b>E143</b>	Vert solide
<b>E150d</b>	caramel au sulfite d'ammonium

<b>E180</b>	Pigments rubine
<b>EC</b>	Electrophorèse Capillaire
<b>ECV</b>	Electrode de Carbone Vitreuse
<b>EFSA</b>	Autorité Européenne de Sécurité des Aliments
<b>ELL</b>	Extraction Liquide-Liquide
<b>EMPS</b>	Extraction Magnétique en Phase Solide
<b>EPC</b>	Electrode de Pâte de Carbone
<b>EPS</b>	Extraction en Phase Solide
<b>ERO</b>	Espèce Réactif Oxygène
<b>ETR</b>	Ecart-Type Relatif
<b>FD</b>	Food and Drug
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>GSH</b>	Gluthation
<b>HPLC</b>	Chromatographie Liquide à Haute Performance
<b>HPLC-RDD</b>	Chromatographie Liquide à Haute Performance –Réseau De Diodes
<b>IFIC</b>	International Food Information Council
<b>INSO</b>	Iranian National Standardization Organization
<b>JECFA</b>	Joint Expert Committee on Food Additives
<b>JOUE</b>	Journal officiel de l'Union Européenne
<b>JRC</b>	Joint Research Centre
<b>LDD</b>	Limite De Détection
<b>LDQ</b>	Limite De Quantification
<b>MEGU</b>	Micro-Extraction à Goutte Unique
<b>MELLD</b>	Micro-Extraction Liquide-Liquide Dispersive
<b>MEPL</b>	Micro-Extraction en Phase Liquide
<b>MEPS</b>	Micro-Extraction en Phase Solide
<b>NAFDAC</b>	National Agency of Food and Drug Administration And Control
<b>NCBI</b>	National Center for Biotechnology Information
<b>NDEA</b>	Nitroso DiEthyl Amine
<b>NPA</b>	Nano Particules d'Argent
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>PA</b>	Produites alimentaires
<b>PC</b>	Poids Corporel

<b>PIM</b>	Polymère Imprimé Moléculaire
<b>PIM</b>	Polymère à Imprimé Moléculaire
<b>PM</b>	Phase Mobile
<b>PS</b>	Phase Stationnaire
<b>Rf</b>	Rapport des Fronts
<b>RPD</b>	Réseau de PhotoDiodes
<b>SCFCAH</b>	Standing Committee on the Food Chain and Animal Health
<b>SIN</b>	Système International de Numérotation
<b>SM</b>	Spectrométrie de Masse
<b>SM-IEP</b>	Spectrométrie de Masse en tandem à Ionisation par ElectroPulvérisation
<b>SOD</b>	Superoxydedismutase
<b>UICPA</b>	Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée
<b>VBL</b>	Voltamétrie à Balayage Linéaire
<b>VDT</b>	Voltampètre Différentiel Tension
<b>VID</b>	Voltamétrie à Impulsions Différentielles
<b>VOC</b>	Voltamétrie à Onde Carrée

# *Introduction*

Récemment, la question des additifs alimentaires, en particulier des colorants alimentaires, a suscité un regain d'intérêt. Aujourd'hui, les colorants synthétiques sont largement utilisés dans une grande variété d'aliments, y compris les snacks, les boissons, les crèmes glacées et autres, en raison de leur résistance à la lumière, à la température et à l'oxydation, ce qui peut améliorer l'attractivité de ces produits (**Qi et al., 2015 ; Rovina et al., 2016**).

À cet égard, il a été démontré que la décision d'acheter un produit particulier est fortement influencée par sa couleur. En outre, les enfants préfèrent les couleurs chaudes et vives telles que l'orange, le jaune et le rouge (**Hunjet et Vuk, 2017**).

Toutefois, ces colorants alimentaires synthétiques peuvent être toxiques et avoir des effets graves sur les humains, surtout lorsqu'ils sont régulièrement consommés.

En effet, les colorants alimentaires synthétiques sont biologiquement incompatibles avec le corps humain et certains d'entre eux peuvent être métabolisés par des enzymes et absorbés ou excrétés après consommation (**Kuno et Mizutani, 2005**). Ces derniers, une fois métabolisés peuvent présenter un sérieux risque toxicologique pour la santé du consommateur. Risques aggravés par la fréquence élevée de consommation et la quantité consommée (**Gholami et al., 2021 ; Rezaei et al., 2015 ; Vachirapatama et al., 2008**).

En outre, la recherche suggère que les additifs colorés peuvent nuire aux réactions comportementales des enfants sensibles (**Stevens et al., 2013**). Ces colorants peuvent être divisés en deux catégories : les colorants autorisés et les colorants non autorisés (**Purba et al., 2015**).

En général, dans de nombreux pays, le type de colorants alimentaires artificiels et les concentrations autorisées sont réglementés par des normes nationales (**EFSA, 2009 ; INSO, 2013 ; OMS, 2011**) et internationales qui ont établi une Dose Journalière Acceptable (DJA) jugée sécuritaire pour le consommateur. Malheureusement, au fil des ans, il a été signalé plusieurs cas de falsification des aliments colorés produits et commercialisés.

Dans l'Union européenne, par exemple, 15 colorants synthétiques sont autorisés, alors que seuls neuf colorants synthétiques sont autorisés aux États-Unis (**Alves et al., 2008 ; Ha et al., 2013 ; Oplatowska-Stachowiak et Elliott, 2016**).

Or, il est donc possible que les colorants alimentaires synthétiques ajoutés aux aliments et aux boissons dépassent les niveaux autorisés. Par conséquent, la surveillance et le contrôle de qualité des colorants alimentaires synthétiques dans les produits de grande consommation tels

que les boissons devient une tâche essentielle d'une importance capitale pour préserver la santé des consommateurs (Al-Degs, 2009 ; Kiseleva *et al.*, 2003).

Parmi ces colorants, la tartrazine (E102) est un colorant synthétique autorisé, de type azoïque, largement utilisé et est ajouté aux boissons non alcoolisées (Al-Degs, 2009). En général, ce type de colorants contiennent des groupes fonctionnels azoïques (N=N) et des structures d'anneaux aromatiques, et de ce fait ; il est donc nocifs pour la santé humaine (López-de-Alba *et al.*, 2001).

Certaines études ont montré que la tartrazine peut provoquer des réactions allergiques telles que la dermatite, l'exacerbation de l'asthme chez les personnes sensibles, l'urticaire et l'agitation ; elle exacerbe également les troubles du sommeil et l'hyperactivité chez les enfants (Ashfaq et Masud, 2002; Bachalla, 2016; Tuormaa, 1994).

En Algérie, les boissons gazeuses colorées en tartrazine sont largement consommées en raison de leur goût, de leur aspect attractif et de leur prix abordable. **Dans le cadre de contrôler la qualité de ces boissons et de surveiller le respect des normes s'inscrit les objectifs fondamentaux de la présente étude.**

De ce fait, cette étude a été divisée en quatre chapitres :

Le premier et le second chapitre comportant une étude bibliographique détaillée traitant les généralités sur la tartrazine, leurs propriétés, leur toxicité et les méthodes couramment employées pour leur analyse dans les matrices alimentaires.

Le troisième chapitre, expose l'étude expérimentale du présent travail. La méthode d'extraction d'E102 à partir des boissons gazeuses commercialisées à Jijel, ainsi que sa caractérisation qualitative et quantitative par la Chromatographie sur Couche Mince et la Spectrophotométrie UV-visible respectivement. Le quatrième chapitre résume les principaux résultats obtenus et les discute.

En fin, l'étude est clôturée par une conclusion générale et quelques perspectives envisagées pour les études futures.



*Chapitre 1*  
*Colorants alimentaires*

## 1.1. Généralités sur les colorants alimentaires

### 1.1.1. Définition et bref rappel historique

Un additif colorant, ou colorant alimentaire, est un colorant, un pigment ou une autre substance qui confère une couleur ajoutée à un aliment, une boisson ou un produit non alimentaire, y compris les produits pharmaceutiques (De Boer, 2014; Newsome *et al.*, 2014).

La couleur des produits alimentaires est un aspect essentiel de leur acceptabilité et de leur attrait pour les consommateurs (Lakshmi, 2014). Elle est également utilisée pour attirer l'attention des groupes d'âge spécifiques, en particulier les enfants (Gultekin *et al.*, 2013; Llamas *et al.*, 2009). Outre la saveur, la texture et l'arôme, la couleur est considérée comme l'un des facteurs les plus importants de la qualité des aliments (Burrows, 2009).

Il existe deux types de colorants alimentaires, selon leurs origines, naturelles et synthétiques. Bien que les deux types de colorants, naturels et synthétiques, soient utilisés, ces derniers, ont plus d'applications étendues en raison de leur grande stabilité à la lumière, disponibilité et leurs faibles coûts de production (Gultekin *et al.*, 2013 ; Llamas *et al.*, 2009).

L'histoire de l'utilisation des colorants alimentaires est très ancienne. En effet, l'art de faire des bonbons colorés est montré dans les peintures dans les tombes égyptiennes dès 1500 avant JC (Burrows, 2009; Multon, 1998; Meggos, 1995). Pline l'Aîné a décrit l'utilisation de colorants artificiels dans le vin en 1500 avant JC. Les épices et les condiments étaient colorés il y a au moins 500 ans. L'utilisation de colorants dans les cosmétiques est mieux documentée que dans les aliments (Francis, 2002 ; Multon, 1998; Meggos, 1995).

Jusqu'au milieu du XIXe siècle, tous les colorants utilisés étaient d'origine naturelle à partir d'animaux, de plantes et de minéraux (Burrows, 2009; Downham *et al.*, 2016 ; Francis, 2002).

Cela a changé avec la découverte du premier colorant synthétique, mauve, par Sir William Henry Perkin en 1856. L'industrie allemande des colorants a rapidement développé un grand nombre de colorants de goudron de houille et a rapidement trouvé des applications dans les industries alimentaires et cosmétiques (Francis, 2002; Garfield, 2004; Walford, 1980).

Par la suite, la pression des consommateurs a été un motif puissant du remplacement des colorants artificiels par des colorants naturels. Cette conversion est essentiellement liée aux arguments scientifiques sur les liens possibles entre les colorants synthétiques et l'hyperactivité

chez les enfants et à l'allergénicité des colorants synthétiques chez les populations sensibles (McCann *et al.*, 2007; Potera, 2010).

Bien que les colorants synthétiques actuellement utilisés aient de longs dossiers d'évaluation de la sécurité et de réglementation stricte, l'industrie alimentaire cherche des solutions de rechange pour répondre aux exigences changeantes du marché et aux restrictions réglementaires (Sigurdson *et al.*, 2017).

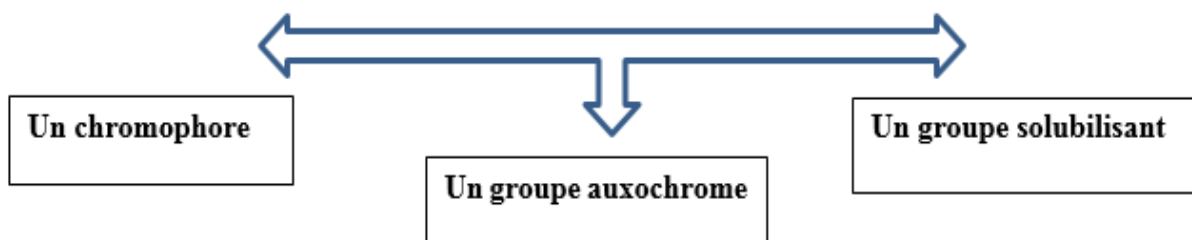
### 1.1.2. Caractérisation et utilisations

Les pigments naturels qui colorent les Produits Alimentaires (PA) sont généralement instables (Schoefs, 2005 ; Schoefs, 2002) et les conditions de fabrication et de conservation les rattachent facilement (Schoefs, 2003).

Par conséquent, pour maintenir ou simplement restaurer l'uniformité de la couleur du PA, des agents colorants sont ajoutés intentionnellement à ce dernier. Ces agents appartiennent donc à la catégorie des additifs alimentaires (CEC, 2008).

Du point de vue chimique, les colorants alimentaires partagent la propriété d'absorber la lumière en raison des doubles liaisons conjuguées qu'ils contiennent, créant un système électronique délocalisé. Le nombre de doubles liaisons conjuguées indique la longueur d'onde de la lumière absorbée dans le spectre visible (de 380 à 750 nm) (Schoefs, 2002).

- Sur le plan structurel, un colorant est constitué de trois parties (Souheyla, 2010).



- Les principales raisons d'utiliser les additifs colorants dans les aliments sont (Barrows *et al.*, 2003 ; Madhava Naidu *et Sowbhagya*, 2012) sont:

- 1) La compensation de la perte de couleur due à l'exposition à la lumière, à l'air, à la température et aux conditions de stockage ;
- 2) La mise en valeur des couleurs naturelles pour rendre les aliments plus attrayants et appétissants ;
- 3) donner de la couleur à des aliments incolores ; ou permettre aux consommateurs d'identifier les produits ;

4) Permettre aux consommateurs d'identifier les produits à la vue, notamment les médicaments.

### **1.1.3. Codification**

En raison de la grande variété et de la forte application des colorants alimentaires, un système de codage d'identification est devenu nécessaire. Les colorants alimentaires naturels ou synthétiques sont identifiés par des codes déterminés par la Communauté Economique Européenne (CEE), allant d'E100 à E180 (E pour dire Europe).

Un autre système de numérotation, Système International de Numérotation (SIN), est apparu ultérieurement ; il a été mis au point par la Codex Commette 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, au lieu de la déclaration du nom spécifique qui est généralement long et souvent associé à une structure chimique complexe. Ce système s'est inspiré du système restreint déjà introduit avec succès dans la CEE (**Ben Mansour et Latrach tlamcani, 2009; Truhaut, 1991**).

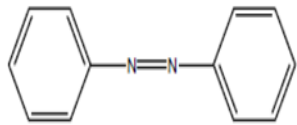
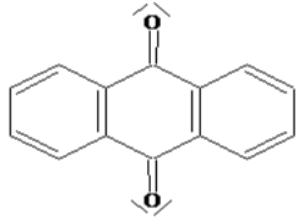
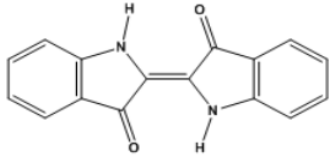
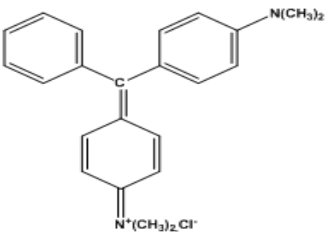
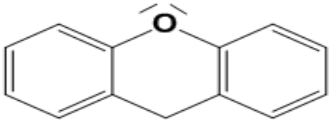
### **1.1.4. Classification**

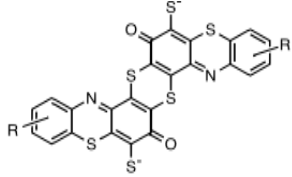
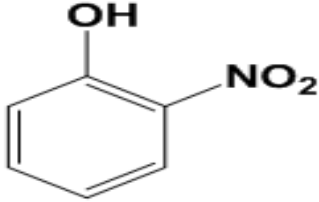
Il existe plusieurs critères de classification, en fonction de:

- leurs origines (naturelle : végétale, animale, minérale ; synthétique),
- leur état de dissolution dans les solvants : pigment ou colorant.
- leur composition chimique : la nature des chromophores (groupement azoïque, anthraquinone, triarylméthane, etc.) (**Levisalles *et al.*, 1974**).

Ce dernier critères est le plus abordé dans la littérature, et est développé dans le **Tableau 01**.

Tableau 01. Classification des colorants selon leurs compositions chimiques.

Classe	Caractéristiques	Structure chimique
<b>Colorants azoïques</b>	<p>-Les plus utilisés et représentent 60 % à 70 % des colorants totaux utilisés dans l'industrie (<b>Berradi et al., 2019 ; Gürses et al., 2016 ; Lipskikh et al., 2018; Shah, 2014</b>).</p> <p>-Caractérisés par le groupe fonctionnel (-N=N-) qui réunit deux radicaux symétriques et/ou asymétriques identiques ou non alkylés ou aryliques (<b>McLaren, 1983</b>).</p>	
<b>Colorants anthraquinoniques</b>	<p>-les deuxièmes en importance après les azoïques et sont dérivés de l'hydrocarbure «anthracène» auquel sont attachés trois cycles benzéniques.</p> <p>-Les chromophores sont des noyaux quinones auxquels peuvent être attachés des groupements hydroxyle ou amine (<b>Ben Mansour et al., 2011 ; Franciscon et al., 2009; Guivarch, 2004</b>).</p>	
<b>Colorants indigoïdes</b>	<p>-Colorant naturel extrait de la plante Indigoferatinctoria (<b>Bouguerria, 2014 ; DEPA, 2000; Gaboriaud-kolar et al., 2014 ; Sahnoun, 2011</b>).</p>	
<b>Colorants triphénylméthanes</b>	<p>-Contiennent trois radicaux phényles avec hydroxyle ou NH<sub>2</sub> introduits dans l'anneau (<b>Tafer, 2007; Tyagi et Yadav, 2001</b>). Exemples : violet cristallin, vert brillant, vert malachite et vert rapide.</p>	
<b>Colorants xanthènes</b>	<p>-Dotés d'une fluorescence intense dont le composé le plus connu est la fluorescéine.</p> <p>-Ces colorants sont peu utilisés dans la teinture, mais ils sont utilisés dans la technique de marquage comme marqueurs dans les accidents maritimes ou des traceurs dans les rivières souterraines (<b>Berradi et al., 2016</b>).</p>	

<p><b>Colorants de soufre</b></p>	<p>- Ils sont fabriqués par chauffage de composés aromatiques ou hétérocycliques avec du soufre ou des espèces qui libèrent du soufre (<b>Bougueria, 2014; Heid et al., 1973; Mansour et al., 2011</b>).</p>	
<p><b>Colorants nitrés et nitrosés</b></p>	<p>-Colorants de classe très limitée en nombre et relativement vieux. -Ils sont encore utilisés en raison de leur prix très modéré lié à la simplicité de leur structure moléculaire caractérisée -Par la présence d'un groupe nitro (-NO<sub>2</sub>) en position ortho par rapport à un groupe donneur d'électrons (groupes hydroxyle ou amino) (<b>Lim et al., 2010</b>).</p>	

### 1.1.5. Réglementation

#### 1.1.5.1. Dans le monde

Aujourd'hui, dans tous les pays du monde, les additifs alimentaires et en particulier les colorants sont au centre des préoccupations. De plus, malgré les efforts de coopération et d'harmonisation à l'échelle mondiale, ces règlements varient d'un pays à l'autre (**EU Directive, 2008; Lehto et al., 2017**).

De nombreux pays d'Amérique latine et d'Europe ont adopté les spécifications du Codex Alimentaires ou du Joint FAO (Organisation Mondiale de la Santé)/OMS (Organisation Mondiale de la Santé) Comité d'Experts sur les Additifs Alimentaires (JECFA) (**JRC, 2015 ; SCFCAH, 2013 ; Wrolstad et Culver, 2012**).

D'autres, comme les États-Unis, la Corée et le Japon, réglementent indépendamment les additifs colorants (**Stich, 2016 ; Wrolstad et Culver, 2012**).

L'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) et la Food and Drug Administration (FDA) sont les principaux organismes de réglementation autorisés à protéger et à améliorer la santé humaine, ainsi qu'à assurer la qualité et la sécurité des produits alimentaires (**FDA, 2000; Janiszewska-Turak et al., 2016**).

La FDA a la responsabilité légale principale de déterminer et de réglementer l'utilisation sécuritaire des additifs alimentaires. Les fabricants d'aliments doivent d'abord obtenir l'approbation de la FDA pour utiliser un nouveau colorant dans la production alimentaire (**Downham et Collins, 2000 ; FDA, 2010; Harp et Barrows, 2015**).

Dans les pays développés, l'utilisation de colorants dans l'industrie alimentaire dépend d'un certain nombre d'essais de toxicité (**Amchova et al., 2015 ; Barrows et al., 2003**).

Actuellement, 16 pigments de couleur naturels et d'origine synthétique et 9 pigments de couleur dont la lutéine sont autorisés dans les pays européens mais le carbone végétal, l'aluminium, l'argent et l'or, les chlorophylles et les chlorophylles et le carbonate de calcium ne sont pas autorisés aux États-Unis (**Coultate et Blackburn, 2018 ; Lehto et al., 2017 ; McAvoy, 2014**).

Pour distinguer les colorants alimentaires des autres colorants, un numéro FD et C est attribué par la FDA aux colorants autorisés en vertu de la Food, Drug and Cosmetic Act. De même, l'Union européenne a attribué le code « E » aux colorants autorisés à être utilisés. Pour cette raison, dans certains cas, il peut y avoir 3 numéros de code différents pour le même colorant dans la littérature. Par exemple, le numéro CI est 15985, le numéro FD et C est jaune 6, et le code E est E110 pour Jaune orangé (**Demirağ et Uysal, 2006; FDA, 2018a; Scotter, 2015**).

### 1.1.5.2. Réglementation algérienne

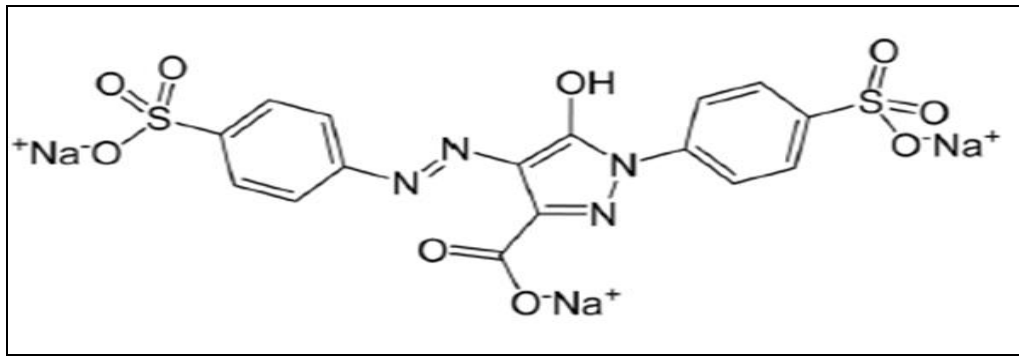
Pour la liste complète des matières colorantes autorisées en Algérie (Journal officiel de l'Algérie n° 30 du 16 mai 2012) et la liste des matières colorantes autorisées dans l'UE, compte 44 colorants (**JOUE, 2012**). Deux colorants sont autorisés localement en Algérie mais sont interdits dans l'UE ; Le rouge 2G (E128) et le vert solide (E143).

Il a été démontré que le rouge 2G se convertit principalement en une substance appelée aniline dans le corps humain. Sur la base d'études animales, le groupe scientifique EFSA a conclu que l'aniline est classée comme cancérigène [1].

## 1.2. Colorants autorisés en Algérie : Etude de cas : la Tartrazine (E102)

### 1.2.1. Identification, propriétés physicochimiques et utilisations

La tartrazine (E 102 FD and C jaune no 5) est l'un des colorants alimentaires synthétiques portant le nom chimique de trisodium 5-hydroxy-1-(4-sulfonatophényle)-4-(4-sulfonato phénylazo)-H-pyrazol-3-carboxylate de l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (UICPA) (**Elekima et al., 2019**) et de formule  $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$ . Elle a un poids moléculaire de 534,36 g/mol et le numéro de registre CAS 1934-21-0. Sa formule structurelle est présentée dans la **Figure 1**:



**Figure1.** Structure chimique de la tartrazine (**Kapor et al., 2001**).

La Tartrazine, qui a été désignée comme additif alimentaire E102 par l'Union européenne, est un colorant alimentaire synthétique utilisé dans l'industrie alimentaire. Il a d'abord été isolé du bitume par le chimiste allemand J. H. Ziegler en 1884 (**Mehedi et al., 2009; Mittal et al., 2007**).

C'est un composé azoïque obtenu à partir du goudron de houille (**Albasher et al., 2020**). Elle est caractérisée par un groupe fonctionnel avec des cycles aromatiques conjugués azoïques (N=N). Les effets oncogènes et cytotoxiques de ces produits chimiques sont causés par des réactions d'action directe ou de réduction de la biotransformation du lien azoïque (**Erdemli et al., 2021**).

La solubilité dans l'eau est de 20,0 g/100 ml à 25 °C, dans le glycérol à 18 g/100 ml à 25 °C, dans le propylène glycol à 7,0 g/100 ml à 25 °C (**Marmion, 2001**), l'éthanol est à 0,8 mg/ml et dans l'éther mon méthylique d'éthylène glycol, à 20 mg/ml (**Green, 1990**). Le point de fusion de la tartrazine est supérieur à 300 °C et il peut détecter une longueur d'onde de 425 nm dans l'eau (**NCBI, 2016**).

La tartrazine (numéro E E102), un colorant azoïque synthétique de couleur jaune citron, est un colorant alimentaire couramment utilisé pour les produits alimentaires que nous mangeons presque tous les jours (**Mittal et al., 2007**).

Parmi les aliments contenant des tartrazines, mentionnons les boissons gazeuses et les boissons sportives, les croustilles aromatisées, les sauces, les glaces, les confitures, les gelées et les gommes à mâcher (**Walton et al., 1999**).

La tartrazine est présente dans de nombreux produits non alimentaires comme les savons, les cosmétiques, les shampooings, les vitamines et certains médicaments d'ordonnance (**Amin et al., 2010**).



En outre, il est utilisé dans de nombreux pays en développement comme alternative à faible coût pour le safran en cuisine (Mehedi *et al.*, 2009).

La concentration maximale de tartrazine dans les boissons non alcoolisées ne devrait pas dépasser 0,01 g/ml (De Andrade *et al.*, 2014). De nombreux produits pharmaceutiques contiennent aussi de la tartrazine comme additifs médicamenteux ou des véhicules comme les antiacides, la vitamine C et la colchicine (Allam et Kumar, 2011). L'Apport Quotidien Acceptable (AQA) de tartrazine est de 7,5 mg/kg de PC par jour (Albasher *et al.*, 2020).

### 1.2.2. Aliments colorés par l'E102

Plusieurs aliments ont de la tartrazine en différentes quantités. Les aliments contenant de la tartrazine comprennent entre autres : la viande sucrée, les boissons gazeuses, la barbe à papa, les céréales (flocons de maïs et muesli), les croustilles aromatisées (Doritos et Nachos), les combinaisons de gâteaux, les soupes, la confiture, les sauces, la crème glacée, un peu de riz, de bonbons, de gomme à mâcher, de pâte d'amande, de gelée, de gélatine, la moutarde, la marmelade, le yogourt, les nouilles, les fruits plaisants et le produit, les croustilles et plusieurs aliments de convenance, ainsi que la glycérine, le citron et les produits à base de miel, les boissons gazeuses (Mountain Dew et Mirinda), les boissons énergisantes et les desserts rapides et certains produits contenant de la tartrazine (Amine *et al.*, 2018). La Figure 2 et le Tableau 02 montrent quelques exemples de ces aliments.



**Figure 2.** Certains produits contenant de la tartrazine (Amin et Al-Shehri, 2018).

**Tableau 02.** Aliments colorés par la tartrazine commercialisés dans la wilaya de Jijel (Boussadia *et al.*, 2022).

Aliments colorés par la tartrazine	Marques disponibles sur le marché
Les boissons et jus	Bona _ Mirinda _ Fendjel_ Juslait _ Toudja _ Farha_ Fanta et Romia
Les sucreries	Triplo – Bolix – Zizou _ Halilo _ Lovely jelly Bonbons _ Doydoy – Napolitano
Flans	Naouara, Régina
Gâteaux et biscuits	Goufretterie el badr _ Madeleine El nakhil
Pate arome	Gout banane et abricot (sans marque déposée)
Les fruits confits	Halaiyattoufike
Pate à sucre	El wejdene _ Ben arrousse
Colorants	Hindjes (vert)

### 1.2.3. Toxicité

#### 1.2.3.1. Toxicocinétique

L'absorption de la tartrazine ingérée par voie orale est très faible chez les humains et les animaux de laboratoire. Elle est moins de 2 % selon des études toxicocinétiques publiées (Chung *et al.*, 1992; Murdoch *et al.*, 1987).

La plupart des tartrazines ingérées par voie orale sont métabolisées dans le côlon par la flore intestinale (Chung *et al.*, 1992; JECFA, 1964; Khera *et al.*, 1979). Ce métabolisme est normalement amorcé par le clivage réducteur de la liaison azoïque par une azoréductase pour former une amine aromatique (Checker *et al.*, 2011; Demirkol *et al.*, 2012).

Lorsque ces colorants azoïques sont totalement réduits en amines aromatiques, ils sont oxydés en dérivés N-hydroxy par le système enzymatique du P450 (Demirkol *et al.*, 2012; De Aragao Umbuzeiro *et al.*, 2005). Les mécanismes d'activation cancérigènes ont une réduction et un clivage des colorants azoïques, une oxydation des colorants azoïques et une oxydation directe de la liaison azoïque en sel diatonique électrophile réactif (Bardi et Marzona, 2010 ; Chen, 2006).

Le principal métabolite reconnu jusqu'à présent est l'acide sulfanilique en plus de l'aminopyrorazalone (**Chung et al., 1981; Roxon et al., 1967; Watabe et al., 1980**). La tartrazine est identifiée comme causant des allergies telles que l'urticaire et l'asthme, en plus de l'accent mis sur la cancérogenèse et la mutagenèse en raison de sa conversion métabolique en amine aromatique (acide sulfanilique) par la microflore intestinale (**Albrecht et Manchon, 1973; Moutinho et al., 2007**).

L'excrétion du métabolite de 4-sulfophénylhydrazine marqué au soufre 35 diffère de la voie d'administration (**Tableau 03**).

**Tableau 03.** Voies d'excrétion d'E102 (**Poul et al., 2009; Rovina et al., 2017**).

Excrétion du métabolite de 4-sulfophénylhydrazine marqué au soufre 35 (après 48h)			
Voie d'administration	urines		selles
	Pourcentage d'excrétion	Métabolites excrétés	Pourcentage d'excrétion
Orale	35 %	69 % de l'acide sulfanilique	49 %
		21 % de la 4-sulfophénylhydrazine	
Intrapéritonéale	90%	9 % l'acide sulfanilique	5%
		73 % est de 4-sulfophénylhydrazine	

Ce mécanisme de biotransformation se produit chez de nombreuses espèces, y compris les humains (**Chequer et al., 2011**), qui est responsable de divers troubles, y compris l'anémie, les lésions pathologiques dans le cerveau, le foie, les reins et la rate, à part les réactions allergiques et le cancer.

A signaler que des anions superoxydes, des radicaux hydroxyles et des Espèces Réactives d'Oxygène (ERO) pourraient se former dans le métabolisme des nitrosamines et accroître le stress oxydatif (**Bansal et al., 2005**).

### 1.2.3.2. Toxicodynamique

#### a. Effets sur la sensibilité

Une variété de réactions immunologiques a été reconnue dans la consommation de tartrazine, comprenant la fatigue générale, la nervosité, les migraines, la dépression clinique, les taches de

peau violettes et la perturbation du sommeil. La consommation ou le contact cutané avec un matériau contenant de la tartrazine peut produire des symptômes de sensibilité.

Chez les enfants, une crise d'asthme et des éruptions cutanées ont été alléguées, ainsi que des liens possibles avec les lésions chromosomiques, le cancer de la thyroïde et l'hyperactivité. Des investigateurs particuliers ont rapporté la tartrazine avec des troubles obsessionnels-compulsifs infantiles et l'hyperactivité (**Romieu, 2005**).

Un certain nombre d'études chez les humains ont enregistré des réactions indésirables comme la vascularite et l'urticaire après la consommation de tartrazine. En 2008, l'EFSA Scientific Board of Food Additives, flavourings, a évalué la tartrazine, contre les allégations selon lesquelles elle cause une hyperactivité chez les enfants (**EFSA, 2008c**). En 2009, le panel ANS de l'EFSA a accepté une conclusion sur la réévaluation de la tartrazine (E-102) en tant qu'additifs alimentaires (**EFSA ANS Panel, 2009**).

#### **b. Effets sur l'albumine et l'hémoglobine**

La tartrazine pourrait entraîner une modification conformationnelle et une certaine modification micro-environnementale de l'albumine sérique humaine et bovine, ce qui pourrait perturber les fonctions biologiques des albumines sériques. Cela permet de bien comprendre le mécanisme de toxicité de la tartrazine in vivo (**Pan et al., 2011**).

L'étude de fluorescence synchrone a révélé que la tartrazine se lie à la cavité centrale de l'hémoglobine, ce qui a été confirmé par une étude de démonstration moléculaire (**Li et al., 2014**). **Basu et Suresh Kumar (2016a)** ont constaté que la tartrazine éteignait la fluorescence intrinsèque de l'hémoglobine en induisant des altérations conformationnelles et des dommages substantiels dans l'hélicité de l'hémoglobine (**Basu et Suresh Kumar, 2016a**).

#### **c. Effets sur les enzymes hépatiques et l'hépatotoxicité**

Les activités des enzymes sériques hépatiques (AST et ALT) ont augmenté chez les rats qui ont administré des colorants alimentaires dont la tartrazine, en particulier à des doses élevées, ce qui suggère une perméabilité élevée, des blessures et une altération des cellules hépatiques (**Senthil et al., 2003**). Alors que la faible dose de tartrazine a affiché une augmentation significative des activités d'ALT et de phosphatase alcaline, respectivement, par rapport aux rats témoins (**Amin et al., 2010**).

De plus, **Saxena et Sharma (2015)** ont signalé également que la consommation de la tartrazine cause des dommages aux tissus hépatiques chez les rats albinos suisses. Ces effets ont été

évalués grâce à une augmentation significative de la teneur sérique totale en protéines, en albumine, en ALP et en MDA hépatique et à une baisse significative des concentrations de SOD, et à une réduction de la GSH et du CAT dans les tissus hépatiques (**Saxena et Sharma, 2015**). L'examen histopathologique des groupes ayant ingéré 10 mg/kg de tartrazine a révélé de graves changements hépatiques et une augmentation significative du poids moyen du foie et de la congestion des vaisseaux sanguins et des zones d'hémorragie dans le foie (**Himri et al., 2011**).

#### **d. Effets sur la fonction rénale**

Des faibles doses d'E102 ont montré une augmentation significative de l'urée et de la créatinine, alors que les doses élevées ont provoqué une augmentation significative de la créatinine sérique (**Amin et al., 2010 ; Ashour et Abdelaziz, 2009**). **Himri et al., (2011)** a montré un effet dose dépendant d'E102 sur la concentration sérique de créatine avec une dilatation tubulaire avec une membrane basale épaissie, une dégénérescence tubulaire et une dilatation des capillaires glomérulaires, et une sclérose intercapillaire, atrophie du glomérule dans le groupe traité avec 5, 7,5 et 10 mg/kg de tartrazine, respectivement (**Himri et al., 2011**).

#### **e. Effets sur les biomarqueurs du stress oxydant**

La tartrazine pourrait être considérée comme toxique en raison de son altération oxydative possible induite par l'épuisement du GSH, principal antioxydant pour la cellule, et une augmentation significative des niveaux de MDA, où les chercheurs croient fermement que l'utilisation de ces colorants potentiellement toxiques dans les aliments doit être réévaluée (**Demirkol et al., 2012**).

En effet, plusieurs études ont prouvé que la tartrazine a induit une forte carence en biomarqueurs d'antioxydants (SOD, CAT et GSH) et une augmentation marquée de la concentration de MDA dans le cortex cérébral par rapport aux autres groupes de rats mâles (**Mohamed et al., 2015; Saxena et Sharma, 2015**).

#### **f. Effet sur le système nerveux, l'hyperactivité et le comportement**

selon **Gao et al., (2011)**, les effets de la tartrazine sur la mémoire et l'apprentissage chez les animaux, pourrait être dû à la promotion de métabolites de peroxydation lipidique et de ERO, prévenir les enzymes endogènes de protection antioxydante et les lésions des tissus cérébraux (**Gao et al., 2011**). De plus, la dose de tartrazine a modifié les paramètres neurocomportementaux pendant la période de lactation chez la souris (**Tanaka, 2006**).

Dans une étude clinique, l'effet d'un mélange de jaune couchant, carmoisine et tartrazine sur le comportement des enfants de 3 à 9 ans a été évalué, et il a été constaté que les couleurs synthétiques dans l'alimentation se traduisent par exagération des comportements hyperactifs (hyperactivité, inattention et impulsivité) chez les enfants au moins jusqu'au milieu de l'enfance. L'hyperactivité accrue s'accompagne de l'apparition de problèmes dans l'éducation, en particulier ceux liés à la lecture, qui pourraient affecter les compétences de l'enfant à l'école (**McGee et al., 2002**). Ces effets pourraient toucher également l'ensemble de la population présentant une gamme de sévérité d'hyperactivité (**McCann et al., 2007**).

Une diminution significative de l'acide gamma-amino-butyrique, des taux de dopamine et de sérotonine en tant que neurotransmetteurs dans le cerveau et de nombreuses cellules apoptotiques dans le cortex cérébral ont été signalés en utilisant une coloration immunohistochimique avec l'anticorps anti-ADN comme marqueur cellulaire apoptotique par rapport à d'autres groupes (**Mohamed et al., 2015**).

#### **g. Effets sur l'ADN et effets cancérigènes**

Généralement, les études ont révélé que la tartrazine n'avait pas de propriétés cytotoxiques. Néanmoins, à tous les niveaux examinés, ce colorant a eu un effet génotoxique important, ce qui montre qu'il pourrait être nocif pour la santé et que sa consommation prolongée pourrait générer une cancérogenèse (**Soares et al., 2015**).

**Mpountoukas et al., (2010)** ont mis en évidence une interaction directe entre l'ADN des lymphocytes humaines et l'E102 in vitro (**Mpountoukas et al., 2010**). De même, **Sasaki et al. (2002)** ont observé des lésions importantes de l'ADN dans l'estomac glandulaire et le côlon à des doses supérieures à 10 mg/kg de PC. Cet effet peut être dû à la cytotoxicité aiguë du colorant ou à une réparation insuffisante de l'ADN au moment de l'échantillonnage de 3 h (**Sasaki et al., 2002**).

Concernant la cancérogénicité à long terme d'E102, **Himri et al. (2011)** ont constaté qu'une dose orale de 90 mg/kg de PC, administrée quotidiennement à des rats Wistar n'a pas provoqué la cancérogénicité (**Maekawa et al., 1987**).

#### **h. Effets sur la reproduction et le développement**

La tartrazine n'a pas joué un rôle toxique tératogène important à une dose de 0, 60, 100, 400 et 600 mg/kg de poids corporel chez Osborne-Mendel enceinte au cours des 19 premiers jours de grossesse (**Collins et al., 1992**).

Entre-temps, **Mehedi et al. (2009)** ont signalé que la tartrazine a des effets toxiques sur les organes reproducteurs, notamment une diminution de la performance reproductrice, une diminution du nombre de spermatozoïdes et une augmentation du taux d'anomalies des spermatozoïdes chez les souris à des doses de 0, 0,1, 1,0 et 2,5 % pendant 13 semaines (**Mehedi et al., 2009**).

Il existe des études cliniques particulières sur l'évaluation des effets de divers mélanges de colorants, car ils peuvent être consommés dans la vie ordinaire (**McCann et al., 2007**). Malheureusement, ces travaux ont de nombreuses limites; il est donc difficile de tirer une conclusion claire sur la question (**Amchova et al., 2015**).

#### **i. Effet sur le contenu en bioéléments des tissus**

Des changements importants dans les concentrations de bioéléments dans le foie, les reins et les tissus cérébraux des rats exposés à la tartrazine ont été signalé (**Cemek et al., 2014**). Ils comprennent une augmentation du niveau de Cu et de fer dans les tissus rénaux, ce qui entraîne la maladie de Wilson et la cirrhose hépatique (**Shazia et al., 2012**). Cet effet peut être dû à la fixation de deux éléments aux colorants alimentaires artificiels (**Stevens et al., 2013**).

Par contre, les niveaux de l'Al, le Br et le Zn sont réduits par la consommation de fortes et faibles doses de tartrazine dans le cerveau et le foie respectivement, ceci peut être dû à la peroxydation lipidique par les ERO. le pompage et la sélection des activités des membranes et le niveau des bioéléments peut être également modifié dans les tissus (**Cemek et al., 2014**).

## *Chapitre 02*

# *Contrôle de qualité des aliments colorés : cas de Tartrazine*



## 2.1. Méthodes d'évaluation de qualité des aliments colorés

### 2.1.1. Méthodes d'extraction d'E102

De nombreux aliments contiennent des colorants azoïques. Par conséquent, il n'existe pas de méthode normalisée généralement acceptée pour l'extraction des colorants azoïques en laboratoire. Toutefois, la plupart des procédures d'extraction suivent un cheminement commun consistant à libérer l'analyte d'intérêt de la matrice, puis à éliminer les matières étrangères et à utiliser une méthode d'extraction appropriée (solide-liquide ou liquide-liquide) (**Thompson et Trenerry, 1995 ; Wu et al., 2013**).

#### 2.1.1.1. Extraction Liquide – Liquide(ELL)

L'ELL ou extraction par solvant est basée sur la séparation des composés en fonction de leur solubilité relative dans deux liquides différents non miscibles tels que l'eau, l'éthanol, le méthanol, l'alcool isopropylique, l'acide acétique et l'ammoniaque (**Yamjala et al., 2015**).

Plusieurs solvants peuvent être utilisés et sont résumés dans le tableau ci-après :

Solvant	Matrice alimentaire	Méthode	Propriétés	Références
Acétonitrile	Poudre de piment et des fruits au sirop	Extraits deux fois, Centrifugation Filtration	Grande efficacité d'extraction Faible dissolution des graisses, Précipitation des glucides et des protéines	<b>Tsai et al., 2015.</b>
Hydroxyde de méthanol-ammonium	Yaourts et des boissons lactées	Extraction dans une solution méthanol et d'hydroxyde d'ammonium (8:2)	Extraction des colorants synthétiques, mais pas des colorants naturels	<b>Bento et al., 2015</b>
Extraction verte	plante, drogue ou bagasse	Dilution de l'échantillon dans l'eau distillée désionisée	Sans produit chimique nocif	<b>Pávai et al., 2015</b>
Extraction à l'ammoniaque	Boissons, de fruits en conserve, de bonbons et de gélatine	Ammoniaque et l'eau	Dans une solution aqueuse, il peut être expulsé par ébullition. La solution aqueuse de l'ammoniac est de base.	<b>Tang et al., 2014</b>
Extraction au méthanol	vin rouge	Le mélange a été dégazé, centrifugé, acidifié et filtré	Dissout le composé à extraire. Ne dissout pas les impuretés. Extraction élevée.	<b>Ma et al., 2015</b>

### 2.1.1.2. Extraction en Phase Solide (EPS)

L'EPS est un sorbant utilisé comme C<sub>18</sub>, polyamide, Chromatographie par Perméation sur Gel (CPG) et polymère de styrène-divinylbenzène et solvants pour extraire les colorants azoïques des matrices alimentaires. Le choix des solvants appropriés est essentiel pour l'extraction des colorants synthétiques selon la structure analytique (**Yamjala et al., 2015**).

La méthode EPS est simple et capable d'extraire les colorants sans contaminants. Avant de procéder aux méthodes EPS, les cartouches doivent être lavées et préconditionnées. Le méthanol et l'acide acétique sont le choix commun du conditionnement (**Bonan et al., 2013 ; De Andrade et al., 2014 ; Feng et al., 2011; Martin et al., 2016**).

**Khanavi et al., (2011)** et **Hajimahmoodi et al., (2013)** ont ajouté du sorbant de polyamide dans l'échantillon traité pour extraire des colorants de la boisson, du sirop, des bonbons, de la gelée, du chocolat, du riz coloré, du safran et de la gomme (**Hajimahmoodi et al., 2013 ; Khanavi et al., 2011**). Les mélanges sont agités vigoureusement et le sorbant est filtré. Les colorants sont retirés du polyamide avec de l'ammoniac alcalin.

Contrairement à d'autres, **Gan et al., (2013)** et **Sorouraddin et al., (2011)** ont utilisé des fils de laine commerciaux blancs comme sorbant pour colorer le chocolat enrobé, les gâteaux commerciaux et les boissons gazeuses. Les échantillons sont dilués avec de l'eau distillée, centrifugés et mélangés avec de l'acide acétique. Le fil de laine blanche a été lavé avec du détergent et de l'eau est ajoutée dans le mélange de l'échantillon et chauffée. Après une heure, le fil coloré est retiré et lavé avec beaucoup d'eau distillée. Les colorants sont élués en mettant le fil dans une solution ammoniacale et chauffés (**Gan et al., 2013 ; Sorouraddin et al., 2011**).

**Soylak et Cihan** ont utilisé des nanotubes de carbone à parois multiples pour séparer le composé de tartrazine des matrices alimentaires. Le colorant est extrait de l'eau du robinet, des boissons en poudre et dans des échantillons de drogues. Le colorant est élué avec du diméthyl sulfonate avant l'étape de l'analyse (**Soylak et Cihan, 2013**).

De plus, **Wu et al.** ont utilisé la méthode d'Extraction Magnétique en Phase Solide (EMPS) pour les boissons gazeuses, les cocktails, les boissons solides, la crème glacée, les confiseries à base de sucre et de gélatine. La méthode EPS magnétique a utilisé des microsphères de coquilles de noyau de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-poly (liquide ionique) (**Wu et al., 2015**).

### 2.1.1.3. Filtration membranaire

Elle consiste à appliquer une force externe à la membrane en utilisant de l'eau comme diluant, ce qui entraîne la formation d'une fine couche translucide qui sépare les composants de l'échantillon (Gosetti *et al.*, 2008; Miniotti *et al.*, 2007; Yamjala *et al.*, 2015).

Prado *et al.*, (2006) ont utilisé la filtration sur membrane pour extraire les colorants des boissons alcoolisées. Les échantillons sont homogénéisés, dégazés par agitation mécanique et filtrés à travers des esters de cellulose (Prado *et al.*, 2006). Alors que Miniotti *et al.*, (2007) ont placé l'échantillon dans un bain ultrasonique avant de le filtrer à travers un filtre en papier plié pour obtenir 50 ml d'échantillon filtré. Les échantillons dilués ont ensuite été filtrés à travers des filtres à seringue jetables de 0,45 µm avant d'être analysés (Miniotti *et al.*, 2007).

Serdar et Knežević ont filtré des boissons gazeuses dégazées et diluées à travers un filtre en papier plié, puis à nouveau à travers un filtre à membrane de 0,45 µm (Serdar et Knežević, 2009).

### 2.1.1.4. Autres méthodes

Les objectifs prometteurs de la chimie verte ont fait en sorte que les efforts de recherche se concentrent sur le développement de procédures d'extraction d'échantillons miniaturisées, efficaces et respectueuses de l'environnement.

Par conséquent, la Micro-Extraction en Phase Solide (MEPS) (Lord *et al.*, 2007; Ouyang *et al.*, 2008) et la Micro-Extraction en Phase Liquide (MEPL) (He et Lee, 1997; Jeannot et Cantwell, 1996) ont été introduites comme techniques de chimie verte. Bien que le MEPS soit une méthode d'extraction sans solvant, la fibre MEPS utilisée dans cette méthode d'extraction est coûteuse, fragile et de courte durée de vie (Prosen et Zupancič-Kralj, 1999).

La méthode MEPL est divisée en deux grandes catégories : solvant protégé par membrane et solvant exposé (Kokosa, 2013). La Micro-Extraction à Goutte Unique (MEGU) et la Micro-Extraction Liquide-Liquide Dispersive (MELLD) sont également des techniques vertes utilisées en mode solvant exposé pour extraire des colorants alimentaires (Rajabi *et al.*, 2015 ; Rajabi *et al.*, 2014).

### 2.1.2. Méthodes analytiques

Un certain nombre de méthodes analytiques ont été mises au point pour l'identification et la quantification des colorants synthétiques, notamment la chromatographie liquide à haute

performance, la chromatographie sur couche mince, la spectrophotométrie, l'électrophorèse capillaire et les méthodes électrochimiques.

### 2.1.2.1. Méthodes spectrophotométriques

Les méthodes spectrophotométriques sont simples, sensibles, sélectives et causent peu d'interférences avec les colorants présents dans les aliments. Les méthodes spectrophotométriques sont l'une des méthodes analytiques qualitatives utilisées pour mesurer les colorants azoïques, car ces colorants ont une espèce d'absorption accrue dans la région visible (Yamjala *et al.*, 2015).

**Antakli *et al.*, (2015)** ont réussi à quantifier la tartrazine et le bleu brillant dans les aliments en utilisant la spectrophotométrie (Antakli *et al.*, 2015).

Par ailleurs, **Sahraei *et al.*, (2013)** ont également développé une méthode spectrophotométrique cinétique simple basée sur les Nano Particules d'Argent (NPA) pour la détermination de la tartrazine dans la gélatine citronnée, la papaye, les bonbons et le sirop de fruits avec des résultats satisfaisants. La limite de détection était de 0,3 ng/ml avec un Ecart-Type Relatif (ETR) de 0,98 % (n = 10).

**Olgun *et al.*, (2012)** ont utilisé la spectrophotométrie oxydative Ce (UV). Les colorants sont déterminés en construisant leurs courbes d'étalonnage comme absorbance Ce (UV) à 320 nm par rapport aux concentrations de colorants et en calculant leur absorption indirecte par rapport à leur puissance Ce (UV) réduisant à partir des pentes des lignes. La teneur totale en tartrazine par cette méthode a été trouvée à 20,12 0,55 10 5 mol/l. Les composés qui ne sont pas des colorants alimentaires comme les sucres simples et l'acide citrique ne se sont pas oxydés dans cette méthode, éliminant ainsi les interférences (Olgun *et al.*, 2012).

**Altunöz et Toptan, (2002)** détectent simultanément la tartrazine et le ponceau 4R(E 124) dans la plage de longueurs d'onde comprise entre 300 700 nm à l'aide de techniques spectrophotométriques (Altunöz et Toptan, 2002).

**Dinç *et al.*, (2002)** ont établi un dérivé spectral à double ratio diviseur, des moindres carrés classiques et une régression des composantes principales pour la détermination spectrophotométriques des composants multi composants des poudres de boissons gazeuses et des mélanges synthétiques. La méthode graphique a montré que la plage de détermination linéaire de la tartrazine était de 4 à 18 µg/ml (Dinç *et al.*, 2002).

### 2.1.2.2. Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)

L'HPLC a impliqué la séparation des composés de l'échantillon selon l'interaction entre les molécules et la particule de remplissage de la colonne. L'HPLC généralement couplé avec UV-Vis, RPD (Réseau de Photo Diodes), SM, et DRD (DéTECTEUR à Réseau de Diodes) détecteur et utilise différents types de phases mobiles selon la nature des échantillons.

**Bonan *et al.*, (2013)** ont quantifié 17 colorants dans les boissons à l'aide de la HPLC-RDD et ont réussi à récupérer 87,6 % de tartrazine de l'échantillon enrichi.

**Feng *et al.*, (2011)** ont signalé que l'HPLC associée à la Spectrométrie de Masse en tandem à Ionisation par Electro Pulvérisation (SM-IEP /SM) a amélioré la sensibilité et la précision par rapport à la méthode traditionnelle. Ils ont examiné 40 colorants alimentaires dans des boissons gazeuses et la Limite De Détection (LDD) pour la tartrazine a été trouvée à 0,5 mg/L et le pourcentage de récupération de 97,7% (**Feng *et al.*, 2011**).

Afin de réduire l'utilisation de produits chimiques dangereux, une méthode de chromatographie verte a été mise au point. La colonne C<sub>18</sub> avec tampon phosphaté et la solution aqueuse Triton X-100 (0,25 %, v/v) a été utilisée comme phase mobile au lieu du solvant organique. En présence de Triton X-100, la colonne C<sub>18</sub> devient plus polaire rendant possible la séparation des colorants. La LDD pour la tartrazine a été trouvée à 0,125 mg/l (**Vidotti *et al.*, 2006**).

### 2.1.2.3. Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

La chromatographie en couche mince (CCM) est la méthode utilisée pour comparer les valeurs du Rapport des Fronts (R<sub>f</sub>) et des couleurs extraites par rapport à la norme d'identification du colorant alimentaire en présence dans les échantillons.

**De Andrade *et al.*, (2014)** ont étudié l'analyse des colorants alimentaires synthétiques dans les boissons gazeuses en utilisant la technique EPS et les analytes ont été élués par un mélange d'alcool isopropylique et d'hydroxyde d'ammonium comme phase mobile (**De Andrade *et al.*, 2014**).

### 2.1.2.4. Chromatographie Liquide – Spectrométrie de Masse en tandem (CL-SM)

La chromatographie en phase liquide couplée à des spectromètres de masse présente une sensibilité élevée, des informations structurelles sur la base de la masse moléculaire et du modèle de fragmentation (**Yamjala *et al.*, 2015**).

Une étude réalisée par **Tsai et al., (2015)** pour détecter 20 colorants alimentaires, y compris la tartrazine dans la poudre de piment et la raisin, est détectée à l'aide de la CL-SM. Les pourcentages de récupération pour la poudre de chili et la raisin étaient de 91,2 à 92,5 % et de 94,9 à 96,1 %, respectivement (**Tsai et al., 2015**).

**Ma et al., (2015)** ont abordé la Chromatographie Liquide Ultra-Performante couplée à la Spectrométrie de Masse en tandem Ionisation par Electro Pulvérisation (CLUP-SMIIEP/SM) pour la quantification des colorants synthétiques dans le vin rouge. Un mélange de solution tampon acétonitrile/méthanol-ammonium est utilisé comme phase mobile parce qu'il a une meilleure résolution que le méthanol. La limite de détection était de 0,3 µg/l et le taux de récupération de 92,1 à 97,7 % (**Ma et al., 2015**).

#### 2.1.2.5. Méthode de capteur électrochimique

La détection électrochimique est un outil très prometteur grâce à des plateformes de détection rapides, hautement sensibles et sélectives, miniaturisées et relativement peu coûteuses. La détection électrochimique synthétique basée sur la couleur repose sur l'oxydation-réduction de l'électro-analyse telle qu'elle est surveillée par la Voltamètre à Balayage Linéaire (VBL), la Voltamètre à Onde Carrée (VOC), la Voltamètre à Impulsions Différentielles (VID), ou la conductivité.

Une méthode électrochimique basée sur la détermination de la tartrazine est développée avec les différentes électrodes chimiquement modifiées (**Ye et al., 2013**). Pendant le processus électrochimique, la tartrazine a lieu un électron et un proton qui est une réaction irréversible sur le processus d'oxydation.

**Kobun et al., (2016)** ont développé un capteur électrochimique simple et rapide basé sur CHIT/CaONPs/MWCNTs avec électrode d'or modifiée pour la détermination de la tartrazine dans les bonbons, la gelée et les boissons gazeuses. Dans des conditions optimales, le VID a été détecté avec différentes concentrations de tartrazine comprises entre 0,1 et 10 ppm. La limite de détection calculée était de 0,9 ppm, ce qui était inférieur aux méthodes traditionnelles. Un coefficient linéaire trouvé de 0,99354 et le taux de récupération de 93,2 96,6% (**Kobun et al., 2016**).

### 2.1.2.6. Méthodes de Polymère à Imprimé Moléculaire (PIM)

Une autre méthode de sensibilité rapide et élevée a été établie pour la détection directe de tartrazine dans les aliments à base de Polymère Imprimé Moléculaire (PIM). La méthode a trouvé la stabilité chimique, peu coûteuse et facile à utiliser.

**Zhao et al., (2014)** ont présenté un PIM basé sur un ECV modifié avec un film composite composé de nanotubes de carbone et de nanoparticules de platine (PIM/MWCNTs-IL-PtNPs/ECV) (**Zhao et al., 2014**).

### 2.1.2.7. Méthodes Electrophorèse Capillaire (EC)

L'Electrophorèse Capillaire (EC) est une méthode électrophorétique dans laquelle l'analyse et la séparation des molécules sont effectuées dans un tube capillaire (**Yamjala et al., 2015**). Les analyses EC sont rapides et économiques par rapport à l'électrophorèse et la chromatographie conventionnelles. L'EC moderne a été alimentée par la production de capillaires à tunnel étroit à faible coût pour la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) et le développement de systèmes de détection en ligne hautement sensibles pour la HPLC. EC dispose d'une gamme de modes de séparation qui comprennent l'électrophorèse capillaire de zone, Chromatographie Capillaire Electrocinétique Micellaire (CCEM), isotachophorese capillaire, etc., utilisant la haute tension pour obtenir des séparations efficaces (**Xu, 1996**).

**Prado et al., (2006)** ont utilisé la EC pour la détermination des colorants synthétiques dans les boissons alcoolisées. La LDD et la Limite De Quantification (LDQ) pour la tartrazine étaient de 2,0 µg/ml et 6,6 µg/ml, respectivement (**Prado et al., 2006**).

De plus, **Huang et al. (2003)** ont mis au point une technique combinant une méthode de concentration sur capillaire connue sous le nom d'empilage d'échantillons à grand volume et de séparation EC à haut rendement pour analyser et détecter les colorants dans les boissons gazeuses, les gelées et les boissons au lait. La méthode permet de déterminer avec succès la concentration de colorants alimentaires aussi faible que 0,1-0,5 µg/ml. La méthode a trouvé des limites de détection inférieures par rapport à la méthode classique d'électrophorèse capillaire disponible (**Huang et al., 2003**).

### 2.1.2.8. Autres méthodes de détection

Contrairement à d'autres méthodes de détection, **Pávai et al., (2015)** ont mis au point une méthode de détection à l'aide d'une bande de cellophane pour identifier la tartrazine, l'azorubine, le bleu patenté V et la coloration naturelle.

Le test était basé sur le changement de couleur de la bande de cellophane lorsqu'elle était immergée dans la solution de couleur. Ces changements de couleur étaient dus à la liaison de la molécule de couleur avec la bande de cellophane.

La caractérisation a été complétée par spectrophotométrie UV-Vis à une longueur d'onde comprise entre 300 et 800 nm. La méthode développée était qualitative, sensible et utile pour tester des produits alimentaires falsifiés avec des colorants synthétiques ou pour des tests in situ chez le traiteur et le fournisseur mobile (**Pávai et al., 2015**).



*Chapitre 03*  
*Matériel et méthodes*

### 3.1. Présentation et objectifs de l'étude

Les colorants azoïques et notamment la tartrazine sont bien connus par leur risque de développer plusieurs manifestations cliniques. Compte tenu de ces preuves croissantes, une réglementation de l'usage des colorants de synthèse dans les aliments et dans les médicaments a été mise au point, limitant le nombre de colorants utilisés et précisant la dose journalière admissible (DJA) (Custot, 1978). Malheureusement, cette législation est loin d'être respectée et d'autres études sont indispensables pour une meilleure évaluation du risque de l'emploi de ces substances.

La présente étude est réalisée dans l'optique de cette problématique visant à évaluer la qualité des boissons gazeuses commercialisées et consommées localement, et ce pour protéger la santé des consommateurs d'une part, et de faire obstacle aux activités frauduleuses d'autres part.

Ce travail pratique est réalisé au sein du laboratoire de Toxicologie de l'université de Jijel et envisage donc comme objectifs le contrôle de la qualité des boissons gazeuses suivant :

- Approche qualitative visant à identifier les colorants synthétiques principalement le E102.
- Approche quantitative à travers des dosages spectrophotométriques.
- Evaluation statistique de la fiabilité de la méthode employée.
- Comparaison des résultats obtenus avec des études antérieures et vérification du respect des normes algériennes et mondiales.

Lors de cette étude, onze échantillons de boissons gazeuses mis sur le marché local et fortement consommées par la population de la willaya de Jijel ont été sélectionnés. Le choix des boissons a reposé sur les résultats d'une étude antérieure réalisée par (Boussadia *et al.*, 2022) sur les aliments colorés fortement consommés localement.

### 3.2. Matériel d'analyse

Le matériel d'étude est constitué de Onze boissons gazeuses appartenant à 8 marques différentes vendues à Jijel et codifiées de 1 à 11 ont été sélectionnées (Tableau 04). Pour mener cette étude, 9 échantillons contenant de la tartrazine indiquée dans la liste des ingrédients ont été analysés. De plus, deux boissons dont l'étiquetage ne mentionne pas de E102 ont été également retenues comme témoin négatif.

Le récapitulatif des échantillons est résumé dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 04.** Codification des boissons gazeuses et la composition en colorants mentionnée sur l'étiquette de composition.

Code des boissons	Les colorants mentionnés sur l'étiquette
1	E110, E102
2	E110, E102
3	E110, E102
4	E110, E102, E124
5	E102
6	E102, Ponceau 4R (E124)
7	E110, E102
8	E110, E102
9(témoin négatif)	Aucun colorant ajouté
10 (témoin négatif)	Aucun colorant ajouté
11	E150d, E102

E102 : Tartrazine / E110 : Jaune orangé/ E124 : Rouge ponceau 4R/ E150d : Caramel au sulfite d'ammonium

### 3.3. Description générale des boissons retenues

Le tableau 05 est une Présentation des produits analysés on Description générale des boissons retenues et la liste des ingrédients

**Tableau 05.** Description générale des boissons retenues et la liste des ingrédients.

Boisson gazeuse	Description	Liste des ingrédients
N°1	Boisson gazeuse au goût d'orange	Eau, sucre, gaz CO <sub>2</sub> , Additif alimentaire : Régulateurs d'acidité SIN(330,300), émulsifiants SIN (1450, 444,445), édulcorants SIN (950, 955). Colorant <b>SIN (110,102)</b> , agent conservateur SIN211
N°2	Boisson gazeuse aux arômes d'orange.	Eau traitée, sucre, Additifs à des fins alimentaires : Agent de carbonatation SIN 290 (CO <sub>2</sub> ), régulateurs d'acidité SIN 330, stabilisant SIN 414, conservateurs SIN(211,202), colorants <b>SIN (102,110)</b> .
N°3	Boisson gazeuse au goût d'ananas.	Eau traitée, sucre, Additifs à des fins alimentaires : Agent de carbonatation SIN 290 (CO <sub>2</sub> ), régulateurs d'acidité SIN 330, stabilisant SIN 414, conservateurs SIN(211,202), colorants <b>SIN (102, 110)</b>
N°4	Boisson gazeuse au goût d'orange	Eau, sucre, Additifs à des fins alimentaires : Agent de carbonatation SIN 290, régulateur d'acidité SIN 330, agent de conservation SIN (202 ,320), Émulsifiant SIN (1450, 445), support SIN 414,

	naturel.	colorants <b>SIN (102, 124,110)</b> , antioxydant SIN 300.
<b>N°5</b>	Boisson gazeuse aux arômes naturel et artificiel, goût ananas	Eau traitée, sucre, additifs à des fins alimentaires : Agent de carbonatation CO2 SIN 290, régulateur d'acidité SIN 330, stabilisant SIN 414, agent de dispersion SIN1520, émulsifiant SIN 445, agents de conservation SIN (202 ,211), colorants <b>SIN102</b>
<b>N°6</b>	Boisson gazeuse à l'arôme naturel et artificiel orange	Eau traitée, sucre, additifs à des fins alimentaires : Agent de carbonatation CO2 SIN 290, régulateur d'acidité SIN 330, stabilisant SIN 414, émulsifiant SIN 445, agents de conservation SIN (202 ,211), Colorants <b>SIN (102,110, 124)</b> .
<b>N°7</b>	Boisson gazeuse à l'arôme de pomme verte.	Eau, sucre, Additifs à des fins alimentaires : Agent de carbonatation CO2 SIN 290, régulateur d'acidité SIN 330, agent de conservation SIN 211, émulsifiant SIN1520, support SIN 414, colorants <b>(SIN 102, 131)</b> .
<b>N°8</b>	Boisson gazeuse aromatisée au goût d'orange.	Eau traitée, sucre, les additifs alimentaires : Agent de carbonatation SIN 290 (CO2), régulateurs d'acidité SIN (330, 331), émulsifiants SIN (414, 445), Agent de conservation SIN211, édulcorants SIN (950, 955), colorants <b>SIN (102,110)</b>
<b>N°9</b>	Boisson gazeuse à base d'un concentré de jus d'Oranges et pulpes.	Eau traitée, concentré d'orange huile essentielle, agent de carbonatation (CO2), agent de conservation SIN (223, 202, 211)
<b>N°10</b>	Boisson gazeuse transparente aux saveurs naturelles de citron	Eau, sucre, additifs alimentaires : CO2 agent de carbonatation, régulateur de l'acidité SIN 330, agent de conservation SIN 202, antioxydant SIN 300
<b>N°11</b>	Boisson gazeuse goût ananas et partiellement sucré	Eau gazeuse, acidifiant SIN330, benzoate SIN211, arôme cola, colorants artificiel <b>SIN (150d, 102)</b> , édulcorant SIN (950 ,951)

### 3.4. Analyses de contrôle de qualité

#### 3.4.1. Analyse qualitative par Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

##### 3.4.1.1. Préparation des solutions standards d'E102 et jaune orangé E110

Dans le but d'identifier les colorants les plus utilisés dans les 11 boissons gazeuses, particulièrement le E102 et E110, deux solutions de référence ont été préparées : la solution E102 et la solution E110 :

- ✚ La tartrazine sous forme de poudre orange de qualité analytique présente une pureté  $\geq$  85% issue de la marque BIOCHEM CHEMOPHARMA, France.
- ✚ Le jaune orangé sous forme de poudre rouge orangé, de qualité alimentaire commercialisé sous la marque Fructa produit en Tunisie.



**Figure 3.** Le standard analytique de la tartrazine et le colorant alimentaire E110

Les solutions de référence E102 et E110 à une concentration de  $1\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  ont été fraîchement préparée dans de l'eau distillée et stockée dans deux flacons à l'abri de la lumière et conservés à  $4\text{ C}^\circ$  jusqu'à utilisation.

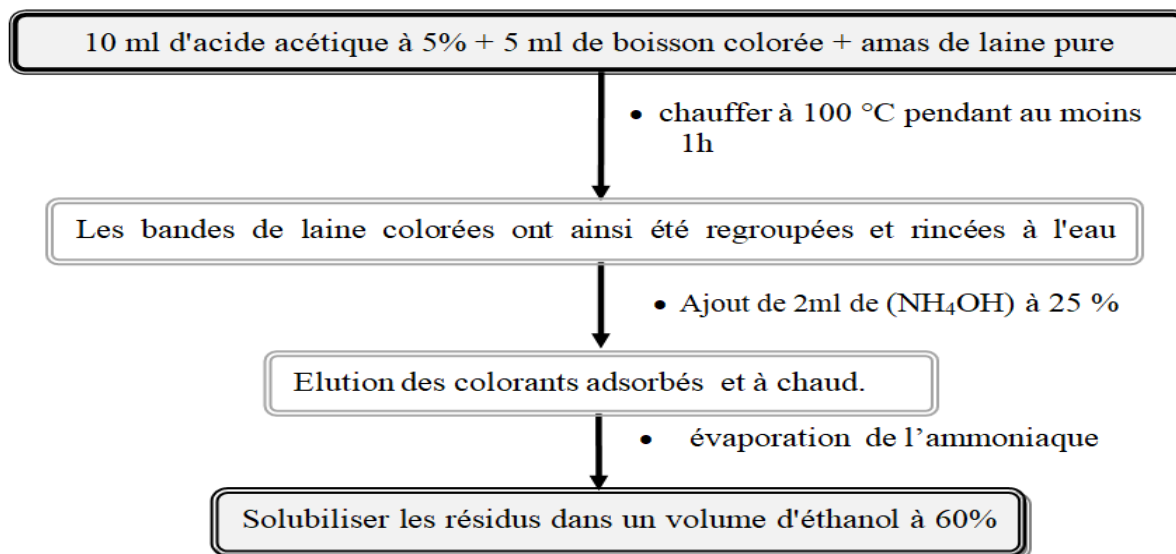
#### 3.4.1.2. Extraction des colorants synthétiques hydrosolubles

L'identification par application directe des échantillons liquides sur plaques CCM peut s'avérer complexe. En effet elle requiert une étape d'extraction indispensable dans le but de préconcentrer les colorants synthétiques et réduire les interférences des sucres, graisses et autres substances qui peuvent altérer la bonne séparation des colorants.

Dans notre étude, le procédé d'extraction adopté est celui moyennant la laine pure blanche (Tripathi *et al.*, 2007 ; Sewwandi *et al.*, 2020). C'est une méthode efficace, peu coûteuse et facile à réaliser.

Elle consiste à faire adsorber les colorants synthétiques hydrosolubles présents dans une matrice alimentaire complexe sur la fibre protéique naturelle de la laine, en milieu acide. En effet les colorants anioniques présentent une affinité vis à vis de la laine pure et cela dépendant du pH du milieu réactionnel (Nasseem *et al.*, 2015).

Le protocole d'extraction en phase solide des boissons gazeuses par la laine est résumé par un schéma dans la (Figure 4).



**Figure 4.** Protocole d'extraction des colorants synthétiques hydrosolubles par la laine

N.B : Le volume d'éthanol utilisé été proportionnel à l'intensité de coloration des résidus obtenus. Il varie de 0.5 ml pour les résidus faiblement colorés à 1 ml pour les résidus fortement colorés.

#### 3.4.1.3. Identification des colorants extraits par CCM

La CCM est une méthode chromatographique très utile, rapide et est un type de chromatographie liquide dans lequel la phase stationnaire prend la forme d'une couche sur un verre, un aluminium, une méthode simple nécessitant peu d'instrumentation, qui est utilisée pour la séparation de mélanges simples et pour l'identification qualitative.

Il faut rappeler qu'il est très important de bien "composer" la phase mobile et d'optimiser sa composition, entre autres en fonction de la phase stationnaire utilisée. Les éléments qui entrent dans la composition de la phase mobile (par exemple, l'un est polaire et l'autre non polaire) sont des composants de la phase mobile (Tuzimski et Sherma, 2006).

##### a. Choix des phases

Les extraits obtenus ont été analysés qualitativement par chromatographie sur couche mince. Les plaques CC employées sont de la marque Flukade dimensions 20×20 cm et d'une épaisseur de 0.2 mm (Code de référence 123 5940- 54005P33).

La chromatographie sur couche min ce fait intervenir deux phases :

- **La Phase Stationnaire (PS)** : c'est une couche solide de gel de silice polaire activée après chauffage dans une étuve à une température 80° pendant 1h.
- **La Phase Mobile (PM)** : Elle s'agit d'un mélange de solvants. Dans la finalité d'optimiser la séparation et sélectionner la meilleure phase mobile, 04 systèmes de solvants ont été testés.

#### b. Optimisation des phases mobiles

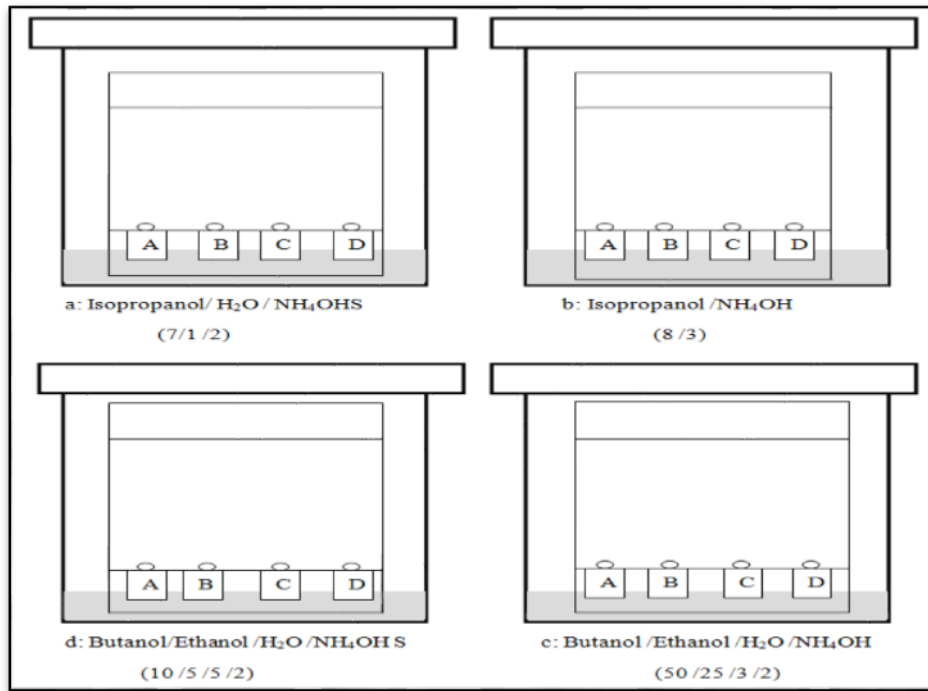
Plusieurs essais ont été menés avant de déterminer la ou les phases mobiles optimales. Au départ chaque PM a été testée avec les solutions de référence E102 et E110 et les échantillons 1 et 2 pour définir l'éluant qui donne la meilleure séparation. Finalement la phase mobile 'c' a été rejetée.

Les échantillons de 1 à 11 ont été testés une nouvelle fois dans les 3 phases mobiles 'a', 'b' et 'c' pour définir la ou les PM optimales qui séparent distinctivement tous les colorants synthétiques présents dans les extraits y compris le E124 (Rouge ponceau 4R) et E131 (Bleu patenté) des échantillons 6 et 7 respectivement.

Le détail des Phases mobiles est présenté dans le **Tableau 06** et la **Figure 5**.

**Tableau 06.** Composition et volumes des phases mobiles testés

Phases	Eluant	Volume (V/V)	Références
a	Isopropanol/ NH <sub>4</sub> OH /H <sub>2</sub> O	(7/1 /2)	<b>Tripathi et al., 2007</b>
b	Isopropanol /NH <sub>4</sub> OH	(8 /3)	<b>De Andrade et al., 2014</b>
c	Butanol/éthanol /H <sub>2</sub> O /NH <sub>4</sub> OH	(50 /25 /3 /2)	<b>Tang et al., 2015</b>
d	Butanol /éthanol /H <sub>2</sub> O /NH <sub>4</sub> OH	(10 /5 /5 /2)	<b>Hosu et Cimpoi., 2017</b>



**Figure 5.** Composition en solvants et volumes des phases testés ; A : standard de la tartrazine, B : E110 ; C : échantillon 1 ; D : échantillon 2

Après plusieurs essais, les phases mobiles optimales choisies sont : 'a' et 'd':

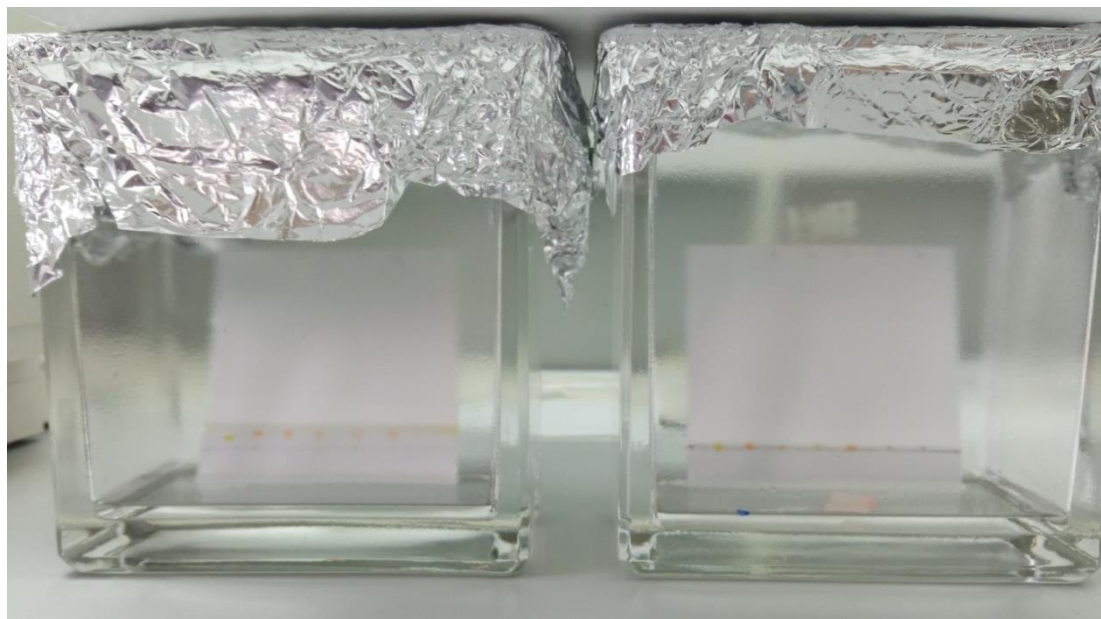
- **Phase a :** appliqué pour les extraits de 1, 2, 3, 4,5 et 8.
- **Phase d :** appliquée pour les extraits de 6, 7, 9,10 et 11.

### c. Développement des chromatogrammes

Le développement des chromatogrammes suit les étapes mentionnées ci-dessous :

- Découpage des plaques de 7×7 cm.
- Traçage de la ligne de dépôt à 1 cm du bas de la plaque.
- Dépôt des spots de faible volume (5 µl) des solutions standards et des extraits d'échantillons avec un espacement de 1 cm chacun.
- Séchage à l'air libre et ajout de 5 µl.
- Les deux plaques sont éluées dans deux cuves chromatographiques en verre saturées en vapeurs des solvants.
- La visualisation des plaques s'effectue directement à l'œil nu.





**Figure 6.** Le développement des plaques dans les cuves chromatographiques en verre.

#### 3.4.3.4. Calcul du Rapport frontal (Rf)

Pour chaque espèce chimique révélée, on peut quantifier l'éluion en calculant le rapport

Frontal Rf (**Figure 7**) défini par :

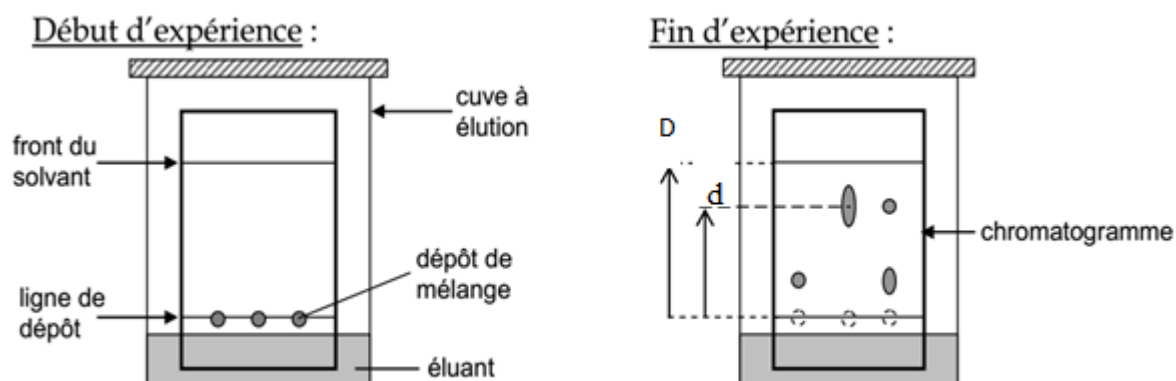
$$Rf = \frac{d}{D} \quad (1)$$

Où :

d : est la distance entre la ligne de dépôt et le centre de la tâche.

D : la distance entre la ligne de dépôt et le front de l'éluant.

Les Rf obtenus sont comparés au Rf des substances standards.



**Figure 7.** Développement du chromatogramme et méthode de Calcul du Rapport frontal (Rf)

### 3.4.3.5. Etude de la capacité de rétention de la laine

La réalisation de cette étape consiste à répéter les mêmes étapes d'extraction pour la CCM (voir **Figure 4**). Tout d'abord, 1ml de chacun des deux témoins négatifs (09 et 10) est mélangé à un volume équivalent de la solution standard de l'E102 (50 µg/ml). L'opération est répétée trois fois.

Les résidus récupérés dans l'éthanol à 60 % ont été mesurée à 425nm au moyen d'un spectrophotomètre UV-Visible.

## 3.4.2. Analyse quantitative par spectrophotométrie UV-Vis

### 3.4.2.1. Préparation de la solution standard E102

La solution standard utilisée pour les dosages spectrophotométriques a été préparée avec 10 mg d'E102 dans 100 ml de l'eau distillée pour obtenir une solution standard d'une concentration de 0.1 mg.ml<sup>-1</sup>. La solution obtenue a été conservée au réfrigérateur jusqu'à l'analyse (**Yehe et al., 2022**).

### 3.4.2.2. Appareillages

Une balance analytique METTLER TOLEDO avec une précision de 0,0001 g a été utilisée pour peser les produits chimiques.

Spectrophotomètre UV-Visible de marque Specord 50 Plus (Analytik Jena, France), gamme spectrale de 190 à 1100 nm, débit d'énergie élevé avec stabilité accrue, composants optiques encapsulés revêtus de quartz de haute qualité pour une qualité optimale, des performances maximales et une durabilité extrême sont garantis. Il a été utilisé pour mesurer la concentration de tartrazine dans les boissons gazeuses.

### 3.4.2.3. Principe de la technique

La loi d'absorption est le principe de base de la spectrophotométrie UV-visible. Cette loi traite de la relation entre l'épaisseur du matériau absorbant et la concentration de la solution d'échantillon et est communément appelée loi de Beer-Lambert, ou simplement loi de Beer. Cette loi stipule que la quantité de lumière absorbée est proportionnelle à la concentration du matériau absorbant et à l'épaisseur du matériau absorbant (**Figure 8**) (**Upadhyay, 2009**).

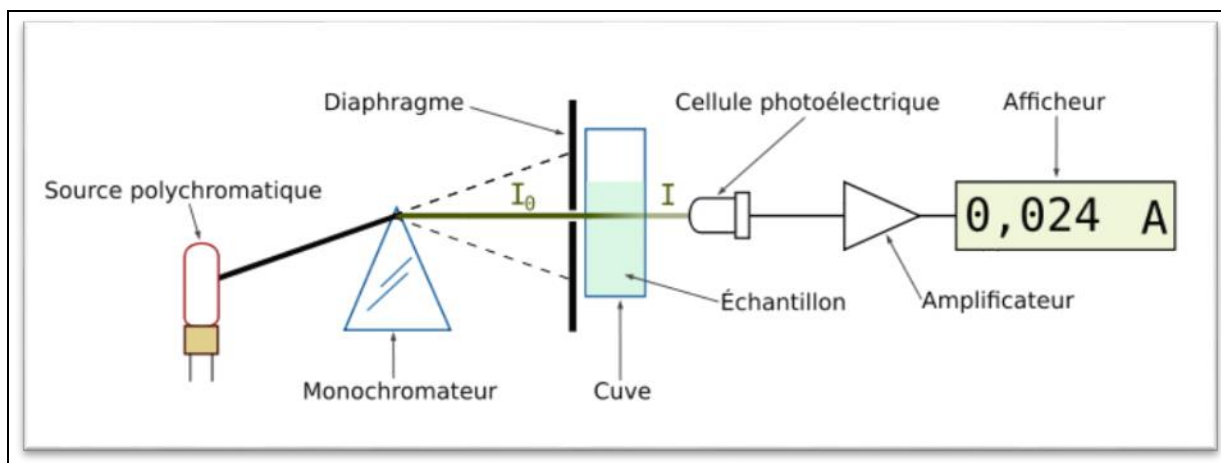


Figure 8. Schéma de principe du spectrophotomètre UV.

#### 3.4.2.4. Validation analytique

Généralement, le contexte de contrôle de qualité d'une denrée alimentaire impose aux contrôleurs de démontrer que l'ensemble des méthodes utilisées pour l'évaluation conduit certainement au résultat considéré. Dans la lumière de cette optique, nous sommes tenus de vérifier par quelques paramètres dites de validation que la méthode d'analyse employée soit parfaitement valide et fiables pour atteindre l'objectif souligné.

La clause 5.4.5.1. De la norme ISO 17025 :2005 définit ainsi la validation : « **La validation est la confirmation par examen et apport de preuves objectives du fait que les exigences particulières en vue d'une utilisation prévue déterminée sont remplies** » (ISO/CEI 17025 :2005).

La validation analytique de la méthode spectrophotométrique employée dans la présente étude correspond à l'étude de paramètres de validation suivant :

##### a. La longueur d'onde maximale

Le choix de la longueur d'onde est dicté par la molécule étudiée ou, plus généralement, les molécules colorées appelées « chromophores » produites par les réactions impliquées dans l'étude. Autant que possible, nous choisissons des longueurs d'onde qui sont fortement absorbées par cette molécule chromogénique d'une manière particulière [2].

Un balayage spectral de 300 à 1100 nm a été effectué pour déterminer la longueur d'onde d'absorption maximale ( $\lambda$  max) de la tartrazine.

### b. La Linéarité

Capacité d'une méthode d'analyse, à l'intérieur d'un certain intervalle, à fournir une valeur d'information ou des résultats proportionnels à la quantité en analyte à doser dans l'échantillon pour le laboratoire. Elle permet de donner des informations sur la sensibilité. Cette dernière est l'aptitude de la méthode à détecter de petites variations de concentration. Elle se définit comme étant la pente de la courbe d'étalonnage (DR-12-VMC, 2009).

La linéarité de la présente méthode a été évaluée avec une gamme standard de 0.78  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  et 50  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  par une série de dilutions en série. Une courbe d'étalonnage a été créée à partir de l'absorbance obtenue à chaque concentration, et le coefficient de détermination ( $R^2$ ) et l'équation linéaire ont été dérivés.

### c. Fidélité

La fidélité exprime l'étroitesse de l'accord entre une série de mesures provenant de multiples prises d'essai d'un même échantillon homogène dans des conditions prescrites (ISO 5725, 1994).

La fidélité peut être évaluée à trois niveaux (Figure 9) : la répétabilité, la fidélité intermédiaire (intra-laboratoire) et la reproductibilité (inter-laboratoires).



**Figure 9.** Composantes croissantes de la variabilité : répétabilité, fidélité intermédiaire et reproductibilité (DR-12-VMC, 2009).

#### ❖ Fidélité intra jour ou Répétabilité

Conditions où les résultats obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essai identiques dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps (DR-12-VMC, 2009).

Dans notre étude, la fidélité intra jour a été déterminée en effectuant 18 mesures pour chaque niveau de concentration sélectionné (0.78  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , 1.56  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  et 3.125  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Chaque

niveau de concentration a été préparé trois fois et mesuré six fois chacun. Les mesures ont été prises au spectrophotomètre le même jour avec un intervalle de 4 heures.

#### ❖ Fiabilité intermédiaire ou Fidélité inter-jour

Conditions où les résultats sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essai identiques dans le même laboratoire, avec différents opérateurs utilisant des équipements différents et pendant un intervalle de temps donné (DR-12-VMC, 2009).

La fidélité inter-jour a été déterminée en effectuant 18 mesures (c'est-à-dire 3 sur 6 mesures consécutives). La solution fille standard au même niveau de concentration ( $C = 0.78 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) a été mesurée par un spectrophotomètre pendant 3 jour consécutif.

La moyenne d'absorbance et le Coefficient de Variation (CV) de trois séries de mesures ont été calculés pour chaque test.

#### d. Limite de détection et Limite de quantification

La limite de détection d'une méthode est la plus basse concentration pour un composé analysé dans une matrice réelle qui, lorsqu'il subit toutes les étapes d'une méthode complète, incluant les extractions chimiques et le prétraitement, produit un signal détectable mais non quantifiable avec une fiabilité définie statistiquement différent de celui produit par un « blanc » dans les mêmes conditions (DR-12-VMC, 2009).

La limite de quantification d'une méthode est la concentration minimale qui peut être quantifiée à l'aide d'une méthode d'analyse avec une fiabilité définie (DR-12-VMC, 2009).

Ils ont été évalués en utilisant des dilutions en série de 1/20, 1/60, 1/100, 1/140 et 1/180 de la solution standard de  $1 \mu\text{g.ml}^{-1}$ .

#### e. Détermination de la teneur en tartrazine

L'absorbance moyenne de chaque échantillon permet de déterminer la concentration molaire de tartrazine dans chaque préparation (C1) à l'aide de l'équation de droite.

$$ax + b = y(2) \quad C1 = x = \frac{y-b}{a}(3)$$

Où :

y : L'absorbance moyenne de l'échantillon obtenue après mesure avec un spectrophotomètre UV-Vis.

La concentration réelle de tartrazine (C) dans l'échantillon a été calculée comme suit :

$$C = F \times C1 = 8 \times C1 \quad (4)$$

Où :

F : est le facteur de dilution.

### **3.5. Traitement statistique des données**

Les résultats obtenus durant cette étude ont été traités à l'aide du Microsoft Excel 2007 pour le calcul des moyennes, écarts type et coefficients de variation. Les concentrations sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart type pour chaque dosage. Le logiciel de statistique "R" version (4.1.2) a été employé pour l'Analyse des variances.

L'étude des paramètres de performance de la méthode a été menée. Le test appliqué à cet effet est le test ANOVA à 1 facteur dont l'intérêt est d'évaluer d'une manière satisfaisante et statistiquement fiable la teneur en tartrazine, qui représente notre variable dépendante étudiée, entre les différents échantillons ciblés. La significativité statistique a été fixée à une valeur de  $p < 0,05$ .

*Chapitre 04*  
*Résultats et discussion*

#### 4.1. Résultats d'identification d'E102 par CCM

L'analyse chromatographique est une étape préliminaire d'investigation et de contrôle de la présence des colorants synthétiques conformément à ceux mentionnés sur l'étiquette de composition.

##### 4.1.1. Résultats d'optimisation et de développement dans la phase (a): Isopropanol/Eau distillée/Ammoniaque : 7/1/2)

Les résultats illustrés dans le **Tableau 07** révèlent la présence dans les échantillons 1, 2, 3, 4, 5 et 8 d'E102 de couleur jaune en combinaison avec un autre colorant azoïque l'E110 de couleur orange.

L'identification a été faite par le calcul et la comparaison des Rfs des échantillons avec ceux d'E102 et d'E110 respectivement. La distance parcourue par le solvant est de 3 cm.

**Tableau 07.** Résultats des Rapports frontaux dans la phase mobile(a).

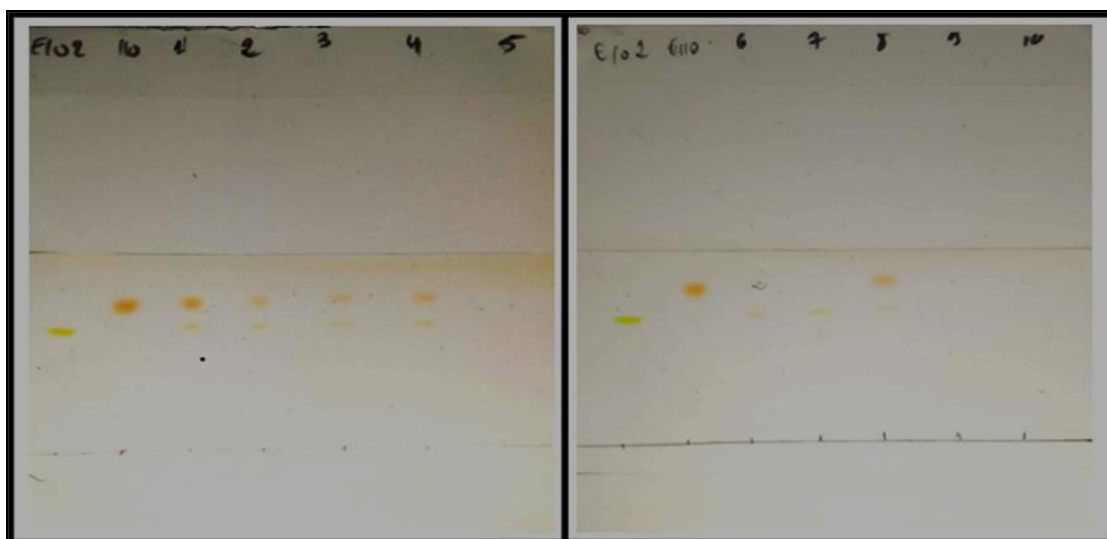
Echantillons	Couleur avant migration	Tache après migration	Distance parcourue (cm)	Rapport frontal (Rf)
<b>E102</b>	Jaune	Jaune	1.8	0.6
<b>E110</b>	Orange	Orange	2.2	0.73
<b>01</b>	Orange	Jaune	1.8	0.6
		Orange	2.2	0.73
<b>02</b>	Orange	Jaune	1.8	0.6
		Orange	2.2	0.73
<b>03</b>	Orange claire	Jaune	1.8	0.6
		Orange	2.2	0.73
<b>04</b>	Orange	Jaune	1.8	0.6
		Orange	2.2	0.73
<b>05</b>	Blanche	Aucune	Aucune	Aucune
<b>08</b>	Orange	Jaune	1.8	0.6
		Orange	2.2	0.73

Pour l'ensemble, les résultats des séparations obtenus sont de bonne qualité, notamment pour les échantillons 1, 2, 3, 4 et 8, où les spots étaient bien distincts.

En effet, les Rfs calculés sont de 0,6 et de 0.73 pour l'E102 et l'E110 respectivement (**Figure 10**).

Quant à l'échantillon 5, il n'a montré aucun spot apparent, sachant qu'il est mentionné dans la liste des ingrédients qu'il renferme la tartrazine dans sa composition.





**Figure 10.** Chromatogrammes des extraits développés dans la phase 'a' (Isopropanol/ Eau distillée/Ammoniaque : 7/1/2).

#### 4.1.2. Résultats de caractérisation dans la phase (d) : (Butanol /Ethanol /Eau distillée/Ammoniaque : 10 / 5 / 5 / 2)

Les résultats notés dans le **Tableau 08** révèlent la présence dans les échantillons 6 et 7 d'E102 en mélange avec l'E110, d'autres taches colorées en vert et en jaune ne font pas objet de notre étude ne sont pas identifiées. La distance parcourue par le solvant est de 2.9 cm.

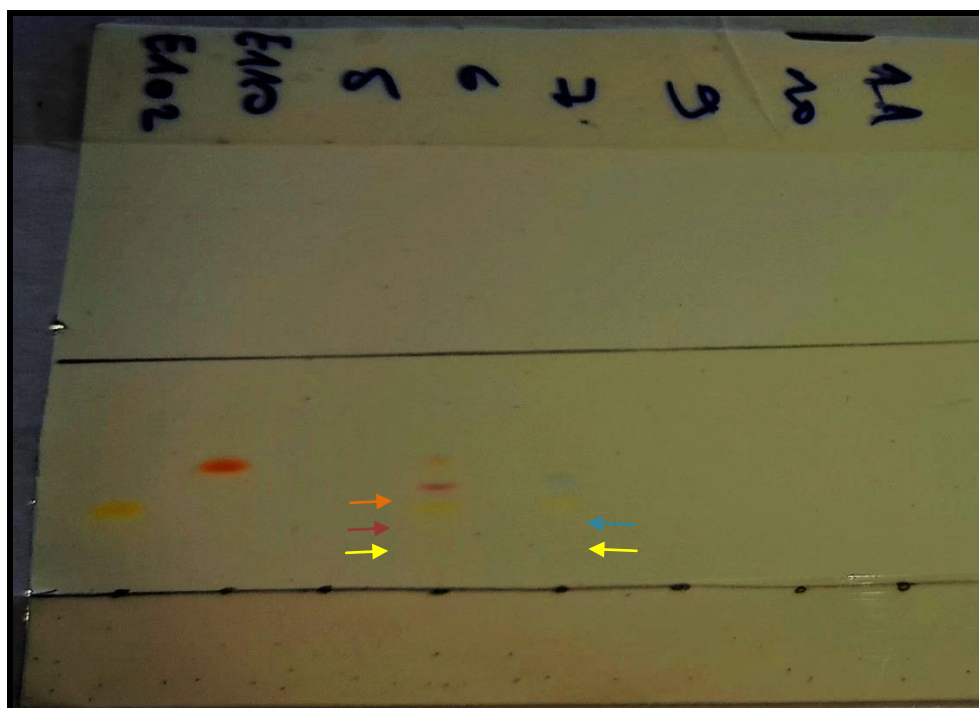
**Tableau 08.** Résultats des Rapports frontaux dans la phase mobile (d).

Echantillon	Couleur de la solution avant migration	Tache sur la plaque après migration	Distance parcourue par le soluté (cm)	Rapport frontal (Rf)
<b>E102</b>	Jaune	Jaune	0.9	0.31
<b>E110</b>	Orange	Orange	1.10	0.52
<b>06</b>	Orange	Jaune	0.9	0.31
		Orange	1.5	0.52
<b>07</b>	Verte	Jaune	0.9	0.31
<b>09</b>	Blanche	Aucune	Aucune	Aucune
<b>10</b>	Blanche	Aucune	Aucune	Aucune
<b>11</b>	Blanche	Aucune	Aucune	Aucune

Les résultats d'élution enregistrés dans la phase (d) (Butanol /Ethanol /Eau distillée/Ammoniaque) indiquent une bonne séparation des colorants synthétiques contenus

dans les boissons 6 et 7. Deux autres spots apparaissent et ils correspondent probablement à d'autre colorant apparenté tel que l'E124 de l'échantillon 6 et l'E131 de l'échantillon 7 qui sont bien distincts (**voir flèche Rouge et bleue sur la Figure 11**). Cependant nous ne disposons pas de substances de référence afin de confirmer leur identité (**Figure 11**).

Enfin, les échantillons 9, 10 et 11 aucun spot coloré n'a été observé. Cependant l'échantillon 11 indique l'E102 dans sa composition.



**Figure 11.** Chromatogrammes des extraits 6, 7, 9, 10 et 11 dans la phase mobile (d) (Butanol /Ethanol /Eau distillé/Ammoniac:10 / 5 / 5 / 2).

#### 4.1.3. Résultats de la capacité de rétention de la laine

L'analyse de la capacité de rétention des colorants par la laine a révélé un rendement après extraction allant de 95,5 % pour l'échantillon 10 à 109 % pour l'échantillon 9 comme le montre le tableau 7 ci-dessous.

**Tableau 09.** Pourcentage de rendement de la méthode d'extraction pour les témoins négatifs 9 et 10.

Echantillon 9	Absorbance	Concentration	Taux d'extraction
1	0,904	56,708	109,625%
2	0,838	52,583	
3	0,879	55,145	
Echantillon 10	Absorbances	Concentration	Taux d'extraction
1	0,770	50,479	95,486%
2	0,741	48,625	
3	0,669	44,125	

Les études sur la sécurité de l'utilisation des Colorants Alimentaires Synthétiques (CAS) ont débuté dans les années 1950 et ont montré qu'il existait un risque potentiellement croissant (**Ramos-Souza et al., 2022**). De nos jours les colorants azoïques sont quasi présents dans une multitude d'aliments transformés à large consommation et ont toujours été les plus privilégiés parmi tant d'autres.

La tartrazine ; un des colorants les plus populaires et controversés a fait l'objet de notre étude préliminaire dans un long processus d'évaluation du risque toxicologique du E102.

Notre étude a consisté en un contrôle de la qualité des boissons gazeuses commercialisées dans la wilaya de Jijel suivant deux approches ; qualitative dans le but d'identifier la conformité du label et quantitative afin de vérifier le respect ou non des normes réglementaires fixées par les réglementations ; Algérienne et Internationale.

La Chromatographie sur couche mince est une technique analytique rapide importante dans le contrôle de la qualité des aliments (**Sherma et Rabel, 2018**). La CCM, a bel et bien révélé la présence de la plupart des colorants synthétiques mentionnés sur les étiquettes de composition à l'exception de deux échantillons 5 et 11 qui se présentent sous forme boisson de couleur blanchâtre. Cela pourrait être dû à une fausse indication du colorant sur le label ou à une présence en très faible concentration non détectable par CCM.

En effet les cas de non-conformité du label sont très répandus. Des cas similaires de non-conformité ont été rapporté dans la littérature (**De Andrade et al., 2014 ; Sewwandi et al., 2020**).

D'après (**Masone et Chanforan, 2015**) la plupart des informations figurant sur les étiquettes sont incomplètes, voire ambiguës, à tel point que les consommateurs exigent l'ajout obligatoire de messages d'avertissement.

La tartrazine est souvent combiné au jaune soleil E110 dans de nombreuses boissons. L'essai d'identification a mis en évidence cette combinaison de colorants couramment employée par les industriels (**Stozhko et al., 2022**). Cet engouement est du aux effets que présentent les couleurs jaune et orange sur la psychologie du consommateur ainsi que sur ses attentes sensorielles. Les deux coloris sont souvent associés à la stimulation de l'appétit mais aussi à des saveurs naturelles (**Jantathai et al., 2014**).

La CCM est une technique de routine peu couteuse et permet d'analyser une multitude d'échantillons en parallèle. Par ailleurs de faibles volumes de solvant organiques sont utilisés. Cependant elle demeure non quantitative d'où l'intérêt de confirmer par des méthodes analytiques plus sophistiqués et sensibles tel que la Chromatographie Liquide à Haute Performances (HPLC).

La confirmation par HPLC n'a malheureusement pas eu lieu pour des raisons techniques.

La CCM requiert une étape d'extraction indispensable dans le but de préconcentrer les colorants synthétiques et réduire les interférences des sucres, graisses et autres substances pouvant altérer la séparation des colorants. Nous avons extrait les colorants synthétiques hydrosolubles au moyen de la laine pure blanche. Il faut savoir que cette méthode est une méthode standard AOAC (Association of Official Analytical Chemists 2005) (**Sherma et Rabel, 2018**). Afin d'évaluer son efficacité, le pourcentage de recouvrement a été déterminé. Ce dernier représente le pourcentage d'analyte récupéré après extraction d'un volume à une concentration connue.

Nos résultats ont montré un pourcentage de rendement de 95% pour l'échantillon 10 sachant qu'elle est de couleur transparente. **Tripathi et al., 2004** a rapporté dans son étude un pourcentage de récupération similaire de 94,8% pour la tartrazine. D'autre part, le pourcentage d'E102 récupéré dans l'échantillon 9 qui est une boisson gazeuse à base de concentré de jus d'orange est de 109 %. Cette valeur est acceptable selon **Yehe et al., 2022**.

Des valeurs trop faibles ou élevées indiquent certaines erreurs, nous citons : la pesée initiale, mesure instrumentale, opérateur, temps d'extraction entre les différents tubes.

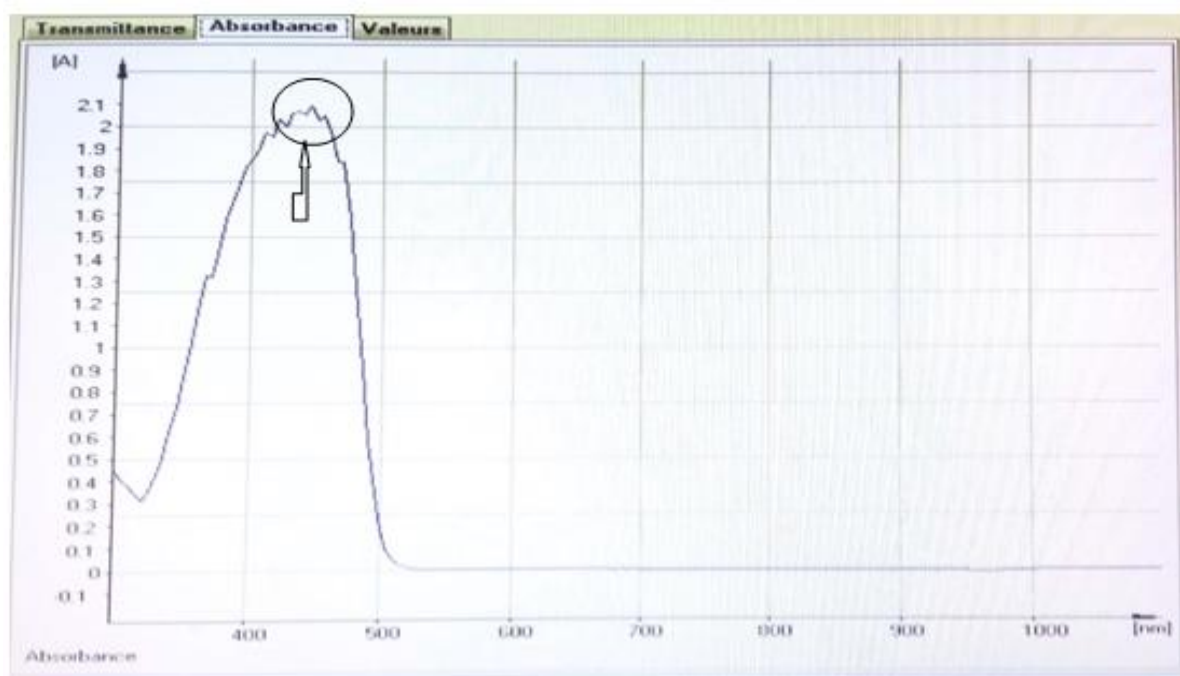
## 4.2. Résultats d'analyse quantitative par spectrophotométrie

### 4.2.1. Résultats de l'analyse de validation de la méthode

#### 4.2.1.1. Résultats de l'optimisation de la longueur d'onde maximale

Avant d'examiner les paramètres de validation de la méthode de dosage de la tartrazine, un balayage spectral a été effectué dans la région UV-visible allant de 300 nm jusqu'à 1100 nm pour déterminer son spectre d'absorbance optimal.

Comme le montre la **Figure 12**, ce balayage spectral a permis la détection de la longueur d'onde maximale ( $\lambda$  max) dans la plage de 425 nm pour la tartrazine.



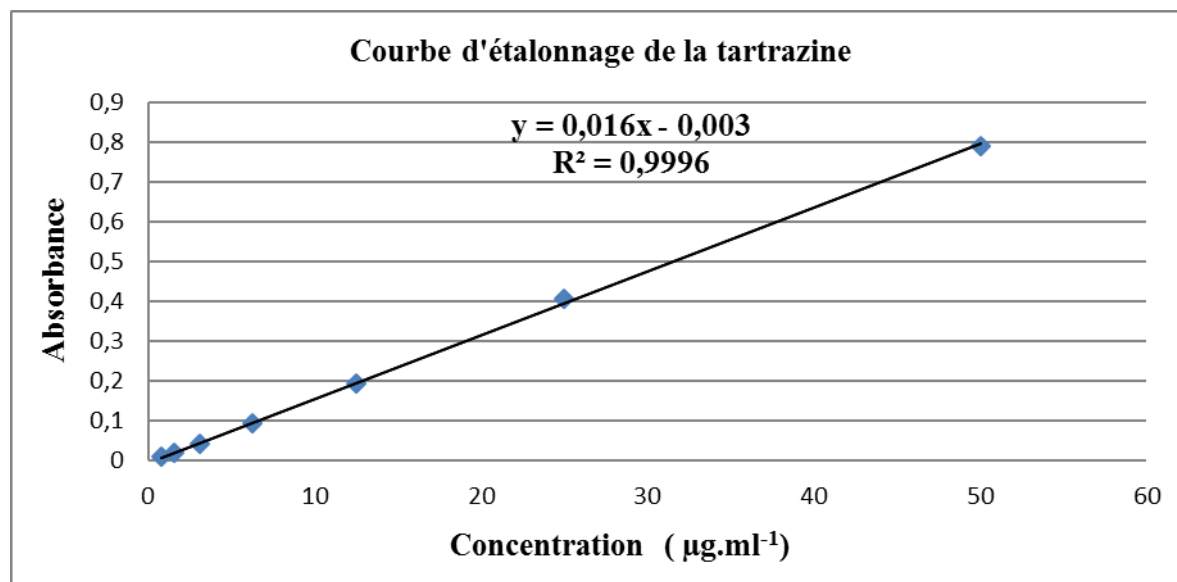
**Figure 12.** Spectre d'absorption optimal de la tartrazine ( $C=100\text{ug.ml}^{-1}$ ) à 425nm.

La  $\lambda$  max trouvée dans notre étude (425 nm) est identique à celle obtenue par **Jain et al., 2003**. Elle est également proche de celle obtenue en 2013 (430 nm), et 2018 (428 nm ,426nm) dans les travaux de **Schenone et al., 2013, Drumm et al., 2018 et Marković et al., 2018** respectivement.

Pour valider l'analyse quantitative de dosage de la tartrazine adoptée par la méthode spectrophotométrique, on a analysé plusieurs paramètres en se basant sur les différents tests statistiques. Les résultats de cette validation sont présentés ci-dessous :

#### 4.2.1.2. Vérification de la linéarité

Les données spectrales de la solution standard ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de la Tartrazine à 425 nm (**Figure 13**).



**Figure 13.** Courbe d'étalonnage de la Tartrazine mesurée à 425 nm.

La linéarité de la méthode a été déterminée en évaluant le coefficient de détermination  $R^2$  déterminé à partir de la courbe standard. Ce coefficient était de 0.9996. Nos résultats correspondent à la norme NF V 03-110 qui stipule que le coefficient de détermination doit être supérieur à 0.9950 (**Eines quantitative Analyse verfahrens, 2010**).

Ce résultat est en accord avec la norme NF V 03-110. La présente méthode présente donc une linéarité satisfaisante. Ce résultat est similaire aux études de **Lawal et al., 2020** et **Yehe et al., 2022**, qui ont obtenu des coefficients de détermination de 0.9999 et de 0.9998, respectivement.

#### 4.2.1.3. Résultats de la fidélité

Pour la présente étude, deux types de fidélité ont été testés :

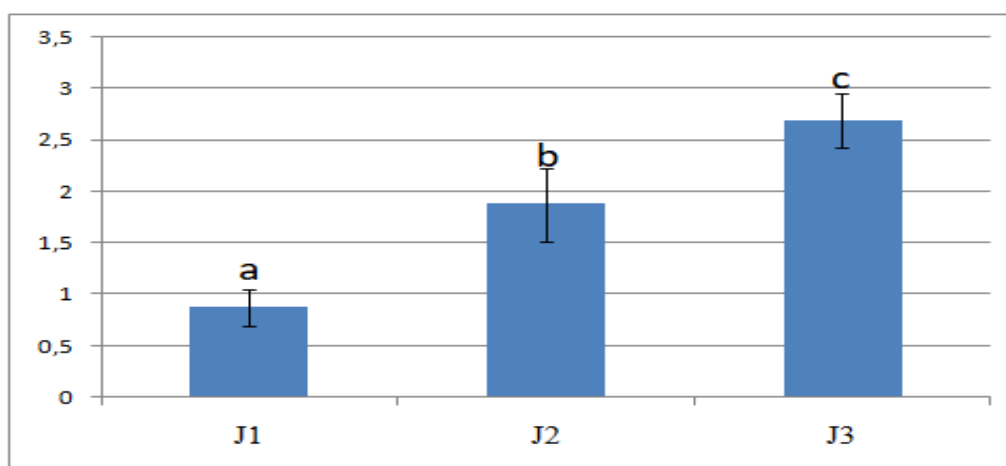
- **La fidélité intra jour :** Au total 18 mesures sont prises pour chaque niveau de concentration sélectionné : 0.78 µg.ml<sup>-1</sup>, 1.56 µg.ml<sup>-1</sup> et 3.125 µg.ml<sup>-1</sup> par période. Elles ont été analysées 3 fois par jour avec un intervalle de 3 heures entre chaque mesure.
- **La fidélité inter jour :** un seul niveau de concentration (0.78 µg.ml<sup>-1</sup>) a été sélectionné sur lequel 18 mesures ont été effectuées (c'est-à-dire 6 mesures consécutives en triplicata) pendant 3 jours successifs.

➤ Résultats de la fidélité inter-jour

Le **Tableau 10** et la **Figure 14** ci-dessous présentent les résultats de fidélité inter jour obtenus. Les résultats de l'analyse statistique montrent des différences très hautement significatives ( $<2e-16$  \*\*\*) entre les trois jours.

**Tableau 10.** Résultat de fidélité inter jour de la méthode spectrophotométrique de dosage d'E102.

Fidélité inter- jour			
Jour	J1	J2	J3
Concentration (ug.ml <sup>-1</sup> )	0,770	1,916	2,312
	0,7083	1,875	2,375
	0,687	1,916	2,375
	0,687	1,875	2,312
	0,729	1,875	2,312
	0,729	1,875	2,375
<b>Moyenne± Ecart-Type</b>	0.718±0.003	1.88±0.02	2.01±0.03
<b>CV%</b>	4%	1%	1%



**Figure 14.** Résultats graphiques de la Fidélité inter-jour.

➤ Résultats de la fidélité intra jour

Le **Tableau 11** et les **Figure 15,16** et **17** ci-dessous présentent les résultats de fidélité intra jour obtenus. L'analyse statistique des résultats montre qu'il n'existe pas une différence significative ( $p > 0.05$ ) entre les trois périodes de la journée (**Voir Figure 15**) pour le niveau de concentration de  $0.78 \mu\text{g.ml}^{-1}$ . Pour le niveau  $1.56 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , les résultats montrent qu'il existe une augmentation hautement significative entre les périodes, et n'enregistre pas une différence entre (MA, MI) (**Figure 16**).

Selon la **Figure 17** nos résultats indiquent une différence significative ( $p= 0.0126 *$ ) de concentration entre les périodes (APM, MI) et n'existe pas une différence significative entre (APM, MA), (MA, MI) pour le niveau de concentration  $3.125 \mu\text{g.ml}^{-1}$ .

**Tableau 11.** Résultat de fidélité intra jour de la méthode spectrophotométrique de dosage d'E102.

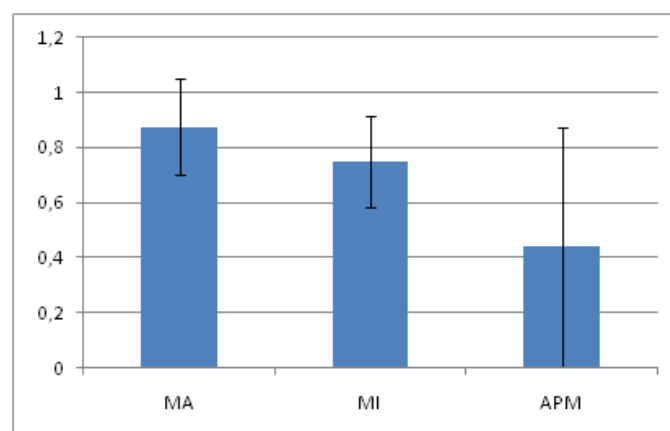
Fidélité intra-jour			
Concentration ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ )	$0.78\mu\text{g.ml}^{-1}$	$1.56\mu\text{g.ml}^{-1}$	$3.125 \mu\text{g.ml}^{-1}$
	0,770	1,236	2,347
	0,784	1,25	2,375
	0,805	1,305	2,451
	0,784	1,291	2,479
	0,770	1,326	2,472
	0,736	1,291	2,493
<b>Moyenne <math>\pm</math> Ecart-Type</b>	$0,775\pm 0,023$	$1,283\pm 0,034$	$2,436\pm 0,06$
<b>CV%</b>	2.9	2.6	2.4

La fidélité intra jour de la méthode spectrophotométrique a donné un CV de 2.9 %, 2.6 % et 2.4 % pour les concentrations de  $0.78 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ,  $1.56 \mu\text{g.ml}^{-1}$  et  $3.125 \mu\text{g.ml}^{-1}$  de la solution standard E102 respectivement.

Quant à elle, la précision de la fidélité inter jour est de :

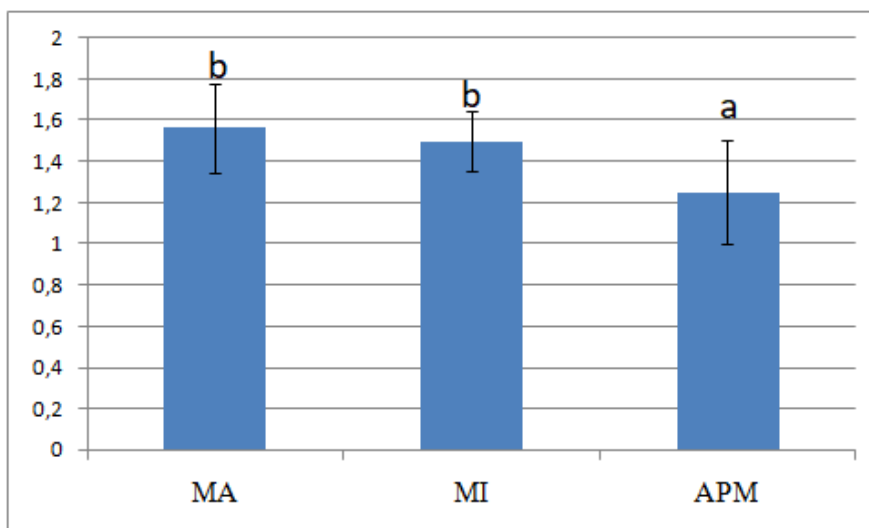
- 4% pour le premier jour.
- 1% pour le deuxième jour.
- 1% pour le troisième jour.

Ces résultats sont conformes dans l'ensemble au CV de la norme NF V 03-110 qui stipule que le CV utilisé pour l'évaluation de la fiabilité doit être inférieur à 2 %.

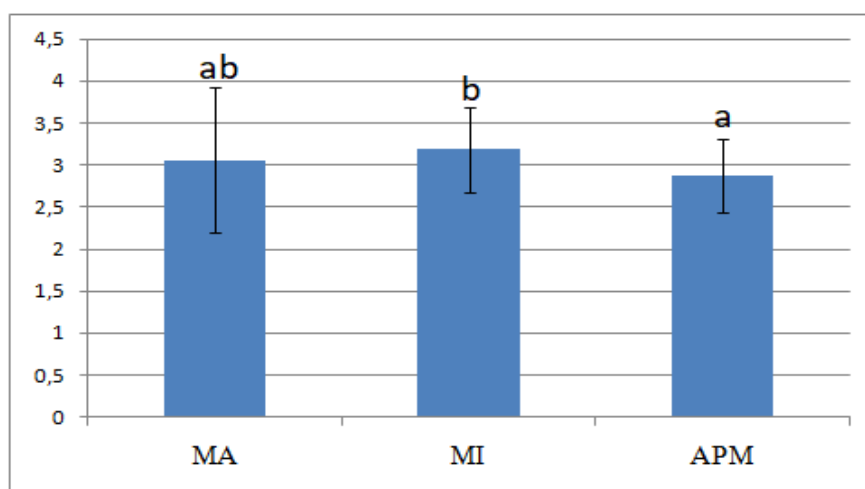


**Figure 15.** Résultats graphiques de la Fidélité intra-jour au niveau de concentration d'E102 ( $0.78\mu\text{g.m}^{-1}$ ) (MA : matin, MI : midi, APM : après midi)





**Figure 16.** Résultats graphiques de la Fidélité intra-jour au niveau de concentration d'E102 ( $1.56 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) (MA : matin, MI : midi, APM : après midi)



**Figure 17.** Résultats graphiques de la Fidélité intra-jour au niveau de concentration d'E102 ( $3.125 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) (MA : matin, MI : midi, APM : après midi)

#### 4.2.1.4. Résultats de la Limite De Détection (LDD) et la Limite De Quantification (LDQ)

La Limite De Détection (LDD) et la Limite De Quantification (LDQ) de la présente méthode sont respectivement de  $0.005 \mu\text{g. ml}^{-1}$  et  $0.007 \mu\text{g. ml}^{-1}$ .

Les valeurs limites obtenues dans la présente étude sont différentes de ceux de **Yehe et al., 2022**, qui donnaient des limites de détection et de quantification correspondantes de  $0.025 \mu\text{g. ml}^{-1}$  et  $0.030 \mu\text{g. ml}^{-1}$  respectivement. Cette différence pourrait être expliquée par la linéarité différente de ces deux auteurs ( $0.1 - 2.5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) et celle de la présente étude ( $0.78 - 50 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ).

**Tableau 12.** Limites de détection et de quantification.

Facteur de dilution	Concentration ( $\mu\text{g.ml}^{-1}$ )	Absorbance
1\20	0.05	0.195
1\60	0.016	0.058
1\100	0.01	0.037
1\140	<b>0.007</b>	0.006
1\180	<b>0.005</b>	0.002

#### 4.2.1.5. Résultats de détermination des teneurs en Tartrazine dans les boissons gazeuses

Les concentrations en Tartrazine contenues dans les onze échantillons de boissons gazeuses ciblés par la présente étude sont présentées dans le **Tableau 13** ci-dessous :

**Tableau 13.** Les teneurs en Tartrazine dans les échantillons de boissons gazeuses.

Echantillons	C ( $\text{mg.l}^{-1}$ )	La quantité autorisée pour les boissons
1	158	100 $\text{mg.kg}^{-1}$ ou 100 $\text{mg.l}^{-1}$
2	106,5	
3	50,833 $\pm$ 0,036	
4	84,333 $\pm$ 0,036	
5	21,333 $\pm$ 0,036	
6	81,5 $\pm$ 0,130	
7	9,166	
8	126,8 $\pm$ 0,130	
9	71,8 $\pm$ 0,036	
10	4,5 $\pm$ 0,062	
11	29	

Sur la base de l'analyse effectuée, les concentrations sont récapitulées dans le **Tableau 13**. Nous avons mis en évidence, les concentrations pour les échantillons 3, 4, 5, 6, 7, 9 et 11 se situent dans la limite autorisée de 100mg/L dans les boissons non alcoolisées, telle que publiée par la Commission internationale du Codex Alimentaires pour les normes alimentaires 2008, adoptée par la National Agency of Food and Drug Administration and Control (NAFDAC). Également adoptée par la réglementation Algérienne.

Cependant, les valeurs de concentration pour l'échantillons 1, 2 et 8 (158 ,106.5, 126.833  $\mu\text{g.ml}^{-1}$ ) respectivement se sont révélées supérieures à la limite maximale autorisée de 100mg/l. Cela pourrait être dû aux efforts déployés par les industries alimentaires et des boissons pour acquérir une part de marché significative en colorant excessivement leurs produits finis afin d'attirer davantage de clients sur leurs marchés, ce qui est conforme à la littérature précédemment rapportée (**Fernandez et al., 2010**).

La présence de groupement chromophores dans les colorants synthétiques permet la quantification par spectrophotométrie les niveaux de concentration faibles en mesurant leur absorbance dans la gamme des longueurs d'onde visibles.

Le spectromètre UV-Vis est peu coûteux, disponible dans de nombreux laboratoires pédagogiques et de routine, et ne nécessite pas d'opérateurs expérimentés. De plus, cette technique est simple, rapide et précise (**Bisgin et al., 2020**).

Dans la présente partie de l'étude, la préparation des boissons gazeuses s'est limitée à une simple dilution au 1/8, dégazage et filtration en cas de présence de pulpe de fruit. La dilution dépend particulièrement de la concentration mais aussi de la contenance en sucres. Autrement dit, plus la quantité de sucre est élevée plus l'échantillon sera dilué (**Rejskzak et Tuzimski, 2017**).

Les résultats du dosage spectrophotométriques ont montré que sur le total des boissons sélectionnées pour l'étude, 3 boissons, codifiées 1, 2 et 8 respectivement, il s'est avéré être supérieures à la limite maximale la limite autorisée par la réglementation Algérienne et internationale qui est fixée à 100mg/kg (ou 100 mg/l) de tartrazine.

Ces cas de fraudes sont très répandues malgré les efforts fournis par les autorités réglementaires. **De Andrade et al., (2014)** ont rapporté une situation similaire de fraude de label et de quantité. Cependant en Algérie la situation n'est pas très claire (**De Andrade et al., 2014**). En effet, dans une enquête réalisée par **Boussadia et al., (2022)** après de la direction du commerce de la wilaya de Jijel, les colorants synthétiques sont loin d'être une des responsabilités du contrôle des aliments mis sur le marché local s'ils ne sont pas synthétisés sur le territoire de la wilaya (**Boussadia et al., 2022**). Malheureusement c'était le cas de la quasi-totalité des marques ciblées par la présente étude.

L'échantillon 9 qui est une boisson gazeuse à base de concentré de jus d'orange était sélectionné d'après l'étiquetage comme témoin négatif, néanmoins la teneur en tartrazine obtenue par la présente méthode est de  $71,8 \pm 0,036$ . Plusieurs hypothèses peuvent être avancées : présence de la tartrazine dans le concentré de jus utilisé pour préparer la boisson gazeuse, existence des pigments naturels issus du concentré de jus d'orange qui s'absorbent probablement à une longueur d'onde identique ou proche de celle de la tartrazine qui est de 425 nm,

Toutefois, ces pigments naturels diffèrent de manière significative en termes de structure et de propriétés chimiques des colorants synthétiques et peuvent être éliminés suite à une étape de prétraitement d'échantillon ce qui n'a pas été réalisé dans la présente étude (**Rejskzak et Tuzimski , 2017**).

Généralement, une méthode d'analyse doit être vérifiée et validée. Pour cela certains paramètres ont été évalués : linéarité, fidélité, limite de détection et quantification.

D'après la validation de la méthode spectrophotométrique, on a constaté qu'elle est fidèle et juste, ce qui prouve que cette méthode correspond à l'usage pour lequel elle est prévue, la validation des méthodes d'analyse est aujourd'hui un objectif important. C'est pour cette raison, que nous sommes intéressés à la validation du dosage de la tartrazine par spectrophotométrie UV-Visible.

La linéarité est en accord avec la norme NF V 03-110 et est donc une linéarité satisfaisante. Ce résultat est similaire aux études de **Lawal et al., (2020)** et **Yehe et al., (2022)**, qui ont obtenu des coefficients de détermination de 0.9999 et de 0.9998, respectivement.

L'analyse statistique des résultats montre qu'il n'existe pas une différence significative ( $p > 0.05$ ) entre les trois périodes de la journée pour le niveau de concentration de  $0.78 \mu\text{g.ml}^{-1}$ . D'autre part, pour les niveaux de concentration  $1,56 \mu\text{g.ml}^{-1}$  et  $3,125 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , il existe certaines variations entre les périodes de la journée. De ce fait, la fidélité intra-jour est plus au moins acceptable.

De même pour la fidélité inter-jour les résultats de l'analyse statistique montrent des différences très hautement significatives ( $< 2 \times 10^{-16}$  \*\*\*) entre les trois jours.

Des essais ultérieurs sont requis et certaines conditions de laboratoire doivent être impérativement suivies : précision de l'instrument, précision de l'opérateur, micropipette unique et calibrée et des consommables neufs et non réutilisables.

*Conclusion*

Les colorants alimentaires sont excessivement utilisés dans l'industrie alimentaire. Parmi les aliments colorés, les boissons gazeuses figurent parmi les plus consommés en Algérie, notamment pendant la période estivale, en raison de leur goût et de leur prix. Cette consommation a suscité des débats et des préoccupations sur les effets néfastes de la prise régulière de ces colorants.

En effet, un certain nombre d'effets secondaires ont été signalés par les chercheurs pour des doses inférieures de la dose journalière acceptable (DJA) jugée sécuritaire pour ces colorants. En outre, les cas de falsification de boissons produites et commercialisées ne sont pas rares, où les industriels ajoutent les colorants à des niveaux non autorisés.

L'objectif fondamentale de la présente étude traite cette problématique d'intérêt en toxicologie et vise donc à évaluer la qualité de onze marques de boissons gazeuses de forte consommation concernant la tartrazine, par deux démarches, l'une qualitative et l'autre quantitative.

La méthode Chromatographie sur Couche Mince a été adoptée pour l'évaluation qualitative de la tartrazine. Les résultats obtenus sont satisfaisants et confirment la présence de la tartrazine mentionnée sur les étiquettes de composition à l'exception de deux échantillons ; le 5 et le 11 qui se présentent sous forme de boisson de couleur blanchâtre. Cela pourrait être expliqué par la très faible concentration (21,333 et 29 mg/l respectivement) non détectable par la CCM.

Le spectrophotomètre UV-Vis à 425 nm a été utilisé pour l'analyse qualitative. L'analyse de validation de cette approche permet de conclure qu'elle s'agit d'une méthode linéaire exacte et précise avec des critères de validation satisfaisants.

Les résultats obtenus montrent des contenus très élevés en E102 et qui dépassent la norme autorisée pour la consommation humaine pour les échantillons de trois marques 1, 2 et 8. Dépassant ainsi la concentration légale ce qui peut provoquer des réactions allergiques chez les personnes consommateurs prédisposés.

Les autres marques (3, 4, 5, 6, 7,8 et 11) ont montré de concentrations inférieures à 100 mg/l ce qui répond aux critères spécifiés par le comité mixte d'experts FAO/OMS, ce qui peut prouver que ces boissons sont conformes.

A contrario, les deux échantillons de deux marques codifiés 9 et 10 sélectionnés comme témoins négatifs sur la base de l'absence de tartrazine dans leur étiquetage ont montré des teneurs détectables ( $71,8 \pm 0,036$  et  $4,5 \pm 0,062$  mg/l respectivement). Cette détection non attendue peut trouver deux principales explications, l'interférence avec d'autres colorants

absorbés dans la même bande d'absorption UV visible, c'est le cas de la curcumine par exemple et les contaminations possibles des échantillons lors de l'analyse.

Les résultats de la présente étude sont riches et tirent la sonnerie d'alarme sur le danger réel de la non-conformité à la norme de trois marques de boissons gazeuses fortement consommées localement. Une situation qui peut présenter des risques potentiels de réactions allergiques et d'éventuels autres risques toxiques chez les personnes prédisposées consommateurs de ces boissons.

Néanmoins, ces résultats restant préliminaires ; des études plus approfondies sont nécessaires pour donner plus de validité et de fiabilité aux résultats. Il serait intéressant de détailler ce travail par :

- L'utilisation d'autres méthodes d'analyse quantitative plus fiables et présentent moins d'interférences, particulièrement l'HPLC.
- Analyser d'autres colorants et additifs pour avoir une idée globale sur les risques auxquels les consommateurs sont exposés
- Avoir les effets des fortes concentrations détectées sur les modèles animaux
- Réaliser des enquêtes épidémiologiques sur les effets les plus courants chez la population générale et les groupes de population considérées sensibles.

*Références  
bibliographiques*



**-A-**

- Albasher, G., Maashi, N., Alfarraj, S., Almeer, R., Albrahim, T., Alotibi, F., et al.2020.** Perinatal exposure to tartrazine triggers oxidative stress and neurobehavioral alterations in mice off spring; *Antioxidants*. 9(1), 1-14.
- Albrecht, R., Manchon, P.1973.**Métabolisme et toxicité des colorants azoïques. *Annales Nutrition Aliments*, 271-9.
- Al-Degs, Y. S. 2009.**Determination of three dyes in commercial soft drinks using HPLC/MS and liquid chromatography. *Food Chemistry*. 117, 485–490.
- Allam, K.V ., Kumar, G.P.2011.** Colorants the cosmetics for the pharmaceutical dosage forms; *Inter Journal Pharmacology Science*. 3, 13-21.
- Altunöz, S., Toptan, S.2002.**Determination of Tartrazine and Ponceau-4R in Various Food Samples by Vierordt's Method and Ratio Spectra First-Order Derivative UV Spectrophotometry. *Journal. Food Comp.*15, 667–683.
- Alves, S. P., Brum, D. M., de Andrade, É. C. B.,Netto, A. D. P.2008.**Determination of synthetic dyes in selected foodstuffs by high performance liquid chromatography with UV DAD detection. *Food Chemistry*, 107(1), 489–496.
- Amchova, P., Kotolova, H., Ruda-Kucerova, J. 2015.** Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 73(3), 914-922.
- Amin, K.A., Abdel Hameid, H., Abdelsttar, A.H. 2010.** Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. *Food and Chemical Toxicology*. 48(10), 2994-2999.
- Amin, K. A., Al-Shehri, F. S. 2018.** Toxicological and safety assessment of tartrazine as a synthetic food additive on health biomarkers: A review. *African Journal of Biotechnology*. 17(6), 139-149.
- Antakli, S., Nejem, L., Katran, S.2015.** Simultaneous determination of Tartrazine and Brilliant Blue in food stuffs by spectrometric method. *Inter. Journal. Pharmacology. Science*. 7(6), 214–218.
- Ashfaq, N., Masud, T.2002.** “Surveillance on artificial colors in different ready to eat foods,” *Pakistan Journal of Nutrition*, 5(1), 223–225.
- Ashour, A.A., Abdelaziz, I. 2009.** Role of fast green on the blood of rats and the therapeutic action of vitamins C or E. *Inter. Journal*. 6(1), 6-11.

**-B-**

**Bachalla, N.2016.** “Identification of synthetic food colors adulteration by paper chromatography and spectrophotometric methods,” IAIM, 6(3), 182–191.

**Bansal,A .K.,Bansal, M., Soni,G., Bhatnagar, D .2005.** Modulation of Nitroso Di Ethyl Amine (NDEA) induced oxidative stress by vitamin E in rat erythrocytes; Human and Exp; Toxicology. 24, 297-302.

**Bardi, L., Marzona, M. 2010.** Factors affecting the complete mineralization of azo dyes. Biodegradation of azo dyes. 195-210.

**Barrows, J. N., Lipman, A. L., Bailey, C. J. 2003.** Color Additives: FDA’s regulatory process and historical perspectives. Food Safety Magazine. Oct/Nov. Rpt. US Food and Drug Administration.

**Basu, A., Suresh Kumar, G. 2016a.** Studies on the interaction of the food colorant tartrazine with double stranded deoxyribonucleic acid. Journal Bimolecular Structure Dynamic. 34(5), 935-42.

**Ben Mansour, H., Boughzala, O., Dorra Dridi, D., Bariller, D., Chekir- Ghedira, L., Mosrati, R.2011.** « Les colorants textiles sources de contamination de l’eau : Criblage de la toxicité et des méthodes de traitement », Journal of Water Science. 28(3) ,209–238.

**Ben Mansour, H., Latrach Tlemceni, L.2009.** Les colorants naturels sont-ils de bons additifs alimentaires. Phytothérapie. 7(4), 202-210.

**Bento, W. D. A. S., Lima, B. P., Paim, A. P. S. 2015.** Simultaneous determination of synthetic colorants in yogurt by HPLC. Food Chemical. 183, 154–160.

**Berradi .M .,Essamri .A., El Harfi .A.2016.** Discoloration of water loaded with vat dyes by the membrane process of ultrafiltration, Journal. Mater. Environ. 7 (4), 1098–1106.

**Berradi, M., Hsissou, R., Khudhair, M., Assouag, M., Cherkaoui, O., El Bachiri, A., El Harfi, A. 2019.** Textile finishing dyes and their impact on aquatic environs. Heliyon. 5(11), 2711.

**Bişgin, A. T. 2020.** Simultaneous spectrophotometric determination of brilliant blue and tartrazine in diverse sample matrices after solid phase extraction. Journal of AOAC International. 103(6), 1478-1485.

**Bonan, S., Fedrizzi, G., Menotta, S., Elisabetta, C.2013.** Simultaneous determination of synthetic dyes in foodstuffs and beverages by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Dyes Pigments*. 99, 36–40.

**Bougueria, H.2014.** Synthèse et structure de complexes de métaux de transition à ligands azoïques tinctoriaux. Thèse de doctorat en sciences. Chimie inorganique. Mohamed El Bachir El Ibrahimi de Bordj Bou Arréridj. 104.

**Boussadia, B., Younessi, B., Zaimen, A.2022.** Risques toxicologiques des additifs alimentaires dans la wilaya de Jijel (Mémoire dissertation, Université de Jijel).

**Burrows, A. 2009.** Palette of Our Palates: A Brief History of Food Coloring and Its Regulation; *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 8, 394-408.

**-C-**

**CEC (Commission EuropéenneetConseil).2008.**Regulation (EC) No. 1333/2008 – regulation on food additives, annex I, point 2. *Off. J. Eur. Union* L354, 16.

**Cemek,M., Büyükokuroğlu,M.E., Sertkaya,G.F., Alpdagtaş, S., Hazini,A., Önül,A., Sadık Göneş, S.2014.** Effects of Food Color Additiveson Antioxidant Functions and Bioelement Contents of Liver, Kidney and Brain Tissues in Rats. *Journal. Food and Nutr. Res.* 2 (10), 686-691.

**Chen, H.2006.** Recent advances in azo dye degrading enzyme research; *Curr; Protein Pept. Sci* 7, 101–111.

**Chequer, F.M.D., Lizier, T.M., de Felicio, R., Zanoni, M.V.B., Debonsi, H.M., Lopes, N.P., Marcos, R., de Oliveira, D.P .2011.** Analyses of the genotoxic and mutagenic potential of the products formed after the biotransformation of the azo dye Disperse Red. *Toxicology; in vitro.*25, 2054-2063.

**Chung, K.T., Fulk, G.E., Andrews, A.W. 1981.** Mutagenicity testing of some commonly used dyes. *Appl Environ Microbiologie.* 42, 641-648.

**Chung, K.T., Stevens, J.R.E., Cerniglia, C.E.1992.** The reduction of dyes by the intestinal microflora. *Critique Rev Microbiologie.* 18, (3), 175-190.

**Collins, T.F., Black, T.N., O'Donnell, M.W.J., Bulhack, P.1992.** Study of the teratogenic potential of FD and C yellow No. 5 when given in drinking water. Food Chemical. Toxicology. 30(4), 263-268.

**Coultate , T., Blackburn, R.S.2018.** Food colorants: their past, present and future; Coloration Technology. 134 (3), 165-186.

**Custot, F.1978.**La coloration des denrées alimentaires et l'information des consommateurs. Mdd. Nutr. 14, 343-347.

**-D-**

**De Andrade, F. I., Guedes, M. I. F., Vieira, I. G. P., Mendes, F. N. P., Rodrigues, P. A. S., Maia, C. S. C., Ávilaa, M. M. M., Ribeiro, L. M.2014.** Determination of synthetic food dyes in commercial soft drinks by TLC and ion-pair HPLC. Food Chemical. 157, 193–198.

**De AragãoUmbuzeiro, G., Freeman, H., Warren, S. H., Kummrow, F.,et Claxton, L. D. 2005.** Mutagenicity evaluation of the commercial product CI Disperse Blue 291 using different protocols of the Salmonella assay. Food and chemical toxicology, 43(1), 49-56.

**De Boer, L. 2014.** Biotechnological production of colorants; Adv. Biochemistry. Eng. Biotechnology. 143, 51–89.

**Demirağ,K., Uysal,V. 2006.** Renklendiriciler In: Altuğ T, editor; Gıdakatkımmaddeleri; Meta Basım, İzmir.169-191.

**Demirkol, O., Zhang, X., Ercal, N. 2012.**Oxidative effects of Tartrazine (CAS No 1934-21-0) and New Coccin (CAS No. 2611-82-7) azo dyes on CHO cells. Journal. Verbr. Lebensm.7, 229–236.

**DEPA (Danish Environmental Protection Agency).2000.** Survey of azo colorants in Denmark, Toxicity and fate of azo dyes.

**Dinç, E., Baydan, E., Kanbur, M., Onur, F.2002.** Spectrophotometric multicomponent determination of sunset yellow, tartrazine and allura red in soft drink powder by double divisor-ratio spectra derivative, inverse least-squares and principal component regression methods. Talanta .58, 579–594.

**Downham, A., Collins, P. 2000.** Colouring our foods in the last and next millennium. International journal of food science et technologie. 35(1), 5-22.

**DR-12-VMC. 2009.** Programme d'accréditation des laboratoires d'analyse. Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec.9, 23-27.

**Drumm, F. C., De Oliveira, J. S., Foletto, E. L., Dotto, G. L., Moraes Flores, E. M., Peters Enders, M. S., Janh, S. L. 2018.** Response surface methodology approach for the optimization of tartrazine removal by heterogeneous photo-Fenton process using mesostructured Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-supported ZSM-5 prepared by chitin-templating. *Chemical Engineering Communications*.205(4),445-455.

**-E-**

**EFSA (Autorité Européenne de Sécurité des Aliments).2008c.** Panel on Food Additives and Nutrient Sources. Scientific Opinion on the réévaluation Tartrazine (E 102); *EFSA Journal*. 7(11), 1331.

**EFSA.2009.**Updates safety advice on six food colours. Retrieved from <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/091112>.

**EFSA ANS Panel (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food) .2009.** Scientific Opinion on the re-evaluation of the tartrazine (E 102). *EFSA Journal*. 7(11), 1331.

**Eines quantitative Analyse verfahrens, K. Z. A. 2010.** Protocole de caractérisation en vue de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude.

**Elekima, I., Nwachuku, O.E., Nduka, N., Nwanjo, H.U.,Ukwukwu, D.2019.** Biochemical and histological changes associated with azo food dye (tartrazine) in male albino rats; *Asian J Res Biochemistry*.1-14.

**Erdemli, Z., Altinoz, E., Erdemli, M.E., Gul, M., Bag, H.G., Gul, S.2021.** Ameliorative effects of crocin on tartrazine dye–induced pancreatic adverse effects: a biochemical and histological study; *Environmental Science and Pollution Research*.28 (2), 2209- 2218.

**EU Directive.2008.**Available online at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32008R1333>.

**European Food Safety Authority (EFSA) .2008.** Assessment of the results of the study by McCann et al., 2007, on the effect of some colors and sodium benzoate on children's behaviour.

Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC). EFSA Journal. 6(3), 660, 54.

**-F-**

**FDA (Food and Drug Administration) U.S. 2018a.** Color Additives Questions and Answers for Consumers. FDA website. <https://www.fda.gov/food/food-additives-petitions/color-additives-questions-and-answers-consumers>. Updated January 4.

**FDA (Food and Drug Administration) U.S. 2000.**Guidance for Industry and Other Stakeholders: Toxicological Principles for the Safety Assessment of Food Ingredients. Redbook, 1-285.

**FDA (Food and Drug Administration).2010.**US Department of Health and Human Services: Food ingredients and colors. International Food Information Council (IFIC) and US Food and drug administration. <https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging/overview-food-ingredients-additives-colors>

**Feng, F., Zhao, Y., Yong, W., Sun, L., Jiang, G., Chu, X.2011.** Highly sensitive and accurate screening of 40 dyes in soft drinks by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. Journal. Chromatogramme. 879, 1813–1818.

**Francis, F. J. 2002.** Food coloring. Colour in food: Improving quality; 16, 297-330.

**Franciscon, E., Zille ,A., Fantinatti-Garboggini,F., Silva ,I.S., Cavaco-Paulo, A., Durrant,L.R .2009.**Microaerophilic–aerobic sequential decolourization/biodegradation of textile azo dyes by a facultative Klebsiella sp. Strain VN-31; Process, Biochemistry .44, 446–452.

**-G-**

**Gaboriaud-Kolar, N., Nam, S., Skaltsounis, A.L. 2014.** A colorful history: the evolution of indigoids. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. 99, 69-145.

**Gan, T., Sun, J., Meng, W., Song, L., Zhang, Y.2013.** Electrochemical sensor based on graphene and mesoporous TiO<sub>2</sub> for the simultaneous determination of trace colorant in food. Food Chem. 141, 3731–3737.

**Gao, Y., Li, C., Shen, J., Yin, H., An, X., Jin, H.2011.** Effect of food azo dye tartrazine on learning and memory functions in mice and rats, and the possible mechanisms involved. *Journal. Food Science.* 76(6), 125-129.

**Garfield, S.2002.** Mauve: how one man invented a color that changed the world. WW Norton et Company.

**Gholami, Z., Marhamatizadeh, M. H., Yousefinejad, S., Rashedinia, M.,Mazloomi, S. M. 2021.** Vortex-assisted dispersive liquidliquidmicroextraction based on hydrophobic deep eutectic solvent for the simultaneous identification of eight synthetic dyes in jellies and drinks using HPLC-PDA. *Microchemical Journal.* 170, 106671.

**Gosetti, F., Frascarolo, P., Mazzucco, E., Gianotti, V., Bottaro, M., etGennaro, M. C. 2008.** Photodegradation of E110 and E122 dyes in a commercial aperitif: A high performance liquid chromatography–diode array–tandem mass spectrometry study. *Journal of Chromatography.* 1202, 58–63.

**Green, F. J.1990.** Sigma-Aldrich handbook of stains, dyes, and indicators. Aldrich Chemical Co.

**Guivarch, E.2004.** Traitement des polluants organiques en milieux aqueux par procédé électrochimique d'oxydation avancée" Electro-Fenton": application à la minéralisation des colorants synthétiques (Doctoral dissertation, Marne-la-Vallée).

**Gultekin, F., Doguc, D.K. 2013.** Allergic and immunologic reactions to food additives.Clin Rev Allergy Immunology. 45(1), 6-29.

**Gürses ,A ., Açıkıldız, M., Güneş,k ., Gürses.M.S.2016.** Classification of dye and pigments. *Dyes and Pigments,* Springer, 31-45.

*-H-*

**Ha, M. S., Ha, S.-D., Choi, S.-H., Bae, D. H.2013.**Exposure assessment of synthetic colours approved in Korea.*Food Additives and Contaminants.* 30(4), 643–653.

**Hajimahmoodi, M., Afsharimanesh,M., Moghaddam, G., Sadeghi, N., Oveisi, M. R., Jannat, B., Pirhadi, E., Zamani, M. F., Kanan, H.2013.** Determination of eight synthetic dyes in food stuffs by green liquid chromatography. *Food Additif. Contam.* 30(5), 780– 785.

**Harp, B., Barrows, J.2015.** US regulations of color additives in food; "Colour Additives for Foods and Beverages"; M.J. Scotter; Amsterdam; Elsevier.

**He, Y., Lee, H.K.1997.** Liquid-phase microextraction in a single drop of organic solvent by using a conventional microsyringe. Anal. Chemical. 69, 4634–4640.

**Heid, C., Holoubek, K., Klein, R.1973.** “100 JahreSchwefelfarbstoffe” [100 Years of Sulfur Dyes], MelliandTextilber . Int. 54, 1314-1327.

**Himri, I., Bellahcen, S., Souna, F., Belmekki, F., Aziz, M., Bnouham, M., Zoheir, J., Berkia, Z., Mekhfi, H., Saalaoui, E.2011.** A 90 day oral toxicity study of tartrazine, a synthetic food dye, in wistar rats. Int. J. Pharm. Sci. 3, 159-169.

**Hosu, A., Cimpoiu, C. 2017.** Thin-layer chromatography applied in quality assessment of beverages derived from fruits. Journal of Liquid Chromatography et Related Technologies. 40(5-6), 239-246.

**Huang, H.Y., Chiu, C. W., Sue, S. L., Cheng, C. F.2003.** Analysis of food colorants by capillary electrophoresis with large-volume sample stacking. J. Chromatogram.995, 29–36.

**Hunjet, A., Vuk, S.2017.**The psychological impact of colors in marketing. International Journal VallisAurea. 3(2), 2017–2054.

**-J-**

**Iranian National Standardization Organization (INSO). 2013.** Permitted food additives - Food colors -List and general specifications.5 edition, 740.

**ISO 5725. 1994.** Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure Part-1: Principes généraux et définitions.

**ISO/CEI 17025.2005 .**Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais.

**-J-**

**Jain, R., Bhargava, M.,Sharma, N.2003.** Electrochemical studies on a pharmaceutical azo dye: Tartrazine. Industrial and engineering chemistry research. 42(2), 243-247.



**Janiszewska-Turak, E., Pisarska, A., Krolczyk, J.B. 2016.** Natural food pigments application in food products; Nauka Przyroda Technologie.1-13.

**Jantathai, Srinual.,Manatchaya, Sungsi-in., Amornrat, Mukprasirt., Klaus, Duerrschmid.2014.** Sensory expectations and perceptions of Austrian and Thai consumers: A case study with six colored Thai desserts, Food Research International. (64), 65-73.

**Jeannot, M. A., Cantwell, F. F.1996.** Solvent microextraction into a single drop. Anal. Chemical. 68, 2236–2240.

**Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA).1964.** Specifications for identity and purity and toxicological evaluation of food colours. In: FAO Nutrition Meetings Report Series No. 38B. WHO, Geneva.

**Journal officiel de l'Union Européenne (JOUE) .2012.** Règlement (UE) No 231/2012 de la commission.

**JRC (Joint Research Centre).2015.** Provision of scientific and technical support with respect to the classification of extracts/concentrates with colouring properties either as food colors (food additives falling under Regulation (EC) No 1333/2008) or colouring foods.

*-K-*

**Kapor, M.A.,Yamanaka, H., Carneiro, P.A, Zanoni, M.V.B. 2001.** Electroanalise de colorants alimenticios: Determinaçãode indigo carmin e tartrazine. Sao Paulo; Science Brazil. 26, 100-195.

**Khanavi, M., Hajimahmoodi, M.,Ranjbar, A. M., Oveisi, M. R.,Ardekani, M. R. S., Mogaddam, G.2011.** Development of a green chromatographic method for simultaneous determination of food colorants. Food Anal. Methods. 5, 408–415.

**Khera, K. S., Munro, I. C., Radomski, J. L. 1979.** A review of the specifications and toxicity of synthetic food colors permitted in Canada. CRC critical reviews in toxicology, 6(2), 81-133.

**Kiseleva, M. G., Pimenova, V. V.,Eller, K. I.2003.**Optimization of conditions for the HPLC determination of synthetic dyes in food. Journal of Analytical Chemistry. 58(7), 685–690.

**Kobun, R., Siddiquee, S., Shaarani, S. M. D.2016.** Sensitive Determination of Tartrazine (E 102) Based on Chitosan/Nanoparticles/MWCNTs Modified Gold Electrode in Food and Beverage Products. Trans. Sci. Technology. 3(1-2), 176 -180.

**Kokosa, J. M. 2013.** Advances in solvent-microextraction techniques. Trends Anal. Chemical. 43, 2–13.

**Kuno, N., Mizutani, T. 2005.** Influence of synthetic and natural food dyes on activities of CYP2A6, UGT1A6, and UGT2B7. Journal of Toxicology and Environmental Health. 68 (16), 1431–1444.

**-ℒ-**

**Lakshmi, G. C. 2014.** Food Coloring: The Natural Way; Journal of Chemical Science. 4(2), 87- 96.

**Lawal, A., Suleiman, N., Abdulkarim, S. 2020.** The spectrophotometric determination of tartrazine in some selected beverages: a case study of katsina town, nigerea. Fudma journal of science .4(3), 685-689.

**Lehto, S., Buchweitzb, M., Klimmb, A., Straßburgerb, R., Bechtolda, C., Ulbertha, F. 2017.** Comparison of food colour regulations in the EU and the US. Food Additives and Contaminants. 34(3), 335-355.

**Levisalles, J., Castro, B., Caubère, P., Josefowicz, M. 1974.** « Chimie organique, 3. Composés organiques complexes » ; Editions Flammarion Sciences .Paris 6<sup>e</sup>, 232-235.

**Li, Y1., Wei, H., Liu, R. 2014.** A probe to study the toxic interaction of tartrazine with bovine hemoglobin at the molecular level. Luminescence. 29(2), 195-200.

**Lim, S.L., Chu, W.L., Phang, S.M. 2010.** Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater, Bioresour; Technology. 1, 7314–7322.

**Lipskikh, O.I., Korotkova, E.I., Khristunova, Ye.P., Berek, J., Kratochvil, B. 2018.** Sensors for voltammetric determination of food azo dyes - a critical review Electrochemistry. 260, 974-985.

**Llamas, N.E., Garrido, M., Di Nezio, M.S., Fernández Band, B.S. 2009.** Second order advantage in the determination of amaranth; sunset yellow FCF and tartrazine by UV-visible and multivariate curve resolution-alternating least squares. 655(1-2), 38-42.

**López-de-Alba, P., López-Martínez, L., Cerdá, V., De-León-Rodríguez, L. 2001.** Simultaneous determination of tartrazine, sunset yellow and allura red in commercial soft drinks by multivariate spectral analysis. Química Analítica, 20, 63–72.

**Lord, H. L., Rajabi, M., Safari, S., Pawliszyn, J.2007.**A study of the performance characteristics of immunoaffinity solid phase microextraction probes for extraction of a range of benzodiazepines. *Journal. Pharmacology. Biomed.* 44, 506–519.

*-M-*

**Ma, K., Li, X. J., Wang, H. F., Zhao, M.2015.** Rapid and sensitive method for the determination of additives in red wine by Ultra-performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry.*Food Anal. Methods.* 8, 203–212.

**Madhava Naidu, M.,Sowbhagya, H. B.2012.** Technological advances in food colors. *Chemical Industry Digest*, 79-88.

**Maekawa, A., Matsuoka, C., Onodera, H., Tanigawa, H., Furuta, K., Kanno, J., Ogiu, T .1987.** Lack of carcinogenicity of tartrazine (FD and C Yellow No. 5) in the F344 rat. *Chemical. Toxicology.* 25(12), 891-896.

**Marković, M., Marinović, S., Mudrinić, T., Mojović, Z., Ajduković, M., Milutinović-Nikolić, A., Banković, P.2018.** Cobalt impregnated pillared montmorillonite in the peroxymonosulfate induced catalytic oxidation of tartrazine. *Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis.* 125 ,827-841.

**Marmion, D.2001.** Colorants for Food. In *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*; John Wiley et Sons: New York.

**Martin, F., Oberson, J. M., Meschiari, M., Munari, C.2016.** Determination of 18 water-soluble artificial dyes by LC-MS in selected matrices. *Food Chemical.* 197, 1249–55.

**Masone, Diego.,Chanforan, Céline.2015.** Study on the interaction of artificial and natural food colorants with human serum albumin: A computational point of view, *Computational Biology and Chemistry.* (56), 152-158.

**McAvoy , S. 2014.** Global regulations of food colors; *The Manufacturing Confectioner.*77-86.

**McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., Kitchin, E., Lok , K., Porteous, L., Prince, E., Sonuga-Barke, E., Warner, J.O., tevenson, J.2007.** Food additives and hyperactive behavior in 3- year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet* 370 (9598), 1560-7.

- McGee, R., Prior, M., Williams, S., Smart, D., Sanson, A.2002.** The longtermsignificance of teacher-rated hyperactivity and reading ability in childhood: fi ndings from two longitudinal studies. *Journal. Child Psychol. Psychiatry.* 43, 1004-17.
- McLaren, K.1983.** *The Colour Science of Dyes and Pigments*; Adam Hilger Ltd.
- Meggos, H.1995.** Food colors: an international perspective; *The Manufacturing Confectioner.* 59–65.
- Mehedi, N., Ainad-Tabet, S., Mokrane, N., Addou, S., Zaoui, C., Kheroua, O., Saidi, D.2009.** Reproductive Toxicology of Tartrazine (FD and C Yellow No. 5) in Swiss Albino Mice. *Am Journal Pharmacology Toxicology.* 4(4), 130-135
- Minioti, K. S., Sakellariou, C. F., Thomaidis, N. S. 2007.** Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase highperformance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Analytical Chemical Act.* 583, 103–110.
- Mittal, A., Kurup, L., Mittal, J. 2007.** Freundlich and langmuir adsorption isotherms and kinetics for the removal of tartrazine from aqueous solutions using hen feathers. *Journal of Hazardous Materials .*146(1–2), 243-248.
- Mohamed, A.A., Galal, A.A., Elewa, Y.H .2015.** Comparative protective effects of royal jelly and cod liver oil against neurotoxic impact of tartrazine on male rat pups brain. *Act Histochemistry.* 117 (7), 649-58.
- Moutinho, I.L., Bertges, L.C., Assis, R.V. 2007.** Prolonged use of the food dye tartrazine (FD and C yellow n degrees 5) and its effects on the gastric mucosa of Wistar rats; *Brazilian J. Biology.* 67 (1), 141-145.
- Mpountoukas, P1., Pantazaki, A., Kostareli, E., Christodoulou, P., Kareli, D., Poliliou, S., Mourelatos, C., Lambropoulou, V., Lialiaris, T.2010.** Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants amaranth, erythrosine and tartrazine. *Food Chemical. Toxicology.* 48(10), 2934-44.
- Multon, J.L. 1998.** *Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires ; 3ème édition ; Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires, Edition TEC et DOC.*746.
- Murdoch, R.D., Pollock, I., Naeem, S. 1987.** Tartrazine induced histamine release in vivo in normal subjects. *Journal of the Royal College of Physicians of London,* 21(4), 257–261.

**-N-**

**Naseem, Z., Zahra, F., Imran, K., Khalid, S. 2015.** Identification of synthetic food dyes in beverages by thin layer chromatography. *Pakistan Journal of Food Sciences*. 25(4), 178-181.

**NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2016.** Pub Chem Compound Database.

**Newsome, A. G., Culver, C. A., van Breemen, R. B. 2014.** Nature's palette: the search for natural blue colorants. *Journal. Agriculture; Food Chemical*. 62, 6498-6511.

**-O-**

**Olgun, F. A. O., Ozturk, B. D., Apak, R. 2012.** Determination of synthetic food colorants in watersoluble beverages individually by HPLC and totally by Ce (IV)-Oxidative Spectrophotometry. *Food Anal. Methods*. 5, 1335–41.

**Oplatowska-Stachowiaka, M., Elliott, C. T. 2016.** Food Colours: Existing and emerging food safety concerns. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 57(3), 524–548

**Organisation Mondial de la Santé (OMS). 2011.** Codex Alimentarius: general standard for food additives.

**Ouyang, G., Pawliszyn, J. 2008.** A critical review in calibration methods for solid-phase microextraction. *Anal. Chemical. Act*. 627, 184–197.

**-P-**

**Pan, X.L., Qin, P., Liu, R., Wang, J. 2011.** Characterizing the Interaction between tartrazine and two serum albumins by a hybrid spectroscopic approach. *Journal Agri. Food Chemical*. 59(12), 6650- 6656.

**Pávai, M., Szabó, T., Paszternák, A. 2015.** The potential use of cellophane test strips for the quick determination of food colors. *Cellulose*. 22, 1883–1891.

**Potera, C. 2010.** The artificial food dye blues; *Environ; Health Perspect*. 118(10), 428.

**Poul, M., Jarry, G., OuldElhkim, M., Poul, J.M. 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.

**Prado, M. A., Boas, L. F. V., Bronze, M. R., Godoy, H. T. 2006.** Validation of methodology for simultaneous determination of synthetic dyes in alcoholic beverages by capillary electrophoresis. *Journal. Chromatogramme.*1136, 231–236.

**Prosen, H., Zupancić-Kralj, L. 1999.** Solid-phase microextraction. *Trends Anal. Chemical.*18, 272–282.

**Purba, M. K., Agrawal, N., Shukla, S. K. 2015.** “Detection of nonpermitted food colors in edibles,” *Journal of Forensic Research.*

*-Q-*

**Qi, P., Lin, Z. H., Chen, G. Y., Xiao, J., Liang, Z. A., Luo, L. N., Zhou, J., Zhang, X. w. 2015.** Fast and simultaneous determination of eleven synthetic color additives in flour and meat products by liquid chromatography coupled with diode-array detector and tandem mass spectrometry. *Food Chemistry,* 181, 101–110.

*-R-*

**Rajabi, M., Bazregar, M., Daneshfar, A., Asghari, A. 2015.** Comparison of air-agitated liquid–liquid microextraction and ultrasound-assisted emulsification microextraction for polycyclic aromatic hydrocarbons determination in hookah water. *Journal.*38,2496–2502.

**Rajabi, M., Ghanbari, H., Barfi, B., Asghari, A., et Haji-Esfandiari, S. 2014.** Ionic liquid-based ultrasound-assisted surfactant-emulsified microextraction for simultaneous determination of three important flavoring compounds in plant extracts and urine samples. *Food research international.* 62, 761-770.

**Ramos-Souza, C., Bandoni, D. H., Bragotto, A. P. A., De Rosso, V. V. 2022.** Risk assessment of azodyes as food additives: Revision and discussion of data gaps toward their improvement. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 22, 380-407.

**Rezaei, M., Safar Abadi, F., Sharifi, Z., Karimi, F., Alimohammadi, M., Susan Abadi, R. A., Roostaei, H. 2015.** Assessment of synthetic dyes in food stuffs produced in confectioneries and restaurants in Arak. *Iran. Thrita.* 4(1), e22776

**Romieu, I. 2005.** Diet in respiratory disease Diet as a protective factor. *Breathe.* 2(2), 155-60

**Rovina, K., Prabakaran, P. P., Siddiquee, S., Shaarani, S. M. 2016.** Methods for the analysis of sunset yellow FCF (E110) in food and beverage products-a review. *Trends in Analytical Chemistry*. 85, 47–56.

**Rovina, K., Siddiquee, S., Shaarani, S. M. 2017.** A review of extraction and analytical methods for the determination of tartrazine (E 102) in foodstuffs; *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 47(4), 309-324.

**Roxon, J.J., Ryan, A.J., Wright, S.E. 1967.** Reduction of water-soluble azo dyes by intestinal bacteria. *Food Cosmet Toxicology*. 5 (3), 367-369.

-S-

**Sahraei, R., Farmany, A., Mortazavi, S. S. 2013.** A nanosilver-based spectrophotometry method for sensitive determination of tartrazine in food samples. *Food Chemical*. 138, 1239–1242.

**Sasaki, Y.F., Sekihash, K., Izumiyama, F., Nishidate, E., Saga, A., Ishida, K., Tsuda, S. 2002.** The Comet Assay with Multiple Mouse Organs: Comparison of Comet Assay Results and Carcinogenicity with 208 Chemicals selected from the IARC Monographs and US NTP Carcinogenicity Database. *Crit. Rev.* 30(6), 629-799.

Saxena, B., Sharma, S. 2015. Food color induced hepatotoxicity in Swiss albino rats, *Rattus norvegicus*. *Toxicology*. 22(1), 152-157.

**SCFCAH (Standing Committee on the Food Chain and Animal Health) .2013.** Guidance notes on the classification of food extracts with coloring properties, Version 1.

**Schenone, A. V., Culzoni, M. J., Marsili, N. R., Goicoechea, H. C. 2013.** Determination of tartrazine in beverage samples by stopped-flow analysis and three-way multivariate calibration of non-linear kinetic-spectrophotometric data. *Food chemistry*. 138(2-3), 1928-1935.

**Schoefs, B. 2002.** Chlorophyll and carotenoid analysis in food products; Properties of the pigments and methods of analysis; *Trends Food Science; Technology*. 13, 361–371.

**Schoefs, B. 2003.** Chlorophyll and carotenoid analysis in food products; Part II. A case by case. *Trends Anal; Chemical*. 22, 335–339.

**Schoefs, B. 2005.** Plant pigments: properties, analysis, degradation; *Adv; Food Nutr*. 49, 41–91.

**Scotter, M .2015.** Overview of EU regulations and safety assessment for food colors; "Colors Additives for Foods and Beverages"; M.J. Scotter; Amsterdam; Elsevier.

**Senthil, K.R., Ponmozhi, M., Viswanathan, P.2003.** Activity of Cassia auriculata leaf extract in rats with alcoholic liver injury. *Journal. Nutr. Biochemistry.* 14(8), 452-458.

**Serdar, M., Knežević, Z.2009.** Simultaneous LC analysis of food dyes in soft drinks. *Chromatography.* 70, 1519–1521.

**Sewwandi, S. D. C., Arampath, P. C., Silva, A. B. G., et Jayatissa, R. 2020.** Determination and comparative study of sugars and synthetic colorants in commercial branded fruit juice products. *Journal of Food Quality.*1-11.

**Shah, M.2014.**Effective treatment systems for azo dye degradation: a joint venture between physico-chemical and microbiological process. *Journal. Environ. Biodégradation.* 2, 231-242.

**Shazia, Q., Mohammad, Z.H., Rahman, T., Shekhar, H.U.2012.** Correlation of oxidative stress with serumtrace element levels and antioxidant enzyme status in beta thalassemia major. *Anemia.*270-923.

**Sherma, Joseph ., Rabel, Fred. 2018.** A review of thin layer chromatography methods for determination of authenticity of foods and dietary supplements, *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies.*

**Sigurdson, G. T., Tang, P., Giusti, M. M. 2017.** Natural Colorants: Food Colorants from Natural Sources. *Annual Review of Food Science and Technology.* 8(1), 261–280.

**Soares, B.M., Araújo, T.M., Ramos, J.A., Pinto, L.C., Khayat, B.M., Bahia, M.D., Montenegro, R.C., Burbano, R.M., Khayat, A.S.2015.** Effects on DNA repair in human lymphocytes exposed to the food dye tartrazine yellow. *Anti-cancer research.* 35(3), 1465-1474.

**Sorouraddin, M. H., Rostami, A., Saadati, M.2011.** A simple and portable multi-color light emitting diode based photocolourimeter for the analysis of mixtures of five common food dyes. *Food Chemistry .* 127, 308–313.

**Souheyla, C. 2010.** Structures et propriétés physico-chimiques de substances colorantes de synthèse. Mémoire Présenté de Magister. Université Mentouri Constantine. 94.

**Soylak, M., Cihan, Z.2013.** Solid-phase extraction of tartrazine on multiwalled carbon nanotubes for separation and enrichment. *Toxicology. Environ. Chemical.* 95(4), 559–566.



**Stevens, L. J., Kuczek, T., Burgess, J. R., Stochelski, M. A., Arnold, L. E., Galland, L. 2013.** Mechanisms of behavioral, atopic, and other reactions to artificial food colors in children. *Nutrition Reviews*. 71(5), 1–281.

**Stevens, L.J., Kuczek, T., Burgess, J.R., Stochelski, M.A., Arnold, L.E., Galland, L. 2013.** Mechanisms of behavioral, atopic, and other reactions to artificial food colors in children. *Nutrition Reviews*. 1(5), 268-281.

**Stich, E. 2016.** Food color and coloring food: Quality, differentiation and regulatory requirements in the European Union and the United States; "Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages. Industrial Applications for Improving Food Color"; R. Carle and R. Schweiggert; Amsterdam; Elsevier. 3-27.

**Stozhko, N.Y., Khamzina, E.I., Bukharinova, M.A., Tarasov, A.V. 2022.** An Electrochemical Sensor Based on Carbon Paper Modified with Graphite Powder for Sensitive Determination of Sunset Yellow and Tartrazine in Drinks. 22, 4092.

*-T-*

**Rejczak, T., Tuzimski, T. 2017.** Application of high-performance liquid chromatography with diode array detector for simultaneous determination of 11 synthetic dyes in selected beverages and foodstuffs. *Food Analytical Methods*. 10, 3572-3588.

**Tafer, R. 2007.** « Photodégradation directe et induite de micropolluants organiques (cas d'un colorant azoïque) » ; Mémoire de Magister ; Université Mentouri– Constantine.

**Tanaka, T. 2006.** Reproductive and neurobehavioral toxicity study of Tartrazine administered to mice in the diet; *Food Chemical; Toxicology*. 44, 179-187.

**Tang, T. X., Xu, X. J., Wang, D. M., Zhao, Z. M., Zhu, L. P., et Yang, D. P. 2015.** A rapid and green limit test method for five synthetic colorants in foods using polyamide thin-layer chromatography. *Food analytical methods*. 8, 459-466.

**Tang, T. X., Xu, X. J., Wang, D. M., Zhao, Z. M., Zhu, L. P., Yang, D. P. 2014.** A rapid and green limit test method for five synthetic colorants in foods using Polyamide Thin-layer Chromatography. *Food Anal. Methods*. 8, 459–66.

**Thompson, C. O., Trenerry, V. C. 1995.** Determination of synthetic colors in confectionery and cordials by micellar electro kinetic capillary chromatography. *Journal of Chromatography*. 704, 195–201.

**Tripathi, M., Khanna, S. K., Das, M. 2004.** A novel method for the determination of synthetic colors in ice cream samples. *Journal of AOAC international*. 87(3), 657-663.

**Tripathi, M., Khanna, S. K., Das, M. 2007.** Surveillance on use of synthetic colors in eatables vis à vis Prevention of Food Adulteration Act of India. *Food Control*. 18(3), 211-219.

**Truhaut, R.1991.** Conférence à la Faculté de Monastir (Tunisie) ; *Revue microbiologique et Hygiène alimentaire*.3, (6).

**Tsai, C. F., Kuo, C. H., Shih, D. Y. C.2015.** Determination of 20 synthetic dyes in chili powders and syrup-preserved fruits by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J. Food Drug Anal.* 23, 453–462.

**Tuormaa, T. E.1994.**“The adverse effects of food additives on health: a review of the literature with a special emphasis on childhood hyperactivity,” *Journal of Orthomolecular Medicine*, 4(9), 225–243.

**Tuzimski, T., Sherma, J.2006.**Thin-Layer Chromatography. *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation*.1-26.

**Tyagi, O.D., Yadav, M. 2001.** A textbook of synthetic dyes. Anmol Publications PVT Ltd.1 304.

**-U-**

**Upadhyay, A., Upadhyay, K., Nath, N.2009.**Biophysical Chemistry (Principals and Techniques). Girgaon, Mumbai, India: Himalaya Pub House.

**-V-**

**Vachirapatama, N., Mahajaroensiri, J., Visessanguan, W.2008.**Identification and determination of seven synthetic dyes in foodstuffs and soft drinks on monolithic C18 column by high performance liquid chromatography. *Journal of Food and Drug Analysis* .16(5), 77–82.

**Vidotti, E. C., Costa, W. F., Oliveira, C. C.2006.** Development of green chromatographic methods for determination of colorants in food samples. *Talanta*. 68, 516–521.

-W-

**Walford, J.1980.** « Historical Development of Food Colouration »; Developments in Food Colours, Londres; Applied Science Publishers.1, 1–25.

**Walton, K., Walker, R., Sandt, J., Castell, J. 1999.** The application of in vitro data in the derivation of the acceptable daily intake of food additives. Food and Chemical Toxicology .37(12), 1175-1197

**Watabe, T., Ozawa, N., Kobayashi, F., Kurata, H. 1980.** Reduction of sulphonated water-soluble azo dyes by micro-organisms from human faeces. Food Cosmetique Toxicology.18, 349-352.

**Wrolstad, R.E., Culver, C.A.2012.** Alternatives to those artificial FD and C food colorants; Annals. Rev; Food Science. Technology. 3, 59–77.

**Wu, H., Gao, N., Zhang, L., Li, Y., Shi, Y., Du, L.2015.**Automated magnetic Solid-Phase Extraction for synthetic colorant determination. Food Anal. Methods. 9, 614–623.

**Wu, H., Guo, J. B., Du, L. M., Tian, H., Hao, C. X., Wang, Z. F., et al. 2013.** A rapid shaking-based ionic liquid dispersive liquid phase micro extraction for the simultaneous determination of six synthetic food colorants in soft drinks, sugar-and gelatin-based confectionery by high-performance liquid chromatography.Food Chemistry. 141, 182–186.

-X-

**Xu, Y.1996.** Tutorial: Capillary electrophoresis. The Chemical Educator. 1(2), 11–14.

-Y-

**Yamjala, K., Nainar, M. S., Ramiseti, N. R.2015.**Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry – A review. Food Chemical. 192, 813–824.

**Ye, X., Du, Y., Lu, D., Wang, C.2013.** Fabrication of  $\beta$ -cyclodextrin-coated poly (diallyldimethylammonium chloride)-functionalized grapheme composite film modified glassy carbon-rotating disk electrode and its application for simultaneous electrochemical determination colorants of Sunset yellow and Tartrazine. Anal. Chemical. 779, 22– 34.

**Yehe, M. D., Able, N. C., Kouame, J. K., Kacouye, P., Gbassi, G. K. 2022.** Dosage de la tartrazine par spectrophotométrie UV-Visible dans les boissons gazeuses. *Revue. Science. Technology.* 40, 308 - 319

**-Z-**

**Zhao, L. J., Zeng, B. Z., Zhao, F. Q. 2014.** Electrochemical determination of tartrazine using a molecularly imprinted polymer – multiwalled carbon nanotubes - ionic liquid supported nanoparticles composite film coated electrode. *Electrochemistry.* 146, 611–617.

## **Sites**

[1]. [www.additifs-alimentaires.net](http://www.additifs-alimentaires.net)

[2]. <http://www.bioltrop.fr>, Rubrique: [Techniques biochimiques](#). Consulter le 18/06/2023.

<b>Présenté par:</b> - Souyet Khawla - Souaadi Mouna	<b>Membres de jury :</b> <b>Présidente : Dr Khen I</b> <b>Examinatrice : Dr Bounnar A</b> <b>Encadreur : Dr Balli N</b> <b>Date de soutenance: 2023</b>
--	---

### Thème

## Contrôle de la qualité des aliments : Taux de colorants alimentaires autorisés en Algérie dans diverses matrices alimentaires commercialisées à Jijel.

### Résumé

Les colorants alimentaires synthétiques sont largement utilisés dans le secteur de l'industrie alimentaire. Parmi les aliments colorés, les boissons gazeuses figurent parmi les plus consommés en Algérie, particulièrement celles colorées par la tartrazine. Malgré la réglementation qui régit ce secteur afin de préserver la santé des consommateurs des effets toxiques, certains industriels ajoutent les colorants à des niveaux non autorisés pour amplifier l'attractivité de leurs produits. L'objectif fondamentale de la présente vise à évaluer qualitativement (par CCM) et quantitativement (par spectrophotométrie IV –Visible à 425 nm) la qualité de onze marques de boissons gazeuses de forte consommation concernant la tartrazine. Les résultats obtenus sont satisfaisants et confirment la présence de E102 mentionnée sur les étiquettes à l'exception de deux échantillons ; 5 et 11 qui se présentent sous forme de boisson de couleur blanchâtre. L'analyse de validation de cette approche permet de conclure qu'elle s'agit d'une méthode linéaire exacte et précise avec des critères de validation satisfaisants. Des contenus très élevés en E102 et qui dépassent la norme autorisée pour la consommation humaine a été trouvés pour les échantillons de trois marques 1, 2 et 8. Les autres marques (3, 4, 5, 6, 7, 8 et 11) ont montré de concentrations inférieures à 100 mg/l ce qui répond aux critères spécifiés par le comité mixte d'experts FAO/OMS. A contrario, les deux échantillons de deux marques codifiés 9 et 10 sélectionnés comme témoins négatifs sur la base de l'absence de tartrazine dans leur étiquetage ont montré des teneurs détectables (71,8±0,036 et 4,5±0,062 mg/l respectivement). Les résultats de la présente étude sont riches et tirent la sonnerie d'alarme sur le danger réel de la non-conformité à la norme de trois marques de boissons gazeuses fortement consommées localement. Une situation qui peut présenter des risques potentiels chez les personnes consommateurs de ces boissons.

**Mots clés :** colorants alimentaire, tartrazine, boissons gazeuses, spectrophotomètre UV-Visible, CCM.

### Abstract

Synthetic food colors are widely used in the food industry. Among the colorful foods, soft drinks are among the most consumed in Algeria, especially those colored by tartrazine. Despite the regulations governing this sector in order to protect the health of consumers from toxic effects, some manufacturers add dyes to unauthorized levels to amplify the attractiveness of their products. The fundamental objective of this document is to assess qualitatively (by CCM) and quantitatively (by IV –Visible spectrophotometry at 425 nm) the quality of eleven brands of high-consumption soft drinks for tartrazine. The results obtained are satisfactory and confirm the presence of E102 mentioned on the labels with the exception of two samples; 5 and 11, which are in the form of a whitish drink. The validation analysis of this approach concludes that it is an accurate and accurate linear method with satisfactory validation criteria. Very high E102 content exceeding the permitted standard for human consumption was found for samples of three brands 1, 2 and 8. Other brands (3, 4, 5, 6, 7, 8 and 11) showed concentrations below 100 mg/l, which met the criteria specified by the FAO/WHO Joint Expert Committee. Conversely, the two samples of two coded brands 9 and 10 selected as negative controls based on the absence of tartrazine in their labelling showed detectable levels (71.8± 0.036 and 4.5± 0.062 mg/l respectively). The results of this study are rich and sound the alarm about the real hazard of non-compliance with the standard of three brands of locally consumed soft drinks. A situation that may present potential risks for people who consume these beverages. Keywords: food colors, tartrazine, soft drinks, UV-Visible spectrophotometer, CCM.

### ملخص

تستخدم الملونات الغذائية الاصطناعية على نطاق واسع في صناعة الأغذية. من بين الأطعمة الملونة، تعد المشروبات الغازية من بين أكثر الاغذية الملونة استهلاكاً في الجزائر، وخاصة تلك الملونة بالترترازين. على الرغم من القوانين التي تحكم هذا القطاع من أجل حماية صحة المستهلكين من التأثيرات السامة، يضيف بعض المصنعين الملونات بمستويات غير تلك المصرح بها لزيادة جاذبية منتجاتهم. الهدف الأساسي لهذه الدراسة هو تقييم نوعي بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة وكمياً بواسطة مقياس الطيف المرئي للأشعة فوق البنفسجية عند 425 نانومتر، جودة إحدى عشرة علامة تجارية من المشروبات الغازية عالية الاستهلاك في التارترازين. نتائج التحليل النوعية المتحصل عليها مرضية وتؤكد وجود E102 مذكورة على بطاقات المنتجات باستثناء عينتين ؛ 5 و 11 و التي تظهر في شكل مشروب أبيض. ويخلص تحليل المصادقة على التحليل الكمي المنتهج إلى انه تحليل خطي دقيق و ذو معايير تحقق مرضية. تم العثور على محتوى E102 مرتفع للغاية يتجاوز المعيار المسموح به للاستهلاك البشري لعينات من ثلاث علامات تجارية 1 و 2 و 8. فيما أظهرت علامات تجارية أخرى (3 و 4 و 5 و 6 و 7 و 8 و 11) تركيزات تقل عن 100 ملغم/لتر تستوفي المعايير التي حددتها لجنة الخبراء المشتركة بين منظمة الأغذية والزراعة ومنظمة الصحة العالمية. وعلى العكس من ذلك، أظهرت عينتان من علامتين تجاريتين مشفرتين 9 و 10 تم اختيارهما كشواهد سلبية بناءً على عدم وجود الترترازين في توسيمهما مستويات قابلة للكشف (71.8 ± 0.036 و 4.5 ± 0.062 ملغم/لتر على التوالي). نتائج هذه الدراسة غنية وتدق ناقوس الخطر بشأن الخطر الحقيقي لعدم الامتثال لمعيار ثلاث علامات من المشروبات الغازية العالية الاستهلاك محلياً. موقف قد يشكل مخاطر محتملة للأشخاص الذين يستهلكون هذه المشروبات و خاصة الفئات الهشة مثل الأطفال.

الكلمات المفتاحية: ملونات غذائية، الترترازين، المشروبات الغازية مقياس الطيف المرئي للأشعة فوق البنفسجية، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.