



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ MENTOURI DE CONSTANTINE - FACULTÉ DES SCIENCES

## DEPARTEMENT DES SCIENCES VÉTÉRINAIRES

N° d'ordre : ...

Série : .....

### Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme

de Magister en médecine vétérinaire

Option : hygiène alimentaire

Spécialité : surveillance de la chaîne alimentaire de la filière viande

### THEME

**MISE AU POINT D'UNE TECHNIQUE D'EXTRACTION  
DES ELEMENTS TRACES METALLIQUES DANS  
LES PRODUITS DE LA MER ET LEURS DOSAGES  
PAR SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION  
ATOMIQUE**

Par : Mme. **NAKIB LYDIA**

Jury de soutenance

Président : **EL HADEF EL OKKIS**

PROFESSEUR (UMC)

Rapporteur : **MEHENNAOULS**

PROFESSEUR (UMB)

Examineur : **MEKROUD.A**

Maître de conférences (UMC)

Examineur : **MAAMACHE.B**

DOCTEUR (UMB)

**ANNEE UNIVERSITAIRE : 2009/2010**

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Celle qui a consacré sa vie et souffert pour veiller à mon bien être, à la source de ma réussite,  
à ma chère mère. Que dieu la garde.*

*Celui qui nous a quitté depuis une vingtaine d'années, mais qui est toujours présent dans  
mon cœur, à l'âme de mon père, j'espère qu'il est  
fier de moi.*

*Mon cher mari qui m'a soutenu : Djamil*

*Mon petit cœur : Rami.*

*Mes chers frère et sœurs : Sabrina, chérif, chafika et brahim.*

*Mes adorables petits neveux et nièces.*

*L'âme de ma belle mère.*

*Toute ma famille.*

*Mon collègue Ali Boumehres qui m'a beaucoup aidé.*

## *REMERCIEMENTS*

Ce travail a été réalisé au laboratoire d'Environnement, Santé et Production Animale (**E.S.P.A**) de la faculté des Sciences de l'université El-Hadj Lakhdar Batna.

Je tiens tout d'abord à remercier **Mr MEHENNAOUI SMAIL**, Professeur à l'université El-Hadj Lakhdar de Batna, pour m'avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. La qualité de sa formation et de ses conseils, l'attention et le temps qu'il m'a accordés, m'a permis de réaliser ces deux années de recherche dans les meilleures conditions.

Mes remerciements vont à monsieur **EL HADEF ELOKKI . S** professeur à l'université de Constantine pour l'honneur qu'il m'a fait de présider ce jury.

Je remercie également monsieur **MAAMACHE .B** maître de conférence à l'université de Batna qui m'a fait l'honneur de participer à ce jury et juger mon travail.

Je remercie également monsieur **MEKROUD .A** maître de conférence à l'université de Constantine pour l'honneur qu'il m'a fait d'examiner mon travail.

Je remercie très profondément madame **AFRI- MEHENNAOUI FATIMA ZOHRA** de m'avoir permis d'effectuer l'exercice d'intercalibration au sein de son laboratoire.

Mes remerciements vont à madame **ARAB .H**, madame **SELLAOUI .S** et à monsieur **ABDEL WAHEB** technicien du laboratoire pour leurs aides.

Toutefois, je n'oublie pas de remercier tous ceux qui ont participé de près comme de loin pour la réalisation de ce travail.

## SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	15
-------------------	----

### PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

#### CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES ELEMENTS TRACES METALLIQUES

1. Définition.....	18
2. Sources de pollutions par les ETM.....	19
2.1. Sources naturelles.....	19
2.2. Sources anthropiques.....	20
3. Spéciation et biodisponibilité des éléments traces en milieu marin.....	22
4. Devenir des ETM dans le milieu aquatique.....	23
4.1. Assimilation.....	23
4.2. Bioconcentration.....	24
4.3. Bioamplification.....	26
5. Effets des ETM sur la santé humaine.....	26
6. effets des métaux sur la vie aquatiques.....	28

#### CHAPITRE II : LES ELEMENTS TRACES METALLIQUES (CADMIUM, PLOMB, CUIVRE, ZINC, MANGANESE ET FER)

1. LE CADMIUM.....	29
1.1. Histoire.....	29
1.2. Propriétés.....	29
1.2.1. Propriétés physiques.....	29
1.2.2. Propriétés chimiques.....	30
1.2.3. Propriétés biologiques.....	30
1.3. Utilisation.....	30
1.4. Principales sources d'expositions.....	31
1.5. Comportement dans l'eau.....	31

1.6. Toxicité.....	31
1.6.1. Devenir dans l'organisme.....	31
1.6.2. Toxicité aiguë.....	32
1.6.3. Toxicité chronique.....	32
1.7. Biodisponibilité et toxicité chez les organismes aquatiques.....	34
1.8. Les metallothioneines.....	35
2. LE PLOMB.....	35
2.1. Histoire.....	35
2.2. Propriétés physico-chimiques du plomb.....	35
2.3. Sources naturelles et anthropiques.....	36
2.4. Comportement dans l'eau.....	36
2.5. Toxicité.....	37
2.5.1. Devenir dans l'organisme.....	37
2.5.2. Toxicité aiguë.....	37
2.5.3. Toxicité chronique.....	37
3. LE CUIVRE.....	39
3.1. Propriétés physico-chimiques.....	39
3.2. Propriétés biologiques.....	39
3.3. Utilisation.....	39
3.4. Sources naturelles et anthropiques.....	40
3.5. Comportement dans l'eau.....	40
3.6. Devenir dans l'organisme.....	41
3.6.1. Absorption.....	41
3.6.2. Distribution.....	41
3.6.3. Excrétion.....	41

4. LE ZINC.....	42
4.1. Propriétés biologiques.....	42
4.2. Sources naturelles et anthropiques.....	42
4.2.1. Sources naturelles .....	42
4.2.2. Sources anthropiques.....	42
4.3. Devenir dans l'organisme.....	43
4.3.1. Absorption.....	43
4.3.2. Distribution.....	43
4.3.3. Excrétion.....	43
4.4. Toxicité.....	43
5. LE MANGANESE.....	44
5.1. Propriétés physiques.....	44
5.2. Propriétés chimiques.....	44
5.3. Propriétés biologiques.....	44
5.4. Biodisponibilité et toxicité chez les organismes aquatiques.....	45
6. LE FER.....	45

### **CHAPITRE III : LA METHODE D'ANALYSE DES ELEMENTS TRACES METALLIQUES**

1. La Spectrophotométrie d'Absorption Atomique.....	46
1.1. Principe .....	46
1.2. Eléments constitutifs d'un spectrophotomètre d'absorption atomique.....	47
1.2.1. Une source de lumière.....	48
1.2.2. Un système de modulation du rayonnement émis par la source.....	50
1.2.3. Un atomiseur.....	50
1.2.4. Un monochromateur.....	54

1.2.5. Un photomultiplicateur.....	54
1.2.6. Un enregistreur.....	54
1.3. Avantages et inconvénients .....	54
1.4. Domaine d'application.....	54
2. Les paramètres à considérer lors de la validation de la méthode.....	55
2.1. Exactitude et justesse.....	55
2.2. Précision.....	55
2.3. Répétabilité.....	56
2.4. Reproductibilité .....	56
2.5. Spécificité ,Sensibilité et Linéarité.....	56
2.6. Limite de détection.....	56
2.7. Limite de quantification.....	57
2.8. Robustesse.....	57

## **CHAPITRE IV : LA MOULE BIOINDICATRICE DE LA CONTAMINATION METALLIQUE**

1. Choix de la moule comme bioindicatrice de la contamination métallique.....	58
2. Biologie de la moule « <i>Mytilus galloprovincialis</i> ».....	60
2.1. Systématique.....	60
2.2. Anatomie.....	60
2.3. Nutrition.....	62
2.4. Respiration.....	62
2.5. Reproduction.....	63
3. Processus physiologique de bioaccumulation des ETM chez la moule.....	63
3.1. Assimilation des ETM.....	63
3.2. Excrétion des ETM.....	64

3.3. Mécanisme de stockage des ETM.....	65
3.4. Mécanisme de détoxification.....	65
4. Les facteurs conditionnant la bioaccumulation des ETM chez la moule.....	65
4.1. Les facteurs biotiques.....	65
4.2. Les facteurs abiotiques.....	66

## **DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE**

### **CHAPITRE V MATERIEL ET METHODE**

1. Matériel.....	68
1.1. Nature et effectif des échantillons.....	68
1.2. Appareillage .....	69
1.2. Matériel pour la minéralisation.....	70
1.3. Autres Matériels.....	71
1.4. Les réactifs.....	72
2. Méthodes.....	72
2.1. Préparation du matériel.....	72
2.2. Préparation des échantillons avant analyse chimique.....	73
2.3. Préparation des solutions étalons et des réactifs.....	75
2.3.1. Préparations des solutions étalons.....	75
2.3.2. Préparation du réactif (eau régale) pour la digestion humide.....	76
2.4. Minéralisation des échantillons.....	76
2.4.1. Digestion humide par chauffage à reflux.....	77
2.4.2. La calcination sèche.....	78
2.4.3. Digestion acide par micro-ondes.....	79
3. Contrôle de la méthode analytique.....	81
3.1. Echantillon de référence.....	81
3.2. Dopage des échantillons.....	81



3.3. Exercice d'intre-calibration.....	82
4. Dosage.....	82
5. Analyse statistique.....	84

## **CHAPITRE VI    RESULTATS ET DISCUSSION**

1. Détermination de la limite de détection et de quantification.....	87
2. Résultats relatifs au contrôle de la méthode d'extraction.....	89
2.1. Résultats relatifs de la minéralisation de l'échantillon de référence.....	89
2.2. Résultats relatifs au dopage des échantillons de moules.....	90
2.3. Résultats relatifs à l'exercice d'intercalibration.....	91
3. Résultats relatifs au dosage des ETM dans les moules des deux régions.....	92
2.1. Résultats relatifs au dosage du cuivre .....	95
2.2. Résultats relatifs au dosage du fer.....	96
2.3. Résultats relatifs au dosage du zinc .....	97
2.4. Résultats relatifs au dosage du cadmium.....	98
2.5. Résultats relatifs au dosage du manganèse.....	99
4. Résultats relatifs aux teneurs des ETM dans les coquilles et le byssus .....	100
5. Etude des corrélations.....	101

<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>103</b>
--	------------

### **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

### **ANNEXE**

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : Source industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement.....	21
<b>Tableau II</b> : Capacité de bioconcentration de quelques espèces marines.....	25
<b>Tableau III</b> : Teneurs maximales autorisées de plomb dans les produits de la pêches.....	38
<b>Tableau IV</b> : Le poids frais et sec des deux groupes de moules des deux régions.....	74
<b>Tableau V</b> : Les caractéristiques du programme thermique P6.....	80
<b>Tableau VI</b> : Le programme thermique du cadmium.....	82
<b>Tableau VII</b> : Limite de détection et de quantification.....	88
<b>Tableau VIII</b> : Teneur en métaux de l'échantillon de référence.....	89
<b>Tableau IX</b> : Résultats relatifs au dopage du plomb et le cadmium.....	90
<b>Tableau X</b> : Teneurs en (Cu, Zn, Mn) dans les échantillons de moules et d'algues lors D'exercice d'intercalibration.....	91
<b>Tableau XI</b> : Teneurs en ETM des grosses et moyennes moules des deux régions.....	93
<b>Tableau XII</b> : Teneurs moyennes en ETM dans les moules des deux régions.....	94
<b>Tableau XIII</b> : Les teneurs en ETM des coquilles et du byssus des moules de Skikda.....	100
<b>Tableau XIV</b> : Coefficients de corrélation entre ETM des moules de Skikda.....	101
<b>Tableau XV</b> : Coefficients de corrélation entre ETM des moules d'El kala.....	102

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Cycle géochimique simplifié des métaux lourds.....	20
<b>Figure 2</b> : Les formes chimiques présentent en milieu aquatique.....	22
<b>Figure 3</b> : La répartition des métaux dans le corps humain.....	27
<b>Figure 4</b> : Flux incident et flux transmis par une vapeur atomique.....	47
<b>Figure 5</b> : Spectrophotomètre d'absorption atomique Bifaisceau.....	48
<b>Figure 6</b> : Lampe à cathode creuse.....	49
<b>Figure 7</b> : Ensemble nébuliseur-brûleur.....	51
<b>Figure 8</b> : Four en graphite.....	53
<b>Figure 9</b> : Moule sortie de sa coquille.....	61
<b>Figure 10</b> : Coupe transversale schématique d'une moule.....	61
<b>Figure 11</b> : Mécanisme d'excrétion des métaux chez les bivalves.....	64
<b>Figure 12</b> : Droite d'étalonnage du fer.....	85
<b>Figure 13</b> : Droite d'étalonnage du cuivre.....	85
<b>Figure 14</b> : Droite d'étalonnage du manganèse.....	85
<b>Figure 15</b> : Droite d'étalonnage du cadmium.....	86
<b>Figure 16</b> : Droite d'étalonnage du zinc.....	86
<b>Figure 17</b> : Teneurs en cuivre (moyenne $\pm$ écart-type) dans les moyennes et grosses moules de Skikda et El kala.....	95
<b>Figure 18</b> : Teneurs en fer (moyenne $\pm$ écart-type) dans les moyennes et grosses moules de Skikda et El kala.....	96
<b>Figure 19</b> : Teneurs en zinc (moyenne $\pm$ écart-type) dans les moyennes et grosses moules de Skikda et El kala.....	97
<b>Figure 20</b> : Teneurs en cadmium (moyenne $\pm$ écart-type) dans les moyennes et grosses moules de Skikda et El kala.....	98
<b>Figure 21</b> : Teneurs en manganèse (moyenne $\pm$ écart-type) dans les moyennes et grosses moules de Skikda et El kala.....	99

## LISTE DES PHOTOS

<b>Photo 1</b> : Déformation osseuse ( maladie Itaï Itaï).....	33
<b>Photo 2</b> : Lampe à cathode creuse.....	50
<b>Photo 3</b> : Un brûleur Allumé.....	51
<b>Photo 4</b> : Un four graphite en phase d'atomisation.....	53
<b>Photo 5</b> : La moule <i>Mytilus galloprovincialis</i> .....	68
<b>Photo 6</b> : Spectrophotométrie d'absorption atomique de type Shimadzu AA 6800 .....	69
<b>Photo 7</b> : Un montage à reflux.....	70
<b>Photo 8</b> : Un four à moufle .....	70
<b>Photo 9</b> : Un micro-ondes .....	71
<b>Photo 10</b> : Une bombe à téflon.....	71
<b>Photo 11</b> : Les capsules introduites dans le four à moufle.....	78
<b>Photo 12</b> : La hotte utilisée lors de la digestion au micro-ondes.....	81

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>Å :</b>	Angstrôm
<b>Al :</b>	Aluminium
<b>As :</b>	Arsenic
<b>C° :</b>	degrés Celsius
<b>Ca :</b>	Calcium
<b>Cd:</b>	Cadmium
<b>Cm<sup>3</sup> :</b>	centimètre cube
<b>Cu :</b>	Cuivre
<b>Cr :</b>	Chrome
<b>Da :</b>	Dalton.
<b>ETM :</b>	Elément Trace Métallique
<b>FAO :</b>	Food and Agriculture Organisation
<b>Fe:</b>	Fer
<b>g :</b>	gramme
<b>Hg :</b>	Mercure
<b>INERIS:</b>	Institut National de l'environnement Industriel et des Risques
<b>K :</b>	kelvin
<b>kg :</b>	kilogramme
<b>l :</b>	Litre
<b>Lg :</b>	Logarithme
<b>mg :</b>	milligramme
<b>Mg :</b>	Magnésium
<b>ml :</b>	millilitre
<b>mm :</b>	millimètre
<b>Mn:</b>	Manganèse
<b>MTS :</b>	métallothioneines
<b>Ni :</b>	Nickel
<b>OMS :</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>Pb :</b>	Plomb
<b>ppb :</b>	partie par billion.
<b>ppm :</b>	partie par million.
<b>SAA :</b>	Spectrophotométrie d'Absorption Atomique.

<b>SAAF :</b>	Spectrophotométrie d’Absorption Atomique à flamme.
<b>SAA-FG :</b>	Spectrophotométrie d’Absorption Atomique au four graphite.
<b>Sn :</b>	Sélénium
<b>Sr :</b>	Strontium
<b>Ti :</b>	Titane
<b>µg :</b>	microgramme
<b>µl :</b>	microlitre
<b>V :</b>	Vanadium
<b>Zn:</b>	Zinc
<b>%:</b>	pourcentage

## INTRODUCTION

Les zones côtières algériennes, longues de 1200Km, sont considérées sur un plan écologique comme un système aquatique d'une très grande importance car hébergeant une très grande variété d'espèces animales et végétales. La pollution de ces zones côtières par des substances chimiques diverses peut avoir des conséquences graves sur l'équilibre écologique. La contamination par les métaux lourds est considérée comme un problème sérieux compte tenu de leur toxicité et de leur pouvoir cumulatif dans la chaîne trophique. Ainsi l'évaluation du niveau de contamination métallique dans les organismes marins permet de rendre compte de la qualité de ces zones côtières. Les bivalves organismes filtreurs sont souvent utilisés comme espèces sentinelles de la contamination par les métaux lourds. Parmi ces mollusques bivalves, les moules sont appréciées par les consommateurs qui se trouvent ainsi exposés.

L'établissement des tolérances toxicologiques dans les denrées alimentaires est une nécessité d'aujourd'hui. Sur un plan strictement réglementaire, la quantification des éléments traces métalliques dans les denrées alimentaires doit être effectuée par des méthodes fiables, précises et reproductibles.

La présente étude à un double objectif :

- De mettre au point une technique d'extraction de six éléments traces métalliques (ETM) (Cadmium, plomb, Cuivre, Zinc, Fer et Manganèse) qui permet de les quantifier avec certitude et précision par Spectrophotométrie d'Absorption Atomique à flamme et/ou au four graphite.
- De déterminer le niveau de contamination par ces éléments dans la chair (aspect sécurité sanitaire des aliments), byssus et les coquilles (indicateurs de pollution environnementale) d'une espèce de bivalve provenant de deux régions de l'est algérien (Skikda et El Kala).

La présentation de ce travail s'articule autour de deux parties :

Une première partie est une synthèse bibliographique. Elle est divisée en quatre chapitres : le premier est consacré à la présentation des généralités sur les éléments traces métalliques, le second parlera des sources d'expositions, de la cinétique et de la toxicité de chaque métal étudié, le troisième chapitre décrit la méthode d'analyse par Spectrophotométrie d'Absorption Atomique et le quatrième chapitre abordera la biologie de la moule bioindicatrice de la contamination métallique et le processus physiologique de bioaccumulation des ETM chez la moule.

La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale qui expose le matériel, les méthodes d'une part et les résultats et leurs discussions d'autres parts.



***PREMIERE PARTIE***  
***ETUDE BIBLIGRAPHIQUE***

# CHAPITRE I GENERALITES SUR LES ELEMENTS TRACES METALLIQUES

Les organismes marins sont capables de concentrer plusieurs centaines de métaux, pris dans la phase soluble ou particulaire ainsi que dans le sédiment. Il apparaît essentiel de rechercher l'origine et le devenir de ces métaux si l'on veut comprendre l'impact qu'ils peuvent avoir sur les organismes vivants.

## 1. DEFINITION

Un métal est un élément chimique issue le plus souvent d'un minerai doté d'un éclat particulier, bon conducteur de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité, se combinant ainsi aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisés par l'homme depuis l'Antiquité.

On appelle métaux lourds les éléments métalliques naturels caractérisés par une masse volumique élevée, supérieur à 5g par cm<sup>3</sup>.

Les métaux lourds sont présents dans tous les compartiments de l'environnement, mais en général en quantités très faibles. On dit que les métaux sont présents « en traces ». La classification en métaux lourds est souvent discutée car certains métaux toxiques ne sont pas particulièrement « lourds » (ex : le zinc), tandis que certains éléments toxiques ne sont pas des métaux mais des métalloïdes (ex : l'arsenic). Pour ces différentes raisons, la plupart des scientifiques préfèrent à l'appellation métaux lourds, l'appellation «Eléments en traces Métalliques» (**ETM**) ou par extension « éléments traces » (MIQUEL, 2001), on distingue ainsi :

**Des éléments traces essentiels :** Ils sont indispensables au déroulement des processus biologiques mais à de très faibles quantités, deviennent toxiques à fortes concentrations. C'est le cas du fer(Fe), cuivre(Cu), zinc(Zn), cobalt(Co), manganèse(Mn), chrome(Cr), molybdène(Mo), sélénium(Se), nickel(Ni), Vanadium(V), Titane(Ti), Arsenic (As).

**Les éléments traces non essentiels :** Ils n'ont aucun rôle biologique connu ; Ces derniers sont nommés toxiques tels que le plomb(Pb), le cadmium(Cd), le mercure(Hg) et l'antimoine(Sb)(Chiffolleau *et al.*, 2001).

Les éléments traces sont des micropolluants de nature à entraîner des nuisances, même quand ils sont rejetés en quantités très faibles. Leurs toxicités se développent par bioaccumulation le long de la chaîne alimentaire.

Il est quasiment impossible de détecter la présence d'ETM dans l'eau, tant leur concentration y est faible ; c'est pourquoi ces éléments sont recherchés dans les sédiments et les organismes marins.

## **2. SOURCES DE POLLUTION PAR LES ETM**

Selon la définition donnée par le Group of experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution (GESAMP) (1997). Dans le cas de l'environnement marin, le terme de pollution désigne l'introduction directe ou indirecte par l'homme de substances ou d'énergie dans le milieu marin lorsqu'elle a, ou peut avoir, des effets nuisibles. Le terme de polluant est donc associé à l'apparition dans le milieu d'effets délétères.

### **2.1. SOURCES NATURELLES**

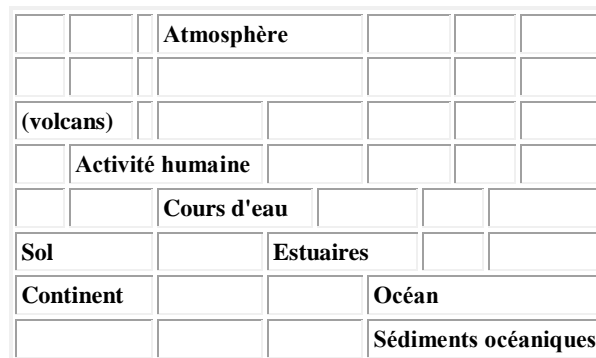
Les métaux lourds sont présents dans l'eau, l'air et les sols. Comme tous les minerais, ils sont présents dans les roches. Ces réserves naturelles ne constituent pas en elles-mêmes un danger mais l'exploitation des gisements, l'érosion, les incendies de forêts, les prélèvements d'eau ou les éruptions volcaniques, vont répandre des traces de ces éléments dans l'environnement. Ils peuvent alors devenir toxique s'ils se retrouvent en quantités suffisantes dans les organismes vivants.

## 2.2. SOURCES ANTHROPIQUES

Outres ces phénomènes naturels, l'activité humaine, même si elle ne crée pas de métaux lourds, participe à leur diffusion dans l'environnement :

- Les effluents d'extractions minières.
- Les effluents industriels.
- Les effluents domestiques et ruissellement orageux urbain.
- Lessivage des métaux provenant de décharges d'ordures ménagères et de résidus solides.
- Apports de métaux provenant de zones rurales, par exemple les métaux contenus dans les pesticides.
- Sources atmosphériques, par exemple combustion de carburants fossiles, incinération des déchets et émissions industrielles.
- Activités pétrochimiques.

La figure 1 schématise le cycle géochimique des métaux dans l'environnement.



**Figure 1** : Cycle géochimique simplifié des métaux lourds (Miquel, 2001)

Le tableau I présente quelques exemples de sources industrielles et agricoles d'où peuvent provenir les métaux présents dans l'environnement.

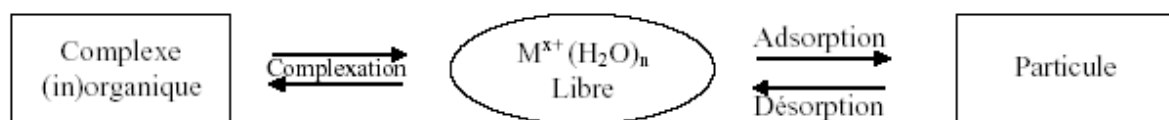
**Tableau I** : Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement  
(Biney *et al.*, 1991)

<b>Utilisations</b>	<b>Métaux</b>
Batteries et autres appareils électriques	Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Ni,
Pigments et peintures	Ti, Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Sn, Cr, Al, As, Cu, Fe
Alliages et soudures	Cd, As, Pb, Zn, Mn, Sn, Ni, Cu
Biocides (pesticides, herbicides, conservateurs)	As, Hg, Pb, Cu, Sn, Zn, Mn
Agents de catalyse	Ni, Hg, Pb, Cu, Sn
Verre	As, Sn, Mn
Engrais	Cd, Hg, Pb, Al, As, Cr, Cu, Mn, Ni, Zn
Matières plastiques	Cd, Pb
Produits dentaires et cosmétiques	Sn, Hg
Textiles	Cr, Fe, Al
Raffineries	Ni, V, Pb, Fe, Mn, Zn
Carburants	Ni, Hg, Cu, Fe, Mn, Pb, Cd

### 3. SPECIATION ET BIODISPONIBILITE DES ETM EN MILIEU MARIN

La spéciation et la biodisponibilité des métaux sont deux notions intéressantes à connaître pour la compréhension du processus de bioaccumulation, en effet l'eau de mer contient en solution des combinaisons de tous les éléments chimiques (ions majeurs, matière organique, particules en suspension, etc.) qui sont en continuelle interactions, de ce fait le métal se trouve sous des formes physico-chimiques très diverses. L'ensemble des réactions de complexation entre l'élément chimique et la totalité des ligands présents dans le milieu correspond au **processus de spéciation**. La spéciation du métal contrôle sa toxicité et son assimilation par les organismes marins et affecte sa biodisponibilité (Jansen *et al.*, 2002 cités par Casas, 2005).

L'absorption du contaminant par les organismes marins à partir de l'eau ou de la nourriture ingérée dépend de la forme chimique du métal, toutefois cette fraction qui est absorbée ne représente qu'une partie seulement du total présent dans le milieu, par conséquent elle est appelée **fraction biodisponible**, on définit donc la biodisponibilité comme étant la capacité à être intégrée au vivant, et elle varie selon les formes chimiques pour un même métal et dépend aussi des caractéristiques chimiques de l'eau dans laquelle ils sont déversés tel que la température, le pH (Campbell et Stokes, 1985 cités par Casas, 2005), la salinité (Blust *et al.*, 1992 cités par Casas, 2005), etc. La figure 2 schématise les formes chimiques présentes en milieu aquatique.



**Figure 2 :** Schéma représentant les formes chimiques présentes en milieu aquatique. ( $M^{x+}$  : ion métallique)(Hardivillier, 2005).

## **4. DEVENIR DES ETM DANS LE MILIEU AQUATIQUE**

La pollution du milieu marin est pour sa part essentiellement localisée dans la zone côtière ou s'écoulent fleuves, déversement d'usines et égouts. Les micropolluants minéraux ne s'accumulant pas dans l'eau (réceptrice) elle-même, sont assez rapidement transférés dans les sédiments ou ils sont en partie métabolisés par les organismes vivants et mis en circulation dans les chaînes alimentaires ou leurs toxicités s'épanouissent. L'irréversibilité de cette pollution est particulièrement préoccupante du fait qu'il est pratiquement impossible de récupérer aisément ces métaux, une fois dissipés dans la nature ; leur rémanence est la cause même d'une accumulation difficilement contrôlable.

Les micro-organismes aquatiques introduisent ses micropolluants dans la biosphère, ils sont les premiers maillons des chaînes alimentaires le long des quelles les polluants rémanents vont s'accumuler dans les tissus des mangeurs successifs et ce par bioaccumulation : La bioaccumulation est un processus d'assimilation et de concentration des métaux lourds dans l'organisme. Le processus se déroule en 3 temps :

### **4.1. L'ASSIMILATION**

Il existe 2 voies principales d'exposition aux polluants : la voie externe (par contact) qui provoque un phénomène d'adsorption, et la voie interne par assimilation ou absorption. Toute absorption n'est pas nécessairement dangereuse. D'une part, tout dépend des concentrations du polluant. D'autre part il ne faut s'intéresser qu'à la fraction soluble du métal ; la fraction insoluble étant éliminée par différentes voies : solide (fèces), liquide (urine), cutanée (sueur)(Miquel , 2001).

La partie soluble biodisponible (assimilable), se rencontre dans certains organes (organotropisme), cette réceptivité est due soit une fonction particulière (foie ; principal siège de la métabolisation, reins ; siège de l'excrétion) soit à la composition physico-chimique de l'organe, favorisant le stockage du contaminant (calcium/plomb dans les os) ou permettant les accumulations.

Il existe également des différences selon les métaux ; le cadmium se rencontre exclusivement dans le tube digestif, le foie et les reins. Le plomb diffuse dans la peau, les muscles et la colonne vertébrale. Le mercure, dans sa forme organique, diffuse dans le système nerveux et le fœtus.

#### **4.2. LA BIOCONCENTRATION**

Elle est définie comme étant le processus par lequel une substance (ou un élément) se trouve présente dans un organisme vivant à une concentration supérieure à celle de son milieu environnant.

Tous les métaux lourds en général sont concernés par la bioconcentration mais plus particulièrement le mercure, lorsqu'il est présent sous sa forme organique (méthylmercure). Ce processus d'accumulation s'exprime par un ratio entre la concentration du contaminant étudié dans le milieu et sa concentration dans l'organisme et ce ratio est dit « facteur de bioconcentration (FBC) » (Ramade, 1992).

Selon les espèces et les métaux, il existe d'importante différence. En effet, il semblerait que les fruits de mers, mollusques et crustacés, et dans une moindre mesure, certains poissons sont d'excellents capteurs de polluants. Le tableau II représente les capacités de bioconcentration de quelques espèces marines.



**Tableau II** : Capacités de bioconcentration de quelques espèces marines (Miquel, 2001)

<b>Métal</b> <b>Espèces</b>	<b>Cadmium</b>	<b>plomb</b>	<b>Mercure</b>
Plantes aquatiques	Faible	faible	Faible
Invertébrés	Moyenne à forte	moyenne	Moyenne à forte
Vers	Moyenne	moyenne	Moyenne à forte
Mollusques	Moyenne	moyenne	Moyenne à forte
Crustacés	Forte	moyenne	Moyenne à très forte
(Moule)	Forte	forte	Moyenne
(Huîtres)	Très forte	moyenne	Faible
Poissons	Faible	faible	Moyenne à forte
Hareng/sardines	Faible	faible	Faible
Plie/sole	Faible	faible	Moyenne
Bar/roussette	Moyenne	moyenne	Moyenne
Espadon/thon	Moyenne	moyenne	Forte

#### **4.3.LA BIOAMPLIFICATION (OU BIOMAGNIFICATION)**

Les transferts de métaux entre individus suivent un processus classique dits « transferts trophiques ». Le polluant, présent dans les algues et les micro-organismes est ingéré par un herbivore, lui-même proie pour un carnivore, lui-même proie d'un supercarnivore, animal ou homme. En bout de chaîne alimentaire, le consommateur final aura bio accumulé les formes solubles des métaux.

Selon les prédateurs et les métaux, les concentrations peuvent augmenter au fur et à mesure que l'on progresse dans la chaîne trophique, comme c'est le cas pour le plomb et surtout le mercure sous sa forme méthylée (Miquel, 2001).

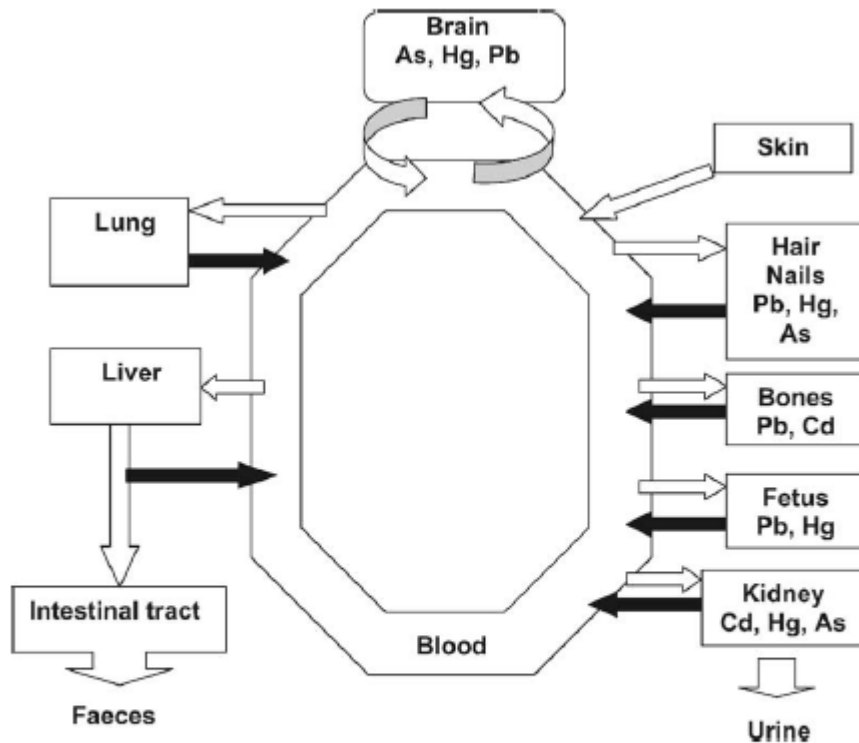
#### **5. EFFETS DES ETM SUR LA SANTE HUMAINE**

La toxicité d'un métal peut être influencée par un certain nombre de facteurs. La figure 3 illustre la répartition des métaux dans le corps humain. Parmi ces facteurs, on a ceux qui sont liés au contaminant (ou facteurs extrinsèques) tel que la nature du métal, spéciation chimique, organotropisme, biodisponibilité, etc., ces métaux peuvent agir en se liant à divers ligands contenant des groupements thiols ce qui peut conduire au blocage des groupes fonctionnels des molécules importantes tel que les enzymes, les polynucléotides, ils peuvent entraîner en outre la substitution des métaux essentiels.

A ces facteurs, s'ajoutent des facteurs intrinsèques liés à l'âge, le sexe, l'état nutritionnel, les conditions d'expositions et la variabilité génétique, etc. (Kakkar *et al.*, 2005).

L'ensemble de ces facteurs peut influencés sur la charge corporelle d'un métal, sa distribution tissulaire et ses effets nocifs.

La toxicité des métaux varie aussi selon la dose et la durée d'exposition. Une exposition de courte durée à des concentrations élevées cause des syndromes aigus, alors que l'exposition de longues durées à de faibles concentrations provoque des troubles chroniques. La gastroentérite, la pneumonie et l'insuffisance rénale et hépatique sont les troubles les plus fréquemment observés en cas d'exposition de longue durée à un certain nombre de métaux (cadmium, cuivre, plomb, zinc). L'exposition à des métaux pourrait également causer le cancer.



**Figure 3: La répartition des métaux dans le corps humain**

(Kakkar *et al.*, 2005)

- |                        |                      |  |
|------------------------|----------------------|--|
| <b>Brain</b> : cerveau | <b>Bones</b> : os    | <b>Liver</b> : foie                          |
| <b>Skin</b> : peau     | <b>Kidney</b> : rein | <b>Intestinal tract</b> : tractus intestinal |
| <b>Hair</b> : cheveux  | <b>Lung</b> : poumon | <b>Faeces</b> : fèces                        |
| <b>Nails</b> : ongles  | <b>blood</b> : sang  | <b>Urine</b> : urine                         |

## 6. EFFETS DES ETM SUR LA VIE AQUATIQUE

Quelques métaux lourds, comme Zn, Cu, Mn et Fe sont indispensables à la croissance et au bien-être des organismes vivants, y compris de l'homme. Mais des effets toxiques peuvent survenir lorsque ces organismes sont exposés à des niveaux de concentrations supérieurs à ceux qu'ils requièrent normalement. D'autres éléments, comme Pb et Cd, ne sont pas indispensables aux activités métaboliques et manifestent des propriétés toxiques.

La contamination de l'environnement aquatique par des métaux peut avoir des effets toxiques aigus ou chroniques, sur la vie aquatique.

Les métaux peuvent être absorbés sous la forme inorganique ou sous la forme organique. Pour certains éléments, comme l'arsenic et le cuivre, la forme inorganique est la plus toxique. Pour d'autres, comme Hg et Pb, les formes organiques sont les plus toxiques. A de faibles concentrations, beaucoup de métaux lourds, dont Hg, Cd, Pb, As et Cu inhibent la

photosynthèse et la croissance du phytoplancton. Les effets observés à des niveaux trophiques supérieurs se manifestent notamment par un retard du développement des embryons, des malformations et une moins bonne croissance des adultes chez les poissons, les mollusques et les crustacés (Biney *et al.*, 1991).

## **CHAPITRE II LES ELEMENTS TRACES METALLIQUES (LE CADMIUM, LE PLOMB, LE CUIVRE, LE ZINC, LE MANGANESE ET LE FER)**

**Dans cette étude, six métaux, seront étudiés. Pourquoi distinguer ces six métaux ?**

Pour le plomb et cadmium, il y a d'une part une raison historique. Les premiers biochimistes ont distingués ces deux métaux avec le mercure en raison de leurs affinités avec le soufre qui permettait d'identifier les protéines « qui précipitent lourdement ». Ils ont une conductivité électrique élevée qui explique leurs utilisations dans de nombreuses industries, de plus leurs capacités à s'accumuler dans la chaîne alimentaire. Enfin, ils sont toxiques pour l'homme.

Contrairement au deux premiers, les quatre métaux restant sont, à faible dose, indispensables à divers organismes vivants et ne deviennent toxiques qu'au-delà d'un certain seuil.

### **1. LE CADMIUM**

#### **1.1. HISTOIRE**

Le cadmium fut découvert en 1808 par Magnus Martin af Pontin, mais c'est en 1817 que l'Allemand Friedrich Stromeyer le prépara pour la première fois.

Le nom de Cadmium vient du latin *cadmia* (calamine), ancien nom donné au carbonate de zinc.

#### **1.2. PROPRIETES**

##### **1.2.1. Propriétés physiques**

C'est un métal blanc argenté ayant des propriétés physiques proches de celle du zinc. Il fond à 320.9°C et bout à 767°C. Lors de l'ébullition du cadmium, il se dégage des vapeurs jaunes toxiques.

Sa masse spécifique (densité) est de 8 650 kg/m<sup>3</sup>.

Il est ductile (résistance à l'étirement), malléable (résistance à l'aplatissement) et résiste à la corrosion atmosphérique, ce qui en fait un revêtement de protection pour les métaux ferreux (Pichard *et al.*, 2005).

### 1.2.2. Propriétés chimiques

Les propriétés chimiques du cadmium sont semblables à celles du zinc. L'ion cadmium est déplacé par le zinc métallique en solution : il est donc plus noble que le zinc. Il s'oxyde très peu à la température ambiante et brûle dans l'air en donnant de l'oxyde anhydre CdO, insoluble dans un excès d'hydroxyde de sodium. Il réagit avec les acides et les bases. Le cadmium est soluble dans l'acide nitrique dilué et dans les acides chlorhydrique et sulfurique concentrés et chauds. La masse molaire atomique du cadmium est de 112.4 g/mol.

### 1.2.3. Propriétés biologiques

Le cadmium n'est pas essentiel au développement des organismes, animaux ou végétaux et ne semble pas biologiquement bénéfique au métabolisme cellulaire (Chiffolleau *et al.*, 1999). En revanche, ses propriétés physiques et chimiques, proches de celles du calcium, lui permettent de traverser les barrières biologiques et de s'accumuler dans les tissus.

## 2.3. UTILISATION

Le cadmium est principalement utilisé pour la métallisation des surfaces, dans la fabrication des accumulateurs électriques, des pigments, des alliages.

Le chlorure de cadmium (CdCl<sub>2</sub>) est utilisé dans la production de stabilisants pour matières plastiques et de pigments, dans la préparation du sulfure de cadmium, en analyse chimique, en photographie et dans la teinture.

L'oxyde de cadmium (CdO) est utilisé principalement pour la fabrication de batteries nikel-cadmium.

Le sulfate de cadmium (CdSO<sub>4</sub>) est utilisé comme produit de base dans la fabrication de pigments et de stabilisateurs pour matières plastiques.

Le sulfure de cadmium (CdS) est utilisé principalement dans les pigments, notamment les pigments fluorescents et phosphorescents, comme colorant pour les textiles, le papier, le caoutchouc, les plastiques, les verres et les émaux (Pichard *et al.*, 2005).

## **1.4. PRINCIPALES SOURCES D'EXPOSITIONS**

Le cadmium (Cd) est un contaminant retrouvé dans l'environnement en raison de sa présence naturelle sur l'écorce terrestre (dans les minerais de zinc, de plomb, et dans le sol, du fait de l'érosion) aux concentrations moyennes comprises entre 0,1 et 1 mg.kg<sup>-1</sup> (Das *et al.*, 1997).

Mais aussi et surtout en raison des activités humaines telles l'utilisation d'engrais phosphatés dans l'agriculture, les industries d'extraction et de raffinage du cadmium, les fonderies, etc.

Le cadmium facilement dispersé dans le sol et les milieux aquatiques, est adsorbé sur les sédiments ou les particules en suspension, conduisant à sa bioaccumulation dans les poissons et les coquillages.

## **1.5. COMPORTEMENT DANS L'EAU**

Le cadmium est un élément rencontré en milieu aquatique sous diverses formes physiques (dissoute, colloïdale, particulaire) et chimique (minérale ou organique).

Un ensemble de variables physicochimiques du milieu (salinité, pH, caractéristique Sédimentologique, concentration en chlorure...) gouvernent les transformations du cadmium dans l'environnement (Gonzalez *et al.*, 1999; Chiffolleau *et al.*, 2001).

Dans l'eau de mer, le cadmium s'associe aux ions chlorures Cl<sup>2-</sup>, de façon variable selon la salinité. Les acides fluviqes et la matière humique sont de bons chélateurs du cadmium ; cette fixation du cadmium est surtout importante en eau douce (Cossa et Lassus, 1989).

## **1.6. TOXICITE**

### **1.6.1. Devenir dans l'organisme**

L'absorption digestive du cadmium est faible (environ 5 à 10%). Après passage de la barrière intestinale, le cadmium se trouve dans le sang ou il est rapidement distribué dans le foie et les reins et dans une moindre mesure dans le pancréas et la rate.

Le cadmium est un toxique cumulatif dont la demi-vie biologique est très longue puisqu'elle a été estimée de 20 à 30 ans chez l'homme. Son excrétion est très lente presque exclusivement par voie urinaire.

Les métaux lourds ne sont pas détruits par la chaleur : ainsi, que les coquillages soient cuits ou crus, la quantité de métaux lourds ingérée par les consommateurs est la même (Ricoux *et al.*, 2005).

### 1.6.2. Toxicité aigue

Les effets aigus n'apparaissent qu'après ingestion d'au moins 10mg de cadmium. Les symptômes observés sont des gastro-entérites avec des vomissements, des diarrhées, des myalgies et des crampes épigastriques.

### 1.6.3. Toxicité chronique

- Effets systémiques

Les effets toxiques du cadmium sont nombreux, mais les principales atteintes de l'organisme suite à une exposition prolongée au cadmium sont, chez l'animal comme chez l'homme des atteintes de la fonction rénale. Après 60 à 75 jours d'exposition à 50 mg/kg, il se produit une dégénérescence des cellules des tubules proximaux se traduisant par une perte anormale de protéines de faible poids moléculaire dans les urines (protéinurie).

L'endémie **Itai-Itai** illustre bien la contamination de l'homme par ce métal, en effet cette maladie est apparue en 1950 au Japon et se traduisait par une atteinte rénale très importante associée avec une ostéoporose (déméralisation et fragilisation des os) et des symptômes d'ostéomalacie (déméralisation et déformation des os)(photo 1). Son nom provient des cris poussés par les malades riziculteurs (âgés de 40 à 60 ans), du bassin de la rivière Jintsu au Japon, intoxiqués par l'eau de boisson et la consommation de riz contaminés par les rejets d'une usine de métaux non ferreux.

Le JECFA (Joint Expert Committee for Food Additives) comité mixte FAO/OMS, a recommandé chez l'homme une dose hebdomadaire tolérable (DHT) de 7 µg de cadmium par kilogramme de poids corporelle par semaine. Par définition la DHT est la quantité d'une substance donnée pouvant être consommée par semaine tout au long d'une vie humaine sans avoir d'effets observables sur la santé des consommateurs.



Il faut noter que, outre la boisson et la nourriture, le tabagisme est une source importante de cadmium notée dans toutes les études épidémiologiques.

De la même façon que pour le mercure, le règlement de la communauté européenne (CE) n° 466/2001 fixe les quantités maximales de cadmium dans les denrées alimentaires à  $1\text{mg.kg}^{-1}$  poids humide.

- Effets cancérogènes

Le cadmium est aussi considéré comme un agent tératogène et carcinogène (Waalkes, 2000), il a été classé dans la catégorie 1 « cancérogène pour l'homme » par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), mais cette classification a été basée sur l'exposition par inhalation.



**Photo 1:** Déformation osseuse (maladie de **itai-itai**)  
(<http://www.ulg.ac.be/oceon/bio/biocand/telechargement/ecotoxpartim1ppt>).

## 1.7. BIODISPONIBILITE ET TOXICITE CHEZ LES ORGANISMES AQUATIQUES

Le modèle ion libre (Free Ion Activity Model, Fiam - Morel, 1983 cité par Casas, 2005) utilisé chez des mollusques bivalves (tessier *et al.* 1993 cités par Casas, 2005) a permis de démontrer la biodisponibilité du cadmium, en effet le cadmium se comporte comme un analogue du calcium (rayon ionique  $\text{Ca}^{2+} = 0.97\text{\AA}$  et  $\text{Cd}^{2+} = 0.99\text{\AA}$ ). Par conséquent son accumulation et son effet toxique dépend de sa forme chimique, d'autre part la salinité et le pH du milieu sont deux paramètres majeurs conditionnant l'entrée du Cd (Jumarie *et al.*, 2001).

Une fois la barrière biologique est franchis, la forme  $\text{Cd}^{2+}$  est pris en charge par de nombreux ligands intracellulaires dont les métallothioneines (MTS) , protéines impliquées dans la régulation des concentrations cellulaires en métaux libres essentiels ( $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ). La forte affinité du cadmium pour les MTS entraîne le déplacement du  $\text{Zn}^{2+}$  (initialement fixés sur la MT) et perturbe l'absorption et le transport du zinc, ainsi les tissus cibles comprennent les barrières biologiques (branchies, tractus digestif) et les organes de détoxification (rein et foie), par ailleurs le muscle n'apparaît pas un site de stockage de cet élément.

La toxicité chronique du cadmium chez les poissons s'exprime par une perturbation du métabolisme des glucides, des chlorures plasmatiques et du potassium tissulaire, ainsi que du métabolisme calcique, se traduisant par des lésions vertébrales diminuant la capacité natatoire. Elle s'exprime aussi par des troubles nerveux (moindre résistance au stress), et une atteinte du potentiel reproducteur des poissons (diminution du taux d'éclosion des œufs, stade embryonnaire plus sensible) (Lavoix, 1978).

## **1.8. LES METALLOTHIONEINES (MTS)**

Isolée pour la première fois en 1957, la métallothionéine est une protéine cytoplasmique de faible poids moléculaire (6-7 Dalton) riche en cystéine possédant deux zones de fixations et capables de fixer plusieurs atomes de cadmium (Brown et Kodama 1987, Kagi et Nordberg 1979, *Métal Bulletin* 1978) cités par Lavoix, 1978. D'autres métaux comme le zinc, cuivre et mercure, sont capables de se fixer sur ces mêmes sites.

La méthallothionéine influe sur le transport et la distribution tissulaire du cadmium ainsi que sur sa toxicité (Lavoix, 1978), ce signal biochimique peut s'avérer utile comme biomarqueur d'effets. Par définition, un biomarqueur est une modification d'un paramètre observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant (Lagadic *et al.*, 1997 cités par Hardivillier, 2005).

## **2. LE PLOMB**

### **2.1. HISTOIRE**

Le plomb est un métal exploité depuis 5000 ans, son utilisation est directement liée à la métallurgie. Avec deux pics notables: sous l'empire romain pour la production de la monnaie, les canalisations et la vaisselle ; et pendant la révolution industrielle pour l'industrie, l'imprimerie, les peintures et les carburants automobiles qui sont aujourd'hui à l'origine de sa large diffusion dans l'environnement.

### **2.2. PROPRIÉTÉ PHYSICO-CHIMIQUE DU PLOMB**

Élément chimique métallique d'un gris bleuâtre, de symbole Pb et de numéro atomique 82, rarement disponible à l'état natif, le plomb est très souvent associé au zinc dans les minerais, Le principal minerai du plomb est la galène (PbS) très souvent associée à la blende et à la pyrite (Chiffolleau *et al.*, 2001).

Le plomb est mou, malléable, il a une faible conductivité électrique.

Ce métal est lentement dissous par l'acide chlorhydrique, beaucoup plus rapidement par l'acide nitrique et est solubilisé par les acides organiques (acide acétique, aliments acides et par l'eau contenant du citrate et des sels d'ammonium).

Le plomb possède un rayon ionique et une charge de valence, identique à celle du calcium. Cette analogie structurale, est à l'origine des interactions avec le calcium.

### **2.3. SOURCES NATURELLES ET ANTHROPIQUES**

Le plomb (pb) est un polluant environnementale que l'on retrouve dans les sols et l'atmosphère, en particulier au voisinage des sites industriels.

Le plomb est principalement utilisé dans les batteries électriques, son utilisation comme additif antidétonant dans les essences, de la sidérurgie, des industries de décapage et de traitement des métaux, de l'incinération des déchets, de la combustion du bois, des cimenteries et des industries de fabrication des accumulateurs.

En milieu marin, il arrive majoritairement par les apports atmosphériques et le lessivage des zones urbanisées (Pichard *et al.*, 2003) .

### **2.4. COMPORTEMENT DANS L'EAU**

Le plomb existe sous trois formes essentielles : le plomb dissous, colloïdale et le plomb particulaire.

Sous forme dissoute, les espèces dominantes dans l'eau de mer sont les carbonates  $PbCO_3$  ou les chlorures  $PbCl_2$  et  $PbCl^+$ . Il présente une forte affinité pour la matière particulaire. La fraction adsorbée sur les particules en suspension augmente avec le pH et diminue lorsque la chlorinité augmente (Cossa D *et al.*, 1993) .

De même que pour le mercure, le plomb peut être méthylé par les bactéries dans les sédiments.

## 2.5. TOXICITE

### 2.5.1. Devenir dans l'organisme

Le plomb existe principalement sous forme inorganique. L'ingestion est la voie d'exposition principale du plomb. Le taux d'absorption est compris entre 5 et 10% chez l'adulte, il est de 20% chez l'enfant et de 50% chez l'enfant de moins de 2 ans.

Après absorption, le plomb passe facilement dans l'organisme, après quelque semaines 90% du plomb conservé dans l'organisme est stocké dans les os (Links *et al*, 2001) ou dans les dents ou il peut rester des dizaines d'années s'il n'est pas remobilisé (grossesse, lactation, vieillesse) de même certaines pathologies (ostéoporose, fracture) pourraient entraîner une mobilisation intense du plomb osseux.

Le plomb sanguin représente 2% de la quantité présente dans l'organisme. Sa demi-vie biologique chez l'adulte est de 20 à 30 jours. Le plomb qui n'est pas stocké est éliminé par les urines ou les fèces.

La consommation des produits de la mer (poissons frais, crustacés et mollusques représente 3 à 11% de l'apport en plomb via l'alimentation.

### 2.5.2. Toxicité aigue

L'intoxication aigue est très rare.

### 2.5.3. Toxicité chronique

- Effets systémiques

Le plomb est un toxique cumulatif dont l'intoxication à long terme est **le saturnisme**, dont une manifestation aigue est la colique du plomb.

Il modifie le fonctionnement cellulaire en perturbant différents processus physiologiques. Il peut ainsi provoquer l'anémie sanguine, des effets rénaux (insuffisance rénale). Il possède des effets sur les système nerveux central (retard de développement, irritabilité, troubles du sommeil, perte de mémoire,...) et à long terme sur la fertilité (Bisson *et al.*, 2003).

Les effets du plomb sont généralement amplifiés chez le fœtus et l'enfant (anomalies congénitales, déficits neuro-comportementaux durables) (Leblanc, 2006 cité par Payen P., 2007).

Les règlements 466/2001/CE et 221/2002/CE ont établi des limites maximales de plomb autorisées dans les produits pêches qui sont rassemblés dans le tableau III.

**Tableau III** : Teneurs maximales autorisées de plomb dans les produits de la pêche ( Lachambre et Fisson, 2007).

<b>Produits</b>	<b>Teneur maximale (mg/kg de poids frais)</b>
Chair musculaire de poisson telle que définie dans les catégorie a), b),c), de la liste de l'article 1 <sup>er</sup> du règlement 104/2000/ CE du conseil, à l'exclusion des espèces de poissons répertoriées au point suivant	0.2
Chair musculaire de l'anguille ( <i>Anguilla anguilla</i> ), du chinchard ( <i>Trachurus trachurus</i> ) et de la sardine ( <i>Sardina pilchardus</i> )	0.4
Crustacés, à l'exception de la chair brune de crabe	0.5
Mollusques bivalves	1.5
Céphalopodes (sans viscères)	1

- Effets cancérogènes

Le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) a classé le plomb et ses dérivés inorganiques dans la catégorie 2B (potentiellement cancérogènes pour l'homme). Des études montrent des cas de cancer chez les professionnels.

Chez les organismes aquatiques, le plomb se fixe au niveau des os et au niveau des coquilles chez les mollusques, ses formes inorganiques sont moins toxiques que les formes organiques qui provoquent des anomalies dans le développement embryonnaire des bivalves.

### **3. LE CUIVRE**

#### **3.1. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DU CUIVRE**

C'est un métal de couleur rougeâtre, de symbole Cu et numéro atomique 29 il possède une haute conductivité thermique et électrique (à température ambiante, le seul métal pur ayant une meilleure conductivité électrique est l'argent).

Moyennement abondant dans la croûte terrestre, le cuivre est inégalement réparti à la surface du globe et la plupart des gisements sont situés dans l'hémisphère sud. Le cuivre existe à l'état natif ou combiné à d'autres corps, comme le soufre.

#### **3.2. PROPRIETES BIOLOGIQUES**

A très faible dose, Le cuivre est un élément essentiel chez l'homme et l'animal, impliqué dans de nombreuses voies métaboliques, notamment pour la formation d'hémoglobine et la maturation des polynucléaires neutrophiles. De plus, il est un co-facteur spécifique de nombreuses enzymes et métalloprotéines de structure (OMS ICPS, 1998).

Il a une importance capitale dans l'entretien des processus biologiques. Chez les mollusques, le sang renferme un pigment respiratoire à base de cuivre, l'hémocyanine.

#### **3.3. UTILISATION**

Le cuivre est l'un des métaux les plus employés à cause de ses propriétés physiques et de sa conductibilité électrique et thermique.

A l'état métal, le cuivre est principalement employé en électricité, en métallurgie pour la composition d'alliage.

Sous forme de sels cuivreux ou cuivrique, on l'utilise dans l'industrie, en agriculture ou enfin en pharmaceutique (Lamand, 1992 cité par Cassereau, 2001) dans le domaine industriel, le cuivre peut servir de catalyseur, comme stabilisant chimique ou en électrolyse, il peut entrer dans la composition de pigments, sert en photographie, enfin, il peut être un agent anti-rouille ou de préservation du bois. En agriculture, le cuivre entre dans la composition de produits tels que les fongicides ou insecticides avec par exemple la bouillie bordelaise utilisée pour le traitement des vignes. Enfin il peut être utilisé comme antiseptique externe.

### **3.4. SOURCES NATURELLES ET ANTHROPIQUES**

Le cuivre est présent dans l'environnement de manière ubiquiste. Sa concentration dans l'écorce terrestre est estimée à environ 70 mg.kg. Le transport par le vent des poussières de sol, les éruptions volcaniques, les décompositions végétales, les feux de forêts et les aérosols marins constituent les principales sources naturelles d'exposition. Les principales sources anthropiques sont l'industrie du cuivre et des métaux en général, l'industrie du bois, l'incinération des ordures ménagères, la combustion du charbon, d'huile et d'essence et la fabrication de fertilisants (phosphate).

Dans les eaux, le cuivre provient pour la majeure partie de l'érosion des sols par les cours d'eau (68%), de la contamination par le sulfate de cuivre (13%) et des rejets d'eaux usées qui contiennent encore du cuivre, même après traitement.

L'utilisation de l'oxyde cuivreux  $\text{CuO}$  comme matière active des peintures antisalissures marines constitue une source importante d'introduction dans les zones portuaires.

### **3.5. COMPORTEMENT DANS L'EAU**

Dans le milieu aquatique le cuivre existe sous forme particulaire, colloïdale et dissoute. L'oxyde cuivreux ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) est insoluble dans l'eau (Dameron et Howe, 1998 cités par Bisson *et al.*, 2005). En revanche, le cuivre est légèrement soluble dans l'acide dilué et lentement soluble dans l'eau ammoniacale. Les formes  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  et  $\text{CuCl}_2$  sont solubles dans l'eau (Dameron et Howe, 1998 cités par Bisson *et al.*, 2005).



Il a tendance à former des complexes avec des bases fortes telles que carbonates, nitrates, sulfates, chlorures. Le cuivre est introduit sous forme particulière dans les océans. Etant rapidement adsorbé sur les sédiments riches en ligands, tels qu'hydroxydes de fer et de manganèse, les niveaux de présence peuvent atteindre des valeurs très élevées dans les zones sous influence des apports.

### **3.6. DEVENIR DANS L'ORGANISME**

#### **3.6.1. Absorption**

Le cuivre d'origine alimentaire est absorbé au niveau de l'estomac et l'intestin, la captation du cuivre se fait après sa complexation sur les acides aminés (histidine en particulier) ou après liaison aux metallothionéines.

#### **3.6.2. Distribution**

Le cuivre est stocké principalement dans le foie avec des concentrations allant de 10 à 50 ppm poids sec en générale (exception faite des ruminants et de certains poissons dont les concentrations hépatiques en cuivre varient de 100 à 400 ppm poids sec) (Huot et Tarallo, 1991 cités par Cassereau, 2001).

#### **3.6.3. Excrétion**

La principale voie d'élimination du cuivre est la bile, l'élimination urinaire étant faible.

La toxicité vis-à-vis des organismes marins dépend de la forme chimique du cuivre et de son état d'oxydation. Les caractéristiques physico-chimiques du milieu (pH, dureté) agissent sur le degré de dissociation entre les formes métalliques et ioniques. Le cuivre complexé est moins toxique que le cuivre à l'état ionique.

## **4. LE ZINC**

Le zinc fait partie du groupe IIb de la classification périodique avec le cadmium ou le mercure. Élément chimique de symbole Zn et de numéro atomique 30.

### **4.1. PROPRIETES BIOLOGIQUES**

Le zinc est un élément essentiel au bon fonctionnement de tout organisme vivant. Il intervient dans l'activité de nombreuses enzymes, il est indispensable à un grand nombre de fonctions ou de situation physiologiques, aussi diverses que la croissance et la multiplication cellulaire, le métabolisme osseux, la cicatrisation des blessure, la reproduction et la fertilité, l'immunité et l'inflammation, la gustation et la vision, le fonctionnement cérébral, la protection contre les radicaux libres, etc.

### **4.2. SOURCES NATURELLES ET ANTHROPIQUES**

#### **4.2.1. Sources naturelles**

Le zinc est présent dans l'écorce terrestre, notamment dans les roches volcaniques, il existe plusieurs types de minerais :

- Sphalerite ou blende : c'est un sulfure de zinc, associé à du fer, du cadmium, du manganèse ou de l'arsenic.
- calamine.
- Ghanite : il s'agit de l'alumiate de zinc.

#### **4.2.2. Sources anthropiques**

Les apports anthropiques de zinc dans l'environnement résultent des sources minières industrielles (traitement minéral, raffinages, galvanisation du fer, gouttières de toitures, piles électriques, pigment matières plastiques, caoutchouc), des épandages agricoles et des activités urbaines (trafic routier, incinération ordures) (Lamand, 1991 cité par Cassereau, 2001).

Il est introduit dans les zones portuaires à partir de la dissolution des masses de zinc pur fixées sur les parties immergées des bateaux, pour en assurer leur protection contre la corrosion. De plus, certaines peintures antisalissures renferment des quantités importantes d'oxyde de zinc utilisé comme adjuvant anticorrosion.

### **4.3. DEVENIR DANS L'ORGANISME**

#### **4.3.1. Absorption**

Elle a lieu principalement au niveau du tractus intestinal. Dans les cellules intestinales, une partie du zinc est utilisé in situ, le reste est soit excrété soit fixé sur les métallothioneines puis passe vers le sang (Arnaud et Favier, 1991 cités par Cassereau , 2001).

#### **4.3.2. Distribution**

Le zinc est majoritairement ensuite capté par le foie. Les os et les dents contiennent aussi beaucoup de zinc.

#### **4.3.3. Excrétion**

Elle se fait principalement par voie fécale, L'excrétion urinaire étant faible.

### **4.4. TOXICITE**

Il y a peu de conséquence à l'exposition chronique, la dose toxique chez la plupart des animaux étant supérieur à 1000 ppm (Baruthio, 1991 cité par Cassereau, 2001).

Les principaux effets d'un excès du zinc dans l'organisme s'expliquent par les interférences de cet élément avec les métabolismes du cuivre et du fer principalement d'où des signes d'anémie (Underwood, 1977 cité par Cassereau, 2001).

Par ailleurs le zinc peut avoir des effets protecteurs vis-à-vis d'autres métaux. Ainsi le zinc protégerait des effets du cadmium en stimulant la synthèse de métallothioneines. De même, le zinc limite les effets inhibiteurs du plomb sur l'alanine déshydrogénase des hématies.

## **5. Le MANGANESE**

### **5.1. PROPRIETE PHYSIQUE**

Elément chimique métallique cassant, blanc argenté, de symbole Mn et de numéro atomique 25. Le manganèse est le 12<sup>e</sup> élément par son abondance dans la nature. Il est largement répandu sous la forme de minerais, tel que la pyrolusite (MnO<sub>2</sub>), minerai principal, et la rhodochrosite, la psilomélane et la manganite.

Le manganèse est également présent dans les eaux naturelles, à raison de 0,01 ppb dans les océans et de l'ordre de 4 ppb dans les rivières.

### **5.2. PROPRIETE CHIMIQUE**

Le métal est chimiquement réactif : il s'oxyde à l'air mais il ne réagit pas avec l'eau en conditions normales. Son électronégativité le conduit à former des liaisons ioniques avec les oxydes, les hydroxydes et les carbonates (Schäfer, 2004). Il forme ainsi des complexes peu stables (oxydes, silicates, carbonates) dont la plupart sont moins solubles que ses hydroxydes. Le manganèse possède des propriétés communes avec le cobalt et le fer et les similitudes entre leurs comportements respectifs sont nombreuses.

### **5.3. PROPRIETE BIOLOGIQUE**

Reconnu comme l'un des éléments essentiels à la vie, le manganèse, oligoélément participant largement à l'activité enzymatique, notamment relative au métabolisme des lipides et du glucose. Il joue ainsi un rôle dans la photosynthèse, la synthèse biologique des protéoglycanes et dans les actions anti-oxydantes (Schäfer, 2004).

#### **5.4. BIODISPONIBILITE ET TOXICITE CHEZ LES ORGANISMES AQUATIQUES**

La concentration moyenne du manganèse dans les organismes aquatiques (Crustacés, mollusques, poissons) est de l'ordre de  $10 \mu\text{g.g}^{-1}$  (poids frais). La forme biodisponible du manganèse est le Mn (II), qui pénètre majoritairement dans les organismes aquatiques par les branchies (WHO, 2005). Après un court séjour dans le sang, le manganèse est distribué dans les organes. L'accumulation du manganèse par les animaux augmente avec la température mais décroît avec le pH et la salinité.

### **6. LE FER**

Le fer (du latin ferrum) est un élément métallique blanc argenté de symbole Fe et de numéro atomique 26. C'est le 4<sup>e</sup> élément le plus abondant dans la croûte terrestre. Proche de l'aluminium par ses propriétés, c'est le plus abondant des métaux. Le principal minerai de fer est l'hématite. Des petites quantités de fer sont présentes sous forme combinées dans les eaux naturelles, les plantes et le sang.

A l'état libre, le fer métallique se trouve dans les météorites en générale alliée au nickel. Le fer rejeté en mer est due aux activités industrielles et la fabrication des engrais. D'autre part le fer est un oligoélément indispensable à la vie, il entre dans la composition de l'hémoglobine.

## **CHAPITRE III LA METHODE D'ANALYSE DES ELEMENTS TRACES METALLIQUES**

Les techniques d'analyse ont pour but de déterminer la composition d'un échantillon et de doser les éléments le constituant. Elles existent depuis longtemps mais ont considérablement progressées depuis le développement de l'informatique et de l'électronique. Dans les premières études, on a employé des techniques gravimétriques, volumétriques et colorimétriques, les méthodes modernes emploient des méthodes électrochimiques ou des techniques apparentées au nucléaire tel que l'émission X induite par protons (PIXE), l'analyse par activation neutronique instrumentale (INAA), la fluorescence X (XRF) et la spectrométrie de masse avec plasma induit par haute fréquence, mais la plupart de ces méthodes sont très coûteuses. C'est pour cette raison que la Spectrophotométrie d'Absorption Atomique (SAA) est de loin la méthode la plus couramment utilisée en Afrique pour le dosage des ETM.

### **1. LA SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE (SAA)**

#### **1.1. PRINCIPE**

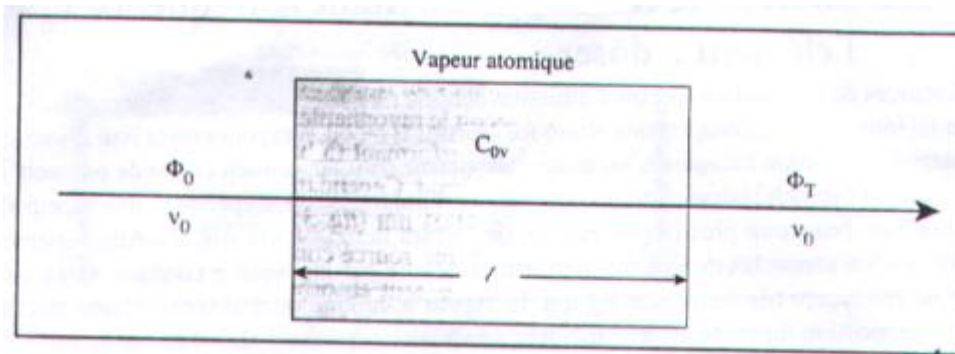
Le dosage d'élément par SAA repose sur le principe qu'un atome soumis à un rayonnement d'énergie E, peut passer d'un état fondamental à un état excité, caractérisé par des électrons à un niveau d'énergie plus élevé et instable : c'est le phénomène d'absorption. Le retour de l'atome à son état fondamental s'accompagne de l'émission d'un rayonnement photonique spécifique caractérisé par sa longueur d'onde  $\lambda$ .

En pratique, l'absorbance A peut être appréhendée par la variation de l'intensité lumineuse à travers la chambre d'atomisation de l'élément à doser (figure 4).

$$A = \lg (\Phi_0 / \Phi_T)$$

$\Phi_0$  = Flux incident.

$\Phi_T$  = Flux transmis.



**Figure 4** : Flux incident et flux transmis par une vapeur atomique (Péré, 1999)

Par ailleurs, la loi de Beer-Lambert établit une relation directe entre l'absorbance d'un échantillon et sa concentration de l'élément recherché.

$$A = k.l.C$$

Avec - k : coefficient d'absorption spécifique de l'élément à doser.

- l : trajet optique (cm).

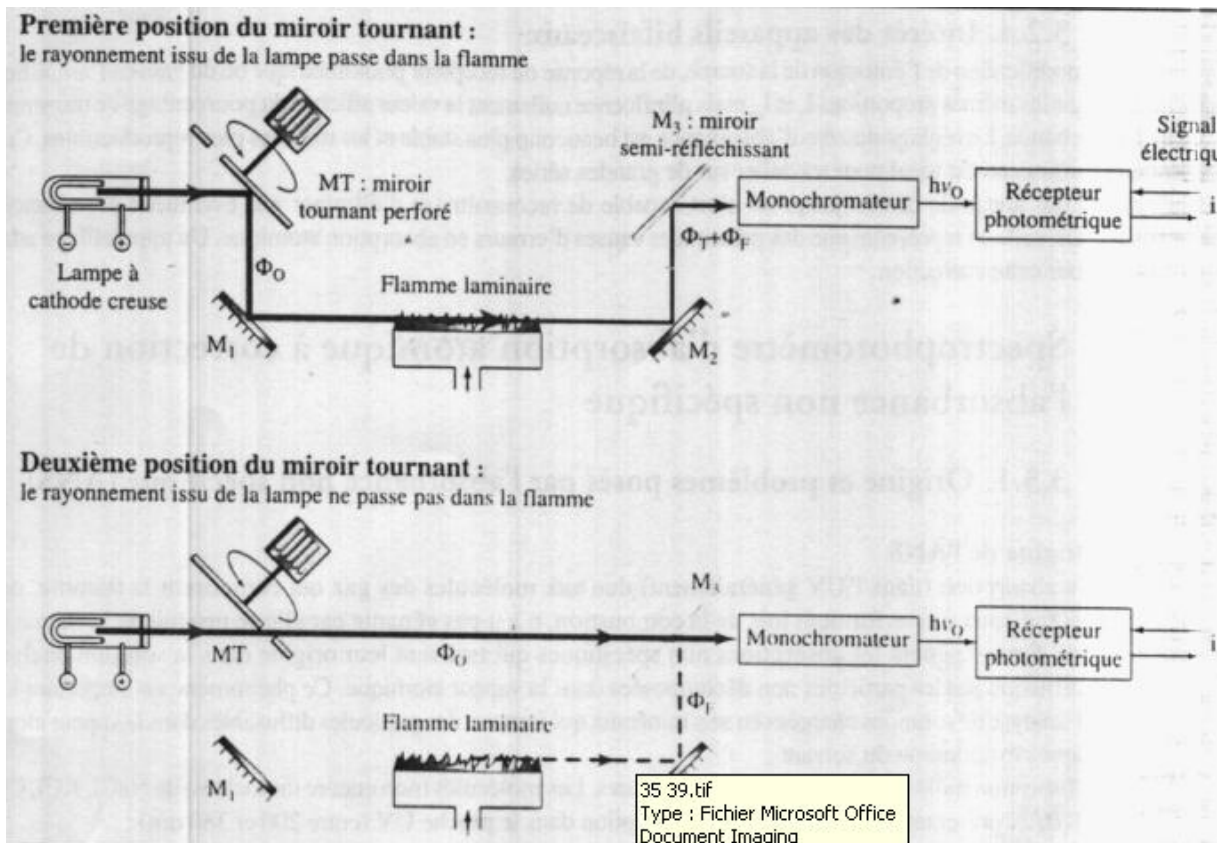
- C : concentration (mole.L<sup>-1</sup>).

Il suffit de tracer une courbe d'étalonnage à l'aide des solutions de concentrations connues de même élément, une simple interpolation permet de connaître C.

## 1.2. ELEMENTS CONSTITUTIFS D'UN SPECTROPHOTOMETRE D'ABSORPTION ATOMIQUE

Il existe plusieurs types de spectrophotomètres d'absorption atomique, il y a le modèle monofaisceau, le modèle bifaisceau (figure 5) qui correspond au modèle utilisé pour le dosage des ETM dans la partie expérimentale de ce mémoire. L'avantage de ce type d'appareil bifaisceau est que le réglage du zéro absorbance est beaucoup plus stable et les mesures plus reproductibles.

En générale, tout instrument d'absorption atomique contient les mêmes éléments de base, à savoir :



**Figure 5:** Spectrophotomètre d'absorption atomique bifaisceau (Péré, 1999)

### 1.2.1. Une source de lumière

Deux types de sources sont couramment utilisés :

- Lampes à décharge électrique dans une vapeur métallique

Une charge électrique est produite dans une ampoule contenant un gaz rare (argon ou néon) sous faible pression et une petite quantité d'un élément métallique qui est vaporisé puis excité dans la chaleur de la lampe. Le retour des électrons sur l'état fondamental s'accompagne d'une émission de radiations contenant en grande proportion les raies de résonance de l'élément métallique. L'une de ces raies est choisie pour doser le même élément dans la flamme. Mais les raies émises sont plus larges qu'avec les lampes à cathode creuse, ce qui est un inconvénient.

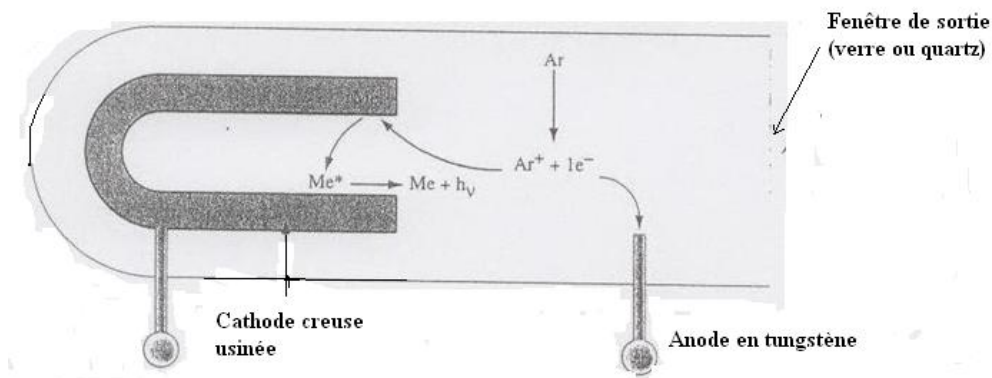


- Lampes à cathode creuse

Elles sont formées d'un tube en verre ou en quartz rempli d'un gaz rare sous faible pression et muni de deux électrodes (figure 6). L'anode est un simple fil en tungstène alors que la cathode est un petit cylindre creux réalisé dans (ou recouvert par) le même élément que celui qu'on recherche à doser dans l'échantillon.

Le spectrophotomètre d'absorption atomique de type Shimadzu est constitué de ce type de lampe (photo 2).

La lampe a pour rôle de produire une radiation lumineuse à la longueur d'onde caractéristique de l'élément à doser, l'application d'une tension entre anode et cathode produit une ionisation du gaz rare (argon). Les cations ( $\text{Ar}^+$ ) ainsi formés bombardent la cathode creuse et les atomes métalliques qui la composent sont arrachés et excités ( $\text{Me}^*$ ). Leurs désexcitations se fait par émission de photons spécifiques formant le spectre de raies de l'élément excité. Ces photons pourront être absorbés par des atomes du même élément, à l'état fondamental, dans la vapeur atomique (Péré, 1999).



**Figure 6 :** Lampe à cathode creuse (Péré, 1999).



**Photo 2 :** Lampe à cathode creuse (photo originale)

### 1.2.2. Un système de modulation du rayonnement émis par la source

Deux types de modulation existent :

- Une modulation mécanique peut être obtenue par un disque perforé tournant qui hache avec une grande régularité le rayonnement émis entre la source et la vapeur atomique.
- Une modulation électrique est obtenue par une alimentation électrique intermittente de la source qui entraîne une émission discontinue.

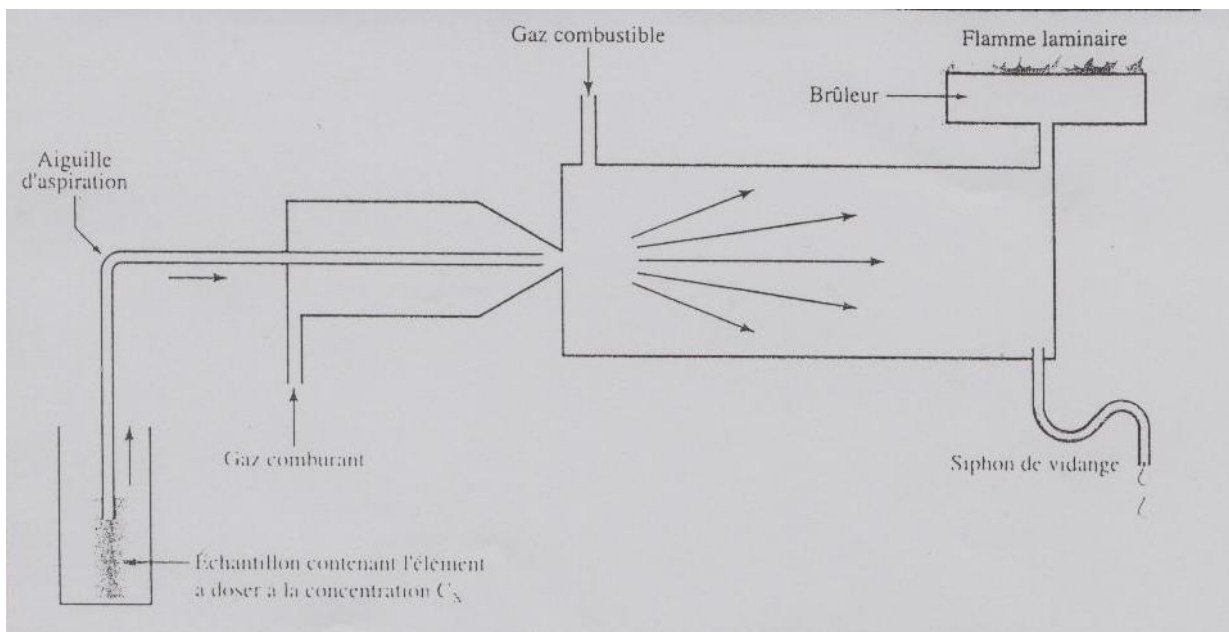
### 1.2.3. Atomiseur

Le rôle de l'atomiseur est de produire des atomes, ces derniers doivent se trouver à l'état fondamental pour pouvoir absorber les photons provenant de la source. Deux dispositifs d'atomisation existent : le nébuliseur-brûleur (la flamme) (figure 7) ou le dispositif électrothermique (le four graphite).

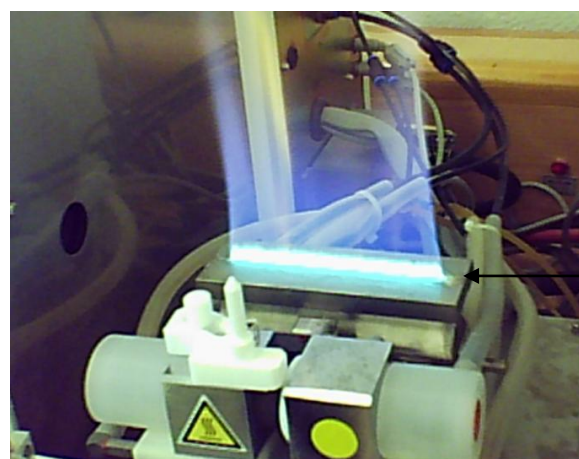
**En SAA dite en flamme**, on utilise le premier dispositif, l'échantillon est aspiré à travers un fin capillaire, cette aspiration s'effectue à l'aide d'un gaz (l'air) ou Comburant. Le capillaire amène la solution dans **le nébuliseur** dont le rôle est de produire un aérosol solution-gaz dans lequel les gouttes sont les plus fines possible. Le nébulisât est mélangé avec un complément d'air et avec le combustible le plus souvent de l'acétylène dans une chambre de pré mélange. C'est ce mélange qui va arriver à la base **du brûleur** (très allongé) (photo 3) et pénétrer ensuite dans la flamme **laminaire** ou s'effectuera l'atomisation. **Dans la Flamme** se produit l'évaporation du solvant, la fusion puis l'évaporation des composés métalliques, et enfin une dissociation moléculaire libérant les atomes qui peuvent alors absorber (Péré, 1999).

La forme laminaire de la flamme permet d'allonger le chemin optique au travers de l'atomiseur, la plus couramment utilisée est la flamme **air -acétylène** (2500K).

Cependant, la durée du passage de l'échantillon dans la flamme est très court ou seule une fraction de celui-ci est atomisée, ce qui limite la sensibilité de la méthode. La limite de détection en SAAF est de l'ordre de la partie par million (ppm).



**Figure 7 :** Ensemble Nébuliseur-brûleur (Péré, 1999)



**La base du brûleur**

**Photo 3:** Un brûleur allumé (photo originale)

. **En SAA dite en four**, on utilise le deuxième dispositif. Le four est constitué par un petit cylindre creux en graphite de quelques centimètres de longueur. Il est chauffé par effet joule et traversé par le rayonnement issu de la source (figure 8).

Pour éviter le contact entre le graphite chauffé et l'oxygène (l'air), le four est parcouru par un courant d'argon lors de la montée en température. Ce courant gazeux emporte les vapeurs de solvants et les éventuelles fumées avant que la température d'atomisation de l'élément à doser soit atteinte (Péré, 1999).

Le four en graphite reçoit l'échantillon introduit par un injecteur automatique, après l'introduction de l'échantillon à l'intérieur du tube celui-ci est chauffé suivant un programme thermique qui se déroule en plusieurs étapes :

**- Désolvatation (ou séchage)**

Il s'agit de l'évaporation de la phase liquide, cette étape doit être effectuée lentement mais ne prend que 20 à 40 secondes environ.

**- Minéralisation par formation d'oxydes**

A une température dépendant de la nature des métaux présents (20 à 40 secondes environ).

**- Production de la vapeur atomique par réduction des oxydes (ou atomisation)**

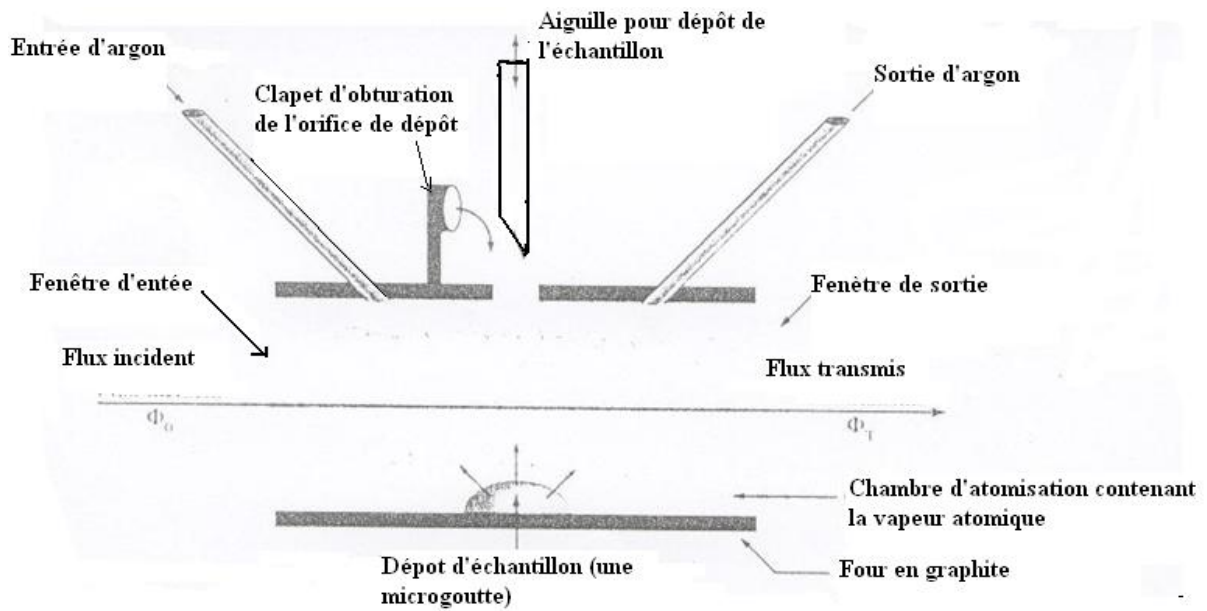
A une température comprise entre 200 et 2600°C (quelques secondes). Il faut veiller à ne pas dépasser une température au-delà de laquelle une ionisation excessive des atomes diminuerait le nombre de ceux qui peuvent absorber. La photo 4 montre le four graphite en phase d'atomisation.

**- Purge du système**

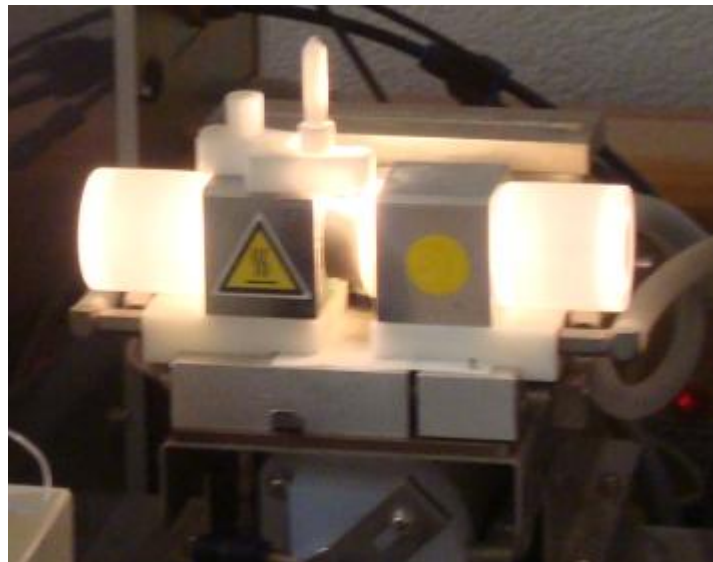
Par un courant d'argon à une température à 2000°C (maximum 3000°C).

**- Refroidissement**

Par circulation d'eau autour du four.



**Figure 8:** Four en graphite (Péré, 1999)



**Photo 4 :** Un four graphite en phase d'atomisation (Photo originale)

Bien qu'étant beaucoup plus sensible et moins exigeante sur la taille de l'échantillon que les atomiseurs de flamme, la durée de l'expérimentation est relativement longue, c'est pourquoi, on restreint généralement l'emploi du four en graphite à la détection d'ultra traces. La limite de détection pour la SAA-FG est de l'ordre la partie par billion (ppb).

#### **1.2.4. Un monochromateur**

Il sert à éliminer toutes les radiations qui ne correspondent pas à la longueur d'onde choisie.

#### **1.2.5. Un photomultiplicateur**

Ce photomultiplicateur permet d'obtenir à partir d'un faisceau lumineux un courant électrique proportionnel à l'intensité de ce faisceau.

#### **1.2.6. Un enregistreur**

Le courant électrique fournie par le photomultiplicateur est visualisé par un pic proportionnel à l'absorbance de la solution. Cet affichage se fait sur un écran d'affichage digital, ou plutôt actuellement sur l'écran du micro-ordinateur intégré au spectrophotomètre.

### **1.3. AVANTAGES ET INCONVENIANTS DE LA METHODE**

Elle présente de nombreux avantages : haute sensibilité, grande spécificité, rapidité, faible quantité de substance nécessaire, facilité de préparation des solutions étalons et faible coût de l'instrumentation.

Cependant, elle présente une certaine limite : nécessité d'utiliser pour chaque élément à doser une source caractéristique, domaine d'application limité presque exclusivement aux métaux.

### **1.4. DOMAINE D'APPLICATION**

La spectrophotométrie d'absorption atomique est essentiellement une méthode d'analyse quantitative qui permet de doser une soixantaine d'éléments chimiques à l'état de traces (en très faibles quantité : quelque ppm) contenus dans une solution. Elle est en outre la technique la plus utilisée actuellement, elle s'adapte bien a toute les matrices biologiques et environnementales. La SAA couvre un vaste éventail d'applications : l'analyse des eaux, des tissus végétaux et animaux, des aliments et boissons, des sols, engrais et sédiments, des liquides biologiques.

## **2. LES PARAMETRES A CONSIDERER LORS DE LA VALIDATION DE LA METHODE ANALYTIQUE**

La validation d'une méthode analytique est un procédé qui permet de démontrer que les résultats obtenus par cette méthode sont fiables, reproductible et que la méthode est adaptée à l'application prévue (Leroy *et al.*, 1997 cités par Philippe Quevauviller, 2006) . En générale, la validation porte sur les caractéristiques suivantes selon Philippe Quevauviller (2006) :

- Exactitude, justesse.
- Précision
- Répétabilité
- Reproductibilité
- Spécificité, Sensibilité, Linéarité
- Limite de détection
- Limite de quantification
- Robustesse
- Exactitude, justesse.

Ces paramètres sont définis comme suit selon Philippe Quevauviller (2006) :

### **2.1. EXACTITUDE ET JUSTESSE**

L'exactitude d'un instrument de mesure est l'aptitude d'un instrument de mesure à donner des réponses proches d'une valeur vraie.

La justesse est l'aptitude d'un instrument de mesure à donner des indications exemptes d'erreur systématique.

### **2.2. PRECISION**

La précision exprime la proximité entre des résultats de tests indépendants obtenus selon des conditions données, et englobe donc la répétabilité et la reproductibilité. La précision dépend seulement de la distribution des erreurs aléatoires et n'a pas de rapport avec la valeur vraie. Elle se calcule sur la base de l'écart-type de résultats de mesures répétées. En terme numérique, une forte valeur indique une faible précision.

### **2.3. REPETABILITE**

La Répétabilité des résultats de mesures est l'étroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages successifs du même mesurande, mesurage effectué dans la totalité des mêmes conditions de mesures .les conditions de répétabilité comprennent le même mode opératoire, le même observateur, le même instrument utilisé dans les mêmes conditions, le même lieu et une répétition de mesures réalisée durant une courte période de temps. Ce paramètre est équivalent au terme de « fidélité »qui est défini comme l'aptitude d'un instrument de mesure à donner des indications très voisines lors de l'application répétée du même mesurande dans les mêmes conditions de mesure.

### **2.4. REPRODUCTIBILITE**

La reproductibilité des résultats de mesure correspond à l'étroitesse de l'accords entre les résultats des mesurages d'un même mesurande, mesurages effectués en faisant varier les conditions de mesures, il est nécessaire de spécifier les conditions que l'on fait varier, qui peuvent comprendre le principe de mesure, la méthode de mesure, l'observateur, l'instrument de mesure, le lieu et les conditions d'utilisation.

### **2.5. SPECIFITE, SENSIBILITE ET LINEARITE**

La spécificité caractérise une méthode qui répond à un analyte unique et qui ne présente pas d'interférence.

La sensibilité représente la variation minimale qu'il faut imposer à la grandeur mesurée pour enregistrer une variation significative du résultat de la mesure.

La gamme de linéarité d'une mesure est la capacité d'obtenir, lors d'une procédure d'analyse, dans un certain intervalle, des résultats directement proportionnels à la concentration de l'analyte.

### **2.6. LIMITE (SEUIL) DE DETECTION**

Ce paramètre correspond à la plus petite quantité d'analyte pouvant être détectée dans un échantillon mais pas nécessairement quantifiée comme une valeur exacte.

La limite de détection est considérée comme égal 3 fois l'écart type des mesures à blancs.



## **2.7. LIMITE DE QUANTIFICATION**

Elle se définit comme étant la plus petite concentration d'analyte qui peut être déterminée avec une incertitude acceptable. Sa valeur est habituellement admise comme 4 à 10 fois la limite de détection.

## **2.8. ROBUSTESSE**

Ce paramètre concerne l'utilisation pratique de procédés analytiques. L'application de procédés robustes est d'une grande utilité dans les laboratoires de routine car ils assurent que la justesse des résultats ne sera pas affectée de façon appréciable par d'éventuels changements mineurs des paramètres analytiques du procédé en question.

## CHAPITRE IV : LA MOULE : « BIOINDICATRICE DE LA CONTAMINATION METALLIQUE »

### 1. CHOIX DE LA MOULE COMME BIOINDICATRICE DE LA CONTAMINATION METALLIQUE

Un **bioindicateur** est défini comme étant « une espèce ou association d'espèces capables par leurs comportements générales de rendre compte de l'évolution générale d'un milieu ». Selon le ministère de l'environnement, comité scientifique Faune et Flore (1978) cité par Jean-Louis Rivière (1993).

L'utilisation d'organisme marin comme bioindicateur est bien connue depuis quelques années, surtout pour les moules, leur utilisation a été proposée pour la première fois par Goldberg en 1975 sous le vocable de « Mussel Watch » pour la surveillance de la qualité de l'eau de mer, en effet ces organismes filtreurs sont connus pour accumuler de fortes concentrations de métaux lourds dans leurs tissus (Viarengo *et al.*, 1993 cités par Bouilly, 2004).

Pour constituer un bon « bioindicateur quantitatif », l'espèce animale utilisée doit avoir, selon Butler *et al.* (1971) et Philips et Rainbow (1994) cités par Casas (2005), les qualités suivantes:

- l'organisme doit concentrer le contaminant, sans effet léthal, aux concentrations rencontrées dans le milieu ;
- il doit être sédentaire afin d'être représentatif de la zone d'échantillonnage ;
- il doit être abondant dans la zone étudiée ;
- il doit avoir une durée de vie suffisamment longue pour permettre l'échantillonnage de plusieurs classes d'âges ;

- il doit avoir une taille suffisante afin de donner une quantité de tissus adéquate pour l'analyse chimique ;
- il doit être euryhalin ;
- il doit concentrer suffisamment pour permettre des dosages sans préconcentration .
- il doit exister une corrélation entre la teneur en contaminants dans l'organisme et la concentration dans l'eau environnante, la concentration dans les tissus reflétant ainsi la biodisponibilité du métal dans le milieu ;
- les effets de variations de la salinité et de la température doivent être connus.

La moule, *Mytilus* sp est un bivalve marin utilisé en tant qu'espèce indicatrice de la contamination des eaux pour les métaux, en effet, ces bivalves présentent des caractéristiques qui ont font de bons bioindicateurs en raison de :

- Leur large répartition géographique ;
- Leur mode de vie sessile ; qui exclue toute possibilité de fuite.
- Leur faculté d'accumuler des métaux présents dans l'environnement dans un facteur de concentration de l'ordre  $10^3$  à  $10^5$  par rapport à l'eau environnante.
- Leur tolérance à différents stress ;
- La possibilité de les transplanter ;
- Leur consommation par l'homme donc vecteur de contamination.

Parmi ces moules, *Mytilus galloprovincialis* Lamarck et *Mytilus edulis planutalus* Lamarck, sont les deux moules fréquemment utilisées dans les programmes de surveillance en méditerranée (Casas, 2005).

## 2. BIOLOGIE DE LA MOULE « *Mytilus galloprovincialis* » OU MOULE MEDITERRANEENE

### 2.1. SYSTEMATIQUE

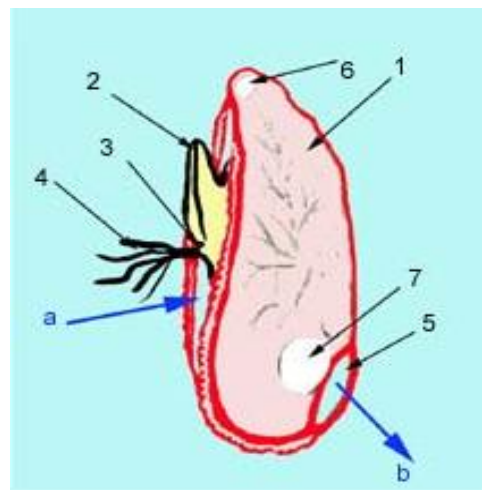
La classification de la moule *Mytilus galloprovincialis* est la suivante :

Règne : Animal  
Embranchement : Mollusques  
Classe : bivalves (pélicypodes).  
Sous classe : Ptériomorphes  
Ordre : Mytiloidés  
Famille : Mytilidés  
Genre : Mytilus  
Espèce : galloprovincialis Lamarck 1819

### 2.2. ANATOMIE

C'est un **mollusque** (corps mou non segmenté) **lamellibranches** (branchies en lamelles) ou **pélicypodes** (pied en forme de hache) dont le corps est protégé par une coquille de nature calcaire formée de **deux valves** égales d'où le nom de **mollusque bivalves**, ces valves sont composées principalement de carbonate de calcium et d'oligoéléments tels que le fer et le magnésium.

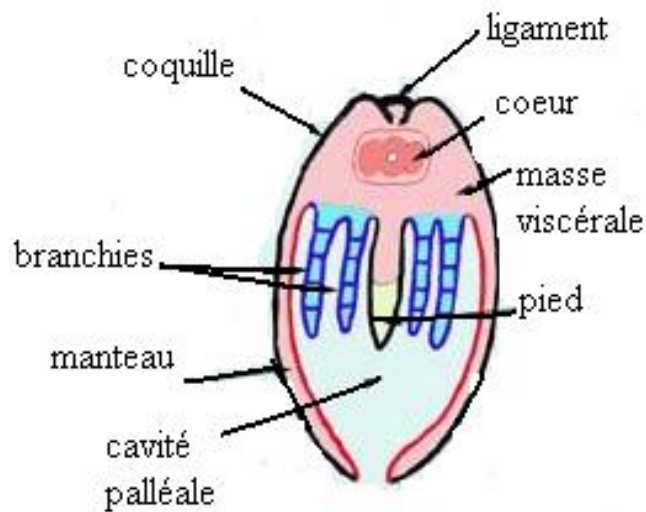
La masse viscérale est enveloppée dans un manteau, repli tégumentaire formé par deux lobes libres ventralement et soudés dorsalement sauf au niveau de la **boutonnière** (figure 9), ces deux lobes délimitent une cavité : **la cavité palléale** (figure 10) ou baignent les branchies. Les valves articulées et unies dans la région antéro-dorsale par **la charnière** qui abrite le ligament élastique et sont fortement appliquées l'une contre l'autre par la contraction de deux muscles adducteurs permettant ainsi la fermeture de la coquille ([http:// pages perso-orange.fr/gonzales.manuel/texte/la %20mer/faune/moule](http://pages.perso-orange.fr/gonzales.manuel/texte/la%20mer/faune/moule)).



- 1- Lobe du manteau.
- 2- Pied
- 3- Glande du byssus
- 4- Byssus
- 5- Boutonnière
- 6- Muscle adducteur antérieur
- 7- Muscle adducteur postérieur
- a- Entrée d'eau
- b- Sortie d'eau

**Figure 9 :** Moule sortie de sa coquille.

Source : [http:// pages perso-orange.fr/ gonzales.manuel/texte/la %20/mer/faune/moule](http://pages.perso-orange.fr/gonzales.manuel/texte/la%20mer/faune/moule).



**Figure 10:** Coupe transversale schématique d'une moule.

Source : [http:// pages perso-orange.fr/ gonzales.manuel/texte/la %20/mer/faune/moule](http://pages.perso-orange.fr/gonzales.manuel/texte/la%20mer/faune/moule).

La masse viscérale molle montre en avant une fente transversale, la bouche entourée de quatre palpes labiaux puis en arrière, **le pied, la glande du byssus et la bosse de polichinelle**, la tête est réduite, d'où le nom **d'Acéphale**.

L'appareil digestif est constitué de la bouche, l'œsophage, la partie stomacale entourée par un foie volumineux ou hépatopancréas et l'intestin.

La cavité péricardique renferme le cœur. Celui-ci est formé de deux oreillettes et d'un ventricule, qui par des artères distribue le sang aux différentes parties du corps.

L'appareil reproducteur est constitué de deux gonades situées dans la bosse du polichinelle.

### **2.3. NUTRITION**

Consommateur microphage, la moule se nourrit de phytoplanctons (algues microscopiques végétales), et de particules en suspension. Elle utilise son appareil branchial comme un filtre, en effet le courant d'eau inhalant passe à travers les branchies qui joue le rôle de tamis et qui comporte des sillons garnis de cellules muqueuses qui agglomèrent les particules en suspension dans l'eau ; les microparticules consommables sont alors transportées jusqu'à la bouche puis atteignent ensuite l'estomac ou elles sont broyées, entourées de mucus et pénètrent dans la glande digestive (hépatopancréas). Les particules non consommables sont alors rejetées à l'extérieur en forme de pseudofécès (Daguzan, 1992).

### **2.4. RESPIRATION**

La respiration est branchiale, à l'aide des palpes labiaux et les cils vibratiles qui recouvre les branchies, elle crée un courant d'eau inhalant qui entre par la face ventrale entre les deux valves, et un courant exhalant qui ressort par la boutonnière du manteau.

Ce courant d'eau ventilatoire permet les échanges gazeux respiratoires entre le sang des deux filaments des deux paires de branchies et l'eau de la cavité palléale.

Les branchies ont donc un rôle à la fois dans la nutrition et la respiration. La capacité de filtration de la moule peut aller jusqu'à 120 litre d'eau par jour (<http://www.fao.org/> Fisheries & Aquaculture, 2000-2009).

## **2.5. REPRODUCTION**

Chez la moule les sexes sont séparés ; au moment de la reproduction les lobes du manteau sont orange chez la femelle et blanchâtre chez le male. La fécondation est externe, la moule femelle rejette ses œufs dans la cavité palléale ou ils sont fécondés par les spermatozoïdes, les œufs fécondés, au nombre de 500 000 environ donnent des larves trochophores univalves puis des larves véligères bivalves ciliées. Ces larves planctoniques tombent ensuite sur le fond et se métamorphosent en des jeunes moules ([http://www.fao.org/Fisheries & Aquaculture](http://www.fao.org/Fisheries%20&%20Aquaculture), 2000-2009).

## **3. PROCESSUS PHYSIOLOGIQUE DE BIOACCUMULATION DES ETM CHEZ LA MOULE**

### **3.1. ASSIMILATION DES ETM**

L'assimilation des métaux peut avoir lieu par la voie alimentaire à travers le tractus digestif lors des prises de nourritures des organismes aquatiques (Jennings, 1979 cités par Hardivillier, 2005). Cette voie est particulièrement importante dans le cas des métaux associés à des particules non dissoutes.

Les voies d'assimilations des métaux par les organismes aquatiques incluent également l'assimilation par contact direct à l'eau environnante. Ceci est réalisé chez les organismes marins à travers les tissus perméables et il est généralement considéré comme un processus passif ne nécessitant pas de dépense d'énergie (Carpene et George, 1981 ; Williams, 1981 ; Mason, 1988 cités par Hardivillier, 2005). Ce transport passif est réalisé par l'intermédiaire de ligands associés aux membranes cellulaires puis par une cascade d'autres ligands endogènes capables de fixer les métaux (Mason, 1988 cités par Hardivillier, 2005). L'assimilation des métaux par cette voie peut exister sur l'ensemble des surfaces perméables du corps des organismes aquatiques en particulier à des sites de haute perméabilité telles que les branchies.

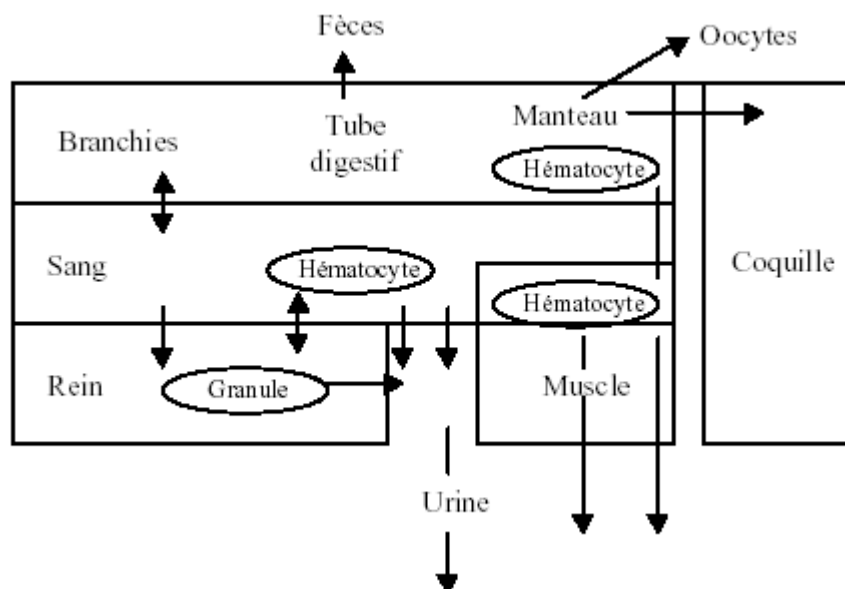
### 3.2. EXCRETION DES METAUX

Selon Casas (2005), les mollusques bivalves éliminent les métaux par plusieurs voies :

- Par voie urinaire. Les cellules rénales jouent également un rôle important dans l'excrétion des métaux. Chez les mollusques bivalves, le rein a la capacité d'excréter des granules riches en métaux.

- par la défécation : La défécation est une autre voie d'excrétion qui permet de supprimer les métaux contenus dans le tractus digestif.

A cela s'ajoute d'autres voies qui ont un caractère plus ou moins épisodique : par synthèse du byssus ou de la coquille ou par les gamètes lors de la ponte (Cossas et Lassus, 1989). La figure 11 représente les différents mécanismes d'excrétion chez les bivalves (Casas, 2005).



**Figure 11:** Mécanisme d'excrétion des métaux chez les bivalves (Casas, 2005).



### **3.3. MECANISME DE STOCKAGE DES ETM**

Les mollusques accumulent principalement dans deux organes : le rein et l'hépatopancréas. Ces derniers sont des sites d'accumulation de phosphates de Ca, Sr et Mg ou de protéines dont les métallothioneines pour lesquelles les éléments des groupes IB et IIB ont beaucoup d'affinité (Casas, 2005).

### **3.4. MECANISME DE DETOXIFICATION**

Les mollusques bivalves sont connus pour survivre dans des milieux fortement contaminés par les métaux lourds (Phillips, 1990 cité par Bouilly, 2004), cela s'explique par le fait qu'il y a développement de mécanisme qui leur permettent de lutter contre cette contamination métallique, le plus connu est la liaison de ces métaux avec des protéines « les métallothioneines », ce mécanisme a été démontré chez plusieurs espèces de bivalves dont les moules (*Mytilus galloprovincialis*).

Il existe d'autres types de réponses tel que :

- La mobilisation d'autres ligands cytosolubles (Cosson *et al.*, 1991 cités par Bouilly, 2004 )
- la séquestration des métaux dans les lysosomes ou granules (Brown, 1982 cités par Bouilly, 2004).

## **4. LES FACTEURS CONDITIONNANT LA BIOACCUMULATION DES ETM CHEZ LA MOULE**

De nombreux paramètres sont connus pour influencer le comportement des bivalves vis-à-vis des métaux, on distingue deux groupes de facteurs :

### **4.1. LES FACTEURS BIOTIQUES**

Parmi les facteurs biotiques, on distingue :

- Les variations inter et intra espèces, en effet tous les coquillages n'accumulent pas les ETM de façons identiques, les palourdes et les coquillages fouisseurs se contaminent plus facilement que les huîtres et les moules, la longueur de leur appareil digestif favorisant un temps de rétention plus élevé ( Ifremer ).

De plus, les huîtres accumulent aussi trois fois plus le cadmium que les moules.

- Les variations saisonnières du métabolisme des moules (lié à la reproduction notamment), les concentrations supérieures en contaminants sont rencontrées le plus souvent juste avant la période de ponte.

- Les variations dues à la taille des moules. De nombreuses études ont mis en évidence la relation métal/taille chez la moule, Cossa *et al* (1980) ont montrés la relation nette entre les concentrations de différents contaminants métalliques (Cd, Cu, Fe, Mn, Ni, Zn) dans la moule *mytilus edulis* et son poids, les petites moules présentent des concentrations plus élevées que les grandes, il y a une dilution des contaminants dans les tissus en croissance.

#### **4.1. LES FACTEURS ABIOTIQUES**

Les conditions marines en particulier la température, la salinité, l'oxygène dissous et la turbidité de l'eau agissent sur la filtration des moules et par conséquent modifient l'efficacité du processus de la bioaccumulation.

Ainsi, la filtration est optimale pour une température comprise entre 18° et 22° et une faible turbidité de l'eau (Montfort, 2006).

***DEUXIEME PARTIE***  
***ETUDE EXPERIMENTALE***

## CHAPITRE V MATERIEL ET METHODE

### 1. MATERIEL

#### 1.1. NATURE ET EFFECTIF DES ECHANTILLONS

Les moules de Skikda ont été pêchées a l'ouest de la région, celle d'El Kala ont été achetées au marché. Skikda est une région connue pour sa zone industrielle comparativement El Kala qui est plutôt une région agricole.

Les moules appartiennent à une espèce de bivalve « *Mytilus galloprovincialis* » (photo 5).

L'espèce a été identifiée par le docteur Meddour Abderrafik (spécialiste en biologie marine).

Pour cette étude environ 70 pièces de chaque région ont été amenées au laboratoire conservé à moins 20°C. Les lignes directives internationales (Ospar, 1999) recommandent des échantillons de 50 moules ( $\pm 10\%$ ).



**Photo 5 :** La moule *Mytilus galloprovincialis*

(Photo originale)

## 1.2. APPAREILLAGE

Le dosage des éléments traces métalliques (cuivre, zinc, fer, manganèse et cadmium) a été effectué par spectrophotométrie d'absorption atomique bifaisceau de type **Shimadzu AA 6800 (photo 6)**. Les principaux composants de cet appareil sont indiqués dans la photo 6 dont la description et le fonctionnement de chaque composant a fait l'objet du chapitre III.

- 1) Position de la lampe.
- 2) Passeur automatique d'échantillon pour le dosage au four graphite.
- 3) Position des échantillons pour le dosage à flamme.
- 4) Atomiseur (Flamme ou four graphite).
- 5) Un micro-ordinateur équipé d'un logiciel pilotant le SAA, traitement de données et enregistrement.



**Photo 6 :** Spectrophotomètre d'Absorption Atomique de type Shimadzu AA 6800.

(Photo originale)

### 1.3. MATERIELS POUR LA MINERALISATION

\*Un montage à reflux de marque Phywe constitué:

- D'un Chauffe ballon.
- Réfrigérant à eau droit (+ tuyaux).



**Photo 7 :** Un montage à reflux (photo originale)

\*Un four à moufle de marque Heraeus



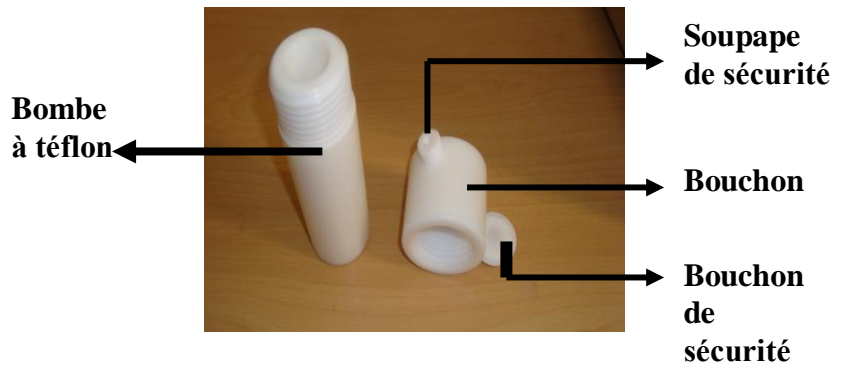
**Photo 8 :** Un four à moufle (photo originale)

\*Un micro-ondes Speedwave MWS2 :

Le micro-ondes est constitué de dix bombes à téflons (photo9 et 10). Il est entièrement automatisé, le programme thermique est choisi selon la matrice biologique étudiée.



**Photo 9 :** Un micro-ondes  
(Photo originale)



**Photo 10 :** Une bombe à téflon  
(Photo originale)

#### 1.4. AUTRES MATERIELS

- Balance de précision à 0.1mg.
- Pied à coulisse électronique.
- Couteau en inox.
- Capsule en porcelaine.
- Spatule.
- Mortier en porcelaine.
- Hachoir électrique.
- Pipette d'écoulement.
- Fioles de 20ml, 50ml, 100ml et 1000ml.
- Capsules en aluminium.
- Papier filtre spécial métal (Whatman).

- Entonnoirs.
- Plaque chauffante.
- Sabot de pesée.
- Embouts de pipettes jetables.
- Godets de passeur d'échantillon jetables.
- Micropipettes.
- Dessiccateur.
- Flacons pour conserver les étalons et les échantillons.

## **1.5. LES REACTIFS**

- Acide nitrique pur 60%.
- Acide chlorhydrique.
- Sulfate de cuivre 5 fois hydraté.
- Sel de fer ( $\text{Fe Cl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ).
- Sel de nitrate de plomb.
- Solution mère (1g/l) qualité Perkin Elmer de cadmium.
- Solution mère (1g/l) qualité Perkin Elmer de zinc.
- Solution mère (1g/l) qualité Perkin Elmer de manganèse.
- L'eau utilisée pour la préparation des étalons et les extraits minéralisés est distillée au niveau du laboratoire à l'aide d'un distillateur de marque Kottermann.

## **2. METHODES**

### **2.1. PREPARATION DU MATERIEL**

La verrerie utilisée est lavée après chaque usage et laissée tremper pendant une nuit dans une Solution acidifiée à 1% (eau distillé+ acide nitrique à 1%) puis rincée le lendemain avec l'eau distillée et séchée dans l'étuve.



La maintenance de la verrerie est une partie intégrante de l'analyse, considérant qu'une absence de soin à ce niveau peut avoir des répercussions sur le résultat final (erreurs due à une fiole endommagée, mal calibrée, contamination, etc.).

## 2.2. PREPARATION DES ECHANTILLONS AVANT ANALYSE CHIMIQUE

Les échantillons de moules sont décongelés, égouttés et nettoyés en enlevant les algues et les débris qui adhèrent à la coquille et tout en essayant de manipuler le moins possible les échantillons pour éviter une éventuelle contamination.

La taille et le poids des moules ont été déterminés à l'aide d'un pied à coulisse électronique et une balance de précision. En fonction de la taille, ressort deux groupes de moules : moules moyennes (Mm) (<40mm) et grosses moules (Gm) (>40mm).

Le byssus est séparé des moules pour chacun des deux lots et la partie comestible est extraite des coquilles des 2 groupes de moules à l'aide d'un couteau en inox.

Un premier broyage de la chair extraite est effectué en utilisant un hachoir électrique et

le poids frais (**Pf**) des moules (mm, Gm), coquilles (Mm,Gm) et byssus est déterminé en tarant préalablement le poids des capsules en porcelaines.

Les échantillons sont séchés dans l'étuve à une température de 80°C pendant 48heures.

Après deux jours, les échantillons sont retirés de l'étuve et placés dans le dessiccateur pour qu'ils ne prennent pas de l'humidité de l'atmosphère (le dessiccateur contient des silicates qui permettent d'enlever l'humidité) puis le poids sec (**Ps**) est noté, la masse perdu représente l'humidité, ce qui reste est la matière sèche.

Le calcul du pourcentage d'humidité est comme suit :

$$\% \text{ Humidité} = \frac{\text{Pf} - \text{Ps}}{\text{Pf}} \times 100$$

Le tableau suivant rassemble le poids frais et sec des moules des deux régions ainsi que le pourcentage d'humidité calculé.

**Tableau IV :** Le poids frais et sec des deux groupes de moule des deux régions ainsi que le pourcentage d'humidité

	<b>Poids Frais (g)</b>	<b>Poids sec (g)</b>	<b>Pourcentage d'humidité ( %)</b>
Grosses moules d'El kala	81.5	23	78
Moule moyennes d'El kala	127	28	72
Grosses moules de Skikda	104	14	87
Moule moyennes de Skikda	92	12	87

Un deuxième broyage des échantillons est effectué après le séchage afin d'obtenir une poudre sèche qui est homogénéisée par la suite à l'aide d'un mortier en porcelaine. Les échantillons sont conservés dans des flacons en polyéthylène à +4°C (préalablement lavés et séchés) étiquetés jusqu'à leurs analyses.

Il est à noter que le séchage des échantillons biologiques avant l'analyse améliore l'efficacité de la minéralisation acide en éliminant l'eau qui diluerait les réactifs (La teneur en eau dans les moules est très variable, de l'ordre de 70 à 90 %), de plus l'homogénéisation des échantillons secs est meilleur et améliore grandement la représentativité des faibles prises d'essai.

## 2.3. PREPARATION DES SOLUTIONS ETALONS ET DES REACTIFS

### 2.3.1. Préparation des solutions étalons

#### \*Préparation des solutions mères

Les solutions mères sont à 1000 ppm (1g/l). Dans un litre d'eau déminéralisée, une certaine quantité est dissoute de telle façon à obtenir 1 gramme :

- De cuivre à partir de sulfate de cuivre 5 fois hydraté.
- De fer à partir d'un sel de fer ( $\text{Fe Cl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ).
- De plomb à partir d'un sel de nitrate de plomb.

Une petite quantité d'acide nitrique est ajoutée dans les solutions préparées pour la gamme d'étalonnage, afin d'être dans les mêmes conditions que les solutions inconnues à doser.

#### \* Préparation d'une solution intermédiaire multi-élément de 100 mg/l

Dans une fiole de 100 ml, et à l'aide de pipette graduée de 10ml, une solution multi-élément de cuivre, zinc, fer, manganèse, cadmium et de plomb est préparée comme suit : 10 ml d'une solution mère de cuivre + 10 ml d'une solution mère de zinc + 10 ml d'une solution mère de fer + 10 ml d'une solution mère de manganèse + 10 ml d'une solution mère de cadmium + 10 ml d'une solution mère de plomb + 40 ml d'eau distillée.

#### \* Préparation d'une solution multi-élément de 10 mg/l

Dans une fiole de 100 ml, et à l'aide d'une pipette graduée de 10 ml, une dilution  $1/10^{\text{ème}}$  de la solution intermédiaire multi-élément de 100 mg/l est effectuée c-à-d : 10 ml de la solution multi-élément de 100mg + 90 ml d'eau distillée.

#### \* Préparation des solutions étalons

À partir de la solution multi-élément de 10 mg/l, les solutions étalons sont préparées de la manière suivante :

Pour le cuivre, zinc, manganèse et fer les étalons sont de l'ordre de 0.1 ppm, 0.5 ppm, 1 ppm, 2 ppm et 5 ppm.

Pour le cadmium, les étalons sont de l'ordre : 0 ppb, 1 ppb, 2 ppb, 5 ppb.

Pour travailler dans les mêmes conditions, les solutions étalons sont préparées en même temps que les échantillons par le même personnel dans le but de minimiser au maximum les contaminations et les éventuelles variations liées à la matrice.

### **2.3.2. Préparation du réactif (eau régale) pour la digestion**

L'eau régale (**aqua regia**) est préparée à partir d'un mélange de deux acides, l'acide nitrique et l'acide chlorhydrique purs dans des proportions 1 : 3 (v/v).

Il est nécessaire avant de commencer la préparation de l'eau régale de porter un masque et des lunettes pour se protéger contre les vapeurs d'acides qui sont toxiques.

Dans une burette graduée à 250ml, un volume de 100ml d'acide nitrique est mesuré et transvasé par la suite dans un grand flacon. Dans la même burette un volume de 300ml d'acide chlorhydrique est mesuré et rajouté au contenu du flacon. Le flacon est étiqueté en mentionnant la nature du contenu et la date de préparation, ainsi l'eau régale est préparée.

Il est à noter que la qualité du résultat d'analyse dépend aussi de la qualité des réactifs utilisés pour la minéralisation, ils peuvent constituer une source de contamination s'ils ne sont pas de qualité analytique.

## **2.4. MINÉRALISATION DES ÉCHANTILLONS**

La minéralisation est une étape importante pour la détermination d'éléments traces, elle permet de détruire la matière organique et obtenir des solutions contenant la teneur totale des éléments présents dans la prise d'essai.

Cependant, l'extraction doit être réalisée d'une telle manière que l'analyte est séparé de sa matrice sans perte ni contamination, ni destruction de la structure moléculaire de l'analyte.

Pour cette étude, trois techniques d'extractions des ETM ont été utilisées pour la minéralisation de la chair, le byssus et les coquilles.

Les analyses ont été réalisées sur des échantillons composites pour les deux groupes de moules des deux régions.

### **2.4.1. Digestion humide par chauffage à reflux**

#### **\*Principe**

Un chauffage à reflux accélère une réaction car la température est un facteur cinétique, plus elle augmente plus la vitesse de réaction augmente. Le reflux empêche la perte de réactif ou de produit par évaporation. Du fait de l'augmentation de la température certaines espèces chimiques s'évaporent. Ces espèces chimiques montent alors dans le réfrigérant. De l'eau froide s'écoule en permanence dans ce réfrigérant, au contact des parois les gaz refroidissent et se condensent sous formes de gouttelettes sur les parois du réfrigérant et finissent par retomber dans le vase à réaction. Cette technique a été réalisée selon la méthode décrite par Afri-Mehennaoui F-Z et Mehennaoui S (2004).

#### **\*Mode opératoire**

Environ 2g de byssus est pesé dans une capsule en aluminium préalablement tarée puis introduite dans le ballon. Avec une pipette d'écoulement, 20ml de l'eau régale est rajoutée au contenu du ballon. Ce dernier est placé dans le montage, la température du chauffage est réglée et la circulation de l'eau froide est vérifiée, ainsi la digestion peut commencer.

Au cours du chauffage, il y a une ébullition du mélange réactionnel et formation d'un condensât sur les parois froides du bas du réfrigérant et des gouttes tombent régulièrement du réfrigérant et retournent dans le milieu réactionnel.

Au bout de 2heures, la digestion est atteinte. Le chauffage est alors arrêté.

Une fois refroidi, le liquide obtenue est transféré par filtration dans une fiole de 50ml est complétée avec de l'eau déminéralisée puis transvaser dans un flacon et conserver au réfrigérateur à 4°C jusqu'à l'analyse.

## 2.4.2. La calcination sèche

### \*Principe

La calcination s'effectue dans un four à moufle en augmentant la température par palier successif jusqu'à 450°C dont le but d'éviter les inflammations brutales de l'échantillon et qui provoquerait des pertes. La calcination sèche adoptée est réalisée selon la méthode décrite par Milhaud et Mehennaoui (1988).

### \*Mode opératoire

**Pour un essai préliminaire**, deux grosses et deux moyennes coquilles, chacune placée dans une capsule en porcelaine, après la pesée exacte des coquilles le four est allumé à température réglable. Les coquilles sont alors placées à l'intérieur du four (photo 11) et laissées pendant 1 heure à 150°C, 300°C pendant une heure et enfin 450°C pendant 1 heure. A la sortie des échantillons du four, il faut s'assurer qu'ils ont refroidis pour éviter un choc thermique qui risquerait de casser les capsules. Le résultat doit être des cendres blanches, malheureusement pour cet essai, les cendres obtenues sont grises ce qui nous a amenée à faire un autre essai.



**Photo 11:** les capsules contenant les échantillons introduites dans le four à moufle.

(Photo originale)

**Pour le second essai**, neuf coquilles de chaque groupe (grosses et moyennes coquilles), sont écrasées 3 à 3 dans un mortier en porcelaine en rinçant à chaque fois le mortier avec l'eau distillée.

Le poids des coquilles est noté avant et après calcination, le programme thermique appliqué est le suivant : 150°C pendant une heure, 300°C pendant une heure et 450°C pendant 16 heures.

Le jour suivant, les capsules sont retirées du four après avoir été refroidis.

Pour cet essai, des cendres blanches sont obtenues qui sont par la suite homogénéisées à l'aide d'un mortier en porcelaine puis transvasées dans des flacons étiquetés.

Pour chaque échantillon composite de poudre de coquille (moyennes et grosses coquilles), six répétitions de 0.5g de prise d'essai dans des sabots de pesées préalablement tarées puis placées dans des fioles de 20ml.

Les cendres sont dissoutes par une attaque de 2 ml d'acide nitrique pur (HNO<sub>3</sub>) en chauffant légèrement sur une plaque chauffante. Le liquide obtenu est filtré sur du papier filtre dans une fiole de 20 ml et complété à son volume final avec l'eau déminéralisée.

### **2.4.3. Digestion acide par micro-ondes**

#### **\*Principe**

C'est une nouvelle technique d'extraction qui a remplacé les méthodes classiques (Kathryn *et al*, 1998) et devenue l'une des techniques la plus utilisée de nos jours pour la minéralisation de matériels biologiques et environnementales. La procédure de digestion acide par micro-ondes a fait l'objet de plusieurs articles (Bermejo-Barrera P *et al*, 2000).

Cette technique d'extraction consiste en une minéralisation des échantillons sous pression induite par des ondes. Ce système offre d'énormes avantages :

Sa capacité exceptionnelle à minéraliser jusqu'à dix échantillons.

De plus un gain de temps de la minéralisation qui est relativement court.

Ce système garanti aussi par l'emploi de bombe la résistance aux agents chimiques de plus aucune pièce métallique ne se trouve à l'intérieur, le risque de contamination est fortement réduit.

### \*Mode opératoire

Avant de procéder à la pesée des échantillons, il faut toujours remuer le contenu du flacon de façon à homogénéiser l'échantillon. Une fois c'est fait, le flacon est ouvert et placé dans le dessiccateur pendant quelques minutes.

Cinq répétitions d'environ 0.5g de l'échantillon composite (grosses moules) est pesé dans un sabot de pesée préalablement taré. De la même manière pour l'échantillon composite des moules moyennes, cinq répétitions ont été effectuées.

Les échantillons sont placés ensuite dans les 10 bombes à téflons et à l'aide d'une pipette d'écoulement, 6 ml d'eau régale est rajoutée dans chaque bombe. Les bombes sont laissées ouvertes pendant 20 minutes avant d'être fermées et placées dans le micro-ondes, le programme (**P6**) est choisie selon la matrice étudiée et la digestion est commencée suivant le programme thermique indiqué dans le tableau suivant :

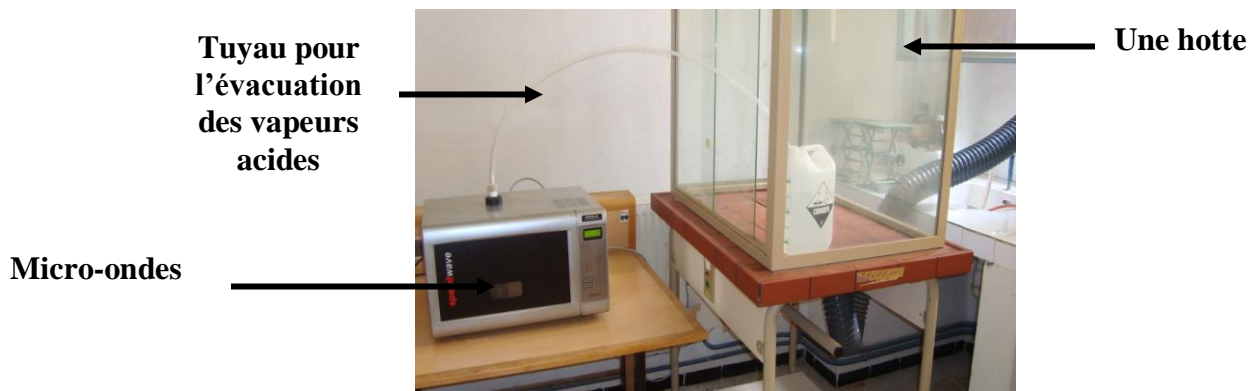
**Tableau V** : les caractéristiques du programme thermique (P6)

<b>Etape</b>	1	2	3
<b>T [°C]</b>	130	155	170
<b>Puissance [%]</b>	80	80	80
<b>Temps [min]</b>	8	5	12

Au bout de 25 minutes, la digestion est atteinte. Les bombes à téflons sont alors retirées du micro-ondes tout en travaillant avec précaution les mains gantées. Ces derniers ont été placés dans un bac rempli d'eau froide dans le but de les refroidir.

Une fois refroidi, l'ouverture des bombes est effectuée avec précaution sous la hotte (photo 12) en portant des bavettes ou masques pour se protéger contre les vapeurs d'acides (l'eau régale dégage de très fortes vapeurs). Chaque bombe est filtrée dans une fiole de 20 ml et ajustée par l'eau déminéralisée à son volume final, ainsi les échantillons sont prêts pour le dosage.





**Photo 12 :** La hotte utilisée lors de la digestion par micro-ondes (photo originale).

### **3. LE CONTROLE DE LA METHODE ANALYTIQUE**

Parallèlement à l'analyse chimique des échantillons, la méthode d'extraction a été vérifiée par un contrôle interne à l'aide d'un échantillon certifié et la méthode des ajouts dosés et par contrôle externe à l'aide d'exercice d'intercalibration.

#### **3.1. ECHANTILLON DE REFERENCE**

Il s'agit d'un échantillon de thon IAEA (International Atomic Energy Authority). Il a subi la même procédure d'analyse que les échantillons de moules. Trois répétitions d'une prise d'essai de 0.5g d'échantillon de référence dans des bombes à téflon en présence de 6 ml d'eau régale a été minéralisée au micro-ondes, le liquide obtenu a été filtré dans une fiole de 20ml et ajusté par l'eau déminéralisée à son volume final.

#### **3.2. DOPAGE DES ECHANTILLONS DE MOULES**

Un volume de 50  $\mu$ l de cadmium et 50 $\mu$ l de plomb a été ajouté à une prise d'essai de 0.5g d'échantillon de moule d'El kala afin d'amener la concentration en cadmium et en plomb à 100 mg dont la concentration observée est de 0.01mg/kg.

L'ajout a été répété dix fois au nombre des bombes à téflon numérotées de 2280 à 2289 auxquelles a été rajouté 6 ml d'eau régale. Ensuite les échantillons ont été minéralisés au micro-ondes et le dosage a été réalisé au SAA à flamme.

### 3.3. EXERCICE D'INTERCALIBRATION

L'exercice d'intercalibration a été effectué dans deux laboratoires, le laboratoire Environnement,Santé et Production Animale (**ESPA**) de Batna et le laboratoire de Biologie et Environnement (**LBE**) de Constantine sur les échantillons de moules et d'algues de la région d'El kala.

Les résultats obtenus du dosage par SAA à flamme au sein des deux laboratoires ont été comparés.

### 4. DOSAGE

Le dosage du cuivre, du zinc, du manganèse et du fer a été effectué par spectrophotométrie d'absorption atomique à flamme de type **Shimadzu AA 6800**, celui du cadmium a été effectué au four graphite (SAA-FG). Le tableau VI indique le programme thermique utilisé pour le dosage du cadmium.

**Tableau VI : Programme thermique du cadmium**

<b>Etapes</b>	<b>Température de travail (°C)</b>	<b>Temps (seconde)</b>
<b>Séchage</b>	150	20s
<b>Décomposition</b>	250	10s
<b>Pyrolyse</b>	500	23s avec une rampe de 10s
<b>Atomisation</b>	2200	2s
<b>Nettoyage</b>	2400	2s

Les concentrations choisies pour les solutions étalons sont :

- Pour le zinc, le fer et le manganèse : 0.5, 1, 2, 5 mg/l.
- Pour le cuivre : 0.5, 1, 2 mg/l.
- Pour le cadmium : 0 ppb, 1 ppb, 2 ppb, 5 ppb.

Les courbes d'étalonnage du Fer, Cuivre, Manganèse, Cadmium et Zinc et sont représentées dans les figures (12, 13, 14, 15, 16).

Pour le Cadmium, la zone de linéarité est comprise entre 0 et 5  $\mu\text{g/l}$ , le coefficient de corrélation est de 0.999 et la pente de la droite de régression est de 0.2128 (figure 15).

Pour le fer, La zone de linéarité est comprise entre 0.5 et 5 mg/l, le coefficient de corrélation est de 0.9988 et la pente de la droite de régression est de 0.0283 (figure 12).

Pour le zinc, La zone de linéarité est comprise entre 0.5 et 5 mg/l, le coefficient de corrélation est de 0.9863 et la pente de la droite de régression est de 0.0703 (figure 16).

Pour le manganèse, la zone de linéarité est comprise entre 0.5 et 5 mg/l, le coefficient de corrélation est de 0.9991 et la pente de la droite de régression est de 0.0615 (figure 14).

Pour le cuivre, la zone de linéarité est comprise entre 0.5 et 2 mg/l, le coefficient de corrélation est de 0.9954 et la pente de la droite de régression est de 0.0279 (figure 13).

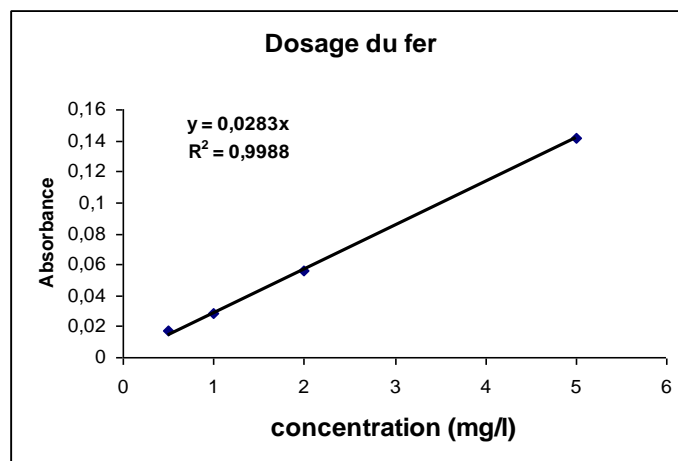
**La limite de détection ( LD)** définie comme étant la concentration de la solution ayant une absorbance égale à 3 fois l'écart-type du blanc, a été déterminée pour le cadmium en réalisant 4 mesures consécutives des blancs.

**La limite de quantification** qui est la concentration la plus faible mesurable a été déterminée, elle est égale à 4 fois la limite de détection.

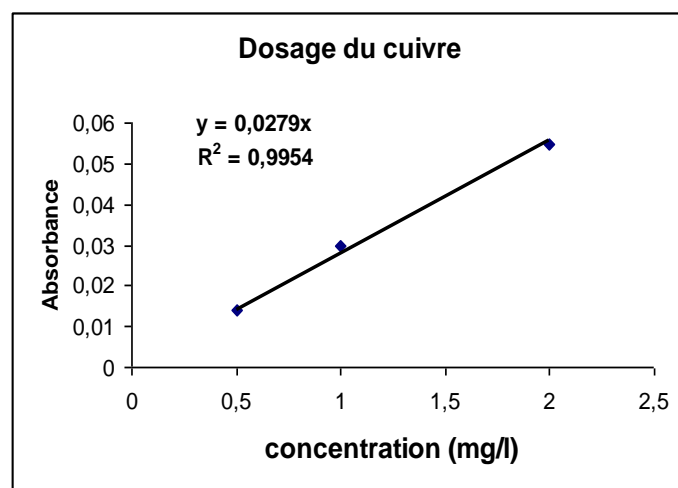
## **5. ANALYSE STATISTIQUE**

L'analyse a été effectuée grâce aux logiciels STATISTICA et EXCEL pour le calcul :

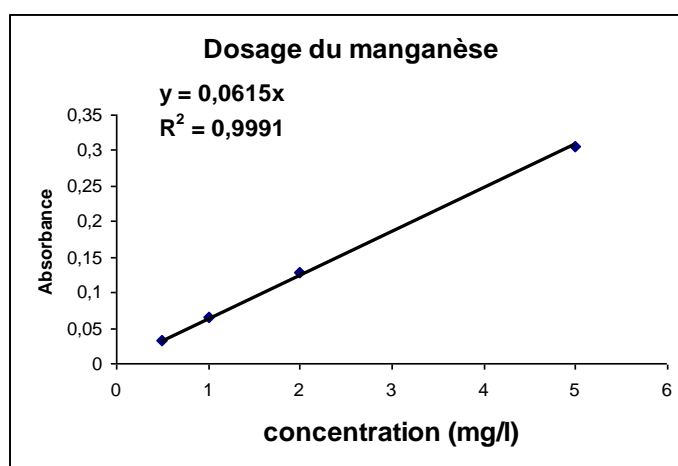
- Des moyennes et des écart-types.
- Des corrélations afin d'établir les liaisons deux à deux entre les ETM.
- Le test t Student pour séries appariées est effectué pour comparer les moyennes des ETM des moyennes et grosses moules des deux régions.



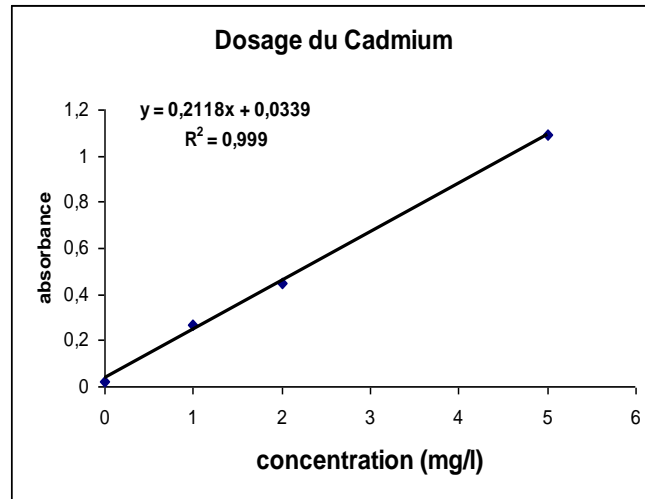
**Figure 12:** Droite d'étalonnage du fer



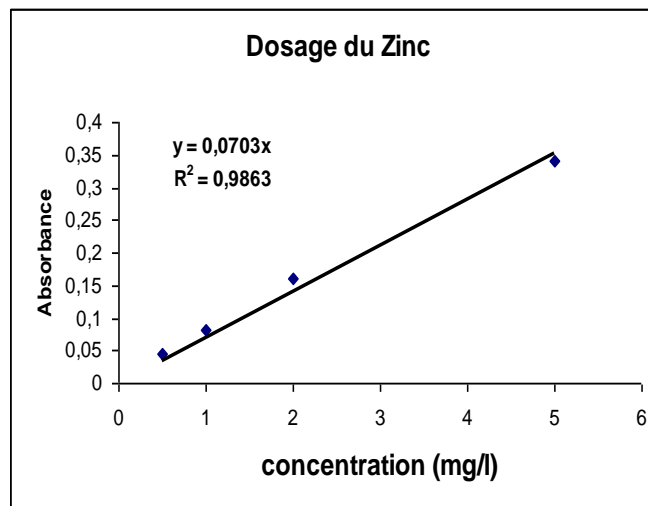
**Figure 13 :** Droite d'étalonnage du cuivre



**Figure 14 :** Droite d'étalonnage du manganèse



**Figure 15 :** Droite d'étalonnage du cadmium



**Figure 16 :** Droite d'étalonnage du zinc

## CHAPITRE VI RESULTATS ET DISCUSSION

Dans ce chapitre seront abordés successivement les résultats obtenus et leurs commentaires relatifs à :

- La limite de détection et de quantification.
- L'extraction des ETM à partir de l'échantillon de référence.
- Dopage des échantillons de moules.
- L'exercice d'intercalibration dans deux laboratoires.
- Teneurs des ETM dans les échantillons de moules des deux régions (Skikda et El kala).
- Teneurs des ETM dans les coquilles et le byssus des moules de la région de Skikda.
- Aux études des corrélations des ETM pris deux à deux.

### 1. DETERMINATION DE LA LIMITE DE DETECTION ET DE QUANTIFICATION

La sensibilité d'une méthode est son aptitude à détecter et/ou à mesurer avec précision de faibles quantités d'éléments. Elle est exprimée par deux grandeurs :

**La limite de détection (LD)** définie comme étant la plus petite quantité d'analyte pouvant être détectée dans un échantillon mais pas nécessairement quantifiée comme une valeur exacte, elle est égale à 3 fois l'écart-type du blanc et **La limite de quantification** est définie comme étant la concentration la plus faible mesurable, elle est égale à 4 fois la limite de détection.

Pour le cadmium, La limite de détection et de quantification a été déterminée en réalisant 4 mesures consécutives des blancs, les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau VII.

**Tableau VII : Limite de détection et de quantification**

	<b>Concentration en ppb</b>
<b>Blanc 1</b>	0.14
<b>Blanc 2</b>	0.19
<b>Blanc 3</b>	0.19
<b>Blanc 4</b>	0.15
<b>Moyenne</b>	0.17
<b>Ecart-type</b>	0.024
<b>Limite de détection –LD (3 × écart-type)</b>	<b>0.07</b>
<b>Limite de quantification (4 × LD)</b>	<b>0.28</b>

D'après les résultats, la limite de détection pour le cadmium est de 0.07 µg/l et la limite de quantification est de 0.28 µg/l. Cette limite de détection est inférieure de celle rapportée par Houpert *et al* (1997), Mehennaoui *et al* (1999) qui est de l'ordre de 0.2 µg/l, ceci s'explique par le fait que les conditions analytiques ne sont pas les mêmes (matrices différentes, modalité d'extraction et appareillage différents). D'autres auteurs mentionnent des limites de détections proche de la nôtre de l'ordre de 0.06 µg/l (Sedki *et al*, 2003).

Les résultats qui sont dans l'intervalle de la limite de détection et de quantification c'est-à-dire entre 0.07 et 0.3 µg/l, sont qualifiés de semi-quantitatifs, tel que décrit par Milhaud *et al* (2000).



## 2. RESULTATS RELATIFS AU CONTROLE DE LA METHODE D'EXTRACTION

### 2.1. RESULTATS RELATIFS A LA MINERALISATION DE L'ECHANTILLON DE REFERENCE

Un matériau de référence (MR) est défini selon Quevauviller (2006) comme étant un matériau ou substance dont une (ou plusieurs) valeur (s) de la (des) propriété (s) est (sont) suffisamment homogène (s) et bien définie (s) pour permettre de l'utiliser pour l'étalonnage d'un appareil, l'évaluation d'une méthode de mesurage ou l'attribution de valeurs aux matériaux.

Un matériau de référence certifié (MRC) est définie selon Quevauviller (2006) comme étant un matériau de référence, accompagné d'un certificat, dont une (ou plusieurs) valeur (s) est de la (des) propriété (s) est (sont) certifiée (s) par une procédure qui établit son raccordement à une réalisation exacte de l'unité dans laquelle les valeurs de propriété sont exprimées et pour laquelle chaque valeur certifiée est accompagnée d'une incertitude à un niveau de confiance indiqué.

Cinq éléments traces métalliques ont été déterminés dans un échantillon de référence **le thon IAEA** (International Atomic Energy Authority) dont les concentrations en ETM sont connues.

L'échantillon de thon a subi le même processus d'extraction au micro-ondes que les échantillons de moules. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau VIII.

**Tableau VIII:** Teneurs en métaux (mg/kg) (moyenne± écart-type) de 3 répétitions de l'échantillon certifié. C.V= coefficient de variation, R= pourcentage de récupération, n= effectif.

	<b>Cadmium (cd)</b>	<b>Cuivre (Cu)</b>	<b>Fer (Fe)</b>	<b>Zinc (Zn)</b>	<b>Manganèse (Mn)</b>
<b>Valeur certifiée</b>	0.02	2.8	72.5	17	0.6
<b>Valeur calculée</b>	0.023 ± 0.01 n=3 C.V=36 R=117%	2.6 ± 0.3 n=3 C.V=10 R=96%	71.45 ± 5.98 n=3 C.V=8 R=99%	19 ± 0.3 n=3 C.V=1 R=114%	1 ± 0.3 n=3 C.V=28 R=176%

Le taux de récupération du zinc est surprenant (114%) bien que sa valeur calculée soit proche de sa valeur certifiée (19 mg/kg contre 17 mg/kg). Le pourcentage de récupération du cuivre et du fer est satisfaisant respectivement 96% et 99%. Le taux de récupération du manganèse est de l'ordre de 176%, trop élevée ; cela veut dire que sa détermination était effectuée avec excès. La faible teneur de l'échantillon de référence (0.6 mg/kg) n'explique pas à elle seule ce pourcentage de récupération. D'autres conditions analytiques doivent être élaborées et vérifiées pour déterminer avec précision cet élément dont le rôle physiologique est bien connu (Schäfer, 2004), alors que sa toxicité est relativement faible.

## 2.2. RESULTATS RELATIFS AU DOPAGE DES ECHANTILLONS DE MOULES

Dans le but de vérifier la méthode d'extraction d'une part et d'autre part pouvoir doser des faibles teneurs en cadmium et en plomb par SAA à flamme, des quantités de cadmium et en plomb (100 mg) ont été ajoutées aux échantillons de moules d'El kala, dix répétitions ont été effectuées avec une prise d'essai de 0.5g d'échantillon de moule. Ces échantillons ont été minéralisés au micro-ondes et le dosage a été effectué au SAA à flamme, les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau IX.

**Tableau IX : Résultats relatifs au dopage du plomb et cadmium**

<b>N° des bombes à téflon</b>	<b>Valeurs Théoriques pour le cadmium et le plomb (mg/kg)</b>	<b>Valeurs Observées pour le cadmium (mg/kg)</b>	<b>Valeurs Observées pour le plomb (mg/kg)</b>
2280	100	106	96
2281	100	103	94
2282	100	103	87
2283	100	104	91
2284	100	102	90
2285	100	101	90
2286	100	102	85
2287	100	96	82
2288	100	99	104
2289	100	98	100
<b>Moyenne</b>	100	101	92

Les résultats obtenus montrent un taux de récupération satisfaisant pour le cadmium et le plomb respectivement 101% et 92%, cela veut dire que la quantité ajoutée pour le cadmium et le plomb a été retrouvée ce qui s'explique par le fait que le processus d'extraction jusqu'au dosage en passant par la préparation des solutions étalons et le calibrage de l'équipement (SAA) est tout à fait correcte.

Par ailleurs les quantités ajoutés dans les échantillons de moules sont importantes simulant un niveau de contamination élevé, permettant ainsi leurs quantifications par SAA à flamme.

### 2.3. RESULTATS RELATIFS A L'EXERCICE D'INTERCALIBRATION

Pour mieux appuyer ou renforcer la validation interne de la méthode, il est d'usage de mettre en œuvre des exercices d'intercalibration, ainsi deux matrices biologiques (moules et algues) ont été utilisées pour cet exercice d'intercalibration. Les extractions effectuées grâce à une digestion humide suivie d'un chauffage au micro-ondes ont fait l'objet de quantification de trois éléments métalliques (Zn, Cu et Mn) dans deux laboratoires ESPA de Batna et LBE de Constantine respectivement par SAA à flamme Shimadzu AA 6800 et SAA Perkin Elmer Analyst 100. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau X.

**Tableau X :** les teneurs en (Cu, Zn, Mn) (exprimées en mg/kg) dans les échantillons (moule, algues) lors d'exercice d'intercalibration effectué au 2 laboratoires (ESPA, LBE).

	<b>Zinc</b>		<b>Cuivre</b>		<b>Manganèse</b>	
	<b>Moule 1</b>	<b>Algue1</b>	<b>Moule1</b>	<b>Algue 1</b>	<b>Moule 1</b>	<b>Algue 1</b>
<b>Labo ESPA d (SAA Shimadzu)</b>	189	20	13	10	10	22
<b>Labo LBE (SAA Perkin Elmer)</b>	196	22	12	10	10	23
	<b>Moule 2</b>	<b>Algue2</b>	<b>Moule 2</b>	<b>Algue 2</b>	<b>Moule 2</b>	<b>Algue 2</b>
<b>Labo ESPA (SAA Shimadzu)</b>	269	31.5	15	14	13	32
<b>Labo LBE (SAA Perkin Elmer)</b>	267	31	17	13	14	33

Le résultat obtenu du dosage du cuivre dans les moules et les algues au laboratoire ESPA de Batna et LBE de Constantine est comparable, respectivement 13, 15mg/kg contre 12, 17 mg/kg pour les moules et de 10, 14 mg/kg contre 10, 13mg/kg pour les algues. De même pour le Manganèse, les résultats obtenus au laboratoire ESPA se rapprochent de ceux obtenus au laboratoire LBE respectivement de 10, 13mg/kg contre 10, 14mg/kg pour les moules et de 22, 32mg/kg contre 23, 33 pour les algues . Enfin pour le zinc, les résultats obtenus au deux laboratoires (ESPA et LBE) se rapprochent aussi.

En conclusion les résultats obtenus lors de cet exercice d'intercalibration effectué au deux laboratoires sont comparables ce qui traduit l'exactitude de la technique analytique.

### **3. RESULTATS RELATIFS AU DOSAGE DES ETM DANS LES MOULES (MOYENNE ET GROSSE MOULE) DES DEUX REGIONS**

Les résultats obtenus du dosage des ETM dans les moules des deux régions (Skikda et El kala) sont rassemblés dans les tableaux XI et XII.

**Tableau XI :** Teneurs (exprimées en mg/kg) en ETM des grosses et moyennes moules des deux régions (Skikda et EL kala).

S= Significatif ; N.S= Non Significatif (P<0.05).

	<b>Grosse moule Skikda</b>	<b>Grosse moule EL kala</b>	<b>Test t Student</b>	<b>Moule moyenne Skikda</b>	<b>Moule moyenne EL kala</b>	<b>Test t Student</b>
<b>Cd</b>	0.71 ± 0.09 <sup>a</sup> 0.62 ± 0.07 <sup>b</sup> n= 10 <sup>c</sup> CV= 12 <sup>d</sup>	0.01 ± 0.001 0.01 ± 0.002 n= 10 CV=20	S(P=0.00005)	0.65 ± 0.12 0.57 ± 0.1 n= 10 CV= 18	0.01 ± 0.001 0.01 ± 0.001 n= 10 CV= 11	S(P=0.0002)
<b>Zn</b>	151 ± 4.09 131 ± 3.5 n= 10 CV=3	261 ± 45.7 203 ± 35.6 n= 10 CV= 18	S(P=0.01)	166 ± 21 144 ± 18 n= 10 CV= 13	283 ± 8.9 203 ± 6.4 n= 10 CV= 3	S(P=0.00005)
<b>Fe</b>	550 ± 15 478 ± 13 n= 10 CV= 3	375 ± 34.6 292 ± 27 n= 10 CV= 9	S(P=0.0007)	487 ± 72 423 ± 62 n= 10 CV= 15	317 ± 11 228 ± 8 n= 10 CV= 4	S(P=0.005)
<b>Mn</b>	12 ± 0.6 11 ± 0.5 n= 10 CV= 5	9 ± 0.6 7 ± 0.4 n= 10 CV= 6	S(P=0.00005)	12 ± 0.9 11 ± 0.8 n= 10 CV= 7	7 ± 0.8 5 ± 0.5 n= 10 CV= 11	S(P=0.00005)
<b>Cu</b>	10 ± 3.7 8 ± 3.2 n= 10 CV=38	9 ± 1.4 7 ± 1.06 n= 10 CV= 15	N.S	11 ± 2.2 10 ± 1.9 n= 10 CV= 19	7 ± 1.6 5 ± 1.2 n= 10 CV= 22	S(P=0.01)

**a** :moyennes ± écarts-types (poids sec).

**b** :moyennes ± écarts-types (poids frais).

**c** :effectif.

**d** :coefficient de variation.

**Tableau XII** : Teneurs moyennes (exprimées en mg/kg) en ETM (Cd, Cu, Fe, Zn et Mn) dans les moules des deux régions (Skikda et El kala).

CV= Coefficient de variation ; S= Significatif ; N.S= Non Significatif (P<0.05).

	<b>Les moules de Skikda</b>	<b>Les moules d'El kala</b>	<b>Test student</b>
<b>Cadmium</b>	0.58 - 0.86 <sup>a</sup> 0.68 ± 0.1 <sup>b</sup> 0.59± 0.09 <sup>c</sup> n=10 <sup>d</sup> CV= 15	0.01± 0.001 <sup>b</sup> 0.01±0.001 <sup>c</sup> n=9 <sup>d</sup> CV=17	<b>S (P &lt; 0.001)</b>
<b>Cuivre</b>	6 – 14 10 ± 3 9 ± 3 n=10 CV=28	6 – 10 8 ± 1.6 6 ± 1.25 n=9 CV=21	<b>S (P=0.04)</b>
<b>Fer</b>	382 – 568 518 ± 59 451 ± 51 n=10 CV= 11	307 – 422 343 ± 38 257 ± 30 n=9 CV= 11	<b>S (P &lt; 0.001)</b>
<b>Zinc</b>	135 – 194 158 ± 16 138 ± 14 n=10 CV=10	230 – 329 271 ± 33 203 ± 22.3 n=9 CV=11	<b>S (P &lt; 0.001)</b>
<b>Manganèse</b>	11 – 13 12 ± 1 11 ± 0.6 n=10 CV= 6	6 – 10 8 ± 1 6 ± 0.65 n=9 CV= 11	<b>S (P &lt; 0.001)</b>

**a** : minimum- maximum.

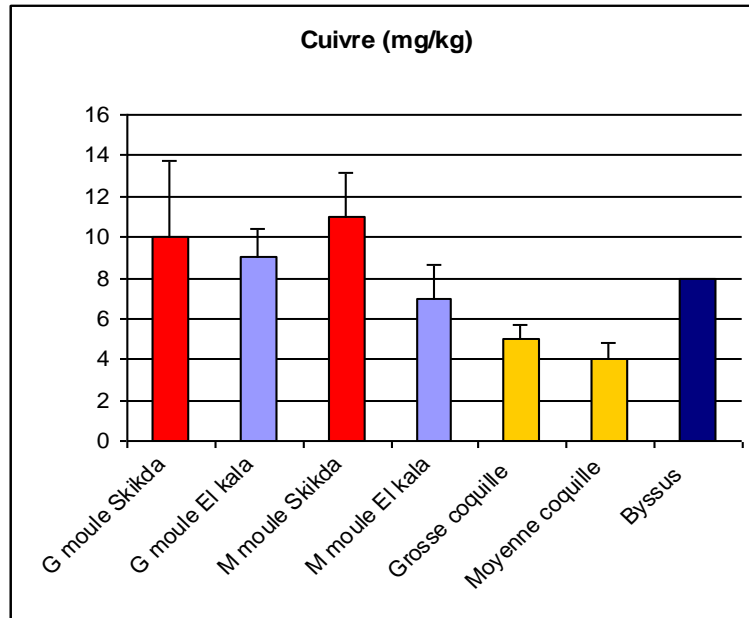
**b** :moyennes ± écarts-types (poids sec).

**c** :moyennes ± écarts-types (poids frais).

**d** :effectif.

### 3.1. RESULTATS RELATIFS AU DOSAGE DU CUIVRE

Le dosage du cuivre a été réalisé par spectrophotométrie d'absorption atomique à flamme. La figure 17 représente les moyennes et les écarts-types des concentrations en cuivre des moyennes et grosses moules des deux régions (Skikda et El kala).



**Figure 17 :** Teneurs en cuivre (Moyenne  $\pm$  écarts-type) dans les moyennes et grosses moules des deux régions (Skikda et El kala)

La concentration en cuivre des grosses moules des deux régions n'est pas statistiquement différente, 10 mg/kg pour la région de Skikda contre 9mg/kg pour la région d'El kala par contre la concentration en cuivre des moyennes moules de Skikda est statistiquement différente à celle d'El kala respectivement 11mg/kg contre 7mg/kg ( $p=0.01$ ) (tableau XI).

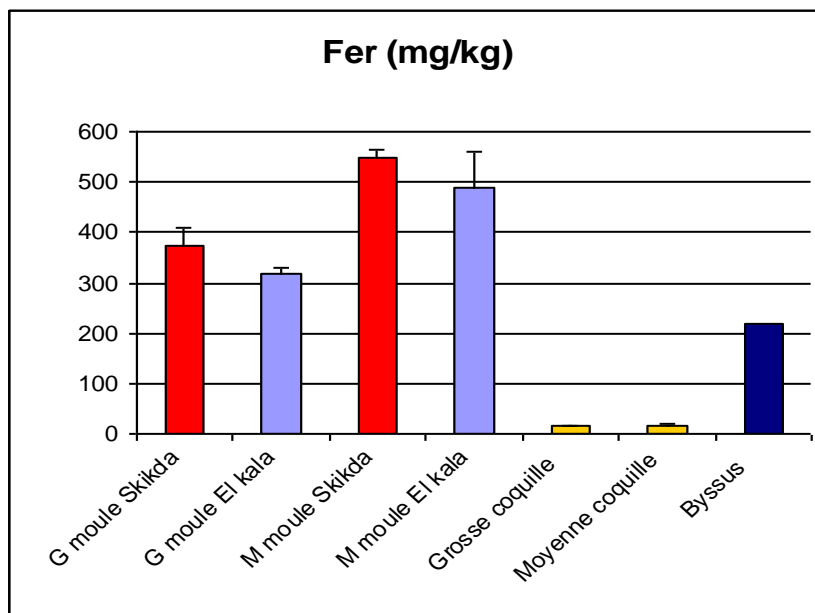
Par ailleurs la charge globale en cuivre des moules des deux régions est statistiquement différente ( $p=0.04$ ) (tableau XII).

Ces teneurs retrouvées dans les moules des deux régions sont inférieures aux limites fixées par la FAO de l'ordre de 50 à 150 mg/ kg. Cependant ces teneurs sont en accord avec celles rapportées par Schintu *et al*, 2008 qui est de l'ordre de 5-13 mg/kg et restent inférieures à celles rapportées dans la littérature pour d'autres espèces de mollusques bivalves : 38mg/kg pour *Chamelea.gallina* (Usero *et al*, 2005) et 175mg/kg pour l'espèce *Donax.trunculus* (Usero *et al*, 2005).

### 3.2. RESULTATS RELATIFS AU DOSAGE DU FER

Le dosage du fer a été effectué par spectrophotométrie d'absorption atomique à flamme.

La figure 18 représente la teneur en fer (moyennes et écarts-types) dans les moules des deux régions.



**Figure 18 :** Teneurs en fer (moyenne  $\pm$  écart-type) des moyennes et grosses moules des deux régions (Skikda et El kala).

Les teneurs en fer des moyennes et grosses moules de Skikda sont plus élevées que celles d'El Kala, 550 mg/kg contre 375 mg/kg pour les grosses moules et 487mg/kg contre 317 mg/kg pour les moules moyennes (tableau XI). Cette différence est statistiquement significative pour les grosses moules ( $p= 0.0007$ ) et pour les moyennes moules ( $p= 0.005$ ) (Tableau XI).

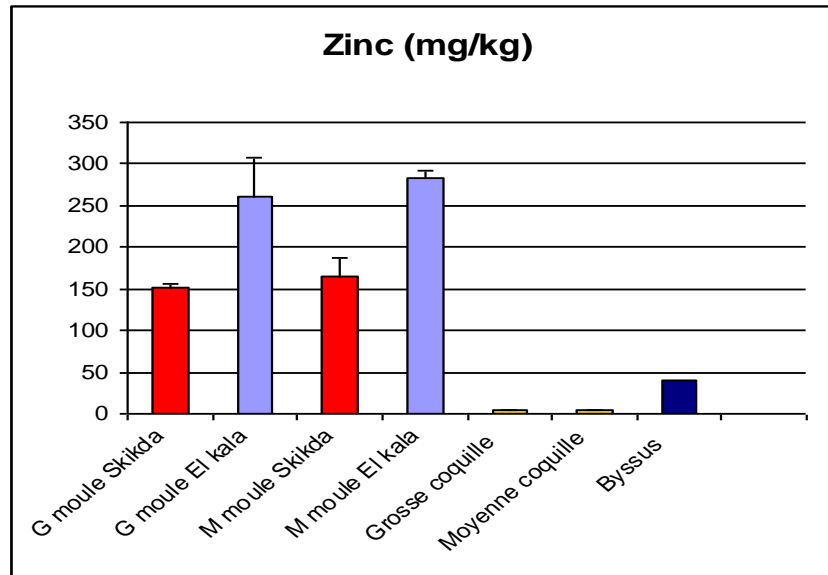
Par ailleurs, la teneur moyenne globale en fer des moules de Skikda est statistiquement plus élevée que celle d'El kala, 518 mg/kg contre 343mg/kg ( $p<0.001$ ) (Tableau XII).

Ces teneurs sont inférieures à celles retrouvées dans la littérature pour la même espèce de l'ordre de 2462 mg/kg (çevik *et al*, 2008) et pour d'autres espèces de bivalves tel que *Scrabicularia.plana* (1657-3-4452mg/kg) (Cheggour M., 1989), *Cardium.edule* (950-1026 mg/kg)(Kaimoussi *et al*, 1998) et *Mytilus edulis* (1380 mg/kg) (Pempkowiak *et al*, 1999).



### 3.3. RESULTATS RELATIFS AU DOSAGE DU ZINC

Le dosage du zinc a été effectué par spectrophotométrie d'absorption atomique à flamme. La figure 19 représente la teneur en zinc des moyennes et grosses moules de Skikda et El kala.

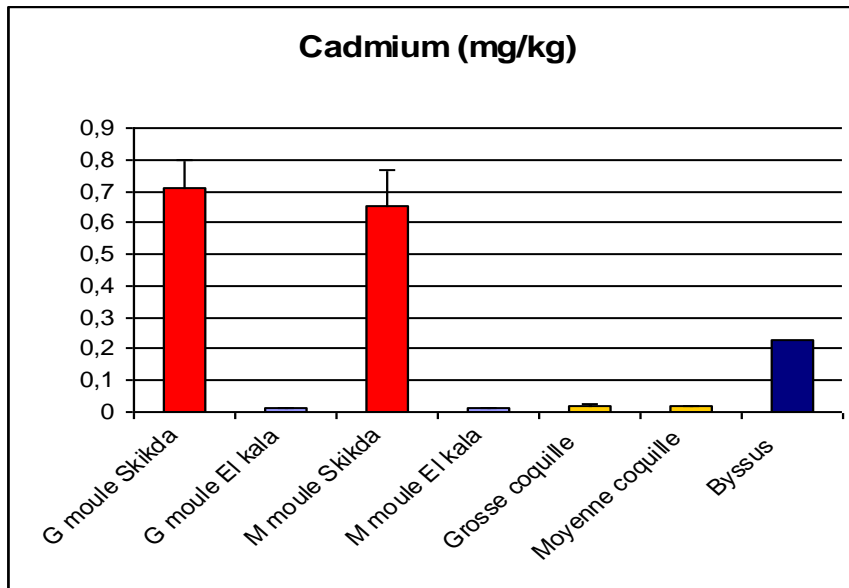


**Figure 19 :** Teneurs en zinc (moyenne  $\pm$  écart-type) des moyennes et grosses moules des deux régions (Skikda et El kala).

Les teneurs en zinc des moules d'El kala sont statistiquement plus élevées que celles de Skikda respectivement 261mg/kg contre 151mg/kg pour les grosses moules ( $p=0.01$ ) et 283mg/kg contre 166mg/kg pour les moules moyennes ( $p=0.00005$ ) (tableau XI). La concentration moyenne globale des moules d'El kala est statistiquement plus élevée que celle de Skikda, 271mg/kg contre 158mg/kg ( $p<0.001$ ) (tableau XII) Ces teneurs sont inférieures aux limites fixées par la FAO de l'ordre de 200 à 500 mg/kg et sont comparables a celles retrouvées dans la littérature pour la même espèce de l'ordre de 176 à 316mg/kg par Besada *et al* (2002), de l'ordre de 225 par Tahiri *et al* (2005) et de 107 à 366mg/kg par Maanan (2007).

### 3.4. RESULTATS RELATIFS AU DOSAGE DU CADMIUM

Pour le cadmium, le dosage a été effectué par spectrophotométrie d'absorption atomique au four graphite. La figure 20 illustre la teneur en cadmium (moyenne  $\pm$  écart-type) des moules des deux régions.



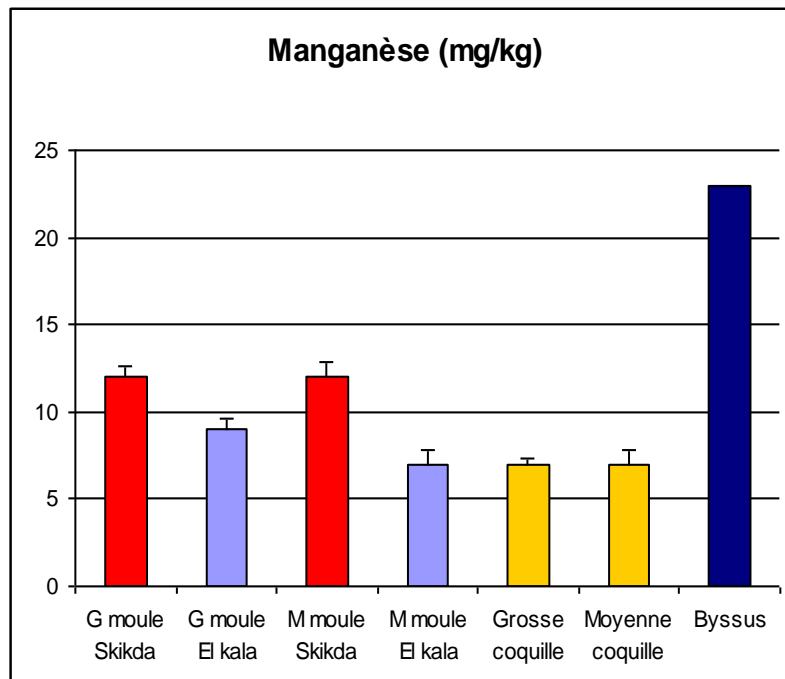
**Figure 20 :** Teneur en cadmium (moyenne  $\pm$  écart-type) des moyennes et grosses moules des deux régions (Skikda et El kala)

Les teneurs en cadmium dans les moules de Skikda sont nettement plus élevées que celle d'El kala respectivement 0.71mg/kg contre 0.01mg/kg pour les grosses moules (tableau XI) et 0.65mg/kg contre 0.01mg/kg pour les moules moyennes. Cette différence est statistiquement significative  $p=0.00005$  pour les grosses moules et  $p=0.0002$  pour les moules moyennes. Par ailleurs la charge globale en cadmium des moules de Skikda est 60 fois plus élevée que celle d'El kala. Cette différence est statistiquement significative ( $p<0.001$ ).

Malgré ce niveau de présence, ces teneurs sont bien inférieures à la limite maximale admissible fixée par la C.E.E. de l'ordre de 1mg/kg.

### 3.5. RESULTATS RELATIFS AU DOSAGE DU MANGANESE

Le dosage du manganèse a été réalisé par spectrophotométrie d'absorption atomique à flamme. La figure 21 représente la teneur en manganèse (moyennes et écarts-types) dans les moyennes et grosses moules des deux régions.



**Figure 21 :** Teneurs en manganèse (moyenne  $\pm$  écart-type) des moyennes et grosses moules des deux régions

Les teneurs en manganèse des moyennes et grosses de Skikda sont statistiquement plus élevées que celle d'El kala respectivement 12mg/kg contre 9mg/kg pour les grosses moules ( $p=0.00005$ ) et 12mg/kg contre 7mg/kg ( $p=0.00005$ ).

Par ailleurs la charge globale en manganèse des moules de Skikda est statistiquement plus importante que celle d'El kala (12mg/kg contre 8mg/kg) ( $p<0.001$ ). Ces teneurs sont faibles comparées à celles rapportées par d'autres auteurs de l'ordre de 49mg/kg (Çevik *et al.*, 2008).

#### 4. RESULTATS RELATIFS AUX TENEURS DES ETM DANS LES COQUILLES ET LE BYSSUS DES MOULES DE SKIKDA

Les coquilles et le byssus des moules de Skikda ont fait l'objet d'une extraction par deux techniques, respectivement par calcination sèche au four à moufle et par chauffage à reflux. Cinq ETM ont été déterminés dans les coquilles et le byssus des moules de Skikda. Le tableau XIII résume les résultats obtenus du dosage de ces ETM par SAA à flamme et au four graphite.

**Tableau XIII :** Teneurs en ETM (exprimées en mg/kg) des coquilles et du Byssus des moules de Skikda

	Les coquilles		Le Byssus
	Les Grosses coquilles	Les coquilles moyennes	
<b>Cadmium</b>	0.019 ± 0.003 <sup>a</sup> n=10 <sup>b</sup> CV= 16	0.019 ± 0.003 n=10 CV=16	0.23
<b>Cuivre</b>	5 ± 0.7 n=10 CV=14	4 ± 0.8 n=10 CV=20	8
<b>Zinc</b>	4 ± 0.43 n=10 CV= 15	4 ± 0.56 n=10 CV= 11	41
<b>Fer</b>	15 ± 2.5 n=10 CV= 17	16 ± 3.5 n=10 CV= 22	220
<b>Manganèse</b>	7 ± 0.3 n=10 CV=5	7 ± 0.8 n=10 CV= 13	23

**a :** moyenne ± écart-type      **b :** effectif

D'après les résultats obtenus, la teneur en ( Cd, Cu, Zn, Fer et Mn) des grosses coquilles est respectivement de l'ordre de 0.019mg/kg , de 5mg/kg , 4mg/kg, 15mg/kg et 7mg/kg .

Pour les coquilles moyennes la teneur en (Cd, Cu, Zn, Fer et Mn) est respectivement de l'ordre de 0.0019mg/kg, 4mg/kg, 4mg/kg, 16mg/kg et 7mg/kg.

Pour un seul essai, la teneur en ETM du byssus est de l'ordre de 0.023mg/kg (Cd), 8mg/kg (Cu), 41mg/kg (Zn), 220mg/kg (Fe) et 23mg/kg (Mn).

Les teneurs en ETM retrouvées dans les coquilles sont faibles. Ces résultats se rapprochent de ceux d'une étude antérieure menée par Gundacker (1999) sur la moule zébrée (*Dreissena polymorpha*) pour les éléments (cadmium, cuivre et zinc) respectivement 0.0018mg/kg, 2mg/kg et 3mg/kg. Ces faibles teneurs peuvent s'expliquer par le fait que ces éléments s'accumulent essentiellement dans la chair des moules tel que décrits par les travaux menés par Gundacker (1999) et Çevik *et al* (2008). Par ailleurs la détermination des ETM dans les coquilles est surtout intéressante pour rechercher le plomb connu pour sa fixation au niveau des coquilles du fait de leurs structures essentiellement de nature calcaire (compétition avec les ions  $Ca^{+2}$ ). Cependant l'analyse des ETM permet de rendre compte aussi de la qualité du milieu dans lequel vivent les moules.

Le byssus est considéré comme une voie d'excrétion des ETM, plusieurs auteurs ont rapportés son rôle dans la détoxification des métaux (Gundacker, 1999 et Kadar *et al.*, 2006).

## 5. ETUDE DES CORRELATIONS

Afin d'établir des liaisons deux à deux entre les différents métaux dans les tissus de moules des deux régions, les coefficients de corrélations ont été calculés. Les tableaux XIII et XIV regroupent les valeurs des coefficients de corrélations et leurs probabilités  $p < 0.05$ .

**Tableau XIV:** Coefficients de corrélation entre ETM des moules de Skikda.

Corrélations significatives marquées à  $p < 0.05$ .

	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>Mn</b>	<b>Fe</b>
<b>Cd</b>	1 p=---				
<b>Cu</b>	-0.522 p=0.122				
<b>Zn</b>	-0.162 P=0.654	0.350 p=0.322			
<b>Mn</b>	-0.021 P=0.954	0.082 p=0.821	<b>0.695</b> <b>p=0.026</b>		
<b>Fe</b>	-0.139 P=0.701	0.183 p=0.613	0.353 p=0.317	0.496 p=0.145	1 p=---

**Tableau XV** : Coefficients de corrélation entre ETM des moules d'El kala.  
Corrélations significatives marquées à  $p < 0.05$ .

	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>Mn</b>	<b>Fe</b>
<b>Cd</b>	-- P=---				
<b>Cu</b>	-- P=---				
<b>Zn</b>	-- P=---	0.424 p=0.256			
<b>Mn</b>	-- P=---	0.204 p=0.599	<b>-0.795</b> <b>p=0.010</b>	1 p=---	
<b>Fe</b>	-- P=---	0.273 p=0.478	<b>-0.770</b> <b>p=0.015</b>	<b>0.703</b> <b>p=0.035</b>	1 p=---

D'après les résultats obtenus, les corrélations observées entre ETM des moules de Skikda indique une corrélation significative du couple d'éléments essentiels **Mn -Zn** ( $r=0.695$ ,  $p<0.05$ ). Les corrélations significatives calculées entre les ETM des moules d'EL kala concernent les couples d'éléments essentiels **Mn-Zn** ( $r=-0.795$ ), **Fe-Zn** ( $r=-0.770$ ) et **Fe-Mn** ( $r=0.703$ ). D'autres auteurs mentionnent des résultats Similaires que les nôtres (Cheggour, 1989).

Les relations observées entre les éléments essentiels pour les deux régions suggèrent un comportement similaire des formes ioniques  $Fe^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ . En effet, la plupart des processus toxicocinétique, résorption, distribution et élimination reposent en particulier sur l'affinité des ions pour les sites de liaisons.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Il ressort de cette présente étude que la digestion acide au micro-ondes est la méthode d'extraction la plus fiable. Elle a été vérifiée et validée pour évaluer la contamination de l'environnement compte tenu de sa précision et de son pourcentage de récupération satisfaisant. Cette méthode a été appliquée pour les échantillons de moules provenant de deux régions (Skikda et El-kala) pour évaluer leurs niveau de contamination par ces éléments. Les résultats obtenus montrent que les moules des deux régions ne sont pas contaminées et par conséquent ne présentent aucun risque pour les consommateurs de ces produits.

A partir de cette étude préliminaire, des perspectives peuvent être envisagées. L'étude de la contamination métallique des différents compartiments du système aquatique permettrait de comprendre leurs transferts dans la chaîne alimentaire et ses conséquences sur la santé du consommateur.

L'inclusion dans les études futures d'un échantillon cible (en particulier les grands consommateurs de produits de mer tel que les pêcheurs) permettrait de rendre compte du risque encouru pour cette tranche de population.

L'étude future devrait intégrer le mercure principal élément toxique pour l'homme dont l'apport alimentaire est fourni majoritairement par la consommation de produits marins. Le cerveau est le principal organe cible à l'action du mercure, il peut traverser en outre la barrière placentaire et entraîner des anomalies neurologiques chez les enfants nés de mères exposées particulièrement au méthylmercure.

## ***REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES***

**Afri-Mehennaoui F-Z., Mehennaoui S., 2004.** Comparaison de trois techniques d'extractions pour la détermination des éléments traces métalliques dans les sédiments de l'oued Rhumel et son affluent l'oued Boumerzoug en zone urbaine (Constantine). Sciences & Technologie C-N°21, pp. 20-38.

**Bermejo-Barrera P., Moreda-Pineiro A., Muniz-Naveiro O., Gomez-Fernandez AMJ., Bermejo-Barrera P., 2000.** Optimization of a microwave-pseudo-digestion procedure by experimental designs for the determination of trace elements in seafood products by atomic absorption spectrometry. Spectrochimica Acta Part B55, 1351-1371.

**Besada V., Fumega J., Vaamonde A., 2002.** Temporal trends of Cd, Cu, Hg, Pb and Zn in mussel (*M. Galloprovincialis*) from the Spanish North-Atlantic coast 1991-1999, Sci. Total Environ. 288, 239-253.

**Biney Ch., Amazu A.T., Calamari D., Kaba N., Mbome I.L., Naeve H., Chumba O., Osibanjo O., Radegonde V., Massad A.H.S., 1991.** Etude des métaux lourds présents dans l'environnement aquatique africain. Rapport de la troisième session du groupe de travail sur la pollution et les pêches Accra, Ghana, 25-29, novembre 1991.

**Bisson M., Hulot C., Lacroix G., Lefèvre J.P., Magaud H., Oberson-Geneste D., Morin A., Pépin G., 2003.** Plomb et ses dérivés, 90 p.

**Bisson M., Houeix N., Gay G., Lacroix G., Lefevre J.P., Magnaud H., Migne V., Morin A., Tissot S., 2005.** Cuivre et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques INERIS, 66p.

**Bouilly K., 2004.** Impact de facteurs environnementaux sur l'aneuploïdie chez l'huître creuse *Crassostrea gigas* dans le bassin de Marennes-Oleron. Thèse de doctorat à l'université de la Rochelle, 201p.



**Casas S., 2005.** Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule *Mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen. Thèse de Doctorat de l'université du sud Toulon Var, 276p.

**Cassereau G., 2001.** Contamination des loutres *Lutra lutra* de l'ouest de la France par quelques éléments traces : Cadmium, Cuivre, Mercure, Sélénium et Zinc. Thèse de Doctorat de l'école nationale vétérinaire de Nantes, 146p.

**Çevik U., Damla N., Kobya A.I., Bulut V.N., Duran C., Dalgic G., Bozaci R., 2008.** Assessment of metal element concentrations in mussel (*M. Galloprovincialis*) in Eastern Black Sea, Turkey. *Journal of Hazardous Materials* xxx (2008) xxx-xxx.

**Cheggour M., 1989.** Bioaccumulation de quelques éléments métalliques (Cu, Zn, Pb, Ni, Cr, Mn, Fe, V) chez un mollusque bivalve, *Scrobicularia plana*, dans l'estuaire du Bou Regreg (Côte atlantique). *Bull. Ins. Sci.*, n° 13, pp. 125-133.

**Chiffolleau J.F., Gonzalez J.L., Miramand P., Thouvenin B., 1999.** Le cadmium: Comportement d'un contaminant métallique en estuaire. Programme scientifique Seine-Aval 10 : 31 p.

**Chiffolleau J.F., Claisse D., Cossa D., Ficht A., Gonzalez J.L., Guyot T., Michel P., Miramand P., Oger C., Petit F., 2001.** La contamination métallique, Ifremer, 39p.

**Cossa D., Bourget E., Pouliot D., Piuze J., Chanut J.P., 1980.** "Geographical and seasonal variations in the relationship between trace metal content and body weight in *Mytilus edulis*." *Mar. Biol* 58: 7-14.

**Cossa D., Lassus P., 1989.** Le cadmium en milieu marin. *Biogéochimie et écotoxicologie*, Editions Ifremer, Plouzané, France. 16: 111.

**Cossa D., Elbaz-Poulichet F., Gnassia-Barelli M., Roméo M., 1993.** Le plomb en milieu marin. *Biogéochimie et écotoxicologie*, Edition Ifremer, Plouzané, France. 77p.

**Daguzan J., 1992.** Biologie des mollusques bivalves marins et conchyliculture. In coquillages et santé publique, du risque à la prévention. Rennes: ENSP Editeur, chapitre 1, 1-28.

**Das P., Samantaray S., Rout R., 1997.** Studies on cadmium toxicity in plants: a review. Environ Pollut, 98: 29-36.

**Food and Agriculture Organisation (FAO), 1983.** Compilation of legal limits for hazardous substances in fish and fishery products, FAO fishery circular, No. 464, pp.5-100.

**Goldberg E. D., 1975.** "The Mussel Watch." Mar. Pollut. Bull. 6: 111-113.

**Gonzalez J. L., Chiffolleau J. F., Miramand P., Thouvenin B., 1999.** Le cadmium: comportement d'un contaminant métallique en estuaire, Programme scientifique Seine Aval, Editions Ifremer, Plouzané, France: 31.

**Group of Experts on Scientific Aspects of Marine Pollution (GESAMP), 1997.** IMO/FAO/Unesco/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP. Report of the Thirty-third session, working group on the evaluation of the hazards of harmful substances carried by ships, EHS/Feb 97, International Maritime Organization, London.

**Gundacker C., 1999.** Tissue specific heavy metal (Cd, Pb, Cu, Zn) deposition in a natural population of the Zebra mussel *Dreissena polymorpha* Pallas. Chemospher, vol.38, N°. 14, pp. 3339-3356.

**Hardivillier Y., 2005.** Caractérisation et expression des gènes de métallothioneines chez deux modioles hydrothermales: *Bathymodiolus thermophilus* et *Bathymodiolus azoricus*. Thèse de Doctorat de l'université de Maine UFR Sciences et Techniques, 164p.

**Houpert P., Mehennaoui S., Federspiel B., Kolf-Clauw M., Joseph-Enriquez B., Milhaud G., 1997.** Environmental Sciences, 5,3, 127-138.

**Jumarie C., Fortin C., Houde M., Campbell P.G.C., Denizeau F., 2001.** Cadmium uptake by Caco-2 cells: effects of complexation by chloride, glutathione and phytochelatins. *Toxicol Appl Pharmacol*, 170: 29-38.

**Kadar E., Santos R.S., Powell J.J., 2006.** Biological factors influencing tissue compartmentalization of trace metals in deep-sea hydrothermal vent bivalve *Bathymodiolus azoricus* at geochemically distinct vent sites of the Mid-Atlantic Ridge. *Environmental Research* 101, 221-229.

**Kaimoussi A., Mouzdahir A., Bakkas S., Chafik A., 1998.** Contribution à l'étude de la pollution métallique de l'estuaire d'Oum ErRbia à Azemmour (Maroc). *Bulletin de l'Institut Scientifique*, Rabat, n°21, pp. 95-102.

**Kakkar P., Jaffery F.N., 2005.** *Environmental Toxicology and Pharmacology* 19, 335-349.

**Kathryn J., Lamble., Hill S., 1998.** Microwave digestion procedures for environmental matrices. *The analyst*, vol. 123(103R-133R).

**Lachambre M., Fisson C., 2007.** La contamination chimique « Quel risque en estuaire de Seine ». Fiche substance: Plomb, 11p.

**Lavoix M.P., 1978.** Contribution à l'étude écotoxicologique du cadmium. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire. Toulouse, 69 p.

**Links J.M., Schwartz B.S., Simon D., Bandeen-Roche K., Stewart W.F., 2001.** Characterization of toxicokinetics and toxicodynamics with linear systems theory: application to lead-associated cognitive decline. *Environ. Health Perspect.* 109, 361–368.

**Maanan M., 2007.** Biomonitoring of heavy metals using *M. Galloprovincialis* in Safi coastal waters, Morocco. *Environ Toxicol.* 22, 525-531.

**Mehennaoui S., Delacroix-Buchet A., Duche A., Enriquez B., Kolf-Claw M., Milhaud G., 1999.** Comparative study of cadmium transfer in ewe and cow milk during rennet and lactic curds preparation. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 37, 389-395.

**Milhaud G., Mehennaoui S., 1988.** Indicators of lead and cadmium exposure in cattle: I-Results in a polluted area. *Vet. Hum. Toxicol.* 30(6), 513-517.

**Milhaud G., Delacroix-Buchet A., Mehennaoui S., Duché A., Enriquez B., Kolf-Clauw M., 2000.** Devenir du cadmium du lait de chèvre dans la crème et les caillés présure et lactique 277-288.

**Miquel G., 2001.** Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport Office Parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques (Dir.). Rapport Sénat n°261: 360.

**Monfort P., 2006.** Microbiologie et coquillage, Ifremer, 18 p.

**OMS IPCS ., 1998.** Environmental Health Criteria n°200: copper. World Health Organisation International Programme on chemical Safety. <http://www.inchem.org/fullist.htm>.

**Ospar., 1999.** Lignes directives JAMP de la surveillance continue des contaminants dans le milieu vivants. Commission Ospar, lignes directrices de la surveillance n° :999-2, Londres, UK, 54p.

**Payen P., 2007.** Evaluation des risques liés à la consommation des produits de la pêche à pied récréative en Basse-Normandie. Mémoire d'ingénieurs du génie sanitaire de l'école nationale de la santé publique, 57p.

**Pempkowiak J., Sikora A., Biernacka E., 1999.** Speciation of heavy metals in marines sediments vs their bioaccumulation by mussels. *Chemosphere*39:313-321.

**Péré J.P., 1999.** Techniques spectroscopiques en biochimie analytique : Centre Régionale de Documentation Pédagogique d'Aquitaine, 150p. Biologie et technique.

**Pichard A., Bison M., Diderich R., Doomaert B., Lacroix G., Lefevre J. P., Leveque S., Magaud H., Morin A., Oberon D., Pepin G., Tissot S., 2003.** Plomb et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques INERIS, 90p.

**Pichard A., Bison M., Diderich R., Doomaert B., Lacroix G., Lefevre J. P., Leveque S., Magaud H., Morin A., Oberon D., Pepin G., Tissot S., 2005.** Cadmium et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques INERIS, 60p.

**Quevauviller P., 2006.** Métrologie en chimie de l'environnement, 2<sup>ème</sup> édition mars 2006, 277p.

**Ramade F., 1992.** Précis d'écotoxicologie. Paris.

**Ricoux C., Gasztowtt B., 2005.** Evaluation des risques sanitaires liés à l'exposition de forts consommateurs de produits de la pêche de rivières contaminées par des toxiques de l'environnement. InVS, 124p.

**Rivière J.L., 1993.** Les animaux sentinelles. Le courrier de l'environnement de l'INRA (Institut Nationale de recherche agronomique) n°20, 8p.

**Schäfer U., 2004.** Manganèse. In: Elements and their Compounds in the Environment. Eds. Merian, Anke, Ihnat et Stoepler. 2ème édition, Wiley-VCH Weinheim (D). Vol 2, Metals and their Compounds, 901-930.

**Schintu M., Durante L., Maccioni A., Meloni P., Degetto S., Contu A., 2008.** Measurement of environmental trace levels in Mediterranean coastal areas with transplanted mussels and DGT techniques. Marine pollution Bulletin xxx (2008) xxx-xxx.

**Sedki A., Lekouch N., Gamon S., Pineau A., 2003.** Toxic and essential trace metals in muscle, liver and kidney of bovines from a polluted area of Morocco. The science of the total Environment 317:201-205.

**Tahiri L., Bennasser L., Idrissi L., Fekhaoui M., EL Abidi A., Mouradi A., 2005.** Contamination métallique de *Mytilus galloprovincialis* et des sédiments au niveau de l'estuaire de Bouregreg (Maroc). Water Qual. Res. J. Canada. Volume 40, No. 1, 111-119.

**Usero J., Morillo J., Gracia I., 2005.** Heavy metal concentrations in molluscs from the Atlantic coast of southern Spain. *Chemosphere* 59, 1175-1181.

**Waalkes M.P., 2000.** Cadmium carcinogenesis in review. *J. Inorg.Biochem.* 79, 241–244.

**WHO, 2005.** Manganese and its compounds: environmental aspects. Concise International Chemical Assessment Document – *CICAD- 63*, World Health Organization, Geneva (CH).

### **Sites internet consultés**

[http : // www. Fao. org/ index\\_en htm](http://www.Fao.org/index_en.htm)>>Fisheries & Aquaculture (2000-2009), 10p. Date de consultation le 28/05/2009.

[http : // pages perso-orange.Fr/gonzales. Manuel/textes/la %20 mer/faune/moule](http://pages.perso-orange.fr/gonzales.Manuel/textes/la%20mer/faune/moule). Date de consultation le 28/05/2009.

Institut français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer, Environnement littoral (IFREMER) : [http://www. Ifremer. fr/ envlit / index.htm](http://www.Ifremer.fr/envlit/index.htm) ( mise à jour juin 2007). Date de consultation le 07/06/2009.

[http: //www.ulg.ac.be./ocean bio/biocand/telechargement/ecotoxpartim 1ppt](http://www.ulg.ac.be/ocean/bio/biocand/telechargement/ecotoxpartim1ppt). Date de consultation le 07/06/2009.

# **ANNEXE**

**DETERMINATION DE HUIT ELEMENTS TRACES METALLIQUES DANS UN  
MOLLUSQUE BIVALVE DE DEUX REGIONS DU LITTORAL EST ALGERIEN :  
SIKIDA ET EL KALA**

**Nakib Lydia (1), Boumehres Ali (1), Afri- Mehennaoui Fatima-Zohra (2), et  
Mehennaoui Smail (1)**

(1) Laboratoire ESPA (Environnement, Santé et production Animales), Faculté des Sciences,  
Université hadj-Lakhdar de Batna

(2) Laboratoire de Biologie et Environnement, Faculté des Sciences, Université Mentourie de  
Constantine

**RESUME**

Les zones côtières algériennes, longues de 1200Km, sont considérées sur un plan écologique comme un système aquatique d'une très grande importance car hébergeant une très grande variété d'espèces animales et végétales. La pollution de ces zones côtières par des substances chimiques diverses peut avoir des conséquences graves sur l'équilibre écologique.

La contamination par les métaux lourds est considérée comme un problème sérieux compte tenu de leur toxicité et de leur pouvoir cumulatif dans la chaîne trophique. Ainsi l'évaluation du niveau de contamination métallique dans les organismes marins permet de rendre compte de la qualité de ces zones côtières. Les bivalves organismes filtreurs sont souvent utilisés comme espèces sentinelles de la contamination par les métaux lourds. Parmi ces mollusques bivalves, les moules sont appréciées par les consommateurs qui se trouvent ainsi exposés.

L'établissement des tolérances toxicologiques dans les denrées alimentaires est une nécessité d'aujourd'hui. Sur un plan strictement réglementaire, la quantification des éléments traces métalliques dans les denrées alimentaires doit être effectuée par des méthodes fiables, précises et reproductibles.



La présente étude à un double objectif :

- De mettre au point une technique d'extraction de huit éléments traces métalliques (Cadmium, plomb, Cuivre, Zinc, Fer, Manganèse, Nickel et Chrome) qui permet de les quantifier avec certitude et précision par Spectrophotométrie d'Absorption Atomique à flamme et/ ou au four graphite.
- De déterminer le niveau de contamination par ces éléments dans la chair (aspect sécurité sanitaire des aliments), byssus et les coquilles (indicateur de pollution environnementale) d'une espèce de bivalves provenant de deux régions de l'est algérien (Skikda et El Kala). Skikda, connue pour sa zone industrielle, comparativement à celle obtenue dans la région d'El kala à vocation agricole. Les résultats obtenus nous fournissent des informations préliminaires sur le niveau d'exposition et le risque alimentaire pour les individus consommateurs de ces produits de la mer.

**Mots clés :** Extraction, Eléments traces Métalliques, Spectrophotométrie d'Absorption Atomique, Moule.

## **Résumé**

L'objectif de notre étude est d'adopter une technique d'extraction des éléments traces métalliques dans les produits de la mer. Ainsi trois techniques d'extractions ont été utilisées pour minéraliser les différentes parties anatomiques de la moule provenant de deux régions du littoral algérien (Skikda et El Kala). Le dosage a été effectué par spectrophotométrie d'absorption atomique à flamme et au four graphite. Compte tenu des résultats obtenus, la technique d'extraction au micro-ondes paraît la plus précise et la plus reproductible avec un taux de récupération proche de 100%. Par ailleurs l'analyse des éléments traces métalliques dans les moules n'a pas révélé la présence de contamination métallique de ces produits.

## **Mots clés :**

Eléments Traces Métalliques, Extractions, Spectrophotométrie d'absorption atomique, Moule.

## **Abstract**

The aim of our study is to adopt a technique of extraction of trace metal elements in fishery products. Three extraction techniques were used to mineralize the different anatomical parts of the mussel from two coastal regions of Algeria (Skikda and El Kala). The assay was performed by atomic absorption spectrophotometer with flame and graphite furnace. Given the results, the extraction technique in the microwave seems the more accurate and more reproducible with a recovery percentage close to 100%. Also the analysis of trace metal elements in mussels did not reveal the presence of metal contamination of these products.

## **Keywords:**

Trace metal elements, Extractions, atomic absorption spectrophotometer, Mussel.

## **الملخص:**

الهدف من الدراسة هو اعتماد تقنية استخلاص العناصر المعدنية النادرة في عينات بيولوجية . ثلاث تقنيات إستخلاص أستخدمت لمختلف أجزاء تشريحية لبلح البحر من اثنين مناطق لساحلية من الجزائر ( سكيكدة و القالة ) كان الفحص بطريقة الطيفي للإمتصاص الذري مع اللهب و فرن الجرافيت . و بالنظر إلى النتائج تبين أن طريقة الإستخلاص في الميكروويف تبدو أكثر دقة و احتفاظا بالمعدن 100 % . وكذلك تحليل العناصر النادرة في بلح البحر لم تكشف عن وجود تلوث معدني في هذه المنتجات.

## **الكلمات المفتاحية:**

العناصر المعدنية النادرة، إستخلاص، الطيفي للإمتصاص الذري، بلح البحر.







