

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة 8 ماي 1945 قالمة  
Université 8 Mai 1945 Guelma  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

**Domaine:** Science de la Nature et de la Vie

**Filière :** Sciences Biologiques

**Spécialité/Option:** Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire

**Département:** Biologie

---

### Thème

## RISQUES SANITAIRES LIES AUX ALIMENTS D'ORIGINES ANIMALES AQUATIQUES

---

**Présenté par :**

**Cherfa Imane Mouna**

**Haouaoussa Norelhouda**

**Koriche Marwa**

**Devant la commission composée de :**

<b>MOKHTARI .A</b>	<b>MCB</b>	<b>Président</b>	<b>Université de Guelma</b>
<b>BOUSBIAA .I</b>	<b>MCB</b>	<b>Examinateur</b>	<b>Université de Guelma</b>
<b>BOUCHELAGHEM .E</b>	<b>MCB</b>	<b>Encadreur</b>	<b>Université de Guelma</b>
<b>GHRIB .L</b>	<b>MCA</b>	<b>Membre</b>	<b>Université de Guelma</b>
<b>SOUIKI .L</b>	<b>Pr</b>	<b>Membre</b>	<b>Université de Guelma</b>
<b>AISSAOUI .R</b>	<b>MCB</b>	<b>Membre</b>	<b>Université de Guelma</b>

**Juin 2017**

## TABLE DES MATIERES

**LISTE DES TABLEAUX**

**LISTE DES FIGURES**

**LISTES ABREVIATIONS ET SIGLES**

**REMERCIEMENTS**

**ملخص**

**Abstract**

**Résumé**

**INTRODUCTION GENERALE ..... 1**

**CHAPITRE I : CONTAMINANTS INORGANIQUES : ELEMENTS TRACES**

<b>METALLIQUE ..... 3</b>	<b>3</b>
1. Toxique minéraux ..... 3	3
1.1. Généralité ..... 3	3
1.2. Définition ..... 3	3
2. Origine des métaux lourds ..... 4	4
1.1. Origines naturelles ..... 4	4
1.2. Origines anthropiques ..... 4	4
3. Phénomène de la bioamplification ..... 5	5
4. Toxicité ..... 8	8
5. Les métaux lourds dans le milieu marin ..... 8	8
6. Éléments traces étudiés ..... 9	9
6.1. Le Cadmium ..... 10	10
6.1.1. Caractéristiques ..... 10	10
6.1.2. Absorption et toxicité ..... 10	10
6.2. Le plomb ..... 12	12
6.2.1. Caractéristiques ..... 12	12
6.2.2. Absorption et toxicité ..... 13	13
6.3. Le Mercure ..... 14	14
6.3.1. Caractéristiques ..... 14	14
6.3.2. Absorption et toxicité ..... 15	15
7. Méthode d'analyse des métaux lourds ..... 17	17
7.1. La spectrophotométrie d'absorption atomique ..... 17	17
7.2. Domaine d'application de la spectrophotométrie d'absorption atomique ..... 17	17
7.3. Éléments constitutifs des spectrophotomètres d'absorption atomique ..... 17	17
7.4. Principe de la spectrophotométrie d'absorption atomique ..... 18	18
8. Conclusion ..... 20	20

**CHAPITRE II : MICROPOLLUANTS ORGANIQUES : HYDROCARBURES**

<b>AROMATIQUES POLYCYCLIQUES ..... 21</b>	<b>21</b>
1. Définition ..... 22	22
2. Propriétés chimiques et identification ..... 23	23
3. Sources des HAP ..... 25	25
4. Mécanisme de formation des HAP ..... 26	26
5. Potentiel toxique ..... 27	27
6. Biodisponibilité des HAP dans l'environnement ..... 29	29

7. Voies de contamination par les HAP .....	31
8. HAP d'intérêt .....	31
8.1. Benzo(a)pyrène .....	31
8.1.1. Définition .....	31
8.1.2. Propriétés physico-chimiques .....	32
8.1.3. Principales sources d'exposition .....	33
8.1.4. Devenir dans l'organisme .....	33
8.1.5. Effet toxiques du Benzo(a)pyrène .....	34
8.2. Fluoranthène .....	34
8.2.1. Définition .....	34
8.2.2. Propriétés physico-chimiques .....	35
8.2.3. Principales sources d'exposition .....	35
8.2.4. Devenir dans l'organisme .....	35
8.2.5. Effet toxiques du fluoranthène .....	36
9. Dosage des HAP .....	36
9.1. Procédures de prétraitement d'échantillons .....	36
9.1.1. Extraction .....	37
9.1.1.1. Principe de l'extraction au soxhlet .....	37
9.1.2. Purification .....	38
9.1.3. Concentration .....	38
9.2. Méthode d'analyse d'HAP .....	39
9.2.1. Principe de la méthode HPLC/UV .....	39
9.2.2. Appareillage et matériels utilisés .....	40
9.2.3. Le choix du détecteur UV .....	40
9.2.4. Les conditions d'analyse .....	41
10. Règlements .....	41
11. Conclusion .....	43
<b>CHAPITRE III : DERIVES DES ACIDES AMINES : AMINES BIOGENES</b> .....	<b>44</b>
1. Définition et origine .....	44
2. Réaction et formation .....	45
2.1. Décarboxylation de l'histamine .....	45
3. Toxicité et importance .....	46
4. Molécules étudiées .....	47
4.1. Histamine .....	47
4.2. Tyramine .....	48
4.3. Putrescine .....	49
4.4. Cadavérine .....	50
5. Intoxication histaminique .....	50
5.1. Les symptômes .....	51
6. Réglementation .....	52
7. Les paramètres modifiant la production d'histamine .....	53
7.1. Traitement du poisson .....	53
7.2. Les paramètres physiques .....	53
7.2.1. La température .....	53
7.2.2. Le PH .....	54
7.2.3. La salinité .....	55
7.2.4. Teneur en CO <sub>2</sub> de l'air .....	55
7.3. Les paramètres biochimiques .....	56
7.3.1. Teneur en histidine .....	56

---

7.3.2. Présence de sucre .....	56
8. Bactéries et formation d'amines biogènes .....	56
9. Dosage des amines biogènes.....	57
9.1.Méthodes chimiques.....	57
9.1.1.Les méthodes séparatives .....	57
9.1.1.1. Dosage des amines biogènespar(CLPH ou HPLC).....	57
9.1.1.2. Chromatographie sur couche mince.....	59
9.1.1.3. Chromatographie échangeuse d'ions .....	60
9.1.1.4. Chromatographie en phase gazeuse CPG .....	60
9.1.2. Les méthodes de visualisation.....	60
9.1.2.1. Colorimétrie .....	60
9.1.2.2.Fluorimétrie.....	60
9.1.2.3. Méthode radio-enzymatique .....	61
10. Conclusion .....	61
<b>CONCLUSION GENERAL.....</b>	<b>62</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>64</b>
<b>GLOSSAIRE</b>	

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b> : Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement .....	5
<b>Tableau 2</b> : Propriétés physico-chimiques du cadmium .....	10
<b>Tableau 3</b> : Propriétés physico-chimiques du Plomb .....	13
<b>Tableau 4</b> : Propriétés physico-chimiques du mercure .....	15
<b>Tableau 5</b> : Limite maximale de métaux lourds dans les poissons avant consommation.....	19
<b>Tableau 6</b> : Niveau de contamination par le mercure.....	19
<b>Tableau 7</b> : Propriétés physicochimiques des 16 HAP prioritaires définis par l'US-EPA.....	24
<b>Tableau 8</b> : Génotoxicité et cancérogénicité des 16 HAP prioritaires définis par l'US-EPA.....	28
<b>Tableau 9</b> : Propriétés physico-chimiques du Benzo[a]pyrène.....	32
<b>Tableau 10</b> : Propriétés physico-chimiques du Fluoranthène.....	35
<b>Tableau 11</b> : Teneurs maximales en benzo(a)pyrene dans diverses denrées alimentaires (EC régulation n° 1881, 2006).....	42
<b>Tableau 12</b> : Amines biogènes et acides aminés précurseurs.....	
<b>Tableau 13</b> : Occurrence et importance des amines biogènes dans l'organisme.....	45
<b>Tableau 14</b> : Les caractéristiques physico chimique de l'histamine.....	46
<b>Tableau 15</b> : Caractéristique physico chimique de tyramine.....	47
<b>Tableau 16</b> : Listes des aliments qui contiennent la tyramine.....	48
<b>Tableau 17</b> : Caractéristique physico-chimique de la putrescine.....	48
<b>Tableau 18</b> : Caractéristique physico-chimique de la cadavérine.....	49
<b>Tableau 19</b> : Caractéristiques de l'intoxication histaminique.....	51
<b>Tableau 20</b> : Production d'histamine par différentes bactéries à 0-5 °C et au-dessus de 10 °C.....	56

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Sources Schéma présentant les trois niveaux trophiques .....	6
<b>Figure 2</b> : La chaine trophique contaminée par les métaux lourds .....	7
<b>Figure 3</b> : Spectrophotométrie d'absorption atomique .....	18
<b>Figure 4</b> : Présence de la matière organique et interactions entre les différents compartiments au sein du milieu aquatique .....	21
<b>Figure 5</b> : Liste des HAP généralement surveillé dans l'environnement selon les recommandations de l'US EPA .....	22
<b>Figure 6</b> : Sources des HAP dans l'environnement.....	26
<b>Figure 7</b> : Relation schématique entre la présence, la biodisponibilité d'un contaminant dans l'environnement, sa bioaccumulation et sa toxicité dans un organisme biologique.....	30
<b>Figure 8</b> : Formule semi-développé du Benzo[a]pyrène.....	32
<b>Figure 9</b> : Formule semi-développée du Fluoranthène.....	34
<b>Figure 10</b> : Schéma d'un extracteur de soxhlet.....	38
<b>Figure 11</b> : Représente Schéma principale d'une chaine HPLC.....	40
<b>Figure 12</b> : Présente schéma d'un détecteur UV.....	41
<b>Figure 13</b> : Réaction enzymatique de la formation de l'histamine par décarboxylation.....	45
<b>Figure 14</b> : Structure de la molécule d'histamine.....	46
<b>Figure 15</b> : Structure de la molécule de tyramine.....	47
<b>Figure 16</b> : Structure de la molécule de la putrescine.....	48
<b>Figure 17</b> : Structure de la molécule de la cadavérine.....	49
<b>Figure 18</b> : Influence de la température sur des thons volontairement contaminés par <i>Proteus morgani</i> .....	53
<b>Figure 19</b> : Influence de pH sur la production de l'enzyme histidine décarboxylase....	54
<b>Figure 20</b> : Influence du pH sur l'activité de l'histidine.....	54

<b>Figure 21</b> : Chromatogramme présentant la séparation de différentes amines biogènes par HPLC.....	57
<b>Figure 22</b> : Schéma représentatif d'un appareil de chromatographie sur couche mince(CCM).....	58

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

AB : Amines Biogènes.

ADN : Acide DésoxyriboNucléique.

Al : Aluminium.

As : Arsenic.

ASE : Accelerated Solvent Extractor.

B[a]P : Benzo[a]Pyrène.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

Cd : Cadmium.

CDO : Oxyde De Cadmium.

CDS : Sulfate De Cadmium.

CE : Commission Européenne.

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse.

Cr : Chrome.

Cu : Cuivre.

DAO : DiAminoOxydases.

DDT : DichloroDiphénylTrichloroéthane.

DHT : Dose Hebdomadaire Tolérable.

EFSA : Autorité Européenne de Sécurité des Aliments.

ETM : Eléments Traces Métalliques.

Fe : Fer.

FID : Détecteur à Ionisation de Flamme.

FLUO : Fluorimètre.

G : Génotoxique.

Hg : Mercure.

HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Performance.

IARC/CIRC : International Agency for Research on Cancer/Centre International de Recherche contre le Cancer.

INERIS : Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques.

JECFA : Joint Expert Comite for Food Additive.

LC : Chromatographie Liquide.

MAO : MonoAmineOxydase.

Mn : Manganèse.

MO : Matière Organique.

MS : Spectromètre de Masse.

NC : Non Cancérigène.

NG : Non Génotoxique.

Ni : Nickel.

OPA : O-Phthal-Aldehyde.

OPT : Optical Projection Tomography.

Pb : Plomb.

PCB : PolyChloroBiphéniles.

PFE : Pressurized Fluid Extraction.

PNG : Probablement Non Génotoxique.

POH : Pollution Organique Hydrophobe.

POP : Pollution Organique Persistante.

PPB : Part Per Billion – partie par Milliard-.

PPM : Partie Par Million.

PTWI : Provisional Tolérable Weekly Intake.

Rf : Facteurs Rhumatoïdes.

SAA : Spectrophotométrie d'Absorption Atomique.

SCF : Scientific Committee on Food.

SFF : Extraction en Fluide Supercritique.

Sn : Etain.

Ti : Titane.

UE : Union Européenne.

US-EPA : United States Environmental Protection Agency.

UV : Ultra-Violet.

V : Vanadium.

Zn : Zinc.

## REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail de fin d'étude, nous exprimons nos sincères remerciements à tous nos responsables de l'Université 8 mai 1945 - Guelma.

L'expression de notre haute reconnaissance s'adresse à Monsieur BOUCHELAGHEM El Hadi maître de conférences à l'Université 8 mai 1945 – Guelma, de nous avoir accueilli et assuré la direction scientifique du sujet de mémoire et de nous avoir encouragé tout au long de ce travail; sa confiance, ses remarques et ses conseils nous en ont été très utiles.

Nos plus vifs remerciements s'adressent aussi au président de notre jury de nous avoir fait l'honneur d'y accepter la présidence et à tous les membres, pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'expertiser objectivement et avec diligence ce manuscrit de mémoire. Qu'ils trouvent ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Nous remercions aussi l'ensemble des enseignants, doctorants et techniciens de laboratoires pédagogiques d'avoir contribué au bon déroulement de ces travaux, que ce soit pour les manipulations ou pour la vie de tous les jours.

Et enfin, à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin pour mener à terme ce travail.

## **DEDICACE**

*Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert, une immense joie et sincère mots  
que je dédie cet humble travail de fin d'étude,*

*A ma mère: Source de tendresse de noblesse qui m'a éclairé le chemin  
par ses conseils judicieux et qui m'a encouragé à aller de l'avant et qui à  
sacrifié leur vie pour ma réussite et qui m'a donné tout son amour pour  
continué mes études.*

*A mon père: Tu as su m'inculquer le sens de la vertu et la dignité,  
merci pour l'éducation que tu m'as donné et tout ton amour.*

*A mon mari : que je l'aime toujours, qui m'a encouragé de toujours avancer  
malgré les difficultés.*

*A mes frères Amine, Akram et Ramy qui sont une partie de mon cœur.*

*Je dédie ce travail à tous ma famille, ma Grand-mère, mes Oncles et  
mes Tantes, mes Cousins et Cousines que Dieu les protège.*

*A mes trinômes Nor, Marwa.*

*A tous mes professeurs et maitres, avec mes respects.*

*Et a tous ceux qui ont contribué de prés ou de loin pour que ce projet  
soit possible, je vous remercie.*

**Mouna**

## **DEDICACE**

*Je dédie mon travail à tous ceux qui ont pensé à mon avenir.*

*Tous ceux qui se sont fatigués pour mon bonheur.*

*Tous ceux qui se sont sacrifiés pour mon éducation et ma culture.*

*Ma très chère mère: toi qui te soucies tant pour nous, les mots faibles pour  
exprimer mon affection et mon amour pour toi.*

*Mon très cher père qui a sacrifié sa vie pour ma réussite et qui m'a donné  
tout son amour pour reprendre mes études.*

*Mon mari qui je t'aime toujours qui m'a encouragé et qui m'a soutenu tout ou  
long de ce projet et surtout ma belle-fille \*Jana\**

*A mes chères sœurs \* Rania\* \*Asma\* \* Sara\**

*A mes trinômes \* Mouna \* \*Marwa\**

*A tous les membres de ma famille sans aucune exception.*

*A tous mes amis et mes collègues, et tous ceux qui m'ont soutenue de près  
ou de loin.*

## **DEDICACE**

*Je dédie ce Modeste travail*

*A mes très chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*A la beauté qui réside dans mon cœur la charmante princesse : Ma  
Mère.*

*A la porte où réside l'amour et la fidélité : Mon Père.*

*Mes chers parents : merci de m'avoir donné un aperçu d'un monde  
meilleur.*

*A ma chers sœur Zeineb, pour leur appui et leur encouragement.*

*A mes chers frères Anis, Hassen et sa fiancé Insaf, pour leur  
encouragement permanents, et leur soutient moral.*

*A tous mes amies avec lesquelles je partage mes joies et mes peines.*

*A mes trinômes Mouna et Nor*

*Je dédie ce travail à tous ma famille, ma Grand-mère, mes Oncles et  
mes Tantes, mes Cousins et Cousines -Dieu les protège.*

*A tous ceux qui m'on soutenu durant ce travail et qui ont marqué ma  
vie d'une façon ou d'une autre.*

*A tous ce qui j'aime et m'aiment.*

**Marwa**

## الملخص

أدى التقدم التكنولوجي و النمو السكاني إلى تحسن كبير في أساليب الإنتاج. لكن بسبب هذا الإنتاج المتضخم و التطور السريع للتكنولوجيا تعاني البيئة مشاكل خطيرة. من بين هذه المشاكل التلوث البحري الذي يهدد صحة الإنسان على المدى الطويل.

في الوقت الحاضر، يرغب البشر في استهلاك المنتجات البحرية أكثر فأكثر. فهي مصدر جيد للبروتين و المعادن المفيدة للصحة. بيد أن هذه المنتجات تحتوي في نفس الآن على عناصر أساسية لكن سامة على نطاق واسع التركيز.

ينطلب تلوث المنتجات السمكية (كالمحار ذي الصمامين، و الأسماك، و الرخويات، الخ ) رصد و تحليل العناصر السامة التي قد تكون خطرا محتملا. وقد أجريت في غضون السنوات الأخيرة و في بلدان مختلفة العديد من الدراسات و الأبحاث في كمية الملوثات في المواد الغذائية و نوعها و مصدرها.

نقيم في هذا البحث التلوث الناجم عن التعرض للملوثات الكيميائية و البيولوجية التي تضر بمنتجات الصيد. يظل متوسط المحتوى من المواد المدروسة (المعادن الثقيلة و المحروقات متعددة الحلقات و العطريات و الأمانيات الإحيائية)، كما درجة التلوث دون ما تحذر منه التنظيمات الوطنية و الدولية.

و يهتم بحثنا أيضا بتطوير بعض مناهج التحليل اللوني و تمثل الطيف (من قبيل : HPLC ،GCMS ،SAA) و التي تتيح إمكانية تقييم أمثل للمخاطر التي قد تهدد المستهلك.

**كلمات البحث :** المأكولات البحرية، المعادن الثقيلة، الهيدروكربونات العطرية متعددة الحلقات والأمانيات حيوية المنشأ.

## Abstract

Advances in technology and population increase led to notable improvements in the production methods. Nevertheless, serious environmental problems can be observed following this mass production and rapid evolution of technology. Pollution of aquatic environments is one of these problems that pose a threat to human health at long term.

Nowadays, human beings are encouraged to consume more seafood, as it is a good source of protein and minerals considered beneficial for health. However, these sea products contain both essential and toxic elements on a wide range of concentration.

The contamination of fish products (bivalves, fish, cephalopods, etc.) requires a monitoring and an analysis of toxic elements which could present a potential hazard. In recent years, a large number of research studies has been conducted in various countries on the type, quantity and source of contaminants in foodstuffs. In this paper, we evaluate the contamination related to chemical and biological pollutants that deny the safety of fish products.

The concentration mean of different substances (heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons and biogenic amines), as well as the level of contamination are still below the levels recommended by the national and international regulations.

Our work takes also interest in the development of certain analytical methods such as spectrometry and chromatography (HPLC, GCMS, AAS), allowing the possibility of apprehending the risks involved by the consumer.

**Keywords:** Seafood, Heavy metals, hydrocarbons Polycyclic aromatic and biogenic amines.

## Résumé

Les progrès de la technologie et l'augmentation de la population ont conduit à de notables améliorations dans les méthodes de productions. Cependant, de problèmes sérieux d'environnement ont lieu suite à cette production en masse et évolution rapide de la technologie. La pollution des milieux aquatiques, est parmi ces problèmes qui constituent une menace à long terme pour la santé humaine.

Afin de diversifier leur alimentation, les populations sont amenées à consommer davantage les produits de mer. Ils représentent de bonnes sources de protéines et des minéraux bénéfiques pour la santé. Pourtant, ces produits contiennent à la fois des éléments essentiels et toxiques sur une large gamme de concentration.

La contamination des produits de mer (bivalves, poissons, céphalopodes, etc..) nécessite la surveillance et l'analyse des éléments toxiques pouvant présenter un danger potentiel. Au cours des dernières années, de nombreuses études ont été réalisées dans ce domaine. Notre travail s'intéresse principalement à l'évaluation des contaminants chimiques et certaines molécules biochimiques qui peuvent s'accumuler dans les produits de la pêche et affecter leur salubrité.

Les teneurs moyennes de différentes substances étudiées (métaux lourds, hydrocarbures Polycycliques aromatique et amines biogènes), ainsi que le niveau de contamination reste inférieur aux niveaux recommandés par la réglementation.

Notre travail porte aussi intérêt au développement de certaines méthodes analytiques comme la spectrométrie et la chromatographie (SAA, GCMS, HPLC), qui permet de mieux apprécier les risques encourus par le consommateur.

**Mots-clés:** les produits de mer, Métaux lourds, hydrocarbures Polycycliques aromatique et amines biogènes.

# INTRODUCTION GENERALE

Depuis l'exposition de l'industrie chimique au début du XX<sup>ème</sup> siècle et l'utilisation de produits de synthèse dans la vie quotidienne, des quantités croissantes des substances chimiques d'origine industrielles, agricoles, ou domestiques, n'ont cessé d'être émises dans l'environnement aquatique. De nombreuses populations à travers le monde dépendent de cet environnement. On estime que plus de la moitié de la population mondiale vit le long des zones côtières.

Les produits des milieux aquatiques sont considérés comme des aliments de haute valeur nutritionnelle, grâce à leur composition particulière, donc ils sont considérés comme des produits de grande consommation. Dans la plupart des milieux aquatiques continentaux, des mers et océans du globe, on trouve plusieurs classes de contaminants potentiellement toxiques, ce qui affecte la qualité des eaux et des produits aquatiques. Afin d'atténuer la toxicité de tout type de contaminants et de préserver la santé des écosystèmes aquatiques, Il est impératif de contrôler et surveiller ces milieux contre les effets préjudiciables des activités humaines et industrielles.

Ce mémoire est une synthèse bibliographique sur La pollution d'origine chimique (contaminants organiques et inorganiques) et d'origine biochimique, largement documentée dans la littérature. Ce document est un complément pour d'autres travaux précédents focalisés aussi sur la contamination des composantes du milieu aquatique. Il permet ainsi de récapituler les arguments scientifiques déjà constitués et cités, les conséquences sanitaires sur les produits aquatiques et sur le consommateur.

Il est structuré en trois chapitres, les deux premiers chapitres sont consacrés aux contaminants chimiques (contaminants organiques et contaminants inorganiques respectivement), donc à la détermination des teneurs des métaux lourds et hydrocarbure polycycliques aromatiques dans différents produits de pêche, qui constituent actuellement un problème majeur dans l'environnement aquatique, notamment dans les denrées alimentaires ou dans les produits de pêche et représente un risque pour la consommation humaine. Pour cela nous avons choisi d'identifier le danger de certains métaux lourds (plomb, cadmium et mercure) et des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) trouvés dans divers produits de pêche.

Alors que le troisième chapitre est consacré aux indicateurs biochimiques. Au cours de ce travail nous avons mis en lumière le caractère de certains contaminants biologiques, d'origine chimique (amines biogènes) qui se manifestent par la prolifération des microorganismes menaçant ainsi la salubrité des produits de pêche. La recherche de contaminants d'origine naturelle et biologique tels que les amines biogènes est particulièrement importante, car certaines de ces molécules, notamment l'histamine, sont dangereuses pour l'homme si la dose ingérée est trop élevée. Ces contaminants possèdent la capacité, de se concentrer le long de la chaîne alimentaire, et de s'accumuler dans certains organes du corps humain, donc l'exposition de ces métaux même à de petites quantités, peut causer de graves problèmes de santé.

Chaque partie de ce mémoire est organisée de manière à présenter une synthèse bibliographique, suivi des techniques d'analyses utilisées pour chaque analyte ou éléments. En fin de la partie, on présente quelques normes. L'objectif principal de ce travail est l'évaluation biochimique et chimique de l'état de salubrité des milieux aquatique et surtout les produits de pêche.

Enfin une Conclusion Générale ainsi que des Perspectives de recherche finalisent ce manuscrit.

# **CHAPITRE 1**

## **POLLUANTS INORGANIQUES**

## 1. Toxique minéraux

### 1.1. Généralités

Les métaux sont omniprésents dans les eaux de surface, toutefois leurs concentrations sont en général très faibles ce qui explique leur dénomination de « métaux traces » ou « éléments traces métalliques ». Les ETM sont présents couramment dans la croûte terrestre, aussi l'altération et l'érosion des roches alimentent naturellement les eaux de surface en ETM (Elder, 1988).

La présence de métaux lourds dans l'environnement résulte de causes naturelles et des activités humaines. Elle pose un problème particulier, car les métaux lourds s'accumulent et ils ne sont pas biodégradables dans l'environnement (Naseem *et al*, 2001).

Ces métaux lourds ne présentent pas tous les mêmes risques en raison de leurs effets sur les organismes, leurs propriétés chimiques, physico-chimiques et biologiques. Leur toxicité est très variable et leur impact sur l'environnement très différent (Reddad *et al*, 2002).

### 1.2. Définition

Les éléments traces métalliques sont généralement définis comme des métaux lourds (Lacoue, 2007).

Un métal est une matière, issue le plus souvent d'un minerai ou d'un autre métal, dotée 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 utilisables dans l'industrie, l'orfèvrerie (Miquel, 2001).

On appelle en général métaux lourds les éléments métalliques naturels, métaux ou dans certains cas métalloïdes caractérisés par une masse volumique élevée, supérieure à 5 grammes/cm<sup>3</sup> (Miquel, 2001).

Ils englobent l'ensemble des métaux et métalloïdes présentant un caractère toxique pour la santé et l'environnement. Les métaux lourds les plus souvent considérés comme toxique pour l'homme sont : le plomb, le mercure, l'arsenic et le cadmium. D'autres comme le cuivre, le zinc, le chrome, pourtant nécessaires à l'organisme en petites quantités, peuvent cependant se révéler très nocifs en quantités trop importantes (Fergusson, 1980).

En chimie, les métaux lourds sont généralement définis sur la base des propriétés spécifiques (poids moléculaire, capacité à former des cations polyvalents...).

En science du sol, il est convenu de parler "d'éléments trace métalliques" qui désignent des composés naturels présents à très faible concentration.

En toxicologie, ils peuvent être définis comme des métaux à caractère cumulatif (souvent dans les tissus graisseux) ayant essentiellement des effets très néfastes sur les organismes vivants. En nutrition et en agronomie, ils peuvent même être assimilés à des oligo-éléments indispensables à certains organismes, en particulier par leur action catalytique au niveau du métabolisme (Lacoue, 2007).

## **2. Origine des métaux lourds**

Les métaux lourds sont redistribués naturellement dans l'environnement par les processus géologiques et les cycles biologiques (Académie des sciences, 1998). Les métaux lourds qui entrent dans l'environnement aquatique provient de source naturelles et de sources anthropogènes, leur entrée peut être le résultat soit de déversements effectués directement dans les écosystèmes marins, soit d'un cheminement indirect comme dans le cas des décharges sèches et humides et du ruissellement agricole (Zoller, 1984 *in* Nedjar, 2016).

### **2.1 Origines naturelles**

Les métaux lourds sont redistribués naturellement dans l'environnement par les processus géologiques et les cycles biologiques. Dans la nature, les métaux lourds sont en grande partie liés sous forme de minéraux ou de minerais. L'extraction, l'érosion ou l'activité volcanique les font arriver dans l'environnement. Ils sont utilisés dans de nombreux processus et applications techniques et peuvent arriver involontairement jusqu'à l'environnement ou aussi jusqu'à certains produits (Darmendrail *et al*, 2000).

### **2.2 Origines anthropiques**

Les métaux provenant d'apports anthropiques sont présents sous des formes chimiques assez réactives et entraînent de ce fait des risques très supérieurs aux métaux d'origine naturelle qui sont le plus souvent immobilisés sous des formes relativement inertes (Mckenzie, 1997).

Les sources anthropogènes sont les suivantes: Activités pétrochimiques, utilisation de combustibles fossiles (centrales électriques au charbon, chaudières industrielles, fours à ciment...), transport (véhicules et moteurs routiers et non routiers, embarcations) Incinération de déchets Produits (interrupteurs électriques, amalgames dentaires, éclairages fluorescents), déchets urbains (eaux usées, boues d'épuration, ordures ménagères), agricoles (Salvarredy, 2008).

Le tableau 1 présente quelques exemples de sources industrielles et agricoles d'où peuvent provenir les métaux présents dans l'environnement (Brignon *et al*, 2005).

**Tableau 1:** Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement (Brignon *et al*, 2005).

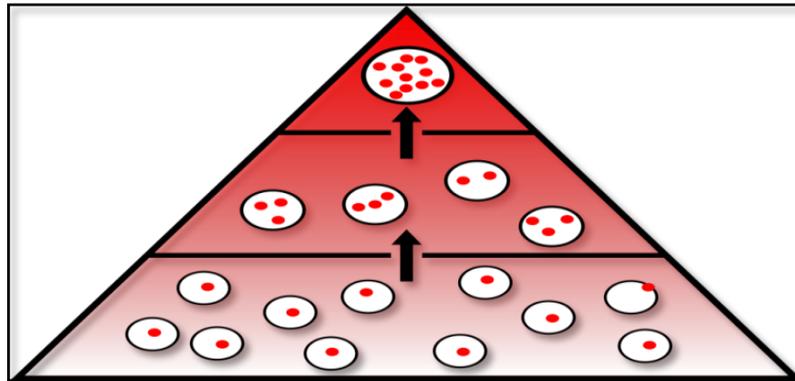
Utilisations	Métaux
Batteries et autres appareils électriques	Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Ni
Pigments et peintures	Ti, Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Sn, Cr, Al, As, Cu, Fe
Alliages et soudures	Cd, As, Pb, Zn, Mn, Sn, Ni, Cu
Biocides (pesticides, herbicides)	As, Hg, Pb, Cu, Sn, Zn, Mn
Agents de catalyse	Ni, Hg, Pb, Cu, Sn
Verre	As, Sn, Mn
Engrais	Cd, Hg, Pb, Al, As, Cr, Cu, Mn, Ni, Zn
Matières plastiques	Cd, Sn, 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. Phénomène de la bioamplification

La bioamplification (ou biomagnification) a été modélisée en milieu aquatique par l'utilisation d'un facteur de transfert entre les niveaux trophiques. C'est surtout pour les composées organiques lipophiles que l'on dispose de données. Cependant, si l'on connaît des exemples typiques de biomagnification, il convient de valider les relations entre les facteurs de bioconcentration et les niveaux trophiques par de nouvelles données, en utilisant des organismes représentant une variété de niveaux trophiques et des composés de lipophiles différentes.

La bioamplification, qui peut être définie comme la séquence de processus conduisant à de plus fortes concentrations d'une substance dans un organisme que dans sa nourriture, semble un phénomène plus rare en milieu terrestre qu'en milieu aquatique. Les facteurs de bioconcentration seraient plus petits dans les chaînes alimentaires terrestres que dans les chaînes aquatiques (Annette & Gimbert, 2013).

La bioamplification est une forme de bioaccumulation indirecte. Lorsque des organismes contaminés de niveaux trophiques inférieurs sont mangés, ils vont passer les contaminants à leur prédateur. Il en résulte ainsi une augmentation de la concentration des contaminants au fur et à mesure que l'on monte dans les niveaux trophiques. Le pyramide ci-dessous présente les trois niveaux trophique.



**Figure 1:** Schéma présentant les trois niveaux trophique.

Ainsi, dans un milieu contaminé, tous les niveaux trophiques sont affectés. Les producteurs (premier niveau), puisant les nutriments nécessaires à la transformation de la matière inorganique en matière organique, vont accumuler les contaminants présents dans leur milieu.

Les consommateurs primaires (deuxième niveau), en plus d'absorber les contaminants en vivant dans un milieu pollué, vont aussi accumuler les polluants que les producteurs avaient eux-mêmes absorbés.

Il en va de même pour les consommateurs secondaires et tertiaires (niveaux supérieurs), tous accumulant les contaminants absorbés précédemment par leurs proies (1).

Les poissons sont des capteurs de polluants en général et de mercure en particulier.

Ils combinent un grand facteur de bioconcentration (le mercure concentré dans les poissons est de plusieurs milliers de fois supérieur au mercure dans l'eau), et comme on vient de le voir, un grand facteur de bioaccumulation (Miquel, 2001).

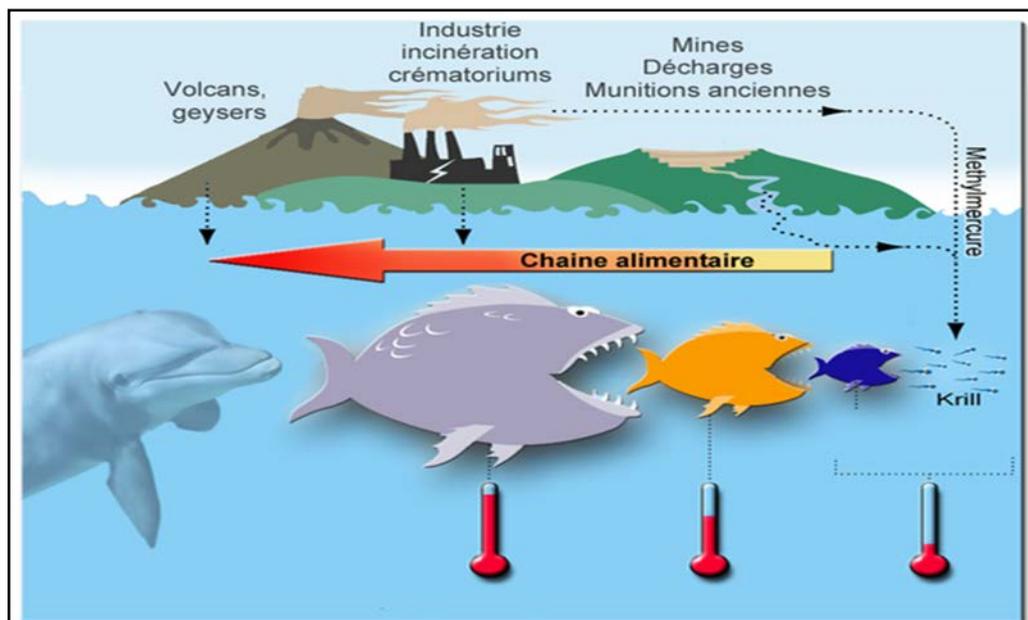
Dans l'image ci-dessous, le biocontaminant, le mercure, est produit par les centrales électriques au charbon, les volcans et les mines. Ce contaminant se déplace de l'atmosphère vers l'eau où il se transforme en méthyle mercure, un composé toxique qui entre facilement dans une chaîne alimentaire. Il est d'abord absorbé par le

krill et le saumon (consommateurs primaires), qui en accumulent une partie dans les tissus de leurs organismes (représenté par le thermomètre à droite).

Ces derniers sont mangés par un prédateur, soit le thon ou la truite (poisson jaune), qui accumule une concentration plus élevée que le saumon (tel que le démontre le thermomètre sous le poisson jaune).

Ces deux espèces de poissons sont les proies de poissons plus gros, comme le flétan (représenté par le poisson gris sur l'image). La concentration du méthylmercure augmente encore à ce niveau trophique, tel qu'illustré par le thermomètre rouge.

Finalement, les grands prédateurs comme les dauphins, les cachalots, les orques, ou les requins ou les espadons (à gauche de l'image) contiennent les taux de mercure les plus élevés, car ils accumulent les biocontaminants de tous les niveaux trophiques précédents (1).



**Figure 2:** La chaîne trophique contaminée par les métaux lourds.

Certains poissons doivent être consommés avec modération. Puisque les êtres humains représentent généralement le niveau trophique le plus élevé d'une chaîne alimentaire (Miquel, 2001). C'est ce phénomène qui explique le conseil qu'on donne souvent aux consommateurs: (ne mangez pas de gros poissons préférez les petits pour votre santé).

#### 4. Toxicité

Les métaux sont généralement séparés en deux catégories selon leur caractère essentiel ou non pour les êtres vivants. En effet, ils peuvent s'avérer indispensables au déroulement des processus biologiques (oligo-élément), c'est le cas du Fer (Fe), du Cuivre (Cu), du Zinc (Zn), Nickel (Ni), du Cobalt (Co), du Molybdène (Mo), du Manganèse (Mn). Dans ce cas, leurs concentrations dans les organismes doivent répondre aux besoins métaboliques de ces derniers. Dans le cas contraire, une carence ou un excès de ces nécessaires à la vie, peuvent entraîner des effets néfastes, certains métaux lourds peuvent être préjudiciables comme le Mercure (Hg), le Plomb (Pb) et le Cadmium (Cd) (Casas, 2005).

Des teneurs élevées en métaux lourds peuvent être trouvées en particulier dans les produits de la mer, comme les poissons et les crustacés, ainsi que dans les algues (surtout le mercure et l'arsenic).

Les métaux lourds présents dans l'eau et dans les sédiments sont absorbés par les plantes et les animaux marins, le dépassement d'une quantité donnée dans ces espèces provoque leur accumulation dans les organismes et tout au long de la chaîne alimentaire. Ils peuvent atteindre des concentrations menaçant la survie de certaines populations naturelles et présenter des dangers pour le consommateur de produits marins du fait de leur possibilité de concentration dans les espèces marines, de leur élimination difficile et de leur large répartition dans le milieu aquatique (Jica *et al*, 2008 *in* Messai, 2014 ).

De 1932 à 1966, une usine pétrochimique de la compagnie « Shin Nippon Chisso » rejeta des métaux lourds, en particulier du mercure, dans la baie de Minamata, au Japon. Leurs effets hautement nocifs ont été mis en évidence suite à l'intoxication mortelle. Les habitants avaient mangé du poisson contaminé par des rejets mercuriels. Cette maladie s'est ensuite propagée à toute la jeune génération par le lait maternel (Jica *et al*, 2008 *in* Messai, 2014).

#### 5. Les métaux lourds dans le milieu marin

Dans le milieu aquatique, un métal sera défini comme un élément chimique qui peut former des liaisons métalliques et perdre des électrons pour former des cations (Lacoue, 2007). Les métaux lourds sont dangereux pour les systèmes aquatiques, ils pénètrent dans les écosystèmes avec les précipitations, les cours d'eau, les effluents et

les rejets accidentels relégués comme sous-produits des industries, des mines ou s'échappant des bateaux.

Dans les écosystèmes aquatiques naturels, les métaux se trouvent à de faibles concentrations, généralement de l'ordre du nano gramme ou du microgramme par litre (Forbes *et al*, 1997).

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. En outre, tout au long de la chaîne alimentaire, certains se concentrent dans les organismes vivants. Ils peuvent ainsi atteindre des taux très élevés dans certaines espèces consommées par l'homme, comme les poissons (Tarras *et al*, 2001).

L'origine des métaux présents dans le milieu marin est double. Naturellement présents dans la biosphère, ils proviennent, d'une part, de l'érosion mécanique et chimique des roches et du lessivage des sols (Bryan, 1984).

D'autre part, la contribution d'origine anthropique issue des rejets industriels et domestiques, l'activité minière et les eaux d'écoulement contaminées par les engrais et les pesticides utilisés en agriculture sont autant de sources ayant contribué à l'augmentation des concentrations de métaux lourds dans le milieu marin et surtout en zone côtière (Belanger , 2009).

## **6. Éléments traces étudiés**

Le Cd, le Pb et l'Hg sont des éléments métalliques extrêmement toxiques. Il s'agit d'éléments non essentiels au développement des organismes, animaux ou végétaux, et qui peuvent nuire au métabolisme cellulaire. Les voies de contamination pour l'humain sont l'inhalation, l'ingestion et l'exposition cutanée. Ces métaux toxiques sont responsables de bons nombres de maladies. Leur toxicité est reconnue, même à de très faibles concentrations et peut être attribuée à des interactions inappropriées avec différentes structures intracellulaires. Cette toxicité est renforcée par un phénomène de concentration dans l'organisme qu'on appelle bioaccumulation (Roesijadi, 1994).

## 6.1 Le Cadmium

### 6.1.1. Caractéristiques

Le Cd est un métal relativement rare, mais il est utilisé pour plusieurs buts. Dans sa forme pure c'est un métal blanc argenté avec une couleur bleuâtre. Le cadmium est également très malléable (Cobb, 2008), ayant des propriétés physiques proches de celles du Zn. Le Cd est utilisé dans la fabrication des piles (nickel-Cd), dans la préparation par galvanisation de couches protectrices de fer (Fe) bien malléables mais résistantes à la corrosion ainsi que dans les composés d'alliages. De plus, on utilise les composés de Cd comme pigments de peintures résistants à de hautes températures (Bliefert *et al*, 2004).

Le Cadmium fait également partie des métaux lourds les plus dangereux. Même à de faibles concentrations, il tend à s'accumuler dans le cortex rénal sur de très longues périodes (50 ans) où il entraîne une perte anormale de protéines par les urines (protéinurie) et provoque des dysfonctionnements urinaires chez les personnes âgées (Casas, 2005).

**Tableau 2:** Propriétés physico-chimiques du cadmium.

Nom	Cadmium
Symbole	Cd
Numéro atomique	48
Masse molaire atomique	112,40 g/mol
T° de fusion	321°C

### 6.1.2. Absorption et toxicité

L'alimentation est la principale source d'apport du Cd : dans la population générale non professionnellement exposée au Cd et non fumeuse. Les légumes et les céréales sont les sources principales de Cd, bien que le Cd soit également trouvé dans la viande mais à degré moindre. Le Cd s'accumule en particulier dans le rein et le foie, par conséquent les abats contiennent des concentrations relativement élevées. Le poisson contient seulement de petites quantités de Cd alors que les crustacés et les mollusques peuvent accumuler de plus grandes quantités (Beliefert *et al*, 2004).

L'exposition chronique au cadmium porte atteinte à l'appareil digestif et aux poumons, mais aussi et surtout aux reins. Le cadmium est un toxique cumulatif:

l'excellente solubilité de cet élément dans les acides faibles explique pour une large part son absorption dans l'organisme. En Asie, les concentrations élevées de Cd dans le riz provoquent la maladie de "Itai-Itai". Les principales manifestations sont les suivantes: destruction des érythrocytes, protéinurie, rhinite, emphysème, déformations osseuses et bronchite chronique, le cadmium et ses dérivés possèdent un pouvoir cancérigène (Fabrice *et al*, 2001).

Les niveaux d'accumulation de Cd dans les cultures de cellules de l'épithélium intestinal sont aussi faible (Jumarie *et al*, 1997). Bien que l'ingestion représente une voie d'absorption du Cd, la biodisponibilité pulmonaire de ce métal semble être plus importante.

Cependant, on ne connaît pas les facteurs qui déterminent le dépôt du Cd dans les poumons et son absorption par inhalation (OMS, 1974).

La toxicité du cadmium est liée à la perturbation du métabolisme du zinc et secondairement d'autres éléments essentiels tels que le calcium, le fer et le cuivre (Waalkes, 2000).

Il existe plusieurs preuves de la cancérogénicité du cadmium, notamment en ce qui concerne le cancer rénal chez l'Homme (Kolonel, 1976).

Le rein, en tant que principale organe d'élimination, est aussi fréquemment un organe cible, le cadmium affecte les cellules des tubules proximaux, provoquant l'excrétion urinaire de protéines de faible poids moléculaire, d'acide aminés et de glucose (Benecke *et al*, 2004).

On a d'ailleurs suggéré que le Cd serait en partie responsable de l'action toxique de la fumée de tabac sur les poumons et que les sujets décédés de bronchite chronique ou d'emphysème ont plus de Cd stocké dans le foie que les sujets décédés d'autres causes.

Chez l'humain, on a signalé de nombreux cas d'intoxication aiguë à la suite d'inhalation de concentrations élevées de Cd ou de fumées d'oxyde de cadmium (CdO) ou de sulfate de Cd (CdS) pendant la fusion ou la coulée du Cd . On estime que la mortalité, dans les cas d'intoxication sévère par les fumées de CdO, survient à 15-20% dans les 3 jours suivant l'exposition (Jumarie *et al*, 1997).

Le JECFA (Joint Expert Comite for Food Additives) comité mixte FAO/OMS, tolère chez l'homme une dose hebdomadaire tolérable DHT de 7 µg de cadmium par kilogramme de poids corporel et par semaine. Il faut noter qu'outre la boisson et la

nourriture le tabagisme est une source importante de cadmium notée dans toutes les études épidémiologique. De même façon que pour le mercure, le règlement CE n° 466/2001 fixe les quantités maximales de cadmium dans les denrées alimentaires (1 mg/kg poids humide). Cependant il ne présente pas la toxicité aigue pour les organismes marins a des concentrations de 0.05 a 1.2 µg/l peuvent provoquer des effets physiologiques (anomalie dans le développement embryonnaire et larvaire cher les mollusques bivalves) et des inhibitions de croissance (chiffolleau *et al*, 2001 *in* Benadda , 2009).

## 6.2 Le Plomb

### 6.2.1. Caractéristiques

Le Pb est un métal brillant, bleu-gris et inodore qui est malléable, ductile et résistant à la corrosion chimique. Le plomb existe à l'état naturel dans le substrat rocheux, le sol, les sédiments, les eaux de surface, les eaux souterraines et l'eau de mer (Reimann *et al*, 1998). Il ternit au contact de l'air humide, ne réagit ni avec l'oxygène, ni avec l'eau il est attaqué par l'acide nitrique (Wittmers *et al*, 2002 *in* Messai, 2014)

Le Plomb est présent dans la croûte terrestre et dans tous les compartiments de la Biosphère. Dans l'air, les émissions de Plomb provenant de poussières volcaniques véhiculées par le vent sont reconnues d'une importance mineure. Les rejets atmosphériques sont principalement anthropiques, ils proviennent d'abord des industries de première et deuxième fusion du plomb, et au niveau urbain ou routier, des rejets des véhicules à moteur (Pichard, 2003 *in* Messai, 2014).

Il est également présent de façon naturelle dans les aliments, à de faibles concentrations, suite à son absorption dans le sol par les plantes, dans l'eau et les sédiments par les poissons, et chez les plantes et les animaux qui consomment des plantes et d'autres animaux. Le plomb existe en différents états d'oxydation, mais dans la nature, c'est la forme « oxyde de plomb » qui est prédominante. Les évaluations du plomb dans les milieux environnementaux et biologiques précisent rarement la forme mesurée; elles indiquent plutôt la partie de plomb contenue dans des substances non spécifiées (ATSDR, 2007).

Le plomb s'accumule dans le corps des organismes aquatiques. Ils souffrent des conséquences d'un empoisonnement au plomb. Chez les crustacés ces effets se font ressentir même si de très petites concentrations de plomb sont présentes. Les

fonctions des phytoplanctons peuvent être perturbées lorsque le plomb est présent. Le phytoplancton est une source importante d'oxygène dans les mers et beaucoup d'animaux marins plus gros s'en nourrissent. Le phytoplancton contient environ 5-10 ppm de plomb (masse sèche), les poissons d'eau douce environ 0.5-1000 ppb, et les huîtres environ 500 ppb (Salvarredy, 2008).

**Tableau 3:** Propriétés physico-chimiques du Plomb.

Nom	Plomb
Symbole	Pb
Numéro atomique	82
Masse molaire atomique	207.19 g/mol
T° de fusion	327°C

### 6.2.2. Absorption et toxicité

Le Pb est un élément chimique toxique, par effet cumulatif, pour l'homme, la faune et la flore (Chassard-Bouchaud, 1995 *in* Nedjar, 2016). Chez les végétaux, le plomb affecte les membranes cellulaires et certains systèmes enzymatiques perturbant le flux des électrons dans les chaînes de transfert (Miles *et al*, 1972).

Le plomb peut être absorbé par l'organisme par inhalation, ingestion, contact cutané (Principalement lors d'une exposition professionnelle). Ou par transmission à travers le placenta (Angell *et al*, 1982). La présence de plomb dans l'organisme peut provoquer des troubles tels que le saturnisme, des crises d'épilepsie voire même des troubles nerveux et psychiques. Pour les personnes les plus exposées, il existe un risque d'avortement spontané, et d'accroissement du nombre de cancers du poumon ou du tractus gastro-intestinal (Chassard-Bouchaud, 1995 *in* Nedjar, 2016).

Le plomb est nocif pour la santé à tout âge, mais ce sont les nourrissons et les enfants qui représentent une sous-population à risque relativement à l'exposition au plomb. Les nourrissons et les enfants sont plus sensibles à l'exposition au plomb, car ils ont une absorption gastro-intestinale plus importante et une excrétion rénale moins efficace, ainsi que des comportements différents de ceux des adultes, comme l'ingestion de substances non nutritives (Micak, 2001).

L'intoxication chronique se caractérise par l'apparition d'une anémie, d'un liseré du au plomb au niveau de la gencive, d'une anoxie, de gastralgie, etc.

Il provoque la toxicité sur les organismes à partir de 0.1mg/l. L'intoxication aigue provoque une néphropathie tubulaire, avec anurie, parfois associé à des

troubles neuromusculaires. Une exposition chronique peut entraîner des risques d'hypofertilité, de malformation fœtale. Une dose de 1mg de plomb est suffisante pour engendrer rapidement le saturnisme (Miles *et al*, 1972).

L'EPA (Environmental Protection Agency) limite à 15 µg par litre la concentration maximale en plomb dans l'eau potable. L'OMS recommande une dose de 10 µg/l et cette limite entrera en vigueur dans les pays européens à partir de 2013. Sur l'organisme la toxicité aiguë a partir de 0.1 mg / l et il se concentre le long de la chaîne alimentaire (Gaujous, 1995).

La dose hebdomadaire acceptable (DHA) et recommandée par FAO/ WHO et le comité d'expert (WHO, 1994) évaluée a  $PTWI = 3.0$  mg/semaine par personne adulte. Par convention la DHA pour le plomb a été fixé 350mg/l de sang. Un apport alimentaire qui contient a peu près 100 µg/l, contribue a augmenter la plombémie de 10 µg/l alors que 1 µg/m<sup>3</sup> d'air pouvait l'augmenter de 2 a 3 µg/l. (derache, 1986)

La dose létale pour l'être humain est de 0.5g et le saturnisme est traité par un chélateur (le calcitracématee disodique) qui fixe le plomb et aide à son élimination (ce traitement est employé jusqu'à ce que le plomb fixé sur les os soit éliminé) (Gaujous, 1995).

## 6.3 Mercure

### 6.3.1. Caractéristiques

L'Hg est rare dans le milieu naturel : il se trouve cependant, en traces, dans les roches, parfois dans des concentrations justifiant une exploitation (Miquel, 2001).

L'Hg est un métal de forte densité et de couleur blanc argent. Il est le seul métal liquide à température ambiante (25°C) (Salvarredy, 2008).

Le mercure est un métal dont la dynamique dans l'environnement est conditionnée par trois propriétés fondamentales: physique, par sa volatilité à température ambiante ; chimique, par la stabilité de ses liaisons avec le carbone et le soufre ; et biologique par sa très forte bioconcentration et sa toxicité (Casas, 2005).

Le mercure est un élément présent dans la nature que l'on retrouve dans l'air, l'eau et les sols. Il existe sous différentes formes: mercure élémentaire (ou métallique), inorganique (auquel on peut être exposé dans le cadre d'une activité professionnelle) ou organique (méthyle mercure par exemple, auquel on peut être

exposé par l'alimentation), avec un niveau de toxicité et des effets variables sur les systèmes nerveux, digestif et immunitaire, et sur les poumons, les reins, la peau et les yeux (Roesijadi, 1994).

Il libéré dans l'environnement par l'activité volcanique, l'érosion des roches et à la suite des activités humaines. Ces dernières sont la cause principale des rejets de mercure, qui proviennent notamment des centrales électriques au charbon, de l'utilisation domestique de ce minerai pour le chauffage et la cuisine, des processus industriels, des incinérateurs de déchets et de l'extraction minière du mercure, de l'or et d'autres métaux (Casas, 2005).

le mercure reste malheureusement en tête dans des utilisations d'amalgames dentaires (dit « plombages » [qui ne contiennent en réalité pas du tout de plomb] ou encore nommé trompeusement « Amalgame d'Argent » Amalgames dentaires = mercure 50% + argent 30% + cuivre + étain + etc..

On utilise le Hg et ses composés pour la fabrication de thermomètres, de tubes fluorescents et de lampes à rayonnement ultraviolet et comme fongicide dans les peintures et les eaux de traitement industriel (Roesijadi, 1994).

**Tableau 4 :** Propriétés physico-chimiques du mercure.

Nom	Mercure
Symbole	Hg
Numéro atomique	80
Masse molaire atomique	200,59 g/mol
T° de fusion	-39°C

### 6.3.2 Absorption et toxicité

Il peut facilement passer à l'état gazeux ou de vapeur ce qui lui permet de pénétrer dans l'organisme préférentiellement par les voies respiratoires (biodisponibilité pulmonaire de l'ordre de 80%) causant des dommages aux poumons: bronchites chroniques et bronchiolites avec pneumonies de type interstitiel (WHO, 1976).

L'exposition au mercure, même à de petites quantités, peut causer de graves problèmes de santé et constitue une menace pour le développement de l'enfant in utero et à un âge précoce.

Le mercure peut avoir des effets toxiques sur les systèmes nerveux, digestif et immunitaire, et sur les reins, la peau et les yeux.

Les fœtus sont particulièrement sensibles aux incidences du mercure sur le développement. L'exposition au méthyle mercure in utero peut résulter de la consommation par la mère de poissons ou de crustacés. Elle est susceptible d'avoir des effets préjudiciables sur le cerveau et le système nerveux en développement de l'enfant. Le principal effet sanitaire du méthyle mercure est l'apparition de troubles du développement neurologique. Ainsi, la cognition, la mémoire, l'attention, le langage, la motricité fine et la vision dans l'espace peuvent être affectés chez des enfants ayant été exposés au méthyle mercure avant la naissance (Casas, 2005).

Le mercure est le seul élément métallique dont l'introduction dans le milieu marin par l'activité humaine ait entraîné la mort d'hommes. Quarante-huit décès, sept cents paralysés et plusieurs milliers d'individus atteints ont en effet été recensés suite au déversement de cent cinquante tonnes de mercure dans la baie de Minamata, au sud du Japon, au cours des années cinquante et soixante. Cette maladie tragique fut le résultat de l'ingestion, par des pêcheurs et leur famille, de poissons contaminés par un dérivé neurotoxique du mercure, le méthylmercure (Marchand *et al*, 1997).

Cependant, l'Hg est très peu toxique par ingestion car son absorption orale est très faible. Néanmoins, un grand nombre de composés d'Hg ont été aussi utilisés comme pesticides pour le traitement des graines, notamment celles des céréales dans différents pays. Régulièrement des accidents liés à l'utilisation de ces graines dans la fabrication de farine et de pain ont entraîné l'intoxication de populations en Irak en 1956, en 1960 et en 1972 et l'empoisonnement de plusieurs milliers de personnes ainsi que la mort de centaines. Des intoxications humaines similaires ont été enregistrées en 1961 au Pakistan et de 1963 à 1965 au Guatemala (Bakir, 1973 *in* El idrissi, 2009).

L'intoxication au mercure se révèle très sérieuse de part son caractère ravageur sur le système nerveux et le cerveau. La dose toxique (OMS) est estimée à 0,4 mg. La dose létale (mortelle) se situe entre 150 et 300 mg et la dose hebdomadaire tolérable temporairement est de 0,3 mg/personne dont moins de 0,2 mg sous forme de méthylmercure.

La dose admissible dans l'eau potable ne doit pas excéder 1 µg/L (OMS) (2).

## **7. Méthode d'analyse des métaux lourds**

La méthode qui a été utilisée pour le dosage des métaux lourds est la spectrophotométrie d'absorption atomique.

### **7.1. La spectrophotométrie d'absorption atomique**

La spectrophotométrie d'absorption atomique est essentiellement une méthode d'analyse quantitative qui convient beaucoup mieux à la détermination des traces qu'à celle des composants majeurs, il permet le dosage de nombreux matériaux inorganiques (roches et minerais, métaux et alliages...). Elle est donc très adaptée à l'étude du matériel archéologique. Elle permet aussi de quantifier les éléments métalliques en solutions (Gestion des déchets) (3).

### **7.2. Domaine d'application de la spectrophotométrie d'absorption atomique**

Ce sont tous les domaines où se pratiquent des dosages des métaux, ce qui est très vaste. Selon le chercheur PERE (1999), nous retiendrons plus particulièrement les domaines suivants :

- Analyses biologiques, exemple dosage du calcium et de magnésium.
- Analyses des eaux ; eaux de boisson, de source, d'infiltration, de rivière, de mer, industrielles ou usées sont couramment analysées par absorption atomique dans le cadre de contrôles divers. Ainsi on peut détecter des pollutions, ou bien quantifier la dureté (la dureté est une grandeur qui reflète la teneur globale d'une eau en calcium et magnésium).
- Industries agro- alimentaires : Le dosage des traces de métaux dans les produits alimentaires est important, tant sur le plan nutritionnel que toxicologique.
- Agriculture : Les éléments peuvent être dosés dans des extraits de sol, de plantes, dans les engrais... etc (Boumehres, 2010).

### **7.3. Eléments constitutifs des spectrophotomètres d'absorption atomique**

Tout instrument d'absorption atomique contient les mêmes éléments de base (figure ci-dessous):

- Une source de lumière qui produit une radiation caractéristique de l'élément à doser à la longueur d'onde spécifique.
- Un système pour moduler le rayonnement provenant de la source.

- Un atomiseur dont le rôle est de produire un nuage d'atomes à l'état fondamental.
- Un monochromateur à réseau isole ensuite la raie de résonance à partir du rayonnement en général complexe qui lui parvient de la vapeur atomique.
- Un récepteur photométrique transforme le flux non absorbé par la vapeur atomique en un signal électrique traité électriquement afin d'afficher l'absorbance (Boumehres, 2010).



**Figure 3** : spectrophotométrie d'absorption atomique (4).

#### **7.4. Principe de la spectrophotométrie d'absorption atomique**

Le principe de la méthode consiste d'abord en une minéralisation à l'acide de l'échantillon puis un dosage par spectrophotométrie d'absorption atomique.

Pour faire des analyses de concentration en mercure, plomb et cadmium chez diverses produits aquatiques comme les poissons et les crustacés les chercheurs utilisés cette méthode :

Immédiatement après les prises, les échantillons sélectionnés, tous de taille adulte ou commerciale, furent mesurés, pesés, placés dans des sacs en plastique propres et congelés à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Au laboratoire, les organismes à peine décongelés furent disséqués à l'aide d'un scalpel muni d'une lame d'acier à forte teneur en carbone.

Les échantillons furent prélevés, pesés, homogénéisés directement dans des sacs en téflon à l'aide d'un broyeur de laboratoire, tous les échantillons biologiques ont été lyophilisés afin d'éliminer l'eau et arrêter toute transformation chimique.

Les lyophilisats ont été broyés et minéralisés par ajout d'acide nitrique et par four à micro-onde.

Les métaux furent dosés par spectrophotométrie d'absorption atomique, selon la méthode des vapeurs froides pour le mercure et à l'aide d'un four au graphite pour le plomb et le cadmium (Gobeil, 1997; Ennouri *et al*, 2008).

Enfin, les intoxications les plus importantes et les plus graves ont souvent été liées à la consommation de poisson. C'est en particulier le cas de Minamata, au Japon. La plupart des études épidémiologiques sur les effets du mercure sur la santé partent d'analyses de populations grosses consommatrices de poissons : Japon, pays Inuit (Canada), îles Féroé (Islande), Seychelles...etc.

Ces différents éléments expliquent que les autorités sanitaires suivent avec attention les concentrations en métaux lourds des poissons et établissent des limites maximales de consommation. En France, ces seuils sont aujourd'hui fixés comme indiqué dans le tableau ci dessous. (Une proposition de directive adoptée fin décembre 2000 sera toutefois prochainement présentée au Conseil avec un barème plus restrictif) (Miquel, 2001).

**Tableau 5:** Limite maximale de métaux lourds dans les poissons avant consommation (mg/kg).

	<b>Plomb</b>	<b>cadmium</b>	<b>mercure</b>
Poissons	0,2	0,05	0,5

On observera que, contrairement à d'autres pays, l'Union européenne a adopté une limite différenciée selon les espèces, les grandes espèces carnivores bénéficiant de seuils moins stricts que les autres espèces. Les principales exceptions concernent le thon, la sole, le carrelet (plie), la raie, l'espadon... qui sont en général des poissons en bout de chaîne alimentaire et souvent des poissons gras. Des campagnes de mesures des poissons issus de pêches côtières françaises permettent de vérifier le respect de ces normes (Miquel, 2001).

**Tableau 6:** Niveau de contamination par le mercure.

<b>Poisson</b>	<b>Teneur en Hg (mg/kg)</b>	<b>Teneur en Me Hg (mg/kg)</b>
Thon	0,74	0,5
Roussette	0,65	0,58
Congre	0,38	0,33
Bar	0,27	0,21
Maquereau	0,11	0,09

## 8. Conclusion

Du fait de leurs Propriétés physiques intéressantes, les métaux sont très largement utilisés par l'homme. Cette utilisation modifie très significativement leur répartition et les formes chimiques sous lesquels ils sont présents dans les différents compartiments de l'environnement.

Trois contaminants métalliques, toxiques vis-à-vis de l'homme. Le plomb, le cadmium et le mercure, sont considérés sous l'angle de leur cheminement dans l'environnement, en particulier celui de l'accès au consommateur par les aliments d'origine aquatique.

En plus des réglementations visant au contrôle des produits de la pêche destinés à la consommation et des mesures visant à limiter les disséminations, il existe en France un système de surveillance continue des niveaux de contamination du littoral.

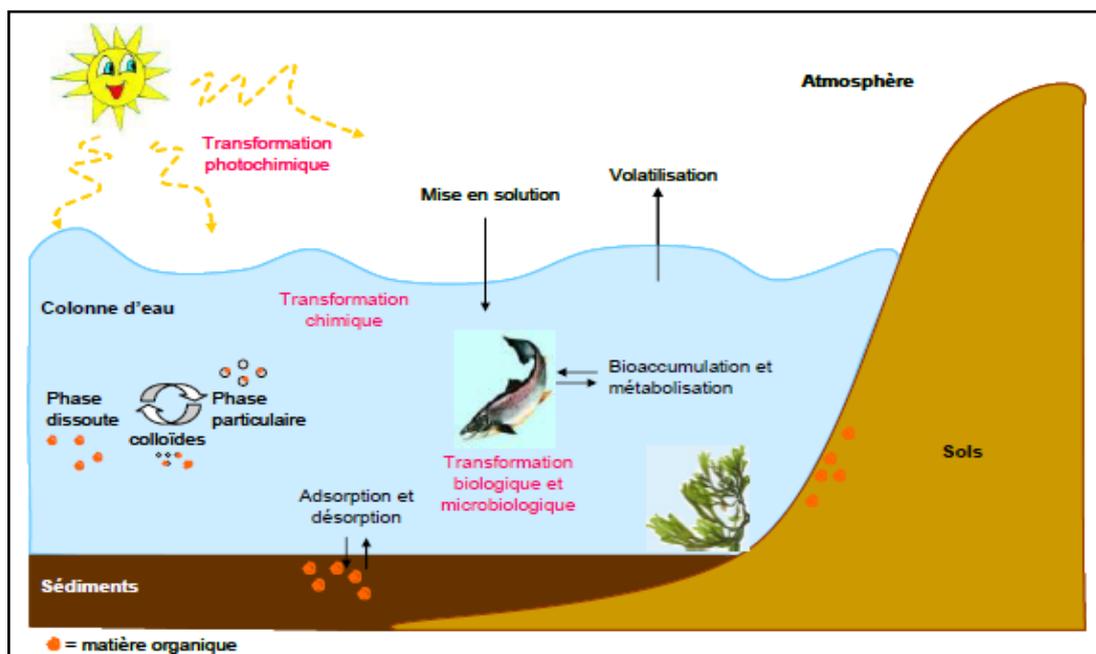
**CHAPITRE 2**

**MICROPOLLUANTS**  
**ORGANIQUES\_HYDROCARBURES**  
**AROMATIQUES**

Les contaminants organiques sont des composés qui contiennent du carbone, par opposition aux contaminants inorganiques, qui ne contiennent pas de carbone, se sont des substances introduites par l'homme dans l'environnement et qui provoquent des effets néfastes pour celui-ci (faune, flore...) voire aussi pour la santé humaine (Munaron, 2004).

L'ensemble des micropolluants organiques hydrophobes (POH) regroupe un très grand nombre de molécules. Parmi les (POH) se trouvent certains groupes de molécules bien connus pour leur toxicité comme les Polychlorobiphényles (PCB), les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), les pesticides organochlorés (DDT, atrazine), les dioxines... Cet ensemble, bien que très divers, possède des caractéristiques chimiques communes (hydrophobie, solubilité, persistance). Ces propriétés jouent un rôle fondamental pour leur devenir dans l'environnement et leur confèrent des « traits de comportement » similaires. Elles déterminent leur spéciation dans le milieu et leur capacité à être accumulés par les organismes aquatiques dans le milieu marins.

Les écosystèmes aquatiques sont un récepteur privilégié des micropolluants. Ils contiennent aussi des matières organiques (MO), d'origine naturelle ou anthropique. Les interactions entre les contaminants et les MO (figure 4) déterminent en grande partie la biodisponibilité des polluants dans le milieu aquatique (Gourlay, 2004).



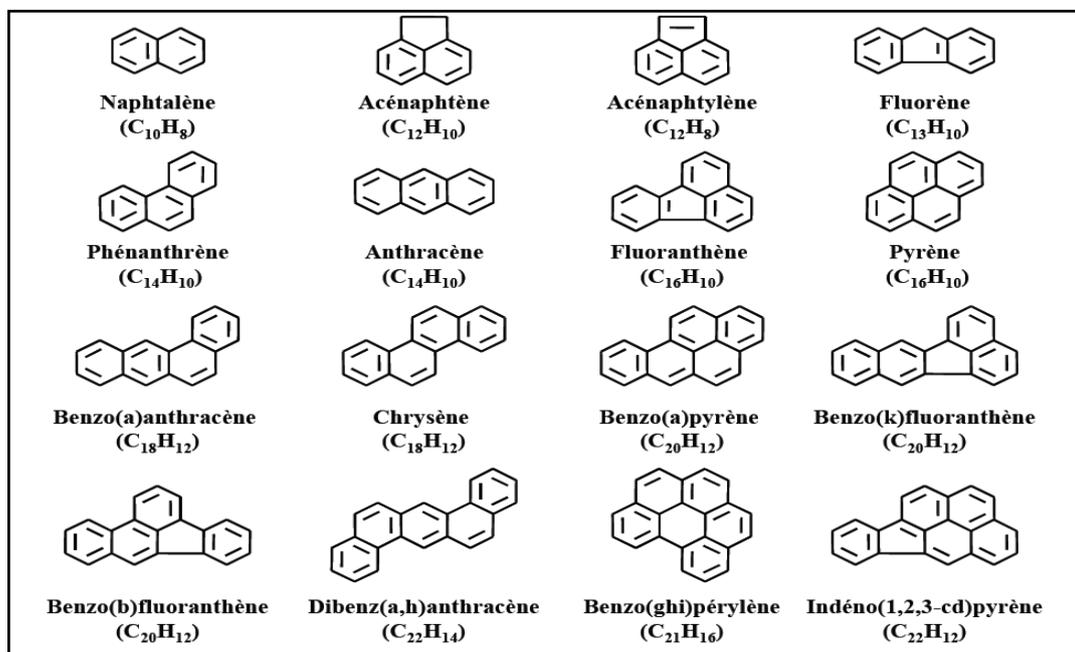
**Figure 4 :** Présence de la matière organique et interactions entre les différents compartiments au sein du milieu aquatique (De perre, 2009).

## 1. Définition

Les HAP constituent une vaste classe des (POH) étudiée et recherchée dans l'environnement depuis les années 70 (Gourlay, 2004). Ils posent un grave problème environnemental à cause de leurs propriétés toxiques, cancérigènes (Bidaud, 1998).

Le phénomène de pollution par les hydrocarbures aromatiques polycycliques a une importance de plus en plus grande sur le plan environnemental, sanitaire et économique. Cette pollution peut avoir un impact soit direct ou indirect, sur la santé humaine et l'équilibre des écosystèmes aussi bien marins que continentaux (Dahnoun, 2013).

Les HAP sont des composés organiques constitués de carbone et d'hydrogène possédant 2 ou plusieurs cycles benzéniques fusionnés et sont générés lors de la combustion incomplète de la matière organique (charbon, pétrole, bois etc....) (Tarantini, 2010). Le nombre théorique des HAP susceptibles d'être rencontrés est supérieur à 1000. Ils sont en général présents dans l'environnement sous forme de mélanges (Costes *et al*, 1997). Seize HAP présentés dans la (figure 5) sont considérés comme prioritaires en raison d'effets préoccupants sur la santé par l'United States environmental Protection Agency (USEPA, 1984 *in* Tarantini, 2010).



**Figure 5** : Liste des HAP généralement surveillé dans l'environnement selon les recommandations de l'US EPA (polluants prioritaires) (Temime, 2002).

## 2. Propriétés chimiques et identification

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des composés organiques constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène dont la structure des molécules comprend au moins deux noyaux aromatiques condensés. La famille des HAP comprend de nombreuses substances qui diffèrent entre elles par le nombre et la position de cycles benzéniques (Neff, 1979 *in* Kouzayha, 2011). Leur formule chimique est de type  $C_nH_m$  (Pimsee, 2014).

Les HAP sont apolaires et hydrophobes. Leur caractère hydrophobe augmente avec le nombre de cycles aromatiques, alors que leur solubilité et leur volatilité diminuent (De perre 2009 ; Kouzahya, 2011).

- Ils peuvent être distribués partout dans l'environnement et transportés loin de leur source d'émission.
- Ils s'adsorbent facilement sur des particules.
- Ils sont volatils, photodégradables et se dégradent chimiquement (Daouk, 2011).
- Ils sont bio-métabolisables dans différents organismes, dont les poissons. Cette métabolisation dépend de leur structure, de la température, du pH et des organismes présents dans le milieu (Vignet, 2014).
- Ils sont solide souvent colorés et cristallins à température ambiante (Albinet, 2006).
- Les métabolites produits peuvent être plus toxiques que la molécule initiale.
- Un certain nombre d'entre eux ont des effets toxiques, mutagènes et cancérigènes sur les organismes (Daouk, 2011).
- Les HAP ont un point de fusion supérieur à 100°C et un point d'ébullition élevé (supérieur à 300°C) (Gabet, 2004).

Leurs propriétés physico-chimiques varient avec leur masse molaire et leur structure (Albinet, 2006). Ils sont classés en trois groupes en fonction du nombre de cycles benzène qui le composent et sont comme suit :

- Les HAP légers portent 2 à 3 cycles, leur poids moléculaire est faible et va de 152 à 178 g/mole.
- Les HAP intermédiaires portent 4 cycles, leur poids moléculaire est moyen et est de l'ordre de 202 g/mole.

- Les HAP lourds portent 4 et plus, leur poids moléculaire est élevé et va de 228 à 278 g/mole (INERIS, 2005).

Les propriétés physico-chimiques des 16 HAP prioritaires définis par l'US-EPA sont mentionnées dans le tableau ci-dessous (tableau 7).

**Tableau 7 :** Propriétés physico-chimiques des 16 HAP prioritaires définis par l'US-EPA.

Nom	Masse molaire (g/mole)	Solubilité dans l'eau mg/l à 25°C	Tension de vapeur Pa à 25°C	Point de fusion (°C)	Point Ebullition (°C)
Naphtalène	128,2	32	10,5	80	218
Acénaphthylène	152,2	3.93	0,89	96	279
Acénaphthène	154,2	3.7	0,356	92	279
Fluorène	166,2	1.98	0.09	216	215
Anthracène	178,2	1.29	$3,6 \cdot 10^{-4}$	116	340
Phénanthrène	178,2	1.2	0,091	101	340
Fluoranthène	202,3	0.26	$1,2 \cdot 10^{-3}$	111	375
Pyrène	202,3	0.13	$1,2 \cdot 10^{-2}$	158	404
Benzo(a)anthracène	228,3	0.0057	$2,6 \cdot 10^{-5}$	255	400
Chrysène	228,3	0.002	$8,4 \cdot 10^{-5}$	149	448
Benzo(a)pyrène	252,3	0.0038	$7,3 \cdot 10^{-7}$	217	475
Benzo(b)fluoranthène	252,3	0.012	$6,7 \cdot 10^{-5}$	179	481
Dibenzo(ah)anthracène	278,3	0.0005	$1,3 \cdot 10^{-8}$	262	524
Benzo(k)fluoranthène	252,3	0.0008	$1,3 \cdot 10^{-8}$	167	480
Benzo(ghi)pérylène	276,3	0.00026	$1,3 \cdot 10^{-8}$	222	550
Indeno(1,2,3- cd)pyrène	276,3	0.0062	$1,3 \cdot 10^{-8}$	163	533

### 3. Sources des HAP

Dans l'environnement il existe des centaines de milliers de contaminants organiques. Ils sont issus de nombreuses sources : industrielles, agricoles, domestiques et naturelles, qui peuvent être directes ou indirectes, ponctuelles ou diffuses. Leur présence dans l'environnement est initialement conditionnée par leur origine (De perre, 2009).

Les HAP ont été détectés dans tous les compartiments environnementaux (eaux, air, sols et sédiments) (Gabet, 2004 ; De perre, 2009) sous forme de mélanges, plus ou moins complexes (Neff, 1979 *in* Kanan, 2011). Ils sont émis quotidiennement dans notre proche environnement via des phénomènes naturels et via les activités anthropiques (figure 6), ces dernières ayant été estimées comme sources principales (Crespo, 2009).

Ces pollutions en HAP présentent une forte hétérogénéité liée aux différentes d'activités humaines et peuvent être locales, diffuses, chroniques, accidentelles ou résiduelles. Cette variabilité des sources rend très complexe la compréhension du cycle biogéochimique des HAP dans l'environnement (Botta *et al*, 2014).

La majeure source des HAP est anthropique (origine pyrogénique), elle provient de la combustion incomplète des matières organiques (Kouzahya, 2011) comme :

- Industrie chimique, sidérurgie, incendies, moteurs à combustion, incinérateurs de déchets urbains...
- Pertes lors du transport et de la transformation des carburants fossiles, marées noires... (HAP les plus abondants dans l'environnement, non ramifiés).

Ils peuvent aussi être présents dans l'environnement de façon naturelle (origine pétrogénique) dans les combustibles fossiles tels que pétrole, gaz, charbon comme :

- Biosynthèse par des organismes vivants.
- Présents dans les pétroles bruts (Munaron, 2004).

Le milieu aquatique est pollué par la pluie, le ruissellement et le lessivage des routes comme les HAP sont des molécules hydrophobes, ils ont tendance à se fixer sur les particules en suspension dans l'eau et se retrouve ainsi dans les sédiments et contaminent les organismes marins (Gourlay, 2004). L'apport des HAP dans le compartiment aquatique est à la fois :

- **chronique** de par l'existence de nombreuses sources diffuses d'origine naturelle et anthropique, et ce pour les HAP pyrolytiques, pétrogéniques et diagénétiques.
- **accidentel** avec des feux de forêt ou des éruptions volcaniques pour les HAP pyrolytiques, et des accidents de production et d'exploitation du pétrole (marée noire, rupture d'oléoducs...) pour les HAP pétrogéniques (Le Bihanic, 2013).

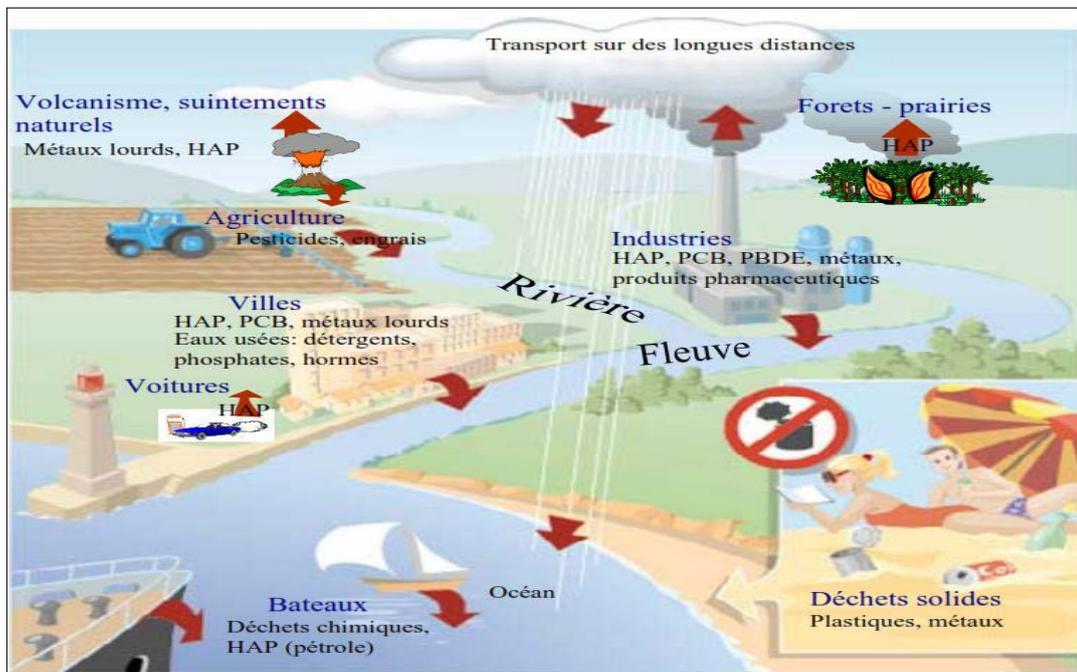


Figure 6 : sources des HAP dans l'environnement.

#### 4. Mécanisme de formation des HAP

Les HAP sont principalement formés lors de la combustion incomplète de matières organiques et lors de la lente maturation de la matière organique accumulée dans les milieux sédimentaires profonds. Ces deux origines présentent des mécanismes de formation distincts qui se réalisent avec différentes cinétiques, et induisent des distributions moléculaires variables (liées à la stabilité) (Crespo, 2009).

Ces deux principales origines des HAP peuvent être ainsi différenciées :

- Les HAP d'origine pyrolytiques sont générés lors de la combustion incomplète de la matière organique à haute température ( $> 500^{\circ}\text{C}$ ) (Kouzahya, 2011); ces processus se réalisant sous contrôle cinétique, les HAP nécessitant de fortes énergies de formation sont formés plus rapidement et sont prédominants.
- La formation lors de la diagénèse puis de catagenèse de la matière organique soumise au gradient géothermique des milieux sédimentaires profonds ; à basse

température (<200 °C) et haute pression, seuls les HAP les plus stables sont formés sous contrôle thermodynamique. Une part minoritaire des HAP est également issue de la diagénèse précoce (Crespo, 2009).

On distingue la formation de trois catégories de HAP en fonction de leur origine:

- les HAP pyrolytiques, issus de combustions incomplètes de la matière organique.
- les HAP pétrogéniques, issus du pétrole et de ses dérivés (le fioul, l'huile et le charbon).
- les HAP diagéniques, issus de la décomposition de la matière organique par des organismes vivants (Daouk, 2011).

## 5. Potentiel toxique

Les HAP présentent un risque toxicologique important même à de faibles concentrations, notamment par leurs propriétés cancérigènes et/ou mutagènes. Du fait de leur forte hydrophobicité liée à la présence de noyaux aromatiques, ces molécules s'adsorbent fortement aux matières particulaires rendant leur élimination et/ou leur transformation par réaction chimique difficile. De plus, les HAP sont peu biodégradables car faiblement biodisponibles, ce qui les rend persistants dans l'environnement. Ainsi leur sort dans l'environnement est devenu un sujet préoccupant (Gabet, 2004).

Les principaux effets toxiques des HAP sont la cancérogénicité, la génotoxicité, tératogénécité (tableau 8), ainsi qu'une immunotoxicité chez le biota. De plus, certains HAP sont aussi suspectés de modifier l'activité du système endocrinien (Kouzahya, 2011).

Ils pénètrent dans les organismes via la voie respiratoire, la voie cutanée et la voie alimentaire (Vignet, 2015). Ils peuvent être à l'origine d'une toxicité aiguë et surtout d'une toxicité chronique.

- Toxicité aiguë : La toxicité aiguë est évaluée par une brève exposition d'un organisme à une substance chimique à forte dose.
- Toxicité chronique : La toxicité chronique est évaluée par une exposition faible d'un organisme à une substance chimique sur une longue durée (Barhoumi, 2014).

Les HAP lipophiles, s'accumule dans les tissus lipidiques des êtres vivants. La plupart des organismes ont la capacité de métaboliser les HAP par action de l'enzyme cytochrome P450. La remobilisation des HAP métabolisés permet leur excrétion de l'organisme mais les rendent également toxiques. Les HAP devient toxiques lorsque les métabolites hydrophiles se fixent sur les structures cellulaires (protéines, ADN). La modification de l'ADN induit alors des effets cancérigènes et mutagènes (Abarnou *et al*, 2000).

**Tableau 8** : Génotoxicité et cancérogénicité des 16 HAP prioritaires définis par l'US-EPA.

Nom	Nombre de noyaux	Classement UE	Classement IARC	Classement US EPA	SCF
Naphtalène	2	Nc	2B	C	PNG
Acénaphtylène	3	Nc		D	DI
Acénaphthène	3	Nc			DI
Fluorène	3	Nc	3	D	DI
Anthracène	3	Nc	3	D	L
Phénanthrène	3	Nc	3	D	E
Fluoranthène	4	Nc	3	D	E
Pyrène	4	Nc	3	D	NG
Benzo(a)anthracène	4	2	2A	B2	G
Chrysène	4	2	3	B2	G
Benzo(a)pyrène	5	2	2A	B2	G
Benzo(b)fluoranthène	5	2	2B	B2	G
Dibenzo(ah)anthracène	5	2	2A	B2	G
Benzo(k)fluoranthène	5	Nc	2B	B2	G
Benzo(ghi)pérylène	6	Nc	3	D	G
Indeno(1,2,3- cd)pyrène	6	Nc	2B	B2	G

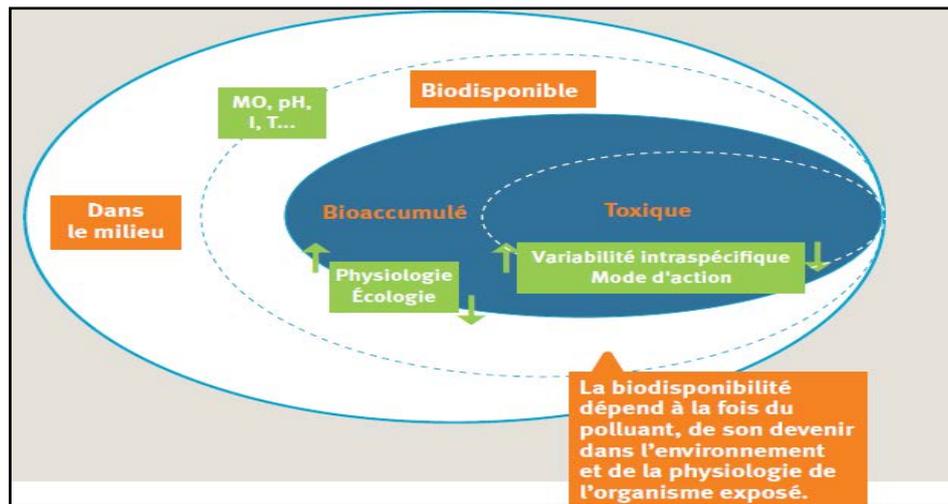
**UE** (Union européenne); **Nc**: Non cancérigène; **2**: Substances devant être assimilées à des substances mutagènes pour l'Homme; **IARC** (International Agency for Research on Cancer); **2A**: Probablement cancérigène pour l'Homme; **2B**: Possiblement cancérigène pour l'Homme; **3**: ne peut être classé cancérigène; **US EPA** (United States Environmental Protection Agency); **B2**: Cancérigène probable pour l'Homme; **C**: Cancérigène possible pour l'Homme; **D**: Inclassable; **SCF** (Scientific Committee on food); **PNG**: Probablement non génotoxique; **DI**: base de donnée inadéquate pour l'évaluation; **L**: preuve limitée; **E**: suspecté; **NG**: Non génotoxique; **G**: Génotoxique.

## 6. Biodisponibilité des HAP dans l'environnement

Les HAP sont des composés ubiquistes présents dans tous les compartiments environnementaux : atmosphère, colonne d'eau, biota, sédiment, sols. Cette large distribution est due à leur grande stabilité et multiplicité de sources (Botta *et al*, 2014; Gourlay, 2004). Leur distribution dans l'environnement résulte de multiples processus abiotiques et biotiques, contrôlés par leurs propriétés physico-chimiques : volatilisation, transport à longue distance, dépôt atmosphérique, adsorption sur les particules, sédimentation, bioaccumulation, activités microbiennes, oxydation chimique et photooxydation (Crespo, 2009).

Les HAP d'origine pyrolytique constituent la majeure partie des HAP introduits dans l'environnement et sont présents sur une échelle géographique très large (Kouzahya, 2011).

La notion de biodisponibilité se situe à l'interface entre le milieu et l'organisme (figure 7). Elle dépend à la fois du polluant, de son devenir dans l'environnement et de la physiologie de l'organisme exposé (Gourlay, 2004).



**Figure 7 :** Relation schématique entre la présence, la biodisponibilité d'un contaminant dans l'environnement, sa bioaccumulation et sa toxicité dans un organisme biologique (Gourlay, 2004).

Le devenir et le comportement des HAP dans les systèmes aquatiques sont déterminés par un certain nombre de processus physiques, chimiques et biologiques. Tandis que certains de ces processus, comme la photooxydation, l'hydrolyse, la biotransformation, la biodégradation et la minéralisation, transforment les HAP en d'autres substances, d'autres processus physiques, comme l'adsorption, la désorption, la solubilisation, la volatilisation, la remise en suspension et la bioaccumulation sont responsables du recyclage de ces substances dans l'ensemble du milieu aquatique (CCME, 1999).

Ces mécanismes mènent rarement à une dégradation totale, mais le plus souvent à des produits de dégradation qui peuvent être plus toxique ou plus persistants que la molécule initiale. Pour les contaminants qui se dégradent peu, une préoccupation supplémentaire est due à leur persistance puisqu'ils peuvent être transportés sur de longues distances et ne sont pas dégradés lors de leur ingestion par les organismes vivants et peuvent s'accumuler tout au long de la chaîne alimentaire (bioaccumulation et bioamplification) (De perre, 2009).

Les modes d'accumulation des polluants organiques dans les organismes aquatiques sont nombreux :

- **Respiration** : Beaucoup d'organismes aquatiques respirent par un mécanisme de filtration de l'eau à travers les branchies. L'oxygène dissout ainsi retenu. Les molécules inférieures à 600D peuvent aussi traverser par diffusion la membrane

des branchies. Les polluants organiques dissous dans l'eau peuvent donc pénétrer dans l'organisme ainsi et être ensuite absorbés sur les tissus.

- **Ingestion** : La plupart des organismes aquatiques se nourrissent par ingestion de matières organiques en suspension dans l'eau, ou dans les sédiments.
- **Bioamplification** : les polluants persistants qui ne sont pas métabolisés sont stockés dans les réserves lipidiques des animaux et sont transmis le long de la chaîne alimentaire, la concentration dans les organismes augmente donc avec leur niveau trophique (Gourlay, 2004)

## 7. Voies de contamination par les HAP

Les rejets d'hydrocarbures pétroliers dans les eaux sont également une source de pollution importante, et sont responsables de la contamination des organismes aquatiques ou d'eau douce.

Pour un non fumeur, la principale voie d'exposition aux HAP est l'alimentation en particulier l'ingestion de produits contaminés par bioaccumulation (mollusques, poissons...) ou par dépôt atmosphérique (végétaux) ainsi que la consommation de viandes et poissons fumés ou grillés sur le feu, de graisses et huiles végétales.

Les produits de la mer constituent la principale source d'absorption quotidienne d'HAP (tarantini, 2009).

Le poisson à l'état frais est peu contaminé ; mais son niveau de contamination peut être multiplié par environ 15 après son exposition à des procédés de conservation tels que la fumaison. Les mollusques bivalves, même à l'état cru, atteignent des niveaux de contaminations identiques à ceux du poisson conservé (Chahin, 2010).

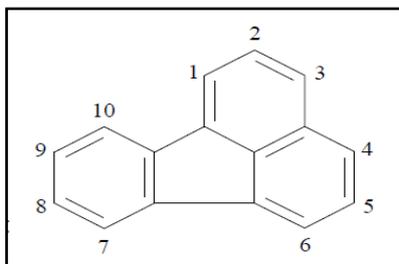
## 8. HAP d'intérêt

Le Benzo(a)pyrène (BaP), connu pour son potentiel génotoxique, mutagène et cancérigène, est utilisé comme contaminant modèle. Le Fluo présente un intérêt particulier car c'est un des HAP les plus abondants dans le milieu marin et dans l'alimentation humaine (Wessel, 2010).

### 8.1. Benzo(a)pyrène

#### 8.1.1. Définition

Le benzopyrène ou Benzo(a)pyrène est un composé chimique de formule,  $C_{20}H_{12}$ . Il est l'un des plus connus des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). C'est un polluant persistant préoccupant ; strictement formé de cinq cycles (figure 8) fusionnés (INERIS, 2007).



**Figure 8 :** Formule semi-développée du Benzo(a)pyrène.

### 8.1.2. Propriétés physico-chimiques

À température ambiante ordinaire, le B(a)P se présente sous forme de cristaux jaunes inodores. Il est très peu soluble dans l'eau mais soluble dans de nombreux solvants organiques (aromatiques, chlorés...). Le B(a)P est une substance stable jusqu'à des températures très élevées. En solution, il s'oxyde sous l'influence de la lumière, de l'air et de la chaleur (INERIS, 2007). Les principales caractéristiques du Benzo(a)pyrène sont caractérisées dans le (tableau 9).

**Tableau 9:** Propriétés physico-chimiques du **Benzo(a)pyrène** .

Formule Chimique	$C_{20}H_{12}$
Numéro CAS	50-32-8
Etat Physique	Solide
Masse molaire	252,32
Point de fusion	175 °C
Point d'ébullition	475 °C
Densité	1,351

### 8.1.3. Principales sources d'exposition

Le benzo(a)pyrène est présent dans les combustibles fossiles. Il est également formé lors de combustions incomplètes puis rejet dans l'atmosphère où il est présent majoritairement dans la phase particulaire du fait de sa tension de vapeur extrêmement faible. Dans l'atmosphère, la phase vapeur dépasse rarement 10 % de la concentration totale en benzo(a)pyrène.

Les sources naturelles d'émission sont les éruptions volcaniques et les feux de forêts. Le benzo(a)pyrène est également synthétisé par des plantes, des bactéries et des algues (INERIS, 2006).

Sa présence dans l'environnement est d'autre part d'origine anthropique: raffinage du pétrole, du schiste, utilisation du goudron, du charbon, du coke, du kérosène, sources d'énergie et de chaleur, revêtements routiers, fumée de cigarette, échappement des machines. moteur thermique, huiles moteur, carburants, aliments fumés ou grillés au charbon de bois, huiles, graisses, margarines, etc...(5)

### 8.1.4. Devenir dans l'organisme

Le B(a)P est absorbé par voie orale, pulmonaire ou cutanée. Il est distribué largement dans l'organisme et métabolisé en de nombreux métabolites. L'excrétion est majoritairement par voie digestive et plus faiblement rénale. C'est un agent mutagène très cancérigène.

Concernant les études chez l'homme :

- Par voie digestive, le benzo(a)pyrène est absorbé rapidement. Chez le rat, moins de 20 % de la dose administrée par voie orale sont retrouvés dans la lymphe. Ce faible taux mesuré dans la lymphe pourrait être lié soit à une absorption incomplète, soit à un temps de passage court dans la circulation.
- Par inhalation, l'absorption est rapide, mais dépend de la forme sous laquelle le benzo(a)pyrène est administré et plus spécifiquement de la taille des particules sur lesquelles il est adsorbé.
- Par voie cutanée, le taux d'absorption est estimé 3 % après 24 heures sur un modèle in vitro de peau d'origine humaine (INERIS, 2007).

Le benzo(a)pyrène est rapidement distribué dans les différents organes internes en quelques minutes à quelques heures. Du fait de sa forte liposolubilité, le

benzo(a)pyrène est stocké dans les glandes mammaires et les autres organes riches en graisses. Il est ensuite progressivement largué dans la circulation sanguine.

Il existe différentes voies métaboliques du benzo(a)pyrène comprenant de nombreuses réactions.

Le benzo(a)pyrène et ses métabolites sont principalement éliminés dans les fèces (70 à 75 %). Seuls 4 à 12 % sont éliminés par voie urinaire. L'élimination par voie urinaire se fait à 80 % sous la forme de métabolites (métabolites polaires et dérivés phénoliques) et très faiblement sous la forme de benzo(a)pyrène non métabolisé (INERIS, 2007).

### 8.1.5. Effets toxiques du B(a)P

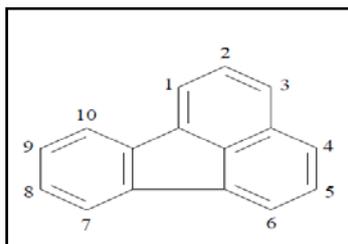
En termes de cancérogénicité, le BaP est classé par l'Union Européenne comme substance cancérogène pour l'homme (catégorie 2). Au niveau mondial, il est identifié comme cancérogène pour l'homme par l'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer (IARC) (groupe 1, IARC, en préparation) et comme probablement cancérogène pour l'homme par l'US EPA (classe B2).

L'Union Européenne a également classé le BaP comme ayant des effets toxiques sur la reproduction (catégorie 2). Le BaP est principalement connu pour ses effets mutagènes, génotoxiques et cancérigènes. Des effets immunotoxiques du BaP ont également été rapportés chez le poisson (Le Bihanic, 2013).

## 8.2. Fluoranthène

### 8.2.1. Définition

Le fluoranthène est un membre de la famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) de formule brute  $C_{16}H_{10}$ . Ces substances résultent de la fusion de cycles benzéniques (figure 9). Le fluoranthène est très toxique pour les organismes aquatiques et très persistants dans l'environnement (INERIS, 2005).



**Figure 9** : Formule semi-développée du Fluoranthène .

### 8.2.2. Propriétés physico-chimiques

**Tableau 10** : Propriétés physico-chimiques du Fluoranthène .

Formule Chimique	$C_{16}H_{10}$
Numéro CAS	206-44-0
Etat Physique	solide cristallisé sous forme d'aiguilles ou de cristaux plats
Masse molaire	202.25
Point de fusion	110.8°C
Point d'ébullition	383.5°C
Densité	1.23

### 8.2.3. Principales sources d'exposition

Les HAP sont synthétisés lors de la formation des énergies fossiles (pétrole, charbon) ou bien lors de la combustion incomplète de matières organiques (chauffage au fuel, feux de forêts, etc.). Leur synthèse lors de la formation des énergies fossiles explique leur présence dans le pétrole, le charbon et leurs produits dérivés (INERIS, 2005).

Le fluoranthène est très persistant dans l'environnement, sa détection sert avant tout d'indicateur à la présence d'autres HAP plus dangereux.

Les concentrations ubiquitaires pour le fluoranthène sont inférieures à 50 ng/L pour les eaux de surface et inférieures à 200 ng/L pour les eaux de pluie.

Les émissions industrielles de fluoranthène ne sont pas dues à la production et à l'utilisation de fluoranthène en tant que tel, mais elles sont dues aux activités au cours desquelles le fluoranthène peut être produit avec les autres HAP (incinération, combustion...). On retrouve donc le fluoranthène dans de très nombreux rejets industriels (INERIS, 2014).

### 8.2.4. Devenir dans l'organisme

Très peu de données sur le devenir dans l'organisme du fluoranthène sont disponibles chez l'homme. En ce qui concerne l'absorption du fluoranthène, chez l'homme seule l'absorption cutanée a été étudiée. Après application de 2 % de goudron sur la peau de volontaires sains, 2 jours consécutifs pendant 8 heures, la

présence de phénanthrène, d'anthracène, de pyrène et de fluoranthène a été détectée dans le sang des sujets étudiés, alors qu'aucune trace de benzo(a)pyrène n'a été mesurée dans le sang de ces individus (Storer *et al.*, 1984 *in* INERIS, 2014). Aucune autre donnée ne traite spécifiquement de l'absorption, de la distribution, du métabolisme et de l'excrétion du fluoranthène chez l'homme (INERIS, 2005).

### 8.2.5. Effet toxique du fluoranthène

En termes de cancérogénicité, le Fluo n'est pas considéré comme cancérogène pour l'homme que ce soit par l'IARC (Groupe 3, IARC, 1987) ou l'US EPA (classe D, US EPA, 1989). Peu d'études ont été réalisées quant à la toxicité du Fluo.

Chez la souris, le Fluo semble induire des effets sur la reproduction et le développement (INERIS, 2005). Lors d'expositions *in vitro* de différents types de cellules humaines, le Fluo induit également un effet immunotoxique (Oostingh *et al.*, 2008 *in* Wessel, 2010).

## 9. Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques

La grande diversité des HAP et le coût des dosages limitent les analyses qui permettraient leur identification courante dans l'environnement. On procède généralement à l'analyse de 16 HAP que l'agence de protection de l'environnement (EPA) des Etats-Unis a classés dans sa liste des polluants prioritaires dans les années 80. On considère que ceux-ci sont représentatifs de l'ensemble des HAP (6).

### 9.1 Procédures de prétraitement d'échantillons

Le protocole du dosage des HAP dans les tissus biologiques se base essentiellement sur plusieurs étapes (Mzoughi *et al.*, 2002) peuvent être nécessaires avant l'analyse proprement dite l'extraction, la purification et la concentration de l'échantillon. Le but de l'ensemble de ces étapes est de disposer d'un échantillon concentré en HAP, isolé le plus possible de sa matrice environnementale. De plus, pour être satisfaisante, la procédure d'analyse doit minimiser ou au moins contrôler les pertes induites par les différentes étapes (Baghdadi, 2012).

### 9.1.1. Extraction

L'étape d'extraction reste le point critique dans une analyse quantitative, car qu'elle que soit la technique utilisée, le rendement n'atteint pas 100% (la directive 96/62/Ce). Elle permet d'isoler les composés à étudier de la matrice de prélèvement (matière biologique) et de les transférer dans un solvant approprié à la technique d'analyse.

Plusieurs techniques sont utilisées pour l'extraction des HAP on cite :

- L'extraction au Soxhlet.
- L'extraction aux ultrasons.
- Désorption thermique.
- L'extraction en fluide supercritique (SFE).
- L'extraction par Micro-ondes (Microwave Assisted Extraction).
- L'extraction ASE (Accelerated Solvent Extractor) ou PFE (Pressurized fluid extraction) (Temime, 2002).

#### 9.1.1.1. Principe de l'extraction au Soxhlet

L'extraction des HAP se fait au Soxhlet, appareil permettant l'extraction d'une phase solide avec un solvant liquide (figure 10). Généralement des solvants non ou faiblement polaires tels que le dichlorométhane, le cyclohexane ou un mélange de solvants de polarités différentes (hexaneacétone par exemple) sont utilisés (Temime, 2002).

Cette méthode présente l'avantage d'être simple d'utilisation et efficace). Toutefois, une extraction nécessite généralement une grande quantité de solvant (100 à 250 ml) et l'extraction des HAP dure entre 6 et 24 heures. De plus, selon le solvant utilisé, des pertes par évaporation des HAP les plus légers peuvent survenir (Shimmo *et al*, 2004).

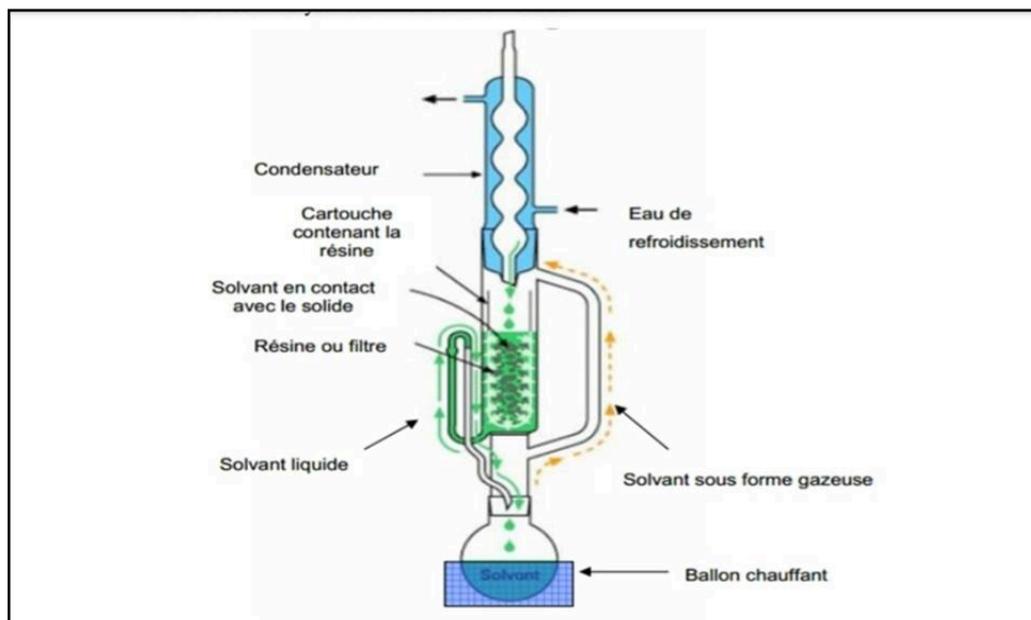


Figure 10 : Schéma d'un extracteur de Soxhlet.

### 9.1.2. Purification

L'étape de purification permet d'éliminer une partie des composés pouvant représenter une source potentielle de bruit de fond lors de l'analyse. Pour les HAP, différents matériaux ont été testés, et les plus efficaces sont les cartouches en silice (Gundel *et al*, 1995 in Baghdadi, 2012). Différents solvants d'éluion, d'affinité croissante pour les HAP vont passer successivement au travers de cette colonne. Les HAP sont typiquement recueillis par du dichlorométhane (Collin, 2000 in Temime, 2002) ou du cyclohexane (Gundel *et al*, 1995 in Baghdadi, 2012). Cette technique de purification est simple et efficace (Marcé *et* Burrull, 2000 in Baghdadi, 2012). Toutefois les cartouches disponibles sur le marché utilisent un support plastique pour contenir la silice, qui peut être une source de contaminations provenant de sa dissolution partielle suite au passage des différents solvants (Gundel *et al*, 1995 in Baghdadi, 2012). Il est donc conseillé de fabriquer soit même ces cartouches, en utilisant comme support un matériau plus inerte comme le verre (Collin, 2000 in Temime, 2002) ou le Téflon (Wang *et al*, 2001 in Baghdadi, 2012).

### 9.1.3. Concentration

En raison des faibles concentrations de HAP dans les échantillons, il est très souvent nécessaire de concentrer l'extrait obtenu. La concentration de l'échantillon

est généralement effectuée en deux étapes : une étape de pré-concentration à l'évaporateur rotatif, et une étape de concentration plus douce à température et à pression atmosphériques sous flux d'azote (Temime, 2002).

## 9.2. Méthodes d'analyse d'HAP

Plusieurs méthodes couplées sont couramment utilisées pour l'analyse quantitative et qualitative des HAP. On peut distinguer :

Des méthodes basées sur la séparation en phase liquide:

- chromatographie en phase liquide couplée à un détecteur UV (**HPLC-UV**).
- chromatographie en phase liquide couplée à un fluorimètre (**HPLC-FLUO**).

Des méthodes basées sur la séparation des HAP en phase gazeuse :

- Chromatographie gazeuse couplée à un détecteur spectromètre de masse (**GC-MS**).
- Chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (**GC-FID**).

D'autres techniques de couplage, telles que :

La spectrométrie de masse (simple ou en tandem) couplée à la chromatographie liquide (**LC/SM**) ou (**LC-MS/MS**) ou la spectrométrie de masse en tandem, couplée à la chromatographie en phase gazeuse, sont apparues plus récemment et peuvent permettre d'améliorer l'identification et la quantification de HAP dans des matrices environnementales très complexes (Roussel, 2002).

### 9.2.1. Principe de la méthode HPLC/UV

Cette méthode d'analyse est une méthode qui sépare efficacement les isomères et d'isoler les HAP de leur dérivés méthyles basée sur l'hydrophobicité des molécules d'un mélange de composés. L'échantillon à analyser est poussé par phase mobile constituée par un solvant (eau, méthanol ou l'acétonitrile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire composée de grains solides très fins Le débit d'éluant est assuré par une pompe à haute pression. Les divers composés de l'échantillon sont séparés l'un de l'autre en raison de leurs diverses affinités à l'égard des deux phases (stationnaire et mobile). A la sortie de la colonne les composés sont détectés à l'aide d'un détecteur UV. Basés sur la mesure de la longueur d'onde des composés (NF ISO 11338, 2004).

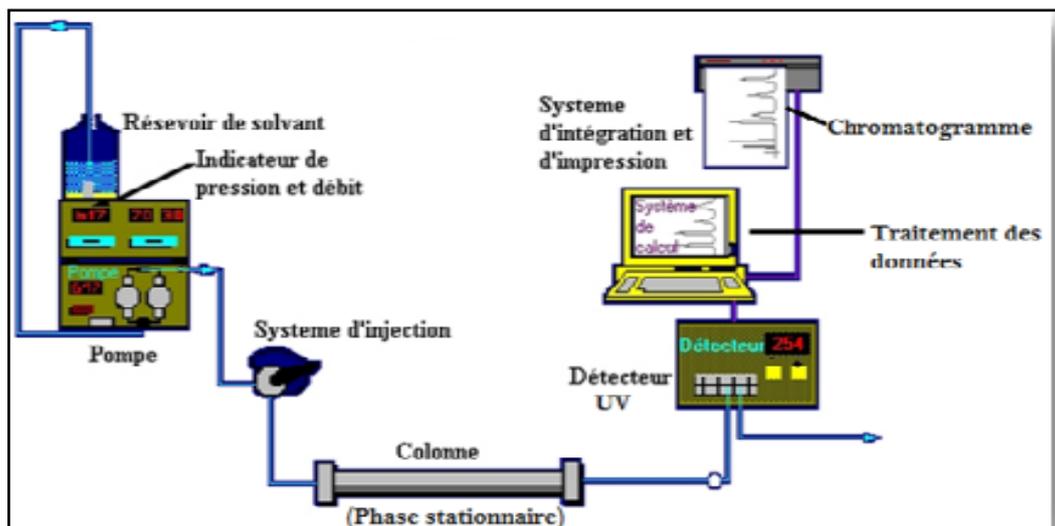


Figure 11 : Représente Schéma principale d'une chaîne HPLC.

### 9.2.2. Appareillages et matériels utilisés

La chromatographie en phase liquide à haute performance comprend également

- Réservoir de solvant : ou on met la phase mobile.
- Un système de pompage: appareil permettant de réaliser un gradient d'élution binaire ou microprocesseur.
- Injecteur : dispositif d'injection automatique d'échantillon.
- Colonne de séparation avec une colonne de garde, remplie de phase  $C_{18}$  : Spécifique pour l'analyse des HAP.
- Un thermostat de colonne : le lieu de la phase stationnaire capable de maintenir une température constante.
- Détecteur : pour détecter et traiter les données après intégration.
- Enregistreur : donne les résultats sous forme de chromatogramme (NF ISO 11338, 2004).

### 9.2.3. Le choix du détecteur UV

Le détecteur est un système traitant et d'émission variables (capable de programmer au moins 6 paires de longueurs d'onde) est peu sensible à la fluctuation de débit et de température et un grand nombre de solvant ont une bonne transparence dans UV.



**Figure 12** : Présente schéma d'un détecteur UV.

#### **9.3.4. Les conditions d'analyse**

Phase stationnaire : silice greffé  $C_{18}$  .

Phase mobile : méthanol; Acétonurile

- Le temps d'analyse : 31 minutes.
- Volume injecté : 20  $\mu$ l.
- Débit 1ml/min.
- Température de la colonne : 25C°.
- La longueur d'onde du détecteur UV : 354nm.

HPLC sous détecteur UV est l'une des méthodes les plus efficaces pour analyser et d'isoler les HAP(NF ISO 11338, 2004).

### **10. Règlementations**

Du fait du caractère toxique des HAP, il est important de légiférer sur les teneurs maximales admissibles pour éviter tout risque environnemental ou humain.

La Commission Européenne, en décembre 2006, a établi le règlement (CE) n° 1881/2006 fixant les teneurs maximales en certains POP dans les denrées alimentaires. Concernant les HAP, seul le benzo(a)pyrène, un HAP à 5 cycles particulièrement toxique, a pu être considéré pour l'établissement de teneurs maximales en HAP dans les denrées alimentaires (Tableau 11), les données concernant les autres HAP étant jugées insuffisantes (EFSA, 2008).

**Tableau 11** : Teneurs maximales en benzo(a)pyrene dans diverses denrées alimentaires (EC regulation n° 1881, 2006).

Denrées alimentaires	Teneurs maximales µg/kg de poids à l'état (frais)
Viandes fumées et produits de viandes fumées	5,0
Chair de poissons fumés et produits de la pêche fumés, à l'exclusion des mollusques bivalves.	5,0
Chair de poissons	2,0
Crustacés et céphalopodes non fumés,	5,0
Mollusques bivalves	10,0

En Europe, les seuils de concentrations en HAP dans l'eau potable sont de 100 ng/L pour la somme de tous les HAP, et de 10 ng/L pour le benzo[a]pyrène (BaP).

L'organisation Mondiale pour la Santé (OMS) définit les limites pour l'eau potable à 5 µg /L pour le Fluoranthène et 0,7 µg/ L pour le Benzo(a)Pyrène (Gourlay, 2004).

A l'heure actuelle, il n'existe pas en Algérie, des réglementations sur les teneurs en HAP.

Dans le cadre de la pollution engendrée par le naufrage du pétrolier Erika en 1999 puis de celui du Prestige fin 2002 (Avis de l'afssa, 2003), l'afssa a recommandé des valeurs guides pour les produits de la mer portant sur 6 HAP (benz(a)anthracène, benzo(b+j)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, dibenz(a,h)anthracène, indéno(1,2,3,-c,d)pyrène) et 16 HAP (acénaphène, acénaphylène, anthracène, benz(a)anthracène, benzo(b+j)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(g,h,i)pérylène, benzo(a)pyrène, chrysène, dibenz(a,h)anthracène, fluoranthène, fluorène, indéno(1,2,3,-c,d)pyrène, naphthalène, phénanthrène, pyrène).

Pour 6 HAP :

- Pour les mollusques bivalves et céphalopodes et les crustacés: 0,2 mg/kg de matière sèche.
- Pour les poissons : 0,02 mg/kg de matière sèche.

Pour 16 HAP :

- Pour les mollusques bivalves et céphalopodes et les crustacés : 0,5 mg/kg de matière sèche.
- pour les poissons : 0,05 mg/kg de matière sèche.

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments mentionnait le fait que ces valeurs guides devaient être considérées comme des valeurs indicatives dans le cas de pollutions accidentelles (Afssa, 2003).

## **11. Conclusion**

Les HAP sont produits par des phénomènes naturels, l'activité industrielle et l'activité urbaine. Ils présentent un danger potentiel pour l'environnement aquatique et les produits de la pêche ainsi que la santé humaine.

Les instances internationales et européennes ont été amenées à classer les HAP comme probablement ou possiblement cancérigènes chez l'homme. Cependant de nombreuses études restent à réaliser pour fixer des valeurs maximales dans les denrées alimentaires par exemple, et déterminer les effets de la bioaccumulation de ces composés.

## **CHAPITRE 3**

# **DERIVES DES ACIDES AMINES\_AMINES BIOGENES**

## 1. Définition et origine

Les amines biogènes sont des amines non volatiles formées principalement par décarboxylation des acides aminés libres ; catalysée par des enzymes exo ou endogènes spécifiques (Bonnin, 2011), ou par amination et transamination des aldéhydes et cétones (Sagot, 2007). Ces substances actives sont synthétisées par le métabolisme animal, végétal et microbien, et ont des rôles normaux dans la physiologie des mammifères. Les polyamines: putrescine, spermidine, spermine et cadavérine sont des composés fondamentaux des cellules vivantes et jouent un rôle important dans la régulation des fonctions des acides nucléiques, la synthèse des protéines et la stabilisation des membranes (Thivend *et al*, 1985).

Cependant, les concentrations en amines biogènes augmentent après une dégradation ou une fermentation microbienne (Dandach, 2013). Après ingestion d'aliments en contenant une teneur relativement élevée, des effets toxiques apparaissent. De plus, les polyamines peuvent produire des nitrosamines carcinogènes en présence de nitrite. D'où la nécessité de prévenir l'accumulation des amines biogènes dans les produits de consommation (Dariz *et al*, 1999).

Les principales molécules rencontrées sont au nombre de 9 : les polyamines Putrescine, Cadavérine, Agmatine, Spermidine, et Spermine, les monoamines Tyramine et Phényléthyamine, et les amines hétérocycliques Histamine et Tryptamine (Emborg *et al*, 2006).

Les amines biogènes sont susceptibles d'être présentes dans les aliments contenant des précurseurs azotés et des bactéries ayant une activité décarboxylase, quand les conditions physico-chimiques sont favorables. Dans les produits frais comme la viande et le poisson, elles peuvent être des indicateurs d'altération et refléter ainsi la qualité hygiénique de l'aliment. En effet, l'histidine et la tyrosine ne sont décarboxylées que par le système enzymatique des microorganismes endogènes (tableau 13), tandis que la putrescine, la cadavérine, la spermine et la spermidine peuvent être produites à la fois par les enzymes endogènes de l'aliment (viande, poisson...) et celles des microorganismes. En dehors des bactéries lactiques et autres bactéries à Gram positif, elles sont aussi produites par des bactéries à Gram négatif (Bonnin, 2011).

**Tableau 12** : Amines biogènes et acides aminés précurseurs (Bonnin, 2011).

Acides amines	Décarboxylases	Amines biogènes
Hétérocycliques		Hétérocycliques
Histidine	Histidine décarboxylases	Histamines
Tryptophane	Tryptophane décarboxylase	Tryptamine/sérotonine
Aromatiques		Aromatiques
Tyrosine	Tyrosine décarboxylase	Tyramine
Phénylalanine	Tyrosine décarboxylase	2-phényléthylamine
Basiques		Aliphatiques
Ornithine	Ornithine décarboxylase	Putrescine
Lysine	Lysine décarboxylase	Cadavérine
Arginine	Arginine décarboxylase	Agmatine

## 2. Réaction et formation

Les AB jouent un rôle essentiel dans la physiologie et le développement de toutes les cellules vivantes: croissance, rénovation, métabolisme. Dans les végétaux, la putrescine, la spermidine et la spermine sont impliquées dans la division cellulaire, le développement et la réponse aux stress. Chez l'homme, les AB sont impliquées dans l'activité du cerveau, la régulation de la température corporelle, la sécrétion d'acide gastrique, la réponse immunitaire, les variations de pression sanguine (Dandach, 2013).

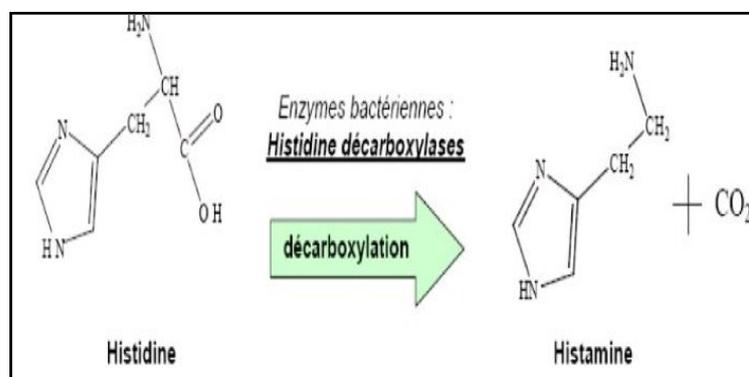
Les amines biogènes sont issues de la dégradation enzymatique du groupe acide (groupe carboxyle) des acides aminés. Ce processus est appelé décarboxylation. En raison de leur formation, la structure des amines biogènes est étroitement liée à celle des acides aminés. C'est pourquoi quelques amines portent le nom de leur acide aminé d'origine. Ainsi par ex: l'histamine provient de l'acide aminé histidine et la tyramine de la tyrosine. D'autres amines biogènes telles que la cadavérine et la putrescine peuvent être issues de la décomposition microbienne de tissu mort (Emborg *et al*, 2006).

### 2.1. Décarboxylation de l'histamine

L'histidine libre des muscles peut être décarboxylée selon deux processus : lors du phénomène d'autolyse ou lors de la dégradation bactérienne des tissus musculaires.

La principale voie de formation de l'histamine est la transformation de l'histidine libre sous l'action d'une enzyme, l'histidine décarboxylase.

L'histidine est un acide aminé essentiel présent surtout dans les pigments (hémoglobine, myoglobine, cytochromes et catalases). Elle peut subir une décarboxylation enzymatique (figure 13): (Mathieu, 2004).



**Figure 13:** Réaction enzymatique de la formation de l'histamine par décarboxylation.

### 3. Toxicité et importance

Les amines biogènes sont des amines non volatiles formées par décarboxylation d'acides aminés. Bien que de nombreuses amines biogènes aient été trouvées dans les poissons, seules l'histamine, la cadavérine et la putrescine ont été principalement décrites comme ayant un impact significatif sur l'évaluation de la sécurité et de la qualité des produits. L'histamine présente dans le poisson est bien évidemment liée à la scombrototoxicité, mais elle ne saurait être le seul agent responsable de cette intoxication alimentaire. La cadavérine et la putrescine joueraient un rôle potentialisant son effet toxique ; toutefois le niveau de cadavérine susceptible de potentialiser les effets de l'histamine n'a jamais été étudié (Albulushi *et al*, (2009).

Toutes ces molécules sont toxiques à des degrés divers et sont la deuxième cause d'intoxications alimentaires en Europe, bien que ne provoquant que des affections généralement bénignes.

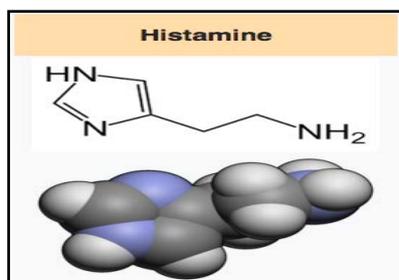
**Tableau 13 :** Occurrence et importance des amines biogènes dans l'organisme (7).

Amine biogène	Origine	Occurrence et importance
Agmatine.	Arginine	Bactéries (flore intestinale), précurseur de la putrescine dans certains organismes.
Aminocétone	2-aminoacide acétoacétique	Précurseur des cobalamines (vitamine B12).
Cadavérine	Lysine	Ribosomes, bactéries, précurseur de l'alcaloïde.

Cystéamine	Cystéine	Composant de la coenzyme A.
Dopamine	DOPA	Neurotransmetteur, précurseur des catécholamines, de la noradrénaline et de l'adrénaline ainsi que de l'alcaloïde.
Ethanolamine	Sérine	Phosphatide, précurseur d'hormones, neurotransmetteur.
Histamine	Histidine	Hormone tissulaire.
Phénéthylamine	Phénylalanine	Présence dans le cerveau.
Putrescine	Ornithine	Ribosomes, bactéries, précurseur pour des polyamines.
Sérotonine	5-hydroxytryptophane	Neurotransmetteur, précurseur de l'hormone mélatonine, du poison de crapeau, la bufoténine.
Tryptamine	Tryptophane	Provoque une contraction de la musculature lisse, favorise la croissance chez les plantes.
Tyramine	Tyrosine	Provoque une contraction de la musculature lisse.
Noradrénaline	DOPA	Neurotransmetteur, catécholamine, provoque un rétrécissement des vaisseaux et une augmentation de la pression artérielle.

## 4. Molécules étudiés

### 4.1. Histamine



**Figure 14:** structure de la molécule d'histamine (Duflos, 2009).

**Tableau 14:** Les caractéristiques physico chimique de l'histamine.

Formule chimique	C	5H 9 N 1 3
Masse molaire	111,145g/mol	
T° de fusion	86°C	
T° d'ébullition	209.5 °C	

L'histamine est une amine biogène découverte par Dale en 1910. c'est la 2-(4-imidazolyl) éthylamine. On la trouve dans les plantes aussi bien que dans des tissus animaux (Michel, 2004).

L'histamine est une substance endogène naturelle dans le corps humain, c'est le dérivé de la décarboxylation de l'acide aminé histidine. Histamine peut également être présente dans certains aliments contenant de l'histidine libre, et est générée par certaines bactéries pendant la détérioration et la fermentation du poisson. Histamine endogène à des fonctions physiologiques importantes liées aux réponses immunitaires locales, la sécrétion d'acide et la neuromodulation (FAO/WHO, 2013).

Les sujets humains peuvent tolérer jusqu'à 180mg d'histamine pure par voie orale sans effets observables, tandis que l'administration intraveineuse de 0.007mg d'histamine produit une vasodilatation et une augmentation de la fréquence cardiaque (8).

#### 4.2. Tyramine



**Figure 15:** structure de la molécule de tyramine (FAO/WHO, 2013).

**Tableau 15:** Caractéristique physico chimique de tyramine.

Formule chimique	C	H	N	O
Masse molaire	137,179			
T° de fusion	164.5			
T° d'ébullition	325.2			

La tyramine est considérée comme le principal déclencheur des crises d'hypertension dues à l'alimentation (8).

La tyramine est un composé monoamine naturel provenant de l'acide aminé tyrosine. Le poisson frais contient peu de tyramine, mais une grande quantité peut être trouvée dans le poisson gâté ou fermenté (FAO/WHO, 2013), aussi en le trouve dans plusieurs aliments présentés dans le (tableau 16) en bas.

La tyramine est un puissant vasodilatateur, capable de déclencher des maux de tête douloureux. Elle libère, en outre, dans l'organisme de l'histamine et des prostaglandines, qui ont aussi une action vasodilatatrice. Elle peut se former dans des aliments (comme les fromages très fermentés ou certaines charcuteries)

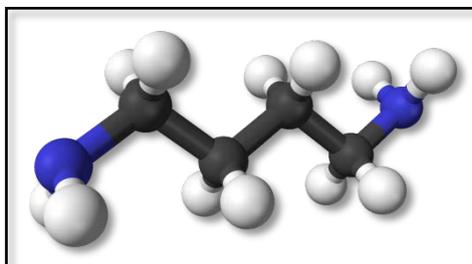
à partir de protéines décomposées lors des fermentations liées au processus technologique (9).

Les personnes en bonne santé supportent en général sans problème une dose de tyramine de 25-250 mg/kg. L'absorption de quantités plus élevées de tyramine est problématique en particulier lors de traitement simultané avec des médicaments inhibiteurs de la MAO, car, dans ce cas, la dégradation enzymatique dans la muqueuse intestinale est freinée et davantage de tyramine parvient dans la circulation sanguine. Lors de la prise de tels médicaments, donc il faut éviter de consommer des aliments à risque (7).

**Tableau 16:** listes des aliments qui contient la tyramine (10).

<b>Aliment riches en tyramine</b>	
<b>Fromages :</b>	cheddar, boursault, gruyère, emmenthal, brie, camembert, parmesan.
<b>Poissons :</b>	hareng saur, salé, séché, thon, caviar.
<b>Charcuterie :</b>	saucisses fermentées (salami...).
<b>Légumes :</b>	pommes de terre, tomate, choux, épinards, concombre.
<b>Boissons alcoolisées :</b>	vins rouges, vins blancs.
<b>Divers :</b>	chocolat, gibier faisandé, raisin, extrait de levures.

### 4.3. Putrescine



**Figure 16:** Structure de la molécule de la putrescine.

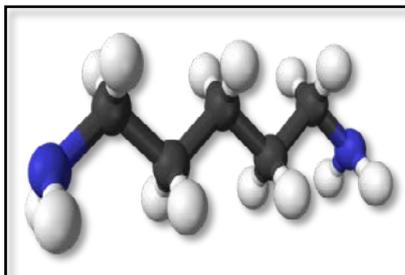
**Tableau 17:** caractéristique physico-chimique de la putrescine.

<b>Formule chimique</b>	<b>C</b>	<b><sub>5</sub>H <sub>12</sub> N <sub>2</sub></b>
Masse molaire	88,151 g/mol	
T° de fusion	27°C	
T° d'ébullition	158 à 160°C	

La putrescine ou tétraméthylène diamine, 1,4-diaminobutane ou encore butane-1,4diamine est un composé organique de formule  $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$  appartenant à la classe des diamines, elle est principalement produite par la dégradation d'acide aminés dans les organismes vivants et morts. La putrescine est notamment produite

par la décarboxylation de l'ornithine par l'ornithine décarboxylase (FAO/WHO, 2013).

#### 4.4. Cadavérine



**Figure 17:** structure de la molécule de la cadavérine.

**Tableau 18:** caractéristique physico-chimique de la cadavérine.

Formule chimique	C	4 H	4 N
Masse molaire	102,178g.mol <sup>-1</sup>		
T° de fusion	14°C		
T° d'ébullition	178 à 180°C		

La cadavérine, 1,5-diaminopentane ou encore pentaméthylènediamine est un composé organique de formule  $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_5\text{NH}_2$  appartenant à la famille des diamines. Structuellement proche de la putrescine, avec laquelle elle partage la toxicité.

La cadavérine et la putrescine sont deux autres amines biogènes trouvées dans les poissons. Comme l'histamine, ils sont produits à partir d'acides aminés par des bactéries pendant la détérioration et la fermentation. Les précurseurs de cadavérine et de putrescine sont respectivement la lysine et l'ornithine. La cadavérine et la putrescine se trouvent souvent dans des poissons incorrectement manipulés (FAO/WHO, 2013).

#### 5. Intoxication histaminique

Dans les aliments non fermentés, la présence des amines biogènes au-dessus d'un certain seuil est considérée comme un indice d'une activité microbienne indésirable. Toutefois, la présence des AB dans les aliments n'est pas nécessairement due à la croissance d'organismes d'altération, parce qu'ils ne sont pas tous décarboxylase-positifs. La concentration de l'histamine, de la putrescine et de la cadavérine augmente généralement au cours d'altération du poisson et de la viande,

alors que celle de la spermine et de la spermidine baisse au cours de ce processus, La famille des poissons Scombridés sont les plus associées à des cas d'intoxication histaminique (scombrototoxicosis) (Dandach, 2013).

L'ingestion de doses élevées d'histamine conduit à la saturation des enzymes digestives catabolisant l'histamine et à l'intoxication par absorption intestinale de l'histamine non métabolisé. L'ingestion de doses plus faibles d'histamine en combinaison avec d'autres amines biogènes présentes dans l'aliment peut produire le même effet par inhibition compétitrice des enzymes de dégradation de l'histamine (EFSA, 2011).

Le terme d'ichtyosarcotoxisme est employé pour les poissons qui contiennent dans leur chair, leur peau et leurs viscères des substances toxiques. L'ichtyosarcotoxisme type histaminique, décrite surtout avec des scombridés (thons, maquereaux, bonites) est une intoxication due à de l'histamine thermorésistante produite par de l'histidine décarboxylase de bactéries (*Clostridium*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*) présentes dans la peau de ces poissons, tous riches en histidine (JOCE, 1991).

La transformation de l'histidine en histamine dépend du pH ambiant, de la température et augmente si le poisson a été insuffisamment préparé et mal réfrigéré (>20°). Le taux tissulaire d'histamine est considéré comme un bon indicateur de la détérioration d'un poisson (Duflos, 2009). des teneurs <50mg d'histamine /kg sont sans effet toxique, alors que a partir de 50 a 100 mg d'histamine /kg, on observe quelques intoxications légères, mais de 100 a 1000 mg d'histamine /kg le produit est toxique (12).

### 5.1. Les symptômes

Les principaux symptômes observés sont liés à l'effet vasodilatateur de l'histamine. La dilatation des capillaires sanguins entraîne des phénomènes d'hémoconcentration (Duflos, 2009).

Les signes cliniques ressemblent à ceux d'une réaction allergique. Le début est brutal et précoce (Bonnin, 2011), souvent rencontrés sont une rougeur facio-cervicale, une éruption cutanée, un œdème du visage, des bouffées de chaleur, une sensation de brûlure dans la gorge, un goût de poivre dans la bouche, des démangeaisons, des picotements de la peau (Duflos, 2009), de quelques minutes à

trois heures, avec signes digestifs (nausées, vomissements, douleurs épigastriques), érythème et vasodilatation de la face, du cou, urticaire généralisée, œdème des paupières, acouphènes et céphalées sont présentés dans le (tableau 20) (Bonnin, 2011).

En général, la période d'incubation est courte, elle varie de quelques minutes à quelques heures. Les symptômes disparaissent spontanément en général en trois heures. Exceptionnellement, ils peuvent durer plusieurs jours dans les cas les plus graves (Duflos, 2009).

**Tableau 19:** Caractéristiques de l'intoxication histaminique (EFSA, 2011).

<b>Durée moyenne d'incubation</b>	<b>Population cible</b>	<b>Principaux symptômes</b>	<b>Durée des symptômes</b>
1h (de quelques minutes à quelques heures).	Toute la population Toutes classes d'âge.	Premiers symptômes: Rougeur facio-cervicale, éruption cutanée, œdème du visage, bouffées de chaleur, sensation de brûlure dans la gorge, goût de poivre dans la bouche, démangeaisons, picotements de la peau, céphalées, palpitations cardiaques, étourdissements. Symptômes secondaires: de nature gastro-intestinale: nausées, maux d'estomac, vomissements, diarrhée.	3h (exceptionnellement plusieurs jours dans les cas les plus graves).

## 6. Règlementation

Le niveau toxicologique des AB est très difficile à établir car il dépend des caractéristiques individuelles. Aussi il n'existe pas aujourd'hui une limitation de la teneur en amines biogènes dans les aliments. Seule la teneur en histamine est réglementée par la législation européenne (Règlement CE N° 2073/2005 de la commission du 15 novembre 2005) (10). Pour les produits de la pêche, la teneur est fixée entre 100 et 200 mg.Kg-1 (JOCE, 1991). Et pour les produits de la pêche ayant subi un traitement de maturation aux enzymes dans la saumure, entre 200 et 400 mg.Kg-1 ; ceci concerne les produits fabriqués à partir d'espèces de poissons associées à une grande quantité d'histidine appartenant aux familles *Scombridae*, *Clupeidae*, *Engraulidae*, *Coryfenidae*, *Pomatomidae* et *Scombrosidae*.

Selon l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA, 2011). Il n'y aurait pas d'effets néfastes sur la santé humaine après une exposition aux doses suivantes (par personne et par repas) :

- 25 à 50 mg d'histamine pour les personnes en bonne santé, pour les personnes intolérantes à l'histamine seuls des niveaux inférieurs aux limites détectables peuvent être considérés comme sains;
- 600 mg de tyramine pour les personnes en bonne santé qui ne prennent pas des médicaments qui inhibent la monoamine oxydase et entre 6 et 50 mg pour ceux qui prennent ces médicaments
- Pas de doses limites pour la putrescine et la cadavérine car les informations sont insuffisantes (Dandach, 2013).

## **7. Les paramètres modifiant la production d'histamine**

### **7.1. Traitement du poisson**

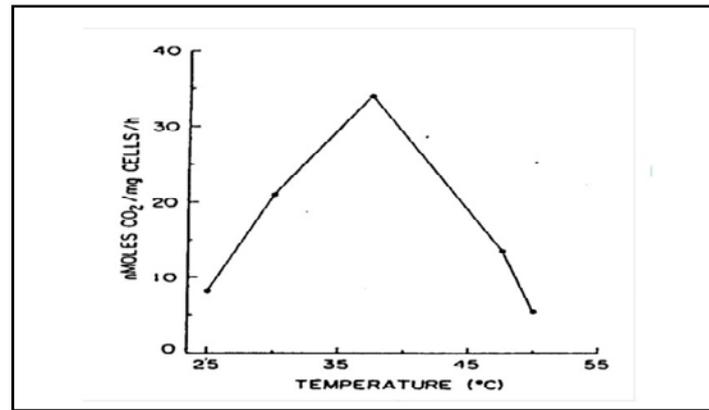
Le premier maillon de la chaîne est la pêche. Les bateaux ont pour but de collecter de grosses quantités de poisson. Les poissons sont souvent malmenés et abîmés. Le découpage est aussi une étape importante au cours de laquelle les règles d'hygiène doivent être rigoureuses. La maîtrise de ces étapes est cruciale pour éviter toute contamination bactérienne entraînant une augmentation de la quantité d'histamine (Duflos, 2009).

### **7.2. Les paramètres physiques**

#### **7.2.1 La température**

Est le facteur extrême le plus important dans la formation de l'histamine. De nombreuses études ont été faites montrant la relation très forte entre température et production d'histamine (Hilmer, 1984 *in* Mathieu, 2004 ).

Les travaux de Ronald R. Eitenmiller semblent confirmer que les températures optimales de production de l'enzyme histidine décarboxylase, de production de l'histamine et de croissance bactérienne sont différentes. Eitenmiller mesure une T° optimale de l'activité enzymatique égale à 37 °C (figure 18) (Eitenmiller, 1982 *in* Mathieu, 2004).



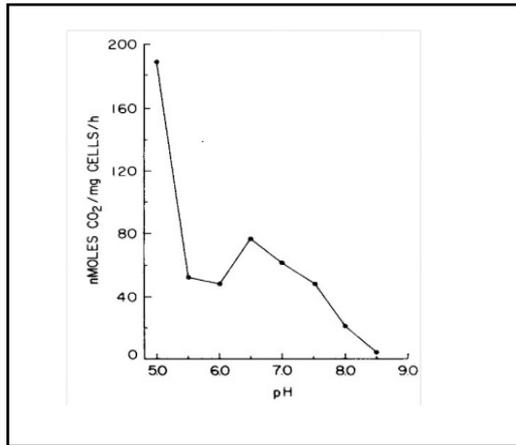
**Figure 18:** Influence de la température sur des thons volontairement contaminés par *Proteus morganii* (Eitenmiller, 1984 in Mathieu, 2004).

Tous les scientifiques s'accordent à dire que la réfrigération immédiate des produits de la pêche et le maintien à des températures proches à 0°C retardent considérablement la formation d'histamine par les micro-organismes. En effet, même si la production d'histamine est toujours possible, le stockage à 0°C la réduit généralement à un niveau négligeable (Abitan, 1986 in Mathieu, 2004).

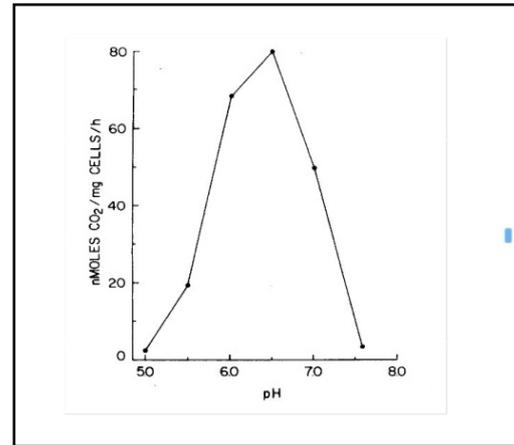
### 7.2.2. Le pH :

Tout comme la température, il faut tenir compte de l'action du pH spécifiquement sur la modification de la croissance bactérienne, la modification de la production de l'enzyme et sur la modification de l'activité de cette enzyme (Michel, 2004 in Mathieu, 2004).

Les travaux d'Eitenmiller sur des bactéries *Proteus morganii* ont montré que la production de l'enzyme était maximale a un pH=5.0 alors qu'à ce pH la croissance bactérienne est faible (Eitenmiller, 1982 in Mathieu, 2004), a un pH=8.5, la production de l'enzyme est minimale. Par contre à un pH =5 l'activité de l'enzyme est très faible. L'activité optimale de l'enzyme est obtenue à un pH=6.5 (figure19 ,20).



**Figure 19:** Influence de pH sur la production de l'enzyme histidine décarboxylase.



**Figure 20:** Influence du pH sur l'activité de l'histidine.

Nous remarquons sur ces graphiques que l'histidine décarboxylase reste active pour des valeurs de pH éloignées de l'optimum.

### 7.2.3. La salinité

Des études ont rapporté que le NaCl jusqu'à une concentration de 2% n'empêchait pas la croissance et la formation d'histamine par *M.morganii* et *klebsiella pneumoniae* (Taylor, 1983 in Mathieu, 2004).

Par contre Henry et Kohler (1986) ont montré que des concentrations de NaCl de 3.5 à 5.5% pouvaient inhiber la formation d'histamine par des bactéries (Henry, 1986 in Mathieu, 2004).

Ababouch et al, ont montré que la croissance des bactéries et la formation d'histamine sont retardées lorsque l'on expose les sardines à une concentration de 8% de sel, ceci a température ambiante ou lors d'un stockage dans la glace (Ababouch, 1991 in Mathieu, 2004).

### 7.2.4. Teneur en CO<sub>2</sub> de l'air

Le stockage du poisson en atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> inhibait la croissance des bactéries aérobies généralement responsables de la détérioration du poisson, augmentant ainsi la durée de conservation (Bouley, 1999 in Mathieu, 2004).

### 7.3. Les paramètres biochimiques

#### 7.3.1. Teneur en histidine

Les travaux d'Eitenmiller ont montré que l'enzyme histidine décarboxylase était inductible. En effet, lorsque l'on ajoute de l'histidine libre dans le milieu de culture, l'activité spécifique de l'enzyme augmente et donc la production d'histamine (Eitenmiller, 1982 *in* Mathieu, 2004).

#### 7.3.2. Présence de sucre

Il semble que certaines bactéries sont sensibles à la présence de glucides, utilisés comme source d'énergie utile à la synthèse et à la production de leurs enzymes.

### 8. Bactéries et formations d'amine biogènes

Il est maintenant établi que la principale source d'histamine rencontrée dans les intoxications histaminiques est celle de la décarboxylation enzymatique d'origine bactérienne, un certains nombres de bactéries sont capables de transformer l'histidine libre en histamine (Mathieu, 2009).

L'acétylation de l'histidine et de la liaison peptidique aussi bien avec le radical COOH qu'avec le radical NH<sub>2</sub>, empêche la décarboxylation bactérienne. Comme corollaire, seuls les poissons dont la chair est riche en histidine libre, tels que ceux appartenant à la famille des Scombridés (maquereau et thon), des Clupéidés (sardine) et des Engraulidés (anchois) seront concernés par la formation d'histamine dans la chair.

Les principales bactéries productrices d'histamine dans le muscle de diverses espèces de poisson ont été étudiées par plusieurs auteurs. Les résultats de leurs travaux sont synthétisés dans le (tableau 21) ci-dessous, Généralement, seules quelques bactéries entériques telles que *Morganellamorganii*, *Raoultellaplanticola* (anciennement *Klebsiellapneumoniae*) et *Hafniaalvei* ont été fréquemment isolées du poisson impliqué dans les incidents d'intoxication histaminique malgré le fait que l'enzyme histidine-décarboxylase est largement distribuée chez les entérobactéries (8).

Les microorganismes responsables de la formation de l'histamine se développent principalement à des températures supérieures à 7-10 °C dans les ouïes et les viscères

du poisson .cependant, de récentes recherches ont montré que certaines bactéries productrices d’histamine étaient actives entre 0 et 5 °C (**13**).

**Tableau 20:** Production d’histamine par différentes bactéries à 0-5 °C et au-dessus de 10 °C (Duflos, 2009).

	0-5°C	<10°C
<b>Enterobacteriaceae</b>		
<i>Morgaellamorganii</i>	-	+++
<i>Morganellepsychrotolerans</i>	++	+++
<i>Raoultellaplanticola</i>	-	+++
<i>Enterobacteraerogene</i>	-	+++
<b>Vibrionaceae</b>		
<i>Photobacteriumphosphoreum</i>	++	++
<i>Photobacteriumdamselae</i>	-	+++
<b>Bactéries lactiques</b>		
<i>Tetragenococcusmyriaticus</i>	-	++
<i>Lactobacillus spp.</i>	-	++

## 9. Dosage des amines biogènes

Il existe de nombreuses méthodes de dosage de l’histamine. On peut les regrouper en fonction des technologies qu’elles utilisent :

### 9.1. Méthodes chimiques

#### 9.1.1. Les méthodes séparatives

##### 9.1.1.1. Dosage des amines biogènes par (CLPH ou HPLC)

Technique de référence pour l’Union européenne (Duflos, 2009), pour les états Unis et le Codex alimentarius. L’HPLC se révèle être une méthode de choix pour l’identification et la quantification, due a la nature hydrophobe des amines biogènes (Bonnin, 2011).

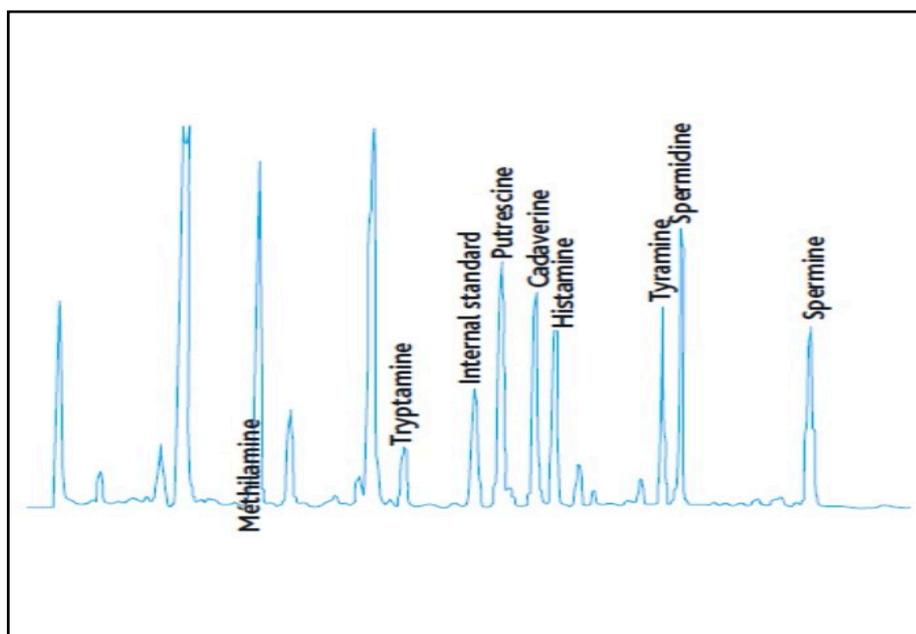
Les amines biogènes sont extraites de l’échantillon avant d’être complexées a un composé qui permet ensuite leurs identification après séparation sur le système

chromatographique (figure 21). Ces méthodes sont à la fois précises, sensibles et reproductibles mais demandent un équipement sophistiqué.

Les amines biogènes sont extraites de la chair de poisson par précipitation des protéines à l'acide perchlorique (Vallé, 1996), le réactif de dérivatisation le plus couramment utilisé est l'OPA ou le dansyl-chlorure. L'OPA réagit avec les amines primaires en quelques minutes pour former des dérivés fluorescent, mais instables.

Tandis que le dansyl-chlorure est un réactif non-spécifique car il dérive aussi bien les amines primaires et secondaires que les phénols, les alcools aliphatiques et quelques sucres qui sont détectés aux UV. Ainsi, des traitements supplémentaires sont nécessaires avec une dérivatisation au dansyl-chlorure afin d'éliminer les composés secondaires (Bonnin, 2011).

La solution de chlorure de dansyl (sigma) est utilisée à 750 mg/100ml d'acétone et conservée à -20°C à l'abri de la lumière, les solutions standard (sigma) de putrescine dichlorhydrate (put), de cadavérine dichlorhydrate (cad), d'histamine dichlorhydrate (his), de spermidine trichlorhydrate (spd), de spermine tétrachlorhydrate (spm), et de 1,3 diaminopropane dichlorhydrate (diam), sont utilisées à 80mg/100ml d'eau distillée et conservées à 5°C. la solution de L-proline (pro) est utilisée à 100mg/ml d'eau distillée et conservée à 5°C (Vallé, 1996), Elles sont ensuite analysées par HPLC.



**Figure 21:** Chromatogramme présentant la séparation de différentes amines biogènes par HPLC (Duflos, 2009).

La HPLC est réalisée sur colonne KROMASIL C (25 cm)  $\times$  4.6 mm) en phase reverse thermostatée à 25°C, équipée d'une précolonne BROWNLEE C 5  $\mu$ m (30  $\times$  4.6 mm).

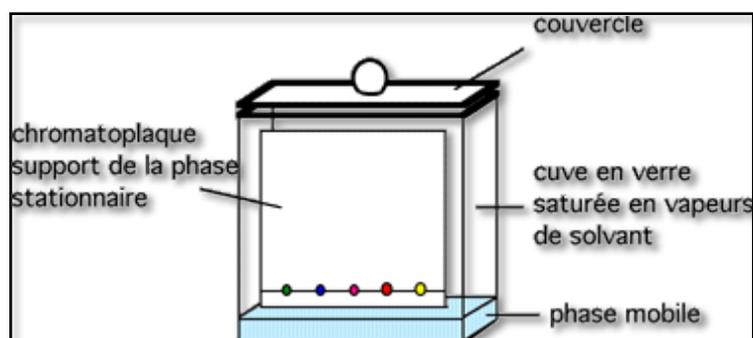
Le gradient de chromatographie est établi par l'intermédiaire de deux pompes LC-6A (Shimadzu) à un débit de 1ml/min, les amines dérivées sont visualisées à 254 nm par l'intermédiaire d'un détecteur SPD-6A couplé à un intégrateur C-R3A. Les injections sont réalisées à l'aide d'un injecteur automatique SIL-6B (Vallé, 1996).

C'est une méthode qui permet de séparer par exemple l'histamine des autres amines biogènes grâce à la spécificité du dosage. Elle est considérée comme la méthode de référence pour le dosage qualitatif et quantitatif de l'histamine. La HPLC est le plus souvent couplée à une technique colorimétrique ou fluorimétrique (Mathieu, 2004).

### 9.1.1.2. Chromatographie couche mince (CCM)

Historiquement, la méthode implantée en premier dans les laboratoires mais qui reste toujours très utilisée (Duflos, 2009), Cette méthode est plus qualitative que quantitative car moins précise que l'HPLC, mais ne requiert pas un matériel sophistiqué (Bonnin, 2011).

L'histamine et autres amines biogènes sont extraites par le méthanol en général puis l'extrait est placé sur un support solide (gel de silice) qui est la phase stationnaire. La phase mobile liquide est composée d'un solvant de migration (chloroforme, méthanol, ammoniac) (Figure 23) (Duflos, 2009).



**Figure 22:** Schéma représentatif d'un appareil de chromatographie sur couche mince (CCM).

La migration du solvant est révélée avec de la ninhydrine. Les amines biogènes apparaissent sous forme de spots. La détermination de l'histamine se fait en comparant les Rf des échantillons à celles des standards (Mathieu, 2004).

Elle peut être appliquée à la détection de l'histamine, la putrescine et la cadavérine dans le poisson et les autres produits de la mer, une autre méthode a été développée pour l'identification et la semi-quantification de huit amines biogènes produites par différents genres bactériens. Selon cette nouvelle technique, les bactéries peuvent être classées en faible, modéré, ou fort producteurs. Dans le premier cas, aucun spot n'est détecté ou la production est inférieure à  $50\text{mg.L}^{-1}$ . Dans le second cas, la production se situe entre 50 et  $500\text{mg.L}^{-1}$ , alors qu'un fort producteur produit plus de  $500\text{mg.L}^{-1}$  d'amines biogènes (Bonnin, 2011).

#### **9.1.1.3. Chromatographie échangeuse d'ions**

L'extrait est placée sur une résine échangeuse de cations, l'histamine est extraite puis est complexée à l'orthophtalaldéhyde, puis lue au spectrofluorimètre.

Le choix de l'orthophtalaldéhyde comme agent de dérivation est basé sur le fait que les amines primaires réagissent sur celui-ci pour former des thio-indoles substitués absorbant fortement à 350 nm et fluorescents à 450 nm. La sensibilité est de l'ordre du mg pour 100 mg d'échantillon (Mathieu, 2004).

#### **9.1.1.4. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

Les amines sont transformées en dérivés volatils en employant comme réactif le perfluoropropionyl ou le trifluoroacétyl.

### **9.1.2. Les méthodes de visualisation**

#### **9.1.2.1. Colorimétrie**

L'histamine est complexée avec le dinitrofluorobenzène, le réactif de Pauly ou la ninhydrine. Puis dosage par colorimétrie. C'est une méthode peu spécifique, l'histamine interférant avec l'histidine (Mathieu, 2004).

#### **9.1.2.2. Fluorimétrie**

Les plus anciennes méthodes de dosage reposent sur le fait que les amines biologiques ne présentent pas de groupement chimique permettant leur détection

directe, par absorption UV par exemple. En revanche leur groupement amine peut concourir à former des dérivés fluorescents.

L'avantage de cette technique reste sa simplicité, cependant, la séparation de l'histamine des molécules interférentes, en particulier de l'histidine, reste délicate. C'est pourquoi, depuis le milieu des années 1980, ils ont associé souvent cette méthode à une séparation par chromatographie, réalisée sur les éléments fluorés s'ils sont suffisamment stables, ou plus simplement sur l'échantillon à doser (Mathieu, 2004).

### **9.1.2.3. Méthode radio-enzymatique**

Des techniques plus récentes utilisent des enzymes aux isotopes marqués. Le principe en est très simple, il repose sur l'alkylation enzymatique de l'histamine par un groupement méthyles marqué par un traceur radioactif. Peu pratique, cette méthode atteint toutefois une sensibilité excellente (Mathieu, 2004).

## **10. Conclusion**

L'histamine dans les produits de la mer est une problématique bien connue. Les données épidémiologiques montrent une tendance à la hausse des cas d'intoxication histaminique et il est toujours aussi important aujourd'hui d'étudier ce risque sanitaire. Les quantités consommées et les modifications des habitudes alimentaires renforcent l'intérêt d'être de plus en plus vigilant.

La réglementation concerne principalement l'histamine : une directive européenne établit un seuil maximum à 100 mg/kg pour la vente et la consommation de la plupart des poissons. Ce seuil est de 50 mg/kg aux Etats Unis. Les autres amines biogènes sont cependant parfois présentes en plus grandes quantités que l'histamine dans les produits fermentés comme le fromage, ou fumés comme la charcuterie ou la choucroute **(11)**.

## **CONCLUSION GENERALE**

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre travail porte sur l'étude de la contamination chimique et biochimique dans l'environnement aquatique notamment chez les produits de pêche. En effet, on sait que pour les produits de synthèse, les effets que l'on doit le plus redouter sont de nature chroniques : cancers, maladies neurologiques dégénératives ou atteintes du système immunitaire. Il est cependant très difficile d'établir un lien de cause à effet entre l'ingestion, durant une longue période, de faibles concentrations de résidus de produits chimiques retrouvés dans les aliments et l'apparition d'une maladie chronique, comme le cancer. Seules de grandes études épidémiologiques peuvent parfois y arriver après de longues années s'attente.

En fait, ce travail mérite d'être poursuivi afin d'ouvrir les portes sur ce plan de recherche. Pour cela, nous avons noté les recommandations et perspectives suivantes :

- Il faut faire une grande attention à la sécurité alimentaire du consommateur par la mise en œuvre d'un plan de surveillance des contaminants chimiques dans les produits de pêche. Ce plan vise l'évaluation de la situation globale d'exposition du consommateur aux risques induits par les contaminants chimiques, les contaminants biochimiques. Il prévoit un échantillonnage aléatoire et la réalisation de prélèvements, quelle que soit l'espèce, au niveau de la remise au consommateur final, dans l'ensemble des circuits de distribution, répartis entre les poissons de mer, les poissons d'eau douce, les crustacés et les céphalopodes. Les laboratoires doivent utiliser des matrices spécifiques constituées de la chair ou de la partie comestible des espèces concernées, c'est-à-dire celles destinées à l'alimentation du consommateur.
- Le milieu aquatique mérite une attention toute particulière, vu qu'il joue un rôle très important dans la santé du consommateur. Le poisson sert de plus en plus d'indicateur des politiques environnementales, du fait qu'il est révélateur de l'état écologique des milieux aquatiques. Dans la réglementation nous trouvons les poissons comme bio-indicateurs ou comme indicateurs de qualité des milieux aquatiques. Les politiques de protection, de conservation ou de sauvegarde d'un milieu écologique et de ses espèces se retrouvent confrontées à différentes

échelles de durée quant à leurs applications qui peuvent diverger des formes de temporalités propres aux communautés de pêcheurs.

Tout d'abord, pour assurer une sécurité des produits de la pêche, des règles de contrôles de degré de contamination de l'eau, de la pêche, les conditions de conservations, l'importation, et aussi l'hygiène pendant la manutention et le traitement, pour éviter toute contaminations et altération des produits, et même prévenir la santé du consommateur.

Enfin on espère que notre travail sera une bonne référence pour des recherches ultérieures dans cette perspective, car il est très important de poursuivre ces études avec plus d'expériences, ainsi en souhaite que prochainement le matériel de laboratoire destiné pour ces types d'analyses sera disponible au sein de l'Université 8 mai 1945 Guelma, pour qu'une amélioration plus efficace des analyses physicochimiques des produits aquatiques et de leurs environnement puisse intégrer les objectifs dessinés pouvant ajouter un plus pour la santé des consommateurs.

## RÉFÉRENCES

## A

**Abarnou A., Burgeot., Chevreuil M., Leboulanger F., Loizeau V., Madoulet-jaouen A., Minier C.,** (2000). Les contaminants organiques : quels risques pour le monde vivant ? Ifremer, 35 p.

**Académie des science.,** (1998). Contamination des sols par les éléments en trace: les risques et leur gestion. Rapport 42p.

**Afssa.,** (2003). Avis de l'Afssa du 20 janvier 2003 relatif à l'évaluation des risques sanitaires qui pourraient résulter de la contamination des produits de la mer destinés à la consommation humaine, suite au naufrage du pétrolier Prestige. <https://www.anses.fr/fr> .

**Albinet A.,** (2006). Hydrocarbures aromatiques polycycliques et leurs dérivés nitrés et oxygénés dans l'air ambiant: caractérisation physico-chimique et origine, Docteur en Chimie analytique et environnement, Université Sciences et Technologies-Bordeaux I, 375 p.

**Albulushi I., Poole S., Deeth H., Dykes G.,** (2009). Amines biogènes dans le poisson : rôle dans l'intoxication alimentaire, l'altération et la formation de nitrosamine, *Critical reviews in food science and nutrition*, vol 49 ,369-377 p.

**Angell N.F., Lavery JP.,** (1982).The relationship of blood lead levels to obstetric outcome. *Am. J. Obstet. Gynecol*, vol 142, 40 p.

**Annette V., Gimbert F.,** (2013). Bioaccumulation, bioamplification des polluants dans la faune terrestre, ADEME et Laboratoire Chrono-environnement, France, 637 p.

**ATSDR [Agency for Toxic Substances and Disease Registry],** (2007). "Case Studies in Environmental Medicine (CSEM) Lead Toxicity Exposure Pathways." Atlanta (GA): US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Available from: [www.atsdr.cdc.gov/csem/lead/docs/lead.pdf](http://www.atsdr.cdc.gov/csem/lead/docs/lead.pdf)

## B

**Baghdadi M.D.,** (2012). Pollution de l'environnement marin et santé humaine : Mesure, évaluation et Impact des contaminants chimiques et biologiques dans les produits de la pêche au niveau du littoral marocain, *Biosciences de l'environnement et Santé*, Thèse à l'Université Abdelmalek Essaadi Tanger, 158 p.

**Barhoumi B.,** (2014). Biosurveillance de la pollution de la lagune de Bizerte (Tunisie) par l'analyse comparée des niveaux de contamination et de l'écotoxicité des sédiments et du biote, *Géochimie et Écotoxicologie*, Thèse à l'Université de Bordeaux, 313 p.

**Belanger D.,** (2009). Utilisation de la faune macrobenthique comme bioindicateur de la qualité de l'environnement marin côtier. *Maître en écologie internationale* :

maîtrise en biologie incluant un cheminement de type cours en écologie internationale, Université de Shebrooke, Canada, 67 p.

**Benadda H.**, (2009). Evaluation de la pollution marine par trois métaux lourds (cadmium, plomb, zinc) sur un poisson pélagique : la saurel, *trachurus trachurus* (Linné, 1758) pêchée dans la baie d'Oran, science de l'environnement, Mémoire de Magister à l'Université d'Oran Es-sénia, 82 p.

**Benecke M., Gustav Eckert K., Erber B.**, (2004). Guide pratique de toxicologie, 1<sup>ère</sup> édition, édition de Boeck and Larciens. A, 348 p.

**Bidaud C.**, (1998). Biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Approche microbiologique et application au traitement d'un sol pollué, Thèse à l'Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, n° d'ordre: 188. 219 p.

**Bliefert C., Perraud R.**, (2004). Chimie de l'environnement: Air, eau, sols, déchets, Université Boeck, 373-374 p.

**Bonnin M.**, (2011). Etude du métabolisme des amines biogènes chez les bactéries lactiques du vin, Science de l'Alimentation, Université de bourgogne, 194 p.

**Botta F., Albinet A., Ughetto E., Leoz-Garzandia E.**, (2014). Origines des HAP dans les milieux aquatiques, Rapport final, INERIS, DRC-14-136861-01815A, 46p

**Boumehres A.**, (2010). Etude comparative des techniques d'extraction des éléments traces métalliques dans le foie, le rein et le lait et leur détermination par spectrométrie d'absorption atomique (flamme et four graphite), hygiène alimentaire, université Mentouri Constantine, 85 p.

**Brignon J.M., Malherbe L., Soleille S.**, (2005). Les substances dangereuses prioritaires de la directive cadre sur l'eau, Fiches de données technico-économiques, Rapport final, INERIS DRC-MECO, 265 p.

**Bryan G.**, (1984). Pollution due to heavy metals and their compounds. Mar. Ecol. 5, 1290-1331 p.

## C

**Casas S.**, (2005). Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule, *mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen, Océanologie biologique, Thèse à l'Université du Sud Toulon, 314 p.

**CCME [Conseil canadien des ministres de l'environnement].**, (1999). Recommandations canadiennes pour la qualité des sédiments : protection de la vie aquatique- hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), dans Recommandations canadiennes pour la qualité de l'environnement, 1999, Winnipeg, le Conseil.

**Chahin A.**, (2010). Bioindicateurs métaboliques de l'exposition des ruminants laitiers aux Hydrocarbures Aromatiques Polycyclique (HAP), Biochimie,

Métabolisme des xénobiotiques, Biologie animale, Thèse à L'Institut National Polytechnique De Lorraine, 194 p.

**Cobb A.**, (2008). The élément cadmium Library of congress Cataloging- in publication Data, Marshall cavendish corporation, 31 p.

**Costes J.M., Druelle V.**, (1997). Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'environnement: la réhabilitation des anciens sites industriels. Revue de l'Institut Français du Pétrole, 52(4), 425-440 p.

**Crespo A.**, (2009). Présence et sources des Hydrocarbures romatiques polycycliques dans le Bassin d'Arcachon. Géochimie et écotoxicologie, Thèse à l'Université Bordeaux 1, 458 p.

## D

**Dahnoun N.**, (2014). Evaluation du taux de contamination par HAP de la faune aux alentours d'un centre à risques: Port de Ghazaouet, Chimie physique et analytique, Université Abou beker belkaid-Tlemcen, 106 p.

**Dandach S.**, (2013) .Rôle des acides aminés dans la production d'amines biogènes chez *Oenococcus Oeni*, Science de la vie, Thèse à l'Université de bourgogne ,155 p.

**Daouk T.**, (2011). Effets de contaminations d'embryons et d'adultes de poissons zèbres (*Danio rerio*) par des PCB et des HAP, Biologie de l'Environnement, des Populations, Écologie, Thèse à l'Université de La Rochelle, 150p.

**Dariz V., Guillard A.**, (1999). Nitrites et nitrates dans les produits alimentaires : le point sur la normalisation, Vol 10 (1999, n°947), 179-179 p.

**Darmendrail D., Baize D., Barbier J., Freyssinet P., Mouvet C., Salpéteur I., Wavrer P.**, (2000). Fonds géochimique naturel : État des connaissances à l'échelle nationale, BRGM/RP-50158-FR, france, 93 p.

**De Perre C.**, (2009). Étude des interactions matière organique dissoute-Contaminants organiques dans l'environnement aquatique. École doctorale des sciences chimiques. N° d'ordre : 3933. Thèse à l'Université Bordeaux1, 299 p.

**Derache R.**, (1986). Toxicologie et sécurité des aliments technique et documentation lavoisier, 344 p.

**Duflos G.**, (2009). Histamine Risk in fisheryproducts, (tome162 ,N°3), 242-245 p.

## E

**EFSA journal.**, (2011). Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods, 09(10) :2393 p.

**EFSA.,** (2008). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain (Q-2007-136) The EFSA Journal 724, 1-114 p.

**El Idrissi L.,** (2009). Cytoxicité du cadmium, du plomb et du mercure et caractérisation du transport membranaire de cadmium dans les cellules alvéolaires et bronchiolaires, biologie, Thèse à l'Université du Québec à Montréal, 74 p.

**Elder J.F.,** (1988). Metal Biogeochemistry in Surface-Water system- A review of Principles and Concepts. 1013, United States Geological Survey.

**Emborg J., Dalgaard P.,** (2006). Formation of histamine and biogenic amines in cold smoked tuna: an investigation of psychrotolerant bacteria from sample implicated in cases of histamine fish poisoning, Journal of food protection, N°69, 897-906 p.

**Ennouri R., Chouba L., Kraiem M.,** (2008). Evaluation de la contamination chimique par les métaux traces (Cd, Pb, Hg, et Zn) du zooplancton et de la sardinelle (*Sardinella aurita*) dans le golfe de tunis, bull. Inst. Natn. Scien. Tech. Mer de salammbo, (vol 35, 2008), 89 p.

## F

**Fabrice M., Nathalie B., Maxime R.,** (2001). métaux – mercure, Rapport final, Laboratoire Central de Surveillance de la Qualité de l'Air, 87 p.

**FAO/WHO [Food and Agriculture Organisation of the United Nations/World Health Organisation],** (2013). Public Health Risks of histamine and other Biogenic amines from fish and fishery products, meeting report, Rome Italy, 64 p.

**Fergusson J.E.,** (1980). Heavy metals pollution by traffic in Christchurch, New Zealand: Lead and cadmium content of dust, soil, and plants. New Zealand journal of science, vol 23, 2830 p.

**Forbes V.E., Forbest L., Jean-louis R.,** (1997). Ecotoxicologie, théorie et applications. Edition Quae, Paris, 27 p.

## G

**Gabet S.,** (2004). Remobilisation d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique, Docteur en chimie et microbiologie de l'eau, Thèse n° : 12-2004 L'Université de Limoges, 171 p.

**Gaujous D.,** (1995). La pollution des milieux aquatiques : 2<sup>ème</sup> édition, aide mémorielle : technique et documentation –Lavoisier, 220 p.

**Gobeil C., Clermont Y., Paquette G.,** (1997). Concentrations en mercure, plomb et cadmium chez diverses espèces de poissons de fond, de poissons pélagiques et de

crustacés de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent et du fjord du Saguenay, Ministère des Pêches et des Océans, Canada, 83 p.

**Gourlay C.**, (2004). Biodisponibilité des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les écosystèmes aquatiques : Influence de la matière organique naturelle et anthropique. Thèse à l'Ecole Nationale du Génie Rural, des Eaux et Forêts Centre de Paris, 128 p.

## I

**INERIS.**, (2005). Données toxicologiques et environnementales des substances chimiques : fluoranthène, DRC-01-25590-01DR123, 39 p.

**INERIS.**, (2006). Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques : Benzo[a]pyrène, DRC-01-25590-00DF252, 44 p.

**INERIS.**, (2007). Fiche toxicologique, Benzo[a]pyrene. FT144. Numéro Cas 50-32-8. Numéro CE 200-028-5. Index 601-032-00-3.

**INERIS.**, (2014). Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Fluoranthène, DRC-14-136881-07005A, 28 p. (<http://www.ineris.fr/rsde/> ou <http://www.ineris.fr/substances/fr/>).

## J

**JOCE [Journal officiel des communautés Européennes Directive n°91/493]**., fixant les règles sanitaires régissant la production et la mise sur le marché des produits de la pêche., (1991), 24septembre, L268, 15-34 p.

**Jumarie C., Campbell P., Berteloot A., Houde M., Denizeau F.**, (1997). Caco-2 cell line used as in vitro model to study cadmium accumulation in intestinal epithelial cells. J. Membr. Biol. vol 158, 31-48 p.

## K

**Kanan R.**, (2011). Développements méthodologiques pour l'extraction et l'analyse des polluants organiques d'intérêt pour l'environnement marin: Application aux hydrocarbures aromatiques polycycliques, Chimie analytique et environnement, Thèse de doctorat, Université Bordeaux 1, France, 28 p.

**Kolonel L.N.**, (1976). Association of cadmium with renal cancer. *Cancer* 37: 1782-1787 p.

**Kouzayha A.**, (2011). Développement des méthodes analytiques pour la détection et la quantification de traces des HAP et de pesticides dans l'eau. Application à l'évaluation de la qualité des eaux libanaises, Chimie Analytique et Environnement, Thèse à Université Sciences et Technologies-Bordeaux I, 202 p.

## L

**Lacoue-labarthe T.**, (2007). Incorporation des métaux dans les œufs de la seiche commune *Sepia officinalis* et effets potentiels sur les fonctions digestives et immunitaires, Océanologie Biologique & Environnement Marin, Thèse à l'Université La Rochelle, 200 p.

**Le Bihanic F.**, (2013). Effets des hydrocarbures aromatiques polycycliques sur les stades précoces de poissons modèles: développement de bioessais et étude comparée de mélanges, Géochimie et écotoxicologie, Thèse Université Sciences et Technologies-Bordeaux I, 264 p.

## M

**Marchand M., Kantin R.**, (1997). Les métaux traces en milieu aquatique, *Ecologie, Océanis* 23(4): 595-629.

**Mathieu S.M.**, (2004). Intoxication histaminique : Le scombrotisme, Thèse doctorat, Faculté de pharmacie, Université de Nantes, 80 p.

**Mckenzie A.**, (1997). Isotope evidence of the relative retention and mobility of lead, and radiocesium in swtishombrophic peats. *The science of the total environment*, vol.203, N°2, 115-127 p.

**Messai K.**, (2014). Étude de la pollution maritime par les métaux lourds (Pb, Zn) dans la cote de Jijel, *Ecologie et environnement*, université Constantine, 50 p.

**Micak N.**, (2001). Total and organic lead distribution in water, sediment and organism from the eastern Adriatic coast. *Chemical speciation and bioavailability*, 121-128 p.

**Miles C.D., Brandle JR., Daniel D., Chuder O., Schanare PD., Uklik DJ.**, (1972). Inhibition of photosystem II in isolated chloroplasts by lead plants. *Plant. Physio*, Vol 49, 820 p.

**Miquel M.**, (2001). Rapport sur les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé, Office Parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, France, 336 p.

**Munaron D.**, (2004). Principaux contaminants organiques, séminaire-RSL-contamination chimique, Sète. Ifremer.

**Mzoughi N., Hallal F., Dachraoui M., Villeneuve J.P, De Mora S.J., El Abed A.**, (2002). Méthodologie de l'extraction des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Application a des sédiments de la lagune de Bizert (tunisie), *Comptes Rendus Geoscience*, 334(12), 893-901

## N

**Naseem R., Tahir S S.**, (2001). Removal of Pb(II) from aqueous/acidic solutions by using bentonite as an adsorbent, *Water Res*, vol 33(11 nov 2001, N°6), 3982–3986p.

**Nedjar R.**, (2016). Sciences Biologiques, Dosage des métaux lourds Cd, Cr, Pb dans les rejets liquides de trois industries de la wilaya de Constantine, Université des Frères Mentouri Constantine 39p.

**Norme Française NF ISO 11338.**, (2 Mars 2004). Indice de classement : X43-400-2, Emission de sources fixes, (Détermination des hydrocarbures aromatiques polycycliques sous forme gazeuse et particulaire).

## O

**OMS [Organisation mondiale de la santé]**, (1974). Environmental health criteria for cadmium.

## P

**Pimsee P.**, (2014). Étude du comportement des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) lors du déversement accidentel d'hydrocarbures en eaux continentales, Sciences des Agroressources, Doctorat de l'Université de Toulouse, 145 p.

## R

**Reddad Z., Gerente C., Andres Y., Le Cloirec P.**, (2002). Adsorption of several metal ions onto a low-cost biosorbent: kinetic and equilibrium studies, Environ Sci Technol, vol 36(1 Mai 2002 N°9), 2067-2073 p.

**Règlement (CE) N°1881/2006** de la commission portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires. « Journal officiel des communautés européennes ». Fait à Bruxelles, le 19 décembre 2006. Par la Commission « Markos KYPRIANOU » Membre de la Commission.

**Reimann C., Caritat P.**, (1998). Chemical Elements in the Environment: Factsheets for the Geochemist and Environmental Scientist. New York (NY): Springer-Verlag.

**Roesijadi G.**, (1994). Metallothionin induction as a measure of response to metal exposure in aquatic animals. Environ. Health. Perspect. 102, 91-95 p.

**Roussel B.T.**, (2002). Contribution à l'étude de la partition des HAP entre les phases gazeuse et particulaire : Validation de la technique de prélèvement par tube Denuder annulaire. Université de Provence - Aix-Marseille I. 209 p.

## S

**Sagot E.**, (2007). Synthèse d'analogues de l'acide glutamique par transamination enzymatique: Synthèse et Modélisation, Chimie Organique Biologique, Thèse à l'Université Blaise Pascal, 332 p.

**Salvarredy M.**, (2008). Contamination en métaux lourds des eaux de surface et des sédiments du Val de Milluni (Andes Boliviennes) par des déchets miniers, Approches géochimique, minéralogique et hydrochimique, Sciences de la Terre et Environnement, Université Toulouse III - Paul Sabatier, 318 p.

**Shimmo M., Saarnio K., Aalto P., Hartonen K., Hyötyläinen T., Kulmala M., & Riekkola M L.**, (2004). Particle size distribution and gas-particle partition of polycyclic aromatic hydrocarbons in Helsinki urban area. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 47(3), 223-241 p.

### T

**Tarantini A.**, (2009). Modulation de la génotoxicité des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en mélanges, Modèles, méthodes et algorithmes en biologie, santé et environnement, Thèse à l'Université Joseph-Fourier-Grenoble I, 168 p.

**Tarras-Wahlberg N.H., Flachier A., Lane S.N., Sangfors D.**, (2001). Environmental impacts and metal exposure of aquatic ecosystems in rivers contaminated by small scale goldmining: The Puyango River basin, southern Ecuador. *Sci Total Environ*, vol 278, 239 p.

**Temime B.**, (2002). Contribution à l'étude de la partition des HAP entre les phases gazeuse et particulaire: validation de la technique de prélèvement par tube denuder annulaire, Biosciences de l'environnement, Chimie et Santé, Docteur de l'Université de Provence-Aix-Marseille I, 174 p.

**Thivend P., Fonty G., Jouany J P., Durand M., Gouet P.**, (1985). Le fermenteur rumen, *Reproduction Nutrition Développement*, 25(4B), 729-753 p.

### U

**US EPA.**, (1984). Review and evaluation of the evidence for cancer associated with air pollution, EPA-450/5- 83-006R, U.S. Environmental Protection Agency, Arlington.

### V

**Vallé M.**, (1996). Mise au point de techniques microbiologiques et biochimiques d'évaluation de l'altération de la chair de poissons marins et essais de modélisation, Microbiologie et biochimie, Thèse à l'Université des sciences et technologies de Lille, 191 p.

**Vignet C.**, (2014). Altération de la physiologie des poissons exposés à des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP): comportement et reproduction, Physiologie, Docteur en biologie des organismes, populations, interactions, Université de La Rochelle, 393 p.

### W

**Waalkes M.P.**, (2000). Cadmium carcinogenesis in review. *J.Inorg.Biochem*, 79: 241-244 p.

**Wechsler D., Walther B., Jakob E., Winkler H.**, (2009). Importance des amines biogènes dans l'alimentation et présence dans différents fromages, ALP forum 2009 N°73, 25p.

**WESSEL N.**, (2010). Étude des voies de bioactivation du benzo [a] pyrène et du fluoranthène chez la sole commune (*Solea solea*): Profil métabolique et génotoxicité , physiologie, biologie des organismes, populations, interactions, Thèse doctorat, Université de Nantes. 259p.

**WHO [World Health Organisation]**, (1976). Environmental Health Criteria. Mercury. Geneva. Switzerland.

**WHO.**, (1994). Humain exposure to lead. human exposure assessment series . report on the human exposure assessment location (HEAL), programme meeting held in bangkok, Thailand , 16-19 November 1992, 216 p.

1. <http://www.alloprof.qc.ca/BV/pages/s1202.aspx> (Consulté le 24/02/2017, 13:15).
2. <http://www.fsr.ac.ma/cours/chimie/El%20hajji/chap%20IV%20S4.pdf> (Consulté le 26/3/2017, 10:23).
3. <http://www.futura-sciences.com/sciences/dossiers/matiere-tout-savoir-mercure-698/> (consulté le 10 /05/2017, 20 :00)
4. <http://lenoni.e-monsite.com/pages/notre-laboratoire/dosage-par-spectrophotometrie-d-absorption/la-spectrometrie-d-absorption-atomique.html> (Consulté le 26/04/2017, 12:13).
5. [http://www.onema.fr/sites/default/files/pdf/66\\_ONEMA\\_DRC-13-SourcesHAP.pdf](http://www.onema.fr/sites/default/files/pdf/66_ONEMA_DRC-13-SourcesHAP.pdf) (Consulté le 25/03/2017, 1:25).
6. [http://www.cancer-environnement.fr/235-Hydrocarbures-aromatiques-polycycliques\\_HAP.ce.aspx#](http://www.cancer-environnement.fr/235-Hydrocarbures-aromatiques-polycycliques_HAP.ce.aspx#) (Consulté le 25/03/2017, 18 :05).
7. [https://www.agroscope.admin.ch/agroscope/de/home/themen/lebensmittel/ernaehrung-gesundheit/milchprodukte/reaktionen\\_stoffwechselprodukte/biogene\\_amine/\\_jcr\\_content/par/columncontrols/items/0/column/externalcontent.external.exturl.pdf/aHR0cHM6Ly9pcmEuYWdyb3Njb3BILmNoL2RILUNIL0VpbnpH/B1Ymxpa2F0aW9uL0Rvd25sb2FkRXh0ZXJuP2VpbnpH/B1Ymxp/a2F0aW9uS WQ9MjE0Mzg=.pdf](https://www.agroscope.admin.ch/agroscope/de/home/themen/lebensmittel/ernaehrung-gesundheit/milchprodukte/reaktionen_stoffwechselprodukte/biogene_amine/_jcr_content/par/columncontrols/items/0/column/externalcontent.external.exturl.pdf/aHR0cHM6Ly9pcmEuYWdyb3Njb3BILmNoL2RILUNIL0VpbnpH/B1Ymxpa2F0aW9uL0Rvd25sb2FkRXh0ZXJuP2VpbnpH/B1Ymxp/a2F0aW9uS WQ9MjE0Mzg=.pdf) (Consulté le 14/03/2017, 22 :15).
8. <http://www.fao.org/3/a-i0928f/i0928f04.pdf> (Consulté le 16/03/2017, 23 :10).
9. <http://espacesinterieurs.com/Les%20migraines.pdf> (Consulté le 20/03/2017, 17 :20).
10. <http://e-allergo.com/files/aliments-riches-en-histamine-et-en-tyramine.pdf> (Consulté le 05/04/2017, 00:20).
11. [https://www.inviolabs.com/module\\_externer/information\\_scientifique/document\\_61.pdf](https://www.inviolabs.com/module_externer/information_scientifique/document_61.pdf) (Consulté le 25/02/2017, 19 :02).
12. <http://fishislife.com/fr/nos-actualites/recrudescence-des-intoxications-a-l-histamine-en-europe> (Consulté le 17/03/2017, 17:52).
13. [http://bibliomer.ifremer.fr/documents/fiches/fiche\\_synthese\\_histamine.pdf](http://bibliomer.ifremer.fr/documents/fiches/fiche_synthese_histamine.pdf) (Consulté le 18/03/2017, 16:45).

# **GLOSSAIRE**

**Ichtyohémotoxisme:** est un terme employé pour les poissons qui contiennent dans leur sang une substance toxique, qui provoque des troubles chez des personnes consommant le poisson cru.

**Adsorption:** phénomène physico-chimique par lequel des molécules de la phase liquide se fixent sur des solides. L'adsorption est un phénomène de surface, incluant la surface interne engendrée par les fissures et les pores accessibles aux molécules de la phase liquide.

**Biodisponibilité:** Aptitude d'un élément à être absorbé et assimilé par les organismes vivants.

**Bio-accumulation:** prend en considération toutes les voies de transfert d'une substance dans un organisme, l'air, l'eau, les sédiments, les sols et la nourriture.

**Bio-concentration:** résultat net de l'accumulation, la distribution et l'élimination d'une substance dans un organisme vivant en relation directe avec l'eau, seule voie d'exposition.

**Bio-amplification:** définie comme le processus d'accumulation et de transfert de la substance chimique par l'intermédiaire de la chaîne alimentaire, conduisant à une augmentation de la concentration dans les organismes appartenant aux niveaux supérieurs de la chaîne alimentaire.

**Matière organique:** matière qui compose les êtres végétaux, animaux ou les micro-organismes. La matière organique se distingue par son évolution rapide et son besoin de carbone.

**Polluant organique persistant:** Molécule toxique qui est persistante dans l'environnement, qui peut s'accumuler dans les organismes vivants et être transportée sur de longues distances.

**Salubrités des produits de pêches:** Assurances que les produits de pêche sont acceptables pour la consommation humaine, conformément à l'usage auquel ils sont destinés.

**Itai-Itai:** La maladie Itai-itai est une pathologie due à une intoxication au cadmium (ce métal remplace dans l'organisme les minéraux essentiels). Cette pathologie affecte essentiellement les femmes âgées de la région de Toyama, au Japon (Itai-itai signifie littéralement aïe-aïe), là où il y a d'importantes mines qui rejettent le cadmium dans le riz des rizières. La maladie Itai-itai se traduit par une fragilisation des os (troubles de la calcification osseuse), une insuffisance rénale et des douleurs articulaires et dorsales (d'où le nom de la maladie).