

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique
Université Saâd Dahlab Blida 1
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de Biologie et physiologie cellulaire

**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention
du Diplôme de Master**

Option : Microbiologie et Toxicologie Alimentaire (MTA)

Thème

**Contribution à l'étude de la contamination par les métaux traces (Pb,
Cu, Cd, Ni, Zn) de la sardine
(*Sardina pilchardus*, Walbbaum, 1792) de la baie d'Alger**

Présenté le 30 juin 2014 par:

Mlle KECHIDI Soumia Aicha.

Présenté devant le jury

Mme CHÉRIF H.

MCB (FSNV)

Présidente

Mme KHEDDAM H.

MAA (FSNV)

Examinatrice

M. OUSSADOU L.

MAA (FSNV)

Examinateur

Mme AMAROUCHE N.

MAA (FSNV)

Promotrice

M. OUABDESSLAM L.

MAB (CRAPC)

Co-promoteur

Promotion 2013-2014

Remerciements

Je remercie Dieu, le Tout Puissant, le Miséricordieux, qui m'a donné l'opportunité de mener à bien ce travail.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma reconnaissance à tous les membres de ce jury pour l'honneur qu'ils me font en acceptant de juger ce travail.

*Que **Mme CHERIF**, trouve ici l'expression de mes vifs remerciements pour l'honneur qu'elle me fait en président ce jury, et pour sa douceur lors des cours donnés.*

*Je suis très heureuse de compter dans ce jury **Mme KHEDDAM**, qui me fait l'honneur de juger ce travail. Ses remarques me seront certainement profitables et enrichissantes.*

*Je suis très honorée de compter dans ce jury **M. OUSSADOU**, qui me fait le plaisir d'examiner ce travail. Ses critiques me seront assurément bénéfiques. Je tiens aussi à le remercier pour tout le savoir qui m'a transmis durant mes années d'apprentissage.*

*Au même titre je voudrai remercier **Mme AMAROUCHE**, ma promotrice et **M. OUABDESSELAM**, mon co-promoteur, qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond respect pour leurs confiance en moi, leurs soutien, leurs patience, et leurs encouragement pour mener à bien ce travail, sans oublier les valeurs de travail, de rigueur et de valeurs humaine qu'ils m'ont pu me transmettre. Ils ont su me donner confiance en mes compétences*

*Mes remerciements vont aux **personnels** du laboratoire et de la bibliothèque de l'ENSSMAL, et à celui du centre du CRAPC, pour leurs précieux conseils, leurs disponibilités et sur tous leurs sourire.*

*Mes remerciements vont également à tous les enseignants qui ont contribué à ma formation, et sur tout à **Mme BOUDJEMAA** pour m'avoir transmis l'amour de la recherche scientifique.*

*A **Mme BOUCHENABA**, Ma Tata à moi ! Je te remercie du fond du cœur pour tes précieux conseils et ton soutien, et sur tout pour m'avoir mis sur cette voie.*

*Aux **Etudiants de ma promotion**, je leurs dis merci pour les moments de joies et de stress passés ensemble.*

Résumé

Ce travail se propose d'évaluer la contamination par cinq métaux traces (Cd, Pb, Ni, Cu, Zn) de *Sardina pilchardus* pêchée dans la baie d'Alger. Deux prélèvements ont été effectués. La teneur de ces MT a été évaluée dans trois matrices différentes : la chair, les viscères et la tête / squelette. La Spectrométrie d'Absorption Atomique (SAA) a été utilisée pour le dosage.

Les résultats obtenus montrent que les concentrations les plus élevées sont relevées au niveau des viscères, suivies par la tête/ squelette et enfin par la chair du poisson. Dans les trois matrices, le classement des ETM est comme suit : Zn>Pb>Ni>Cu>Cd.

La concentration du zinc est la plus élevée ; les valeurs du plomb retrouvées sont quant à elles supérieures à celles fixées par la réglementation algérienne, ce qui pourrait nous laisser supposer qu'il existerait une éventuelle pollution de la zone étudiée par ce métal.

En ce qui concerne le cuivre et le nickel, ils ont été retrouvés à des concentrations plus faibles que celle citées dans la littérature, ceci peut être expliqué par leur implication dans le métabolisme du poisson étant des MT essentiels.

Les concentrations de cadmium sont inexistantes dans nos résultats.

Mots clés : Métaux traces, Contamination, *Sardina pilchardus*, Baie d'Alger, SAA.

Abstract

This work propounds (intends) to evaluate the contamination by five trace metals (Cd, Pb, Ni, Cu, Zn) of *Sardina pilchardus* caught in the Bay of Algiers. Two samples were made. The content of these trace metals were evaluated in three different parts : the flesh, viscera and head / skeleton. The Atomic Absorption Spectrometry (AAS) was used for the assay. The results shows that ; the highest concentrations are found in the viscera, followed by the head / skeleton and finally the flech of fish. In all three parts, the classification of TM is as follows: Zn > Pb > Ni > Cu > Cd.

The zinc concentration is the highest; values of plumb are higher than those fixed by the Algerian regulations, which could let us predicate (presume/ assume) that there is a potential contamination of the studied area by this metal.

As for (concerning) copper and nickel, they were found at lower concentrations than that reported in the literature. This can be explained by their involvement in the metabolism of fish and by being essential TM.

Cadmium concentrations are non-existent in our results.

Keywords: Trace metals, Contamination, *Sardina pilchardus*, Bay of Algiers, AAS.

ملخص:

يعتزم هذا العمل لتقييم تلوث خمسة المعادن الذرة (الكاديوم، الرصاص، النيكل، النحاس، الزنك) في ساردينا بيلكاردوس. مصطادة في خليج الجزائر العاصمة. تم تقييم محتوى هذه المعادن الذرة في ثلاث مصفوفات مختلفة: اللحم، الأحشاء والرأس / هيكل عظمي. تم استخدام الطيف الامتصاص الذري (AAS) للفحص.

بينت النتائج أن أعلى التركيزات توجد في الأحشاء، يليه رأس / الهيكل العظمي، وأخيرا اللحم. في جميع المصفوفات الثلاثة، تم تصنيف تركيزات هذه المعادن كما يلي: الزنك < الرصاص < النيكل < النحاس < الكاديوم.

تركيز الزنك هو الأعلى؛ قيم الرصاص وجدت في أعلى تركيز من تلك التي تحدها اللوائح الجزائرية. يمكن أن نفترض أن هناك تلوث محتمل للمنطقة التي تم فيها درس هذا المعدن.

فيما يتعلق بالنحاس والنيكل، عثر عليهم في تركيزات أقل من الموجودة في الدراسات السابقة، وهذا قد يفسر بمشاركتهم في عملية التمثيل الغذائي للأسماك كونهما معادن أساسية. أما تركيزات الكاديوم فهي معدومة في نتائجنا.

الكلمات المفتاحية:

المعادن الذرة، تفشي، ساردينا بيلكاردوس، خليج الجزائر، الطيف الامتصاص الذري (SAA).

Glossaire

Gonochorique : relatif au fait que les gamètes mâles et femelles proviennent d'individus différents.

Néphrotoxicité : toxique pour le rein, qui détruit les cellules rénales.

Pélagique : vit dans les eaux proches de la surface ou entre la surface et le fond.

Phytoplanctonique : se nourrit de phytoplancton, qui est du plancton d'origine végétal

Zooplanctoniques : qui se nourrit de zooplancton, qui est du plancton d'origine animale

Abréviations utilisées

- **AESA** : Autorité Européenne de Sécurité Sanitaire des Aliments.
- **AFSSA** : Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments.
- **AIEA** : Agence Internationale de l'Energie Atomique.
- **CE50** : Concentration Efficace sur 50 % du peuplement.
- **CL50** : Concentration Létale sur 50 % du peuplement.
- **DHTP** : Dose Hebdomadaire Tolérable Provisoire.
- **DJA** : Dose Journalière Admissible.
- **DPRH** : Direction de la Pêche et des Ressources Halieutiques.
- **EFSA** : European Food Safety Authority .
- **FAO** : Food and Agriculture Organization.
- **INRS** : Institut National de Recherche et de Sécurité.
- **IARC** : International Agency for Research on Cancer
- **JECFA** : Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants.
- **Med Pol** :
- **NOEC** : Concentration sans effet observé (No Observed Effect Concentration).
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.
- **PMTDI** : Provisional Maximum Tolerable Daily Intake
- **WHO** : World Health Organization.

Sommaire

Introduction	
1. Partie bibliographique	1
1. Généralités sur <i>Sardina pilchardus</i>.....	2
1. 1. Aspect biologique de <i>Sardina pilchardus</i>.....	2
1. 1. 1. Présentation et classification.....	2
1. 1. 2. Distribution et comportement.....	3
1. 1. 3. Reproduction et maturité sexuelle.....	3
1. 1. 4. Croissance et développement.....	4
1. 2. Consommation de <i>Sardina pilchardus</i>.....	4
1. 2. 1. Capture de la sardine en Algérie.....	4
1. 2. 2. Intérêt nutritionnel de la sardine.....	5
1. 2. 3. Altération de la sardine.....	5
2. Pollution par les métaux traces.....	8
1. Définition de la pollution marine.....	8
2. Les métaux traces.....	8
2. 1. Définition et classification.....	8
2. 2. Origine des métaux.....	9
2. 3. Caractéristiques physicochimiques de quelques métaux traces.....	10
2. 4. Ecotoxicologie des métaux traces	11
2. 4. 1. Notion de danger.....	11
2. 4. 2. Notions d'exposition.....	14
2. 4. 2. 1. Biodisponibilité.....	14
2. 4. 2. 2. Dégradation et biodégradation.....	15
2. 4. 2. 3. Voies de pénétration.....	16
2. 4. 2. 4. Bioaccumulation.....	16
2. 4. 2. 5. Biomagnification ou bioamplification.....	17
2. 4. 2. 6. Elimination et voies d'excrétion.....	18
II. Matériel et méthodes	
1. Présentation de la zone d'étude.....	20
1. 1. Situation géographique.....	20
1. 2. Réseau hydrographique.....	21

1.3. Facteurs hydrodynamique	
1. 3. Sources de pollution.....	22
2. Méthodologie du travail	22
2. 1. Echantillonnage.....	22
2. 2.Traitement des échantillons au laboratoire.....	25
2.2.1. Classement des individus et séparation des matrices	
2.2.2. Conservation	
2.2.3. Lyophilisation	
2.2.4. Broyage	
2.3. Extraction des métaux traces	
2.3.1. Minéralisation	
2. 4. Analyse des métaux traces.....	27
2. 4. 1. La Spectrométrie d’Absorption Atomique (SAA).....	27
2. 4. 2. Calcul de la concentration en métaux traces.....	28
III. Résultats et discussion	31
1. Résultats.....	31
1. 1. Classes de tailles et paramètres mesurés.....	31
1. 2. Teneurs métalliques.....	33
2. Discussion.....	36
Conclusion.....	38
Référence bibliographique.....	39
Annexes	

Liste des figures

Figure 1. <i>Sardina pilchardus</i> Walb.....	2
Figure 2. Signes d'altération de la sardine (branchie).....	6
Figure 3. Signes d'altération de la sardine (couleur et pupilles).....	6
Figure 4. Principes des toxicités aiguë et chronique (BOUCHESEICH et al., 2002)...	12
Figure 5. Représentation schématique des trois groupes de facteurs interagissant dans le processus de bioaccumulation des métaux traces (CASSAS, 2005).....	15
Figure 6. Voies d'accumulation et de transfert des polluants dans les maillons de la chaîne trophique (RAMADE, 1979).....	16
Figure 7. Situation géographique de la baie d'Alger (BACHARI, 2009).....	20
Figure 8. Schéma probable de la dynamique sédimentaire dans la baie d'Alger (LEM, 1998).....	21
Figure 9. La population et les rejets d'eaux usées dans la baie d'Alger (PAC, 2005).	22
Figure 10. Mesure de la Lf à l'aide de l'ichtyomètre.....	23
Figure 11. Classement des individus par classes de taille.....	23
Figure 12: Séparation des trois matrices (chair, viscères et tête + squelette).....	24

Liste des tableaux

Tableau 1. Tailles minimales marchandes des principales espèces des petits pélagiques.....	4
Tableau 2. Les seuils limites du plomb, du cadmium et du mercure dans les poissons issus de la pêche et de l'aquaculture.....	7
Tableau 3. Propriétés physicochimiques et formes de quelques métaux.....	10
Tableau 4. Condition expérimentales.....	28
Tableau 5. Nombre d'individus pour chaque classe de taille (pour les deux prélèvements).....	31
Tableau 6. Paramètres mesurés pour chaque prélèvement.....	33
Tableau 7. Résultats des concentrations moyennes en métaux lourds pour le prélèvement n°1.....	34
Tableau 8. Résultats des concentrations moyennes en métaux lourds pour le prélèvement n°2.....	34
Tableau 9. Résultats des concentrations moyennes en métaux lourds pour les deux prélèvements.....	35

Introduction

La mer Méditerranée est l'une des mers les plus riches en ressources marines, se caractérisant par une biodiversité exceptionnelle d'une part, et d'autre part c'est un milieu où se développent de nombreuses activités (pêche, aquaculture, thalassothérapie, tourisme,...). C'est aussi un réceptacle de pollution terrestre, de par ses caractéristiques géomorphologiques, la Méditerranée est l'une des mers les plus polluées du monde. Elle accumule 5 à 10 fois plus de polluants que les océans (AUBERT et al., 1983). Les causes de ces introductions sont multiples (transport maritime, rejets industriels, rejets urbains,...). En Algérie, la croissance démographique, l'extension des zones urbaines et l'industrialisation massive ne font qu'accroître et aggraver l'état de pollution de ses côtes. Ces substances chimiques sont représentées entre autres par les métaux lourds ou Eléments Traces Métalliques (ETM), dépassant un certain seuil ils portent préjudice à la qualité de l'eau et par conséquent à sa flore et sa faune en la détruisant ou en s'accumulant le long de la chaîne trophique arrivant jusqu'au dernier maillon « l'homme ». Parmi cette faune marine, *Sardina pilchardus* ou communément appelée la sardine, représente un apport nutritionnel important dans la vie du consommateur algérien ; inscrite dans la culture culinaire Algérienne, son prix abordable par toutes les classes sociales économiques et ces vertus nutritionnelles importantes (apport en acides gras essentiels, apport protéique important et en vitamines et sels minéraux non négligeables) nous ont poussé à étudier son niveau de contamination par certains ETM (Cadmium, Plomb, Cuivre, Nickel, Zinc) comme objectif premier afin d'avoir une idée sur le risque sanitaire encouru par le consommateur.

Le second objectif, est d'apprécier le niveau de la contamination de la baie d'Alger, *Sardina pilchardus* faisant partie des espèces préconisées par le MEDPOL (UNEP, 1993) pour le suivi des contaminants chimiques dans les organismes marins.

Le plomb et le cadmium étant des contaminants dangereux et toxiques, leurs présences dans les poissons sont soumises à une réglementation. Pour le cuivre, le nickel et le zinc la réglementation Algérienne n'a par contre fixé aucun seuil limite pour leurs présences.

Ce travail comporte trois parties

- la première partie aborde une description générale de l'espèce *Sardina pilchardus*, ainsi que des rappels sur la pollution marine par les métaux traces,
- la deuxième partie résume la méthodologie du travail expérimental,
- enfin la troisième partie est consacrée à la présentation des résultats et leur discussion.

Enfin, une conclusion générale vient clore ce mémoire.

I. Généralités sur *Sardina pilchardus*

1. Aspect biologique de *Sardina pilchardus*

1. 1. Présentation et classification

Sardina pilchardus (Walbaum, 1792), communément appelée sardine, est un petit poisson de forme fusiforme et allongée dont la taille moyenne est de 10 à 20 cm avec un maximum de 25 cm. De couleur bleu sombre sur le dos avec des reflets verdâtres, argentée sur les flancs (Figure 1) et blanc au niveau du ventre, sa peau est revêtue d'écailles. La sardine présente un opercule strié marqué, qui porte une tache noire suivie de plusieurs autres sur son dos, présentes selon son état de fraîcheur (FISHER et al., 1987 ; BRAHIMI et al., 1993). Sous chaque opercule se trouvent quatre branchies (organes respiratoires) qui permettent l'échange gazeux entre le milieu aquatique et le sang.

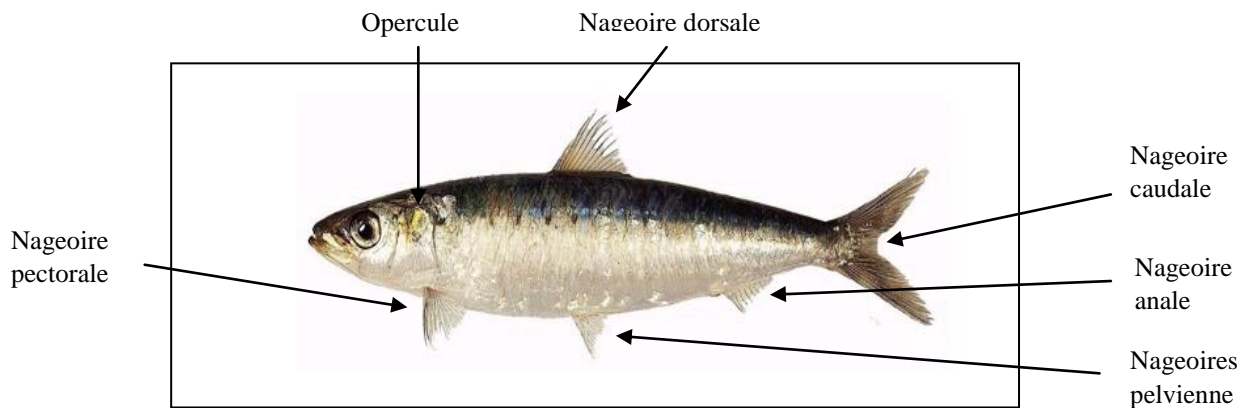


Figure 1. *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792).

La position actuelle de *Sardina pilchardus* dans la classification phylogénétique des ostéichthyens est donnée par LECOINTRE et LE GUYADER (2001) :

- Embranchement : Vertébrés
- Sous-embranchement : Gnathostomes
- Superclasse : Poissons
- Classe : Ostéichthyens
- Sous-classe : Actinoptérygiens
- Superordre : Téléostéens
- Ordre : Clupéiformes
- Sous-ordre : Clupéoidés
- Famille : Clupéidé
- Genre : *Sardina*
- Espèce : *S. pilchardus* (Walbaum, 1792)

Il existe deux sous-espèces de sardine : *Sardina pilchardus sardina*, présente dans le bassin méditerranéen, et *Sardina pilchardus pilchardus* caractéristique de l'Atlantique (BISEAU, 2006). La distinction entre les deux sous-espèces se base, entre autres, sur la tâche noire présente sur l'opercule et les deux derniers rayons de la nageoire anale qui sont plus allongés que les autres chez *Sardina pilchardus*.

1. 2. Distribution et comportement

En Méditerranée, la sardine est commune dans le bassin occidental, rare dans le bassin oriental, sauf dans l'Adriatique (DUMAY, 2006). Sa distribution en Algérie passe de l'ouest à l'est en passant par le centre (BRAHIMI et al., 1993). En Atlantique Nord-Est, la sardine se rencontre de la Norvège à l'Ecosse jusqu'au Sénégal (QUERO et VAGNE, 1997).

La sardine est un poisson pélagique ou semi-pélagique. Elle forme des bancs plus ou moins épars la nuit à une profondeur de 15 à 40 m (QUERO et VAGNE, 1997) qui tendent à se regrouper le jour près du fond (BRAHIMI et al., 1993) sans dépasser les 150 m de profondeur (DUMAY, 2006).

Conditionnée par la nutrition, la reproduction et les conditions thermiques, *Sardina pilchardus* effectue des déplacements saisonniers de faible amplitude de la côte vers le large et inversement. Au stade larvaire, elle migre vers la côte qui est une zone phytoplanctonique plus chaude; les adultes quant à eux sont plutôt zooplanctoniques (PICHO et ALDEBERT, 1978 ; DUMAY, 2006).

1. 3. Reproduction et maturité sexuelle

Espèce gonochorique, sa reproduction se fait par fécondation externe (BONNEFIS et al., 2010). D'après MOUHOUB (1986), la période de ponte de la sardine méditerranéenne est située en hiver, de novembre à février. La ponte s'effectue dans les limites de températures allant de 14 à 15°C (DJABALI et MOUHOUB, 1989). Une femelle peut pondre jusqu'à 60 000 œufs pélagiques qui flottent entre 10 et 70 m, éclosent 2 à 4 jours après la ponte et donnent naissance à une larve de 4 mm de long. Celle-ci aboutira à une sardine juvénile au bout de 12 jours et retournera près des côtes pour y rester jusqu'au début de l'hiver (BISEAU, 2006).

1. 4. Croissance et développement

La sardine a une croissance très rapide, notamment dans sa phase juvénile. Mais il existe des différences de croissance entre groupes, selon la période et la région de naissance et aussi en fonction du sexe. Une sardine née au sud du Golfe de Gascogne (France) et issue d'une ponte printanière aura une croissance plus rapide qu'une autre née au nord pendant l'automne. Les individus issus de pontes de printemps et d'automne sont respectivement matures au printemps et à l'automne de l'année suivante. La longévité maximale des sardines est d'environ 10 ans, et à âge égal, les femelles sont plus grandes que les mâles (BISEAU, 2006). L'échelle de répartition de la maturité sexuelle comprend 8 stades et la sardine atteint sa taille de première maturité sexuelle à 12.9 cm pour les femelles et 11.9 cm pour les mâles (MOUHOU, 1986).

2. Consommation de *Sardina pilchardus*

2. 1. Capture de la sardine en Algérie

La pêche à la sardine est une activité fortement influencée par les conditions hydrologiques. En effet, la température agit directement sur les migrations ainsi que sur l'importance et la localisation des concentrations de sardines et donc sur leur accessibilité aux flottilles de pêche (FOREST, 2001).

La marge continentale de l'Algérie recèle des ressources halieutiques non négligeables. Pour l'année 2013, le port d'Alger a compté une production de 3 634 787 tonnes de poissons, dont 949 665 tonnes représentent la production de *Sardina pilchardus* (DPRH, 2014).

Par ailleurs, depuis juillet 2004, sont prohibés la capture, le transport et la commercialisation des espèces n'ayant pas atteint la taille minimale marchande (décret exécutif n°04-188). Cette réglementation est indispensable pour empêcher la capture des individus immatures, éviter la surexploitation des stocks et assurer la pérennité de la ressource. Le Tableau 1 montre les tailles minimales marchandes des principales espèces des petits pélagiques.

Tableau 1. Tailles minimales marchandes des principales espèces des petits pélagiques.

Espèce	Taille (cm)
Sardine (<i>Sardina pilchardus</i>)	11
Anchois (<i>Engraulis encrasicolis</i>)	09
Saurel (<i>Trachurus trachurus</i>)	15
Allache (<i>Sardinella aurita</i>)	14

2.2. Intérêt nutritionnel de la sardine

Consommée crue, cuite, fumé ou en conserve, la sardine est un poisson qui présente un grand intérêt nutritionnel (DUMAY, 2006). En effet, c'est est l'un des poissons les plus riches en lipides. C'est une excellente source d'acide eicosapentaénoïque (AEP) et d'acide docosahexaénoïque (ADH), deux acides gras de la famille des oméga-3 qui représentent 20 à 30% des acides gras totaux de la sardine. Ces acides gras agissent comme précurseurs de messagers chimiques favorisant un bon fonctionnement des systèmes immunitaire, circulatoire et hormonal (DUMAY, 2006 ; DE KONING et H MOL, 1991). L'AFSSA (2003) recommande un apport alimentaire en acides gras insaturés environ 3 fois supérieur à celui en acides gras saturés. Un rapport de la FAO reconnaît comme essentiels dans l'alimentation humaine les acides gras insaturés oméga-3 et 6 (WHO/FAO, 1977), du fait que les êtres supérieurs sont incapables de synthétiser leurs précurseurs et la synthèse de leurs dérivés est insuffisante (DUMAY, 2006).

La sardine est également un des poissons les plus riches en protéines (autour de 20% de la composition totale du filet). Ces protéines ont une très bonne valeur nutritionnelle avec un index UPN (Utilisation Protéique Nette) supérieur à celui du bœuf. De plus, ces protéines sont une bonne source d'acides aminés indispensables puisque 150g de sardine suffisent à couvrir 100% des besoins quotidiens. La sardine est pauvre en glucides (0,1% par rapport au poids frais) (DE KONING et H MOL, 1991).

Comme pour les acides aminés, une portion de 150 g couvre les besoins journaliers en vitamines D et E et apporte une quantité intéressante de vitamine A. Elle contient peu de sodium mais est riche en calcium, magnésium et potassium, et constitue un excellent apport de zinc et d'iode. Avec toutes ces qualités, la sardine est un aliment hypocalorique (170 kcal pour 100g) pouvant être intégrée dans la plupart des régimes alimentaires (DE KONING et H MOL, 1991). Elle a ainsi été classée parmi les 11 espèces de poisson possédant les meilleures recommandations nutritionnelles par la société américaine du cœur (American Heart Association) (SIDHU, 2003).

2. 3. Altération de la sardine

Le poisson frais est un aliment très périssable. Sa détérioration progresse rapidement après la pêche. Sous les températures ambiantes des Tropiques, le poisson s'altère en moins de 12 heures. Cependant, de bonnes techniques de pêche (qui abîment très peu le poisson) et la

réfrigération, au moyen de glace sur le bateau, permettent de prolonger la durée de conservation du poisson frais (FAO, 2009)

Les caractéristiques d'une sardine avariée par rapport à une sardine fraîche sont les suivantes : une odeur forte, des branchies rouge foncé et visqueuses (Figure 2), au lieu de branchies rouge vif, une chair molle avec traces de sang de couleur brune, au lieu de chair ferme avec sang rouge, des pupilles rouges laiteuses, au lieu de pupilles claires (Figures 3) (MAAS-VAN BERKEL et al., 2004 ; FAO, 2009).



Figure 2. Signes d'altération de la sardine (branchie).

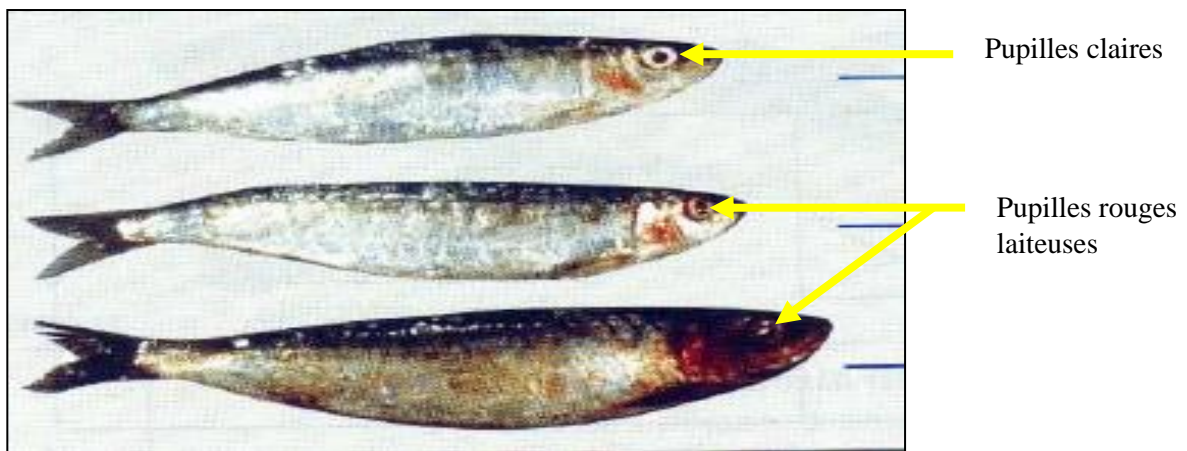


Figure 3. Signes d'altération de la sardine (couleur et pupilles).

Mise à part les altérations physiques visibles, la sardine, comme beaucoup d'organismes marins, est vectrice de microorganismes pathogènes et est un réservoir de nombreux contaminants chimiques : PCB, dioxines mais aussi métaux lourds, principalement le mercure, l'arsenic, le cadmium et le plomb (FAO, 2009).

Pour cela, un contrôle rigoureux des taux de ces contaminants est imposé. En Algérie, les doses de mercure, méthylmercure, cadmium et de plombs autorisés dans les organismes marins et la sardine sont fixées par l'arrêté interministériel 5 janvier 2011 fixant les seuils

limites de présence de contaminants chimiques, microbiologiques et toxicologiques dans les produits de la pêche et de l'aquaculture (Tableau 2).

Tableau 2. Les seuils limites du plomb, du cadmium et du mercure dans les poissons issus de la pêche et de l'aquaculture.

Produits	Teneurs maximales (mg/kg de poids à l'état frais)
Plomb (Pb) - Chair musculaire de poisson (1) (2)	0.3
Cadmium (Cd) - Chair musculaire de poissons (1) (2) - Chair musculaire de <i>Sardina pilchardus</i> (1) (2)	0.05 0.10
Mercure - Chair musculaire de poissons (1) (2)	0.5

(1) Chair musculaire de poissons vivants, de poissons frais, congelés et les filets de poissons et autres chairs de poissons (même hachés), frais ou congelés.

(2) Lorsque le poisson est consommé entier, la teneur maximale s'applique au poisson entier.

Sardina pilchardus fait d'ailleurs partie des espèces préconisées par le MEDPOL (UNEP, 1993) pour le suivi des contaminants chimiques dans les organismes marins.

2. Pollution par les métaux traces

1. Définition de la pollution marine

Il existe plusieurs définitions pour le terme de pollution marine, parmi lesquelles on note celle donnée par le GESAMP (1997) (Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution) : «L'introduction, directe ou indirecte par l'homme, de substances ou d'énergie dans le milieu marin qui a ou peut avoir des effets nuisibles, tels que dommages aux ressources biologiques, dangers pour la santé humaine, entraves aux activités maritimes, y compris la pêche, détérioration des qualités de l'eau de mer pour son utilisation, et réduction des possibilités dans le domaine des loisirs.»

La particularité de la pollution marine est qu'elle n'est pas localisée, comme cela peut arriver sur terre, les substances polluantes se dispersent dans le milieu au gré des vents et de l'hydrodynamisme.

2. Les métaux traces

2. 1. Définition et classification

Un métal est un élément chimique naturel, issu le plus souvent d'un minerai. Bon conducteur de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité, il se combine aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisés par l'homme depuis l'antiquité (CASAS, 2005). Le terme «métaux traces» (MT) est actuellement utilisé pour décrire les «les métaux lourds», car ceux-ci se retrouvent souvent à l'état de traces dans les eaux et les solides. On les appelle également éléments traces métalliques (ETM).

D'un point de vue purement scientifique et technique, les métaux lourds peuvent être également définis comme :

- tout métal ayant une densité supérieure à 5,
- tout métal ayant un numéro atomique élevé, en général supérieur à celui du Sodium ($Z=11$),
- tout métal pouvant être toxique pour les systèmes biologiques (DI BENEDETTO, 1997).

Les métaux traces peuvent être classés en fonction de leur caractère essentiel pour les organismes vivants en deux groupes :

■ Les métaux traces essentiels ou oligoéléments

Certains métaux traces sont essentiels pour les organismes vivants et sont souvent liés à des protéines. Leur rôle est important en tant qu'activateurs enzymatiques et sont impliqués dans

la biosynthèse de certaines enzymes et dans la croissance hormonale (DA SILVA, 1978). Des symptômes pathologiques apparaissent lorsque leur teneur diminue ou qu'ils sont absents, ces symptômes disparaissent lorsqu'ils sont rajoutés. Cependant ces éléments essentiels peuvent également être toxiques lorsqu'ils sont présents à de trop fortes concentrations (FORSTNER et WITTMAN, 1979). Parmi ces oligoéléments, on note le sodium, le calcium, le zinc, le fer, le nickel, le cuivre et le magnésium.

■ Les métaux lourds non essentiels ou toxiques

A l'inverse des oligoéléments, ces métaux n'entrent pas dans les systèmes métaboliques et n'ont aucun rôle biologique. Certaines protéines (métallothionéines pour le cas du mercure) peuvent les fixer. Le métal ainsi stocké entre en compétition avec certains groupements (-SH pour le cas du mercure). Il s'ensuit une désorganisation de l'activité cellulaire. Ces métaux présentent des effets délétères même à des doses très faibles. Ils sont représentés principalement par le plomb (Pb), le cadmium (Cd), le mercure (Hg)... (LEGOFF et BONNOMET, 2004).

2. 2. Origine des métaux

Les éléments métalliques sont des polluants de nature chimique inorganique ayant différentes sources. Ils peuvent provenir de sources naturelles et de sources anthropogènes ; les apports atmosphériques sont également importants.

Parmi les importantes sources naturelles, citons l'érosion et le lessivage des sols, l'activité volcanique et sismique, les incendies de forêts et le dégazage naturel de l'écorce terrestre.

Les sources anthropiques sont liées à leur utilisation dans différents secteurs :

- Industries de papier : elles sont susceptibles d'émettre du cuivre, du zinc, du mercure, du plomb et du cadmium ;
- Industries de céramique et tanneries : les colorants rejetés par ce type d'industrie renferment du chrome et du cobalt ;
- Industries pétrochimiques : cette activité industrielle génère du mercure, du plomb, du cobalt, du cadmium et du manganèse ;
- usines d'incinération de déchets : les métaux émis par ce type d'industrie sont le cuivre, le zinc, le plomb, le cadmium, le nickel et l'arsenic ;
- Extractions minières : elles sont source de zinc, de cuivre, de mercure, de plomb et d'arsenic qui proviennent des décharges des effluents des mines ;

- Fabrication de peintures : le mercure, le cuivre, le zinc, le cobalt et le manganèse ;
- Agriculture : certains fertilisants et herbicides utilisés dans ce secteur contiennent du zinc, du cuivre et du manganèse.

Le degré de toxicité des métaux traces est associé à plusieurs facteurs dont la nature de la combinaison chimique dans laquelle ils entrent ainsi qu'aux conditions physiques du milieu (pH, salinité, acidité) (GUILIZZONI, 1991).

2. 3. Caractéristiques physicochimiques de quelques métaux traces

Les métaux décrits dans le Tableau 3 sont spécifiquement ceux recherchés dans cette étude.

Tableau 3. Propriétés physicochimiques et formes de quelques métaux.

Métaux	Propriétés physicochimiques	Formes
Zinc (Zn)	*Métal ductile, bleu gris, qui ternit au contact de l'air *Masse molaire de 65.409 g/mole *Friable à température ambiante mais solide entre 100 et 105°C. température d'ébullition : 907°C *Réagit avec les acides et les bases (LABLANC et al., 2004)	Trois formes principales : *Ions hydratés ($Zn(H_2O)_{2+n}$), forme la plus présente dans l'eau *Zinc complexé par les ligands organiques *Zinc absorbé (GILBIN, 2001)
Nickel (Ni)	*Métal blanc argenté, ductile *Masse molaire : 58.69g/mole ; *Solide à température ambiante, température d'ébullition : 2913 C (LACHAMBRE, et al., 2007).	*Etat divalent : constitue le seul état d'oxydation (BISSON et al., 2006 ; ANDRAL, 1994) *Etat hexahydraté $[Ni(H_2O)_6]^{2+}$: présent en milieu aqueux, c'est avec des anions présents naturellement qu'il forme des complexes solubles ($NiCl_2$, et $NiSO_4$) (BISSON et al., 2006).
Cuivre (Cu)	*De couleur orange cuivré ; *Masse molaire 63.546 g/mol, *Solide à 25°C *Température d'ébullition : 2927°C (BISSON et al., 2005b)	*Particulaire, colloïdale et dissoute *L'oxyde cuivreux, Cu_2O , est insoluble dans l'eau *Il a tendance à former des complexes avec des bases fortes (carbonates, nitrates, sulfates, chlorures). Ses sels formés sont solubles : chlorures, nitrates, et sulfates de cuivre (BOUCHESEICHE et al., 2002 ; BISSON et al., 2005b)
Plomb (Pb)	*Métal gris bleuâtre, dense et malléable *Masse molaire : 207.2g/mol *Solide à 25°C et température d'ébullition : 1740°C (BISSON et al., 2003)	*Colloïdale, particulaire et dissoute *Majoritairement inorganique, il est immobile dans l'environnement aquatique et tend à s'accumuler en sédiments. Il est plus présent dans les eaux de surface ce qui confirme son apport majoritaire atmosphérique (BELHOUCINE, 2012)
Cadmium (Cd)	*Métal blanc argenté avec des reflets bleu pâle, mou et malléable ; *Masse molaire : 121.414 avec une densité de 8.65 g/cm ³ *Dégage des vapeurs jaunes toxiques lors de l'ébullition (BELHOUCINE, 2012)	*Trois formes en milieu aquatique, dont la distinction se fait par filtration et ultrafiltration -dissoutes (< 1 nm) : espèces libres (Cd^{2+}) et formées par complexation de cadmium avec des composés minéraux ou organiques -colloïdales (de 450 à 1 nm) : lorsqu'il se fixe à des oxydes de fer, de manganèse, des hydroxydes, des carbonates, des argiles ou de la matière organique colloïdale -particulaires (> 0,45 µm) : se font par intégration du cadmium dans la structure cristalline de minéraux *Il réagit avec les acides et les bases détritiques (GONZALEZ et al., 1999)

2. 4. Ecotoxicologie des métaux traces

L'écotoxicologie étudie les impacts des agents polluants sur la structure et le fonctionnement des écosystèmes. Son objectif est avant tout la prévention. Pour cela, l'écotoxicologie caractérise le risque d'une substance qui est fonction :

- du danger de la substance : elle est fonction de la toxicité intrinsèque de la substance et permet de déterminer une concentration en dessous de laquelle la substance n'a pas d'effets nocifs sur l'organisme ;
- de la probabilité d'exposition à cette substance : elle est relative à tout ce qui peut déterminer le devenir de la substance dans l'environnement, et dépend essentiellement de ses propriétés physicochimiques, mais également des caractéristiques du milieu récepteur. La probabilité d'exposition prend également en compte la durée d'exposition (continue, occasionnelle), la voie d'exposition (percutanée, ingestion, inhalation...) et l'individu exposé (sexe, âge...) (BOUCHESEICHE et al., 2002).

2. 4. 1. Notion de danger

Le danger d'une substance est sa toxicité intrinsèque. Deux types de toxicité sont distingués suivant la rapidité d'apparition, la sévérité et la durée des symptômes, et la rapidité d'absorption de la substance toxique (Figure 4) :

- Toxicité aigüe : elle résulte d'une absorption rapide d'un toxique par voie transtégumentaire, pulmonaire ou buccale : elle se développe rapidement, à forte dose et en une courte durée (BOUCHESEICH et al., 2002). Elle touche des fonctionnalités de mortalité et d'inhibition de la mobilité (MARCHAND et al., 2006).
- Toxicité chronique : elle se produit lors d'une absorption du toxique après l'exposition du sujet à de très faibles concentrations, parfois à des doses infimes, ceci à long terme. Elle peut provoquer des troubles métaboliques ou physiologiques par effets cumulatifs susceptibles d'aboutir à la mort (BOUCHESEICH et al., 2002).

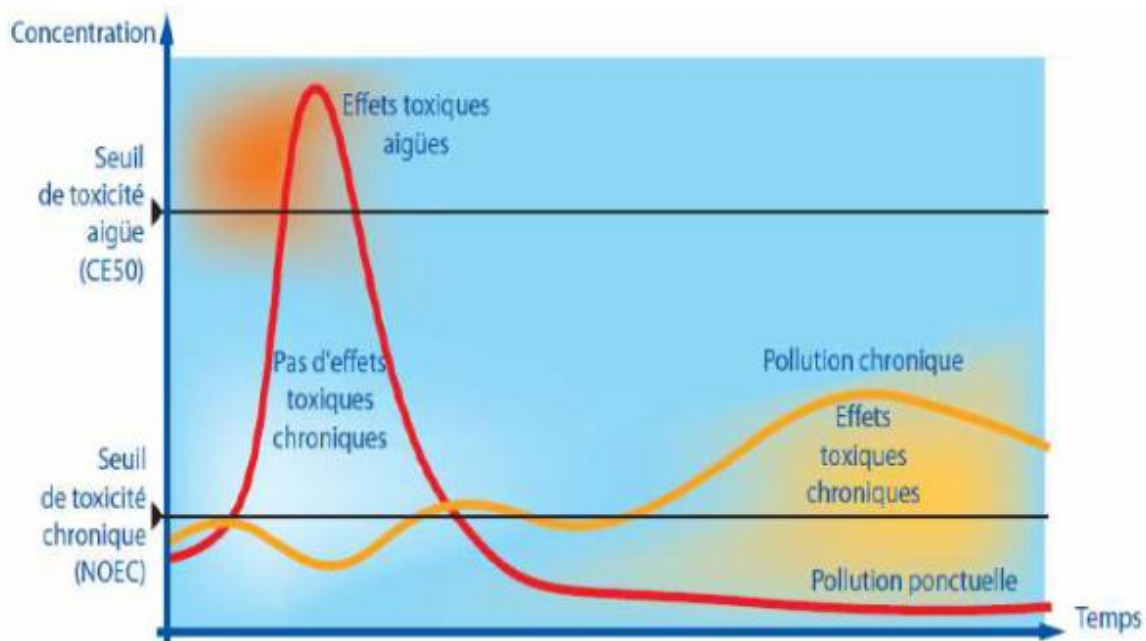


Figure 4. Principes des toxicités aiguë et chronique (BOUCHESEICH et al., 2002).

Les effets toxiques des métaux traces se manifestent différemment sur les organismes marins et sur l'homme.

■ ZINC

► **Pour les organismes marins** : selon ASSO (1982), à une concentration comprise entre 10 et 40 $\mu\text{g/l}$, il a un effet inhibiteur de la croissance et néfaste sur la reproduction des organismes marins. D'après AUGIER (2008), il induit la formation de composés insolubles au niveau des branchies des mollusques et des poissons, ce qui conduit à une perturbation de la fonction respiratoire.

► **Pour l'homme** : un élément essentiel à la vie, mais néfaste à forte dose (NEFF, 2002). Il devient toxique si sa concentration dans le corps dépasse les concentrations nécessaires, et surtout lorsqu'il est introduit par voie digestive (AUBERT et al., 1982). Ses quantités journalières recommandées sont de 7 à 15 mg/jour (BISSON et al., 2005a).

■ NICKEL

► **Pour les organismes marins** : sa toxicité est considérée comme faible (CHIFFOLOT, 2001 ; BISSON, 2006) et dépend de sa biodisponibilité (ANDRAL, 1994). Les poissons sont le plus tolérants, les stades juvéniles étant les plus sensibles, avec des CL50 allant de 7.96 à 350 mg/l (ANDRAL, 1994). Des effets sur la reproduction des bivalves ont été observés à des concentrations très élevées, supérieur à 300 $\mu\text{g/l}$ (CHIFFOLEAU, 2001).

► **Pour l'homme** : le nickel métal et ses composés inorganiques sont considérés comme assez peu toxiques. En revanche, certains composés organiques comme le nickel tétracarbonyle sont extrêmement toxiques et possèdent un fort potentiel allergène et mutagène. Sa cancérogénicité est surtout observée par inhalation. L'AFSSA (2001) a recommandé une limite de sécurité (LS) de 600 µg/j qui correspond au seuil d'apparition de la toxicité du nickel.

■ CUIVRE

► **Pour les organismes marins**: Sa toxicité vis à vis des organismes marins dépend de la forme chimique du cuivre et de son état d'oxydation (CHIFFOLEAU, 2001). Le cuivre complexé est moins toxique que le cuivre à l'état ionique (CASAS, 2005). Il devient toxique pour les larves d'huitres lorsque sa concentration dépasse 10 µg/g, avec des effets sur la reproduction et l'éclosion des œufs (BISSON et al., 2005*b*) et il inhibe la croissance du phytoplancton à partir de 4 µg/l (CHIFFOLEAU, 2001).

► **Pour l'homme** : les principales formes toxiques chez l'homme sont les formes solubles (sels de cuivre). Le JECFA (1982) a établi une dose journalière tolérable maximum provisoire (PMTDI) pour le cuivre en observant que des effets délétères chez l'homme peuvent survenir à partir de 0,5 mg/kg/j (>35 mg/j chez l'adulte).

■ PLOMB

► **Pour les organismes marins** : à partir de 1µg/l, apparition d'effets se traduisant par des perturbations du métabolisme des autres métaux divalents, notamment le calcium, le magnésium et le cuivre (MARCHAND et KANTIN, 1997). La forme la plus absorbée est le Pb⁺⁺ (BISSON et al., 2003). Les invertébrés marins au stade embryonnaire sont plus sensibles que les adultes (MARCHAND et KANTIN, 1997).

► **Pour l'homme** : la classification Comité Européen d'Etiquetage (CEE) (étiquetage réglementaire des substances et préparations dangereuses) identifie le plomb comme une substance «présentant des dangers d'effet cumulatif et présentant des risques possibles d'altérations de la fertilité». Il a pour cible le système hématopoïétique, le système nerveux, les reins et le système reproducteur mâle (LEBLANC et al., 2004). Il est la cause du saturnisme, maladie qui se caractérise par une perturbation du métabolisme par compétition avec les ions Ca²⁺ pour la formation des os (CHIFFOLEAU, 2001 ; FAIRBROTHER, 2007).

■ CADMIUM

► **Pour les organismes marins:** des concentrations de 0.05 à 1.2 µg/l peuvent provoquer des effets physiologiques et des inhibitions de croissance chez les organismes marins (CHIFFOLEAU et al., 2001), les crustacés étant beaucoup plus sensibles que les poissons (BELHOUCINE, 2012). La pollution chronique des poissons se traduit par la perturbation du système nerveux central, la nécrose des gonades mâles au-delà de 25µg/l et la nécrose des lamelles branchiales (AUGIER, 2008).

► **Pour l'homme:** le cadmium se range parmi les métaux les plus toxiques. Il est classé par l'IARC (1993) comme «cancérogène pour l'homme». Ses principaux effets toxiques se révèlent par une néphrotoxicité, une fragilité osseuse et des troubles de la reproduction. Malgré la rareté des formes organiques, le cadmium s'accumule dans les tissus vivants à cause de sa similitude avec le zinc et le calcium et sa forte affinité pour les protéines. Le transfert vers l'homme se fera par la consommation des produits marins (LEBLANC, 2004). C'est un poison cumulatif, le règlement du Comité Européen n°466/2001, fixe en 2001 le taux maximum de cadmium dans les denrées alimentaires à 1mg/kg de poids humide. En 2008, l'EFSA fixe une Dose Hebdomadaire Tolérable Provisoire (DHTP) de 2.5µg/kg poids corporel/semaine, tandis qu'en 2010 la JECFA fixe une DHTP à 3.6µg/kg pc/semaine, plus élevée que celle de l'EFSA. C'est une substance classée «dangereuse prioritaire» par la Directive Européenne 2000/60/CE.

2. 4. 2. Notions d'exposition

2. 4. 2. 1. Biodisponibilité

La biodisponibilité est l'«état dans lequel une substance peut être absorbée par les tissus des organismes». Il peut être le plus important des facteurs pour la détermination du degré de pénétration dans la chaîne alimentaire et d'accumulation dans les tissus biologiques d'un contaminant présent dans l'eau ou les sédiments (MARCHAND et al., 2006). Un changement de biodisponibilité équivaut à un changement de toxicité (BOUCHESEICH et al., 2002).

Les métaux traces sont présents dans la colonne d'eau et le sédiment sous deux formes :

- dissoute dans la colonne d'eau et l'eau interstitielle de la colonne sédimentaire, c'est la forme la plus mobile et donc la plus biodisponible pour les populations aquatiques ;
- fixée sur les particules des sédiments ou en suspension dans la colonne d'eau qui peuvent s'accumuler dans le compartiment sédimentaire formant ainsi des stocks de polluants (DEVALLOIS, 2009).

Les facteurs influençant la bioaccumulation des MT sont au nombre de trois selon CASSAS (2005) (Figure 5). Intimement liés, ils vont intervenir dans les interactions entre les composés métalliques et les barrières biologiques. Ces facteurs vont agir sur les transferts de contaminants du milieu extérieur vers l'organisme et inversement (taux de filtration, d'ingestion et d'excrétion).

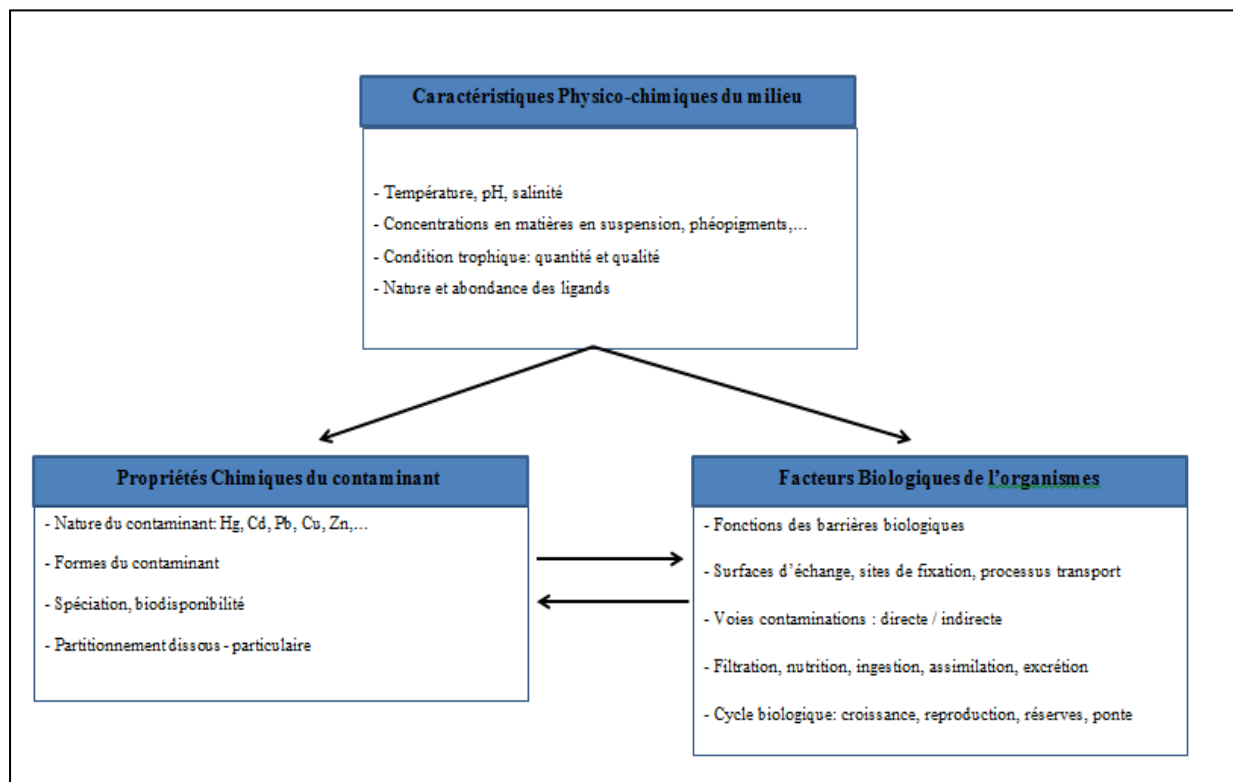


Figure 5. Représentation schématique des trois groupes de facteurs interagissant dans le processus de bioaccumulation des métaux traces (CASSAS, 2005).

2. 4. 2. 2. Dégradation et biodégradation

Ce sont les principaux facteurs qui régissent le devenir des substances chimiques dans l'environnement (BOUCHESEICH et al., 2002) :

- La dégradation désigne toute action physicochimique aboutissant à la minéralisation plus ou moins complète d'une molécule.
- La biodégradation est une dégradation biologique effectuée par les êtres vivants (bactéries, champignons ...). Elle est fonction de l'abondance et de la variété des microorganismes dans le milieu considéré.

2. 4. 2. 3. Voies de pénétration

L'absorption des polluants de l'eau de mer par les organismes marins s'effectue selon trois voies différentes (RAMADE, 1979) :

- La voie respiratoire (branchiale) : c'est le mode prépondérant de contamination ;
- La voie transtégumentaire : c'est le mode de contamination direct à partir des polluants du milieu extérieur ;
- La voie trophique : dépend du régime alimentaire.

2. 4. 2. 4. Bioaccumulation

C'est l'enrichissement d'une substance dans un organisme. Ce qui comprend la bioconcentration à partir des teneurs présentes dans l'environnement, qui est le résultat net de l'ingestion, la distribution et l'élimination d'une substance dans et par un organisme, ainsi qu'une absorption supplémentaire par le biais de la chaîne alimentaire (MARCHAND et al., 2006). D'après MARCHAND et al. (1990), une bioaccumulation d'un polluant n'est réalisée que si la cinétique des processus d'absorption l'emporte sur celle des processus contribuant à une réduction de la contamination (Figure 6).

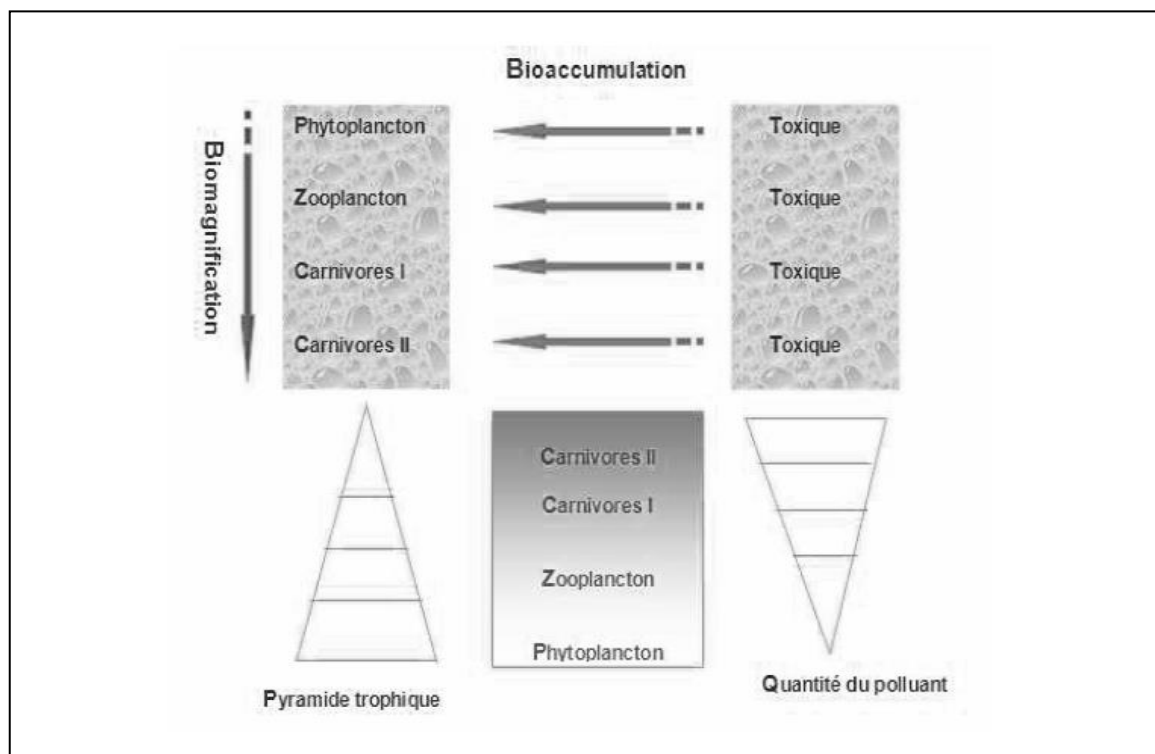


Figure 6. Voies d'accumulation et de transfert des polluants dans les maillons de la chaîne trophique (RAMADE, 1979).

2. 4. 2. 5. Biomagnification ou bioamplification

C'est le procédé par lequel les teneurs de certaines substances augmentent avec chaque stade de la chaîne trophique (MARCHAND et al., 2006). Il résulte de la balance nette des processus de capture, de stockage et d'excrétion d'une substance dans un organisme, due à une exposition dans l'eau, la nourriture, le sédiment et l'air (NEFF, 2002) (Figure 6).

■ **Le zinc** : la pénétration du zinc dans l'organisme se fait principalement par voie orale (via la nourriture). Le zinc absorbé est transporté de façon active au niveau du plasma, majoritairement complexé à des ligands organiques tels que l'albumine ou certains acides aminés, ce qui facilite ses échanges et sa liaison à diverses protéines tissulaires dont les métallothionéines dans le foie et les reins. Le zinc se répartit de façon non sélective dans les différents organes et tissus. Le zinc ingéré est excrété principalement dans les fèces, et dans une moindre mesure dans les urines. Une faible partie du zinc est également éliminée par la salive, les cheveux et la transpiration. L'excrétion urinaire du zinc est augmentée en cas de malnutrition ou de carence (BISSON et al., 2011).

■ **Le nickel** : sa biodisponibilité résulte de la forme chimique du métal dans le milieu (ANDRAL, 1994). Il ne semble présenter aucun phénomène de biomagnification et de bioaccumulation. Il est principalement absorbé par voie respiratoire, et dans une moindre mesure par voie orale. Son apport principal par les boissons est quarante fois supérieur à celui apporté par la nourriture. Il existe aussi une absorption cutanée mais très peu significative. Lié dans le sérum à l'albumine, la prostate et la rétine sont riches en ce métal. Son élimination se fait majoritairement par voie urinaire (BISSON et al., 2006).

■ **Le cuivre** : il est impliqué dans de nombreuses voies métaboliques ; de plus c'est un cofacteur spécifique pour de nombreuses enzymes et métalloprotéines de surface. Son absorption dominante se fait par voie orale et gastro-intestinale. Il présente une large distribution dans l'organisme compte tenu de ses fonctions multiples. Ses plus fortes concentrations sont mesurées au niveau du foie (principal organe avec des taux de 18 à 45 mg/g de matière sèche), du muscle et de la moelle osseuse. La principale voie d'élimination est la bile (80% du cuivre hépatique) d'où une excrétion majoritairement par voie fécale (BISSON et al., 2005b).

■ **Le plomb:** dans le sédiment, le plomb peut être remis en solution par dégradation aérobie de la matière organique particulaire à laquelle il est associé (COSSA et al, 1993 ; MARCHAND et KANTIN, 1997). La pénétration du plomb dans les cellules est le résultat principalement du transport sous forme dissoute Pb^{2+} ou sels solubles (WANG ET FISHER, 1997 ; BISSON, 2003). Cet élément se concentre de manière irréversible tout au long de la chaîne alimentaire (BELHOUCINE, 2012). La principale voie d'absorption est digestive, les sources étant constituées par les aliments (lait, eau, autres boissons). De nombreux facteurs favorisent l'absorption du plomb : ainsi en est-il de la vitamine D, un régime riche en graisse, les carences en fer, calcium, phosphore, zinc, vitamine B1, magnésium, fibres végétales. L'absorption pulmonaire peut jouer un rôle important pour les expositions professionnelles ou pour les personnes vivant sous les rejets atmosphériques d'entreprises polluantes ; l'absorption est principalement sous forme organique. L'absorption cutanée est négligeable, sauf pour le plomb organique qui est très liposoluble. Par ingestion, l'absorption du plomb au niveau du foie et des reins est trois fois plus importante que par inhalation (BISSON et al., 2003). Le taux d'absorption est linéaire au cours du temps et est fonction directe de la concentration en plomb dans le milieu. L'excrétion du plomb est quant à elle proportionnelle à la concentration interne dans l'organisme (SCHULZ-BALDES, 1974). Le plomb passe dans le sang où il se répartit entre forme fixée aux hématies (95%) non diffusible et une forme plasmatique qui sera stockée dans les tissus ou éliminée dans les urines (BISSON et al., 2003).

■ **Le cadmium:** les deux principales voies d'absorption sont l'inhalation et l'ingestion. Par voie digestive, l'absorption est d'environ 5%. Le taux d'absorption du cadmium est directement lié à la forme chimique. Ce taux d'absorption peut être augmenté lors de carences alimentaires en calcium, en fer, en zinc, en cuivre ou en protéines. Le cadmium est transporté dans le sang fixé à l'hémoglobine ou aux métallothionéines. Le cadmium se concentre principalement dans le foie et les reins et sélectivement sur les métallothionéines. C'est sous cette forme de complexe avec les métallothionéines que le cadmium peut être stocké dans les organes. Le cadmium libre est à l'origine des effets toxiques.

Le cadmium est excrété dans les fèces, les urines et les phanères (BISSON et al., 2011).

2. 4. 2. 6. Elimination et voies d'excrétion

L'élimination des contaminants se fait, selon MARCHAND et al. (2006), par :

- l'excrétion : c'est le principale facteur d'élimination des contaminants ;
- la croissance : elle se traduit par une dilution : la quantité de contaminants est constante, mais la concentration diminue dans un organisme qui croît ;
- la reproduction : elle se traduit chez les femelles adultes par une perte de contaminants redistribués dans les œufs. Mais si la reproduction est un processus de décontamination chez l'adulte, elle représente une source de contamination pour la nouvelle génération ;
- la métabolisation : elle entraîne la disparition plus ou moins rapide des contaminants qui sont biotransformés dans le foie en composés plus polaires et par conséquent plus faciles à éliminer. Ces réactions de biotransformation peuvent s'accompagner de formation de métabolites stables ou même bioaccumulés ou formation de dérivés toxiques (bioactivation).

II. Matériel et méthodes

Notre étude consiste à doser des métaux traces dans les produits de la pêche. Nous nous sommes intéressés à une espèce répandue dans la baie d'Alger, à savoir *Sardina pilchardus* communément appelée la sardine. En effet, cette espèce est très prisée par le consommateur algérien, au vu de sa disponibilité et de ses vertus nutritionnelles. De plus, *Sardina pilchardus* fait partie des espèces choisies par l'UNEP (1993) pour le monitoring de la contamination chimique en milieu marin.

1. Présentation de la zone d'étude

1. 1. Situation géographique

La baie d'Alger se situe dans la partie centrale de la côte algérienne. Elle s'étend de 37°01' N à 37°83' N et de 3°15' E et 3°5' E. Elle est délimitée par la Pointe Pescade (Raïs Hamidou) à l'Ouest, le cap Matifou à l'Est, la ville d'Alger et le bassin de la Mitidja au Sud et la mer Méditerranée au Nord. Le plateau continental s'élargit pour former la baie d'Alger. (MAOUCHE, 1987) (Figure 7).

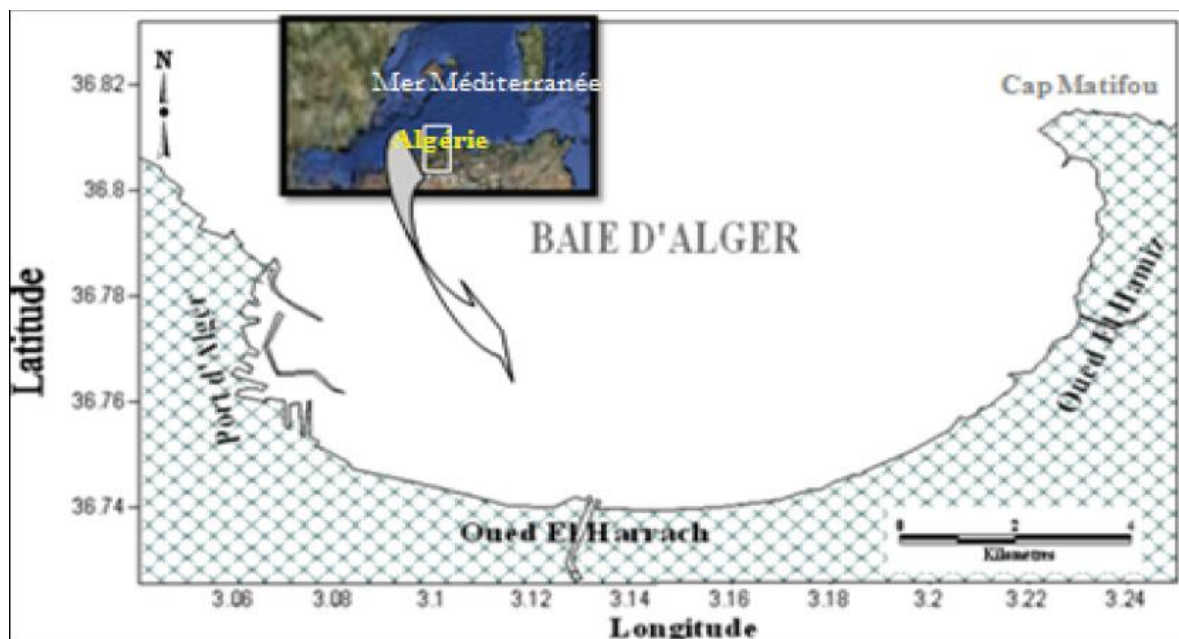


Figure 7. Situation géographique de la baie d'Alger (BACHARI, 2009).

1. 2. Réseau hydrographique

La baie d'Alger est alimentée par deux principaux oueds : oued El Harrach et oued Hamiz. Tous les deux prennent leurs sources dans l'Atlas blidéen avant de traverser la plaine de la Mitidja. Leur débit est très irrégulier. En effet, ils sont caractérisés par un long étiage de six mois et des crues d'hiver et de printemps soudaines et fortes.

L'oued El Harrach se déverse au centre de la baie, il coule pendant la majeure partie de l'année en déversant surtout des eaux usées. La superficie de son bassin versant est de 970 km². L'oued Hamiz se déverse à l'Est de la baie près du cap Matifou. Son bassin versant a une superficie de 160 km² (BACHARI, 2009).

1. 3. Facteurs hydrodynamiques

Les houles et les courants sont des facteurs hydrodynamiques responsables des mouvements des masses d'eau.

Selon LECLAIRE (1972), les houles dans la baie d'Alger sont de direction WNW en hiver et NNE en été. En revanche, il existe dans cette baie deux types de courant : les courants généraux et les courants côtiers qui englobent les courants de retour et les courants de dérive littorale (LEM, 1998) (Figure 8).

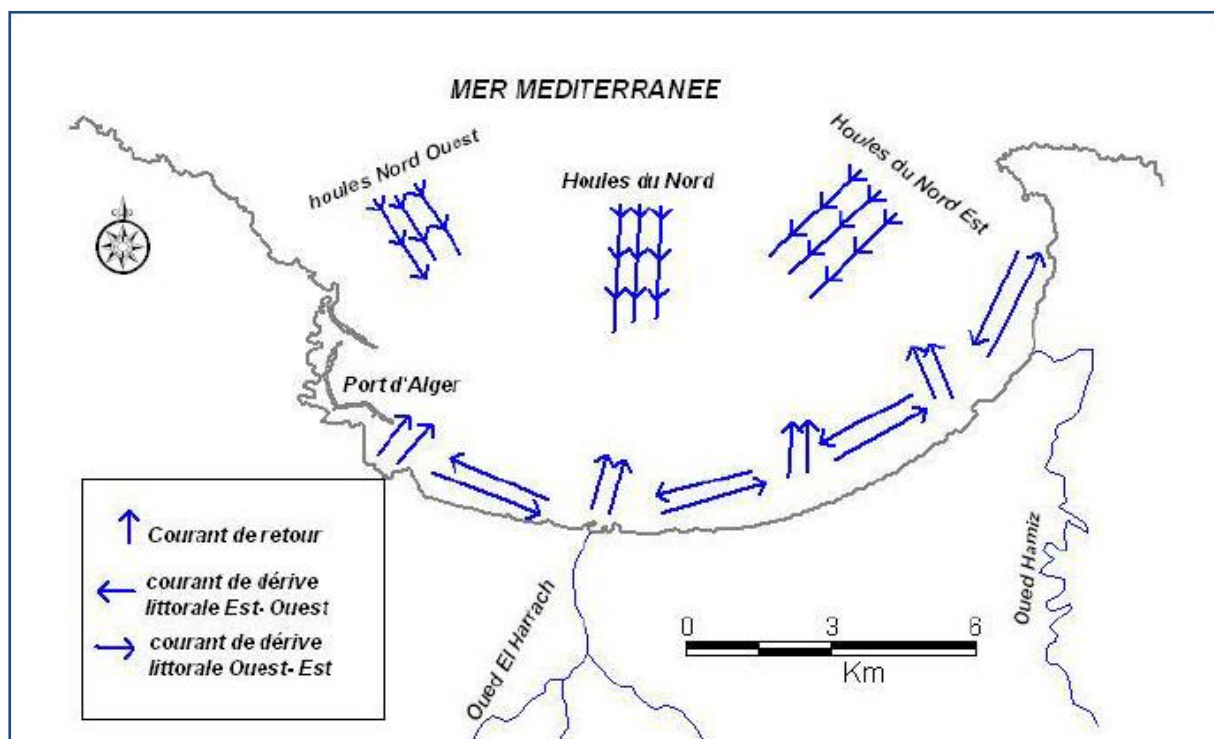


Figure 8. Schéma probable de la dynamique sédimentaire dans la baie d'Alger (LEM, 1998).

1. 4. Sources de pollution

Tout le long du pourtour de la baie et principalement dans sa partie ouest, la baie d'Alger reçoit les rejets urbains (égouts...) industriels (Entreprise Nationale des Corps Gras, centrale électrique de Sonelgaz...), portuaires (vidange des citernes de bateaux) et de l'agglomération algéroise et des communes environnantes (BACHARI, 2009) (Figure 9).

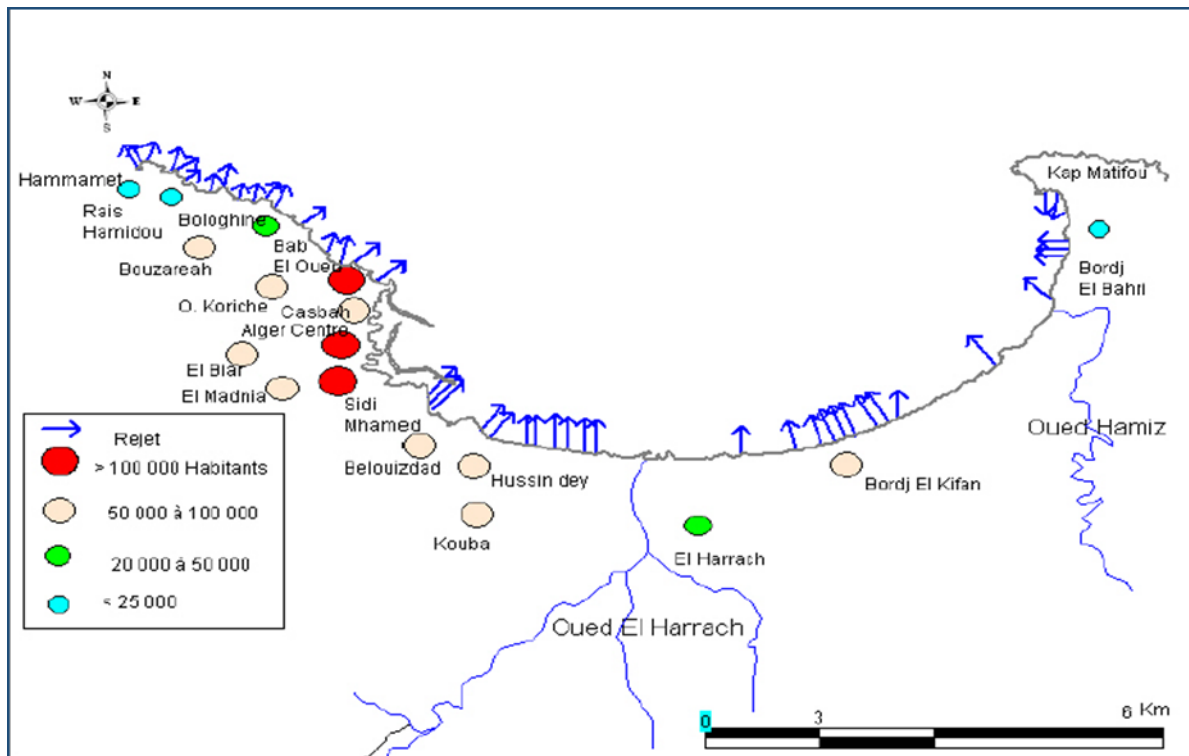


Figure 9. La population et les rejets d'eaux usées dans la baie d'Alger (PAC, 2005).

2. Méthodologie du travail

2. 1. Echantillonnage

Cette étude a été réalisée sur deux échantillons de *Sardina pilchardus*. Les prélèvements ont eu lieu à la pêcherie d'Alger le 28 avril 2014 et le 19 mai 2014, à l'heure du débarquement des chalutiers de pêche (environ 4h du matin). Lors du deuxième prélèvement, les conditions météorologiques étaient mauvaises et n'ont pas permis une bonne pêche. Celle-ci s'est donc effectuée près des côtes.

Un poids d'environ 1 kg de sardine est prélevé aléatoirement sur plusieurs caisses. Les poissons sont immédiatement mis dans un sachet en plastique, puis sous glace dans la glacière et transportés au laboratoire.

2.2. Traitement des échantillons au laboratoire

Le dosage d'éléments métalliques en trace dans le milieu marin nécessite un contrôle rigoureux et permanent des différentes étapes, car il existe des risques de contamination des échantillons du moment de prélèvement à celui de l'analyse finale. Pour cela, un soin particulier doit être apporté aux prélèvements et aux méthodes de dosage des métaux (AIEA, 2001) (le protocole suivi pour le nettoyage des instruments est décrit en Annexe I).

Le traitement des échantillons a été réalisé au niveau des laboratoires du Centre de recherche et d'analyses physicochimiques (CRAPC) de Bou Ismaïl.

2.2.1. Classement des individus et séparation des matrices

La première étape consiste à séparer les individus par classes de tailles, allant de 7 à 15 cm (à raison de 1 cm par classe), à l'aide d'un ichtyomètre (Figures 10 et 11), par la mesure de la longueur à la fourche (Lf), qui est la longueur du bout du museau à la fourche (queue).



Figure 10. Mesure de la Lf à l'aide de l'ichtyomètre.



Figure 11. Classement des individus par classes de taille.

La deuxième étape est la sélection de cinq individus homogènes de chaque classe de taille (UNEP, 1993). Chaque lot obtenu est pesé (Wt) (balance type KERN PLS, précision 0.001).

La troisième étape consiste à ouvrir la cavité abdominale de chaque individu avec une lame en acier inoxydable, retirer les viscères, le filet de chair, puis détacher le squelette et la tête (Figure 12).



Figure 12: Séparation des trois matrices (chair, viscères et tête + squelette).

Le prélèvement de l'échantillon à doser est effectué toujours dans le même sens et correspond à la position : tête à gauche, queue à droite, ventre vers le bas et dos vers le haut (UNEP, 1993).

Les lots de filet de chair supérieur (Pc), de viscères (Pv) et de la tête + squelette (Pts) sont pesés (précision 0.001) (Annexe II, Figure A-1).

2.2.2. Conservation

Selon la taille de chaque lot, les échantillons sont mis dans des boîtes de Pétri, sachets de congélation et piluliers, qui seront étiquetés avec la date du prélèvement, la nature de l'échantillon (chair, viscères, tête et squelette) et le numéro de l'échantillon. Ils sont par la suite mis dans un congélateur à une température de -24°C . En effet, la congélation permet de conserver les propriétés chimiques des échantillons et d'éviter une contamination avec le milieu ambiant et les pertes d'éléments volatils tels que le mercure (CHARLOU et JOANNY, 1983).

2.2.3. Lyophilisation

La lyophilisation est la déshydratation des échantillons par sublimation. Elle s'effectue par la libération de l'eau de l'échantillon en passant de la phase solide à la phase vapeur sans passer par la phase liquide. Ce moyen de déshydratation est préférable à celui de l'évaporation à l'étuve, car dans ce dernier cas l'élévation de température peut être une source de pertes des métaux les plus volatils (CHARLOU et JOANNY, 1983).

La lyophilisation a été effectuée au laboratoire de l'École nationale des sciences de la mer et de l'aménagement du littoral (ENSSMAL) de Sidi Fredj. Les échantillons congelés sont placés dans un lyophilisateur (modèle CHRIST-Beta 1- 8) pendant 72 heures sous vide (10^{-1} mbar) et à très basse température (-50 C° à -60 C°).

2.2.4. Broyage

Les échantillons lyophilisés sont broyés à l'aide d'un broyeur automatique en acier inoxydable et d'un mortier en porcelaine jusqu'à l'obtention d'une poudre fine (Annexe II, Figure A-2). Celle-ci est récupérée dans des tubes en polyéthylène et stockée dans une étuve à 27C° . Le poids de chaque échantillon est noté (précision 0.001).

2. 3. Extraction des métaux traces

L'analyse des métaux traces a porté sur trois matrices de *Sardina pilchardus* : le filet, les viscères et l'ensemble tête et squelette.

Les métaux analysés appartiennent à deux groupes différents :

- le cuivre, le zinc et le nickel font partie des oligoéléments,
- le cadmium et le plomb sont des métaux toxiques.

Le dosage est réalisé par Spectrométrie d'absorption Atomique (SAA).

2.3.1. Minéralisation

La minéralisation, ou digestion, consiste à libérer les différents métaux bioaccumulés par les différentes matrices par extraction et mise en solution. Pour que l'attaque de l'échantillon biologique soit suffisamment efficace et que le rendement de récupération des métaux traces soit maximal, la minéralisation s'effectue par voie humide (PINTA, 1979) par attaque à l'acide nitrique, à chaud et sous pression.

▪ Mode opératoire

Le protocole suivi est celui adopté par CHARLOU ET JOANNY (1983) et l'IAEA (2001). Cependant, certaines étapes ont été modifiées en fonction des réactifs et du matériel disponible au laboratoire du CRAPC. L'eau bidistillée a été remplacée par de l'eau ultra pure, le HNO_3 à 65% par du HNO_3 à 69%.

► Minéralisation à blanc

La digestion est effectuée dans des godets en téflon. Ceux-ci subissent d'abord une minéralisation à blanc en soumettant chaque godet à 4 ml d'acide nitrique (à 69%). La digestion se fait dans les godets hermétiquement fermés pendant toute une nuit. Puis un réchauffage à 120°C sur plaque chauffante est effectué pendant 2h30min. Une fois les godets refroidis, ils sont ouverts doucement, puis rincés à l'eau ultra pure et séchés dans l'étuve à 70°C.

► Minéralisation de l'échantillon biologique

Afin d'obtenir une répartition uniforme des éléments métalliques dans la matière sèche et prélever une quantité représentative de l'échantillon, une homogénéisation est réalisée avant la minéralisation par agitation manuelle et par un agitateur électrique pendant quelques minutes.

La minéralisation a lieu sous hotte aspirante. Dans les godets en téflon, 0,5 g de matière sèche d'échantillons est minéralisée par 5 ml d'acide nitrique (HNO₃) (Annexe II, Figure B-1 et B-2). Les godets hermétiquement fermés sont laissés toute une nuit. Par la suite, ils sont préchauffés sur plaque chauffante à 120°C pendant 2h30min.

Une fois les échantillons refroidis, les godets sont ouverts doucement, puis les minéralisats sont transférés dans des tubes en polyéthylène de 50 ml. Les godets sont rincés avec de l'eau ultra pure au moins 3 fois en récupérant les rinçages dans les mêmes tubes en polyéthylène. On ajuste jusqu'au trait de jauge (Annexe II, Figure B-3 :1, 2, 3, 4).

Un blanc de réactif est inséré avec chaque série d'échantillons. On met 5 ml d'acide nitrique (HNO₃) concentré à 69%, mais pas d'échantillon. Il subira le même traitement que les échantillons.

Les séries ainsi obtenues sont conservées dans un réfrigérateur à 4°C jusqu'au moment du dosage. Ceci permet d'éviter toute perte ou contamination (AIEA, 2001).

2. 4. Analyse des métaux traces

La méthode de dosage utilisée dans cette étude est la Spectrophotométrie d'absorption atomique à flamme (SAA).

2. 4. 1. La Spectrométrie d'Absorption Atomique (SAA)

La spectrophotométrie d'absorption atomique est une technique d'analyse quantitative fondée sur le phénomène d'absorption de radiations lumineuses par des atomes libres. Elle est largement appliquée et recommandée pour l'analyse des métaux traces (AIEA, 2001). Elle permet la détection de faibles teneurs en métaux éléments et éléments minéraux en solution.

■ Principe

Au cours des analyses de Spectrophotométrie d'Absorption Atomique, une solution contenant des éléments métalliques est introduite dans le brûleur de l'appareil, celle-ci est convertie dans une flamme air-acétylène et un atomiseur électrothermique sous forme de vapeur constituée d'atomes libres. Une source lumineuse émise d'une lampe à cathode creuse faite du métal à analyser est dirigée à travers la vapeur ; les atomes de l'échantillon dispersés dans la vapeur absorbent une partie de la radiation, ce qui entraînera une diminution de cette dernière (FAO, 1977). Cette absorption se fera à une longueur d'onde spécifique aux atomes formés (au métal considéré), elle est dite densité optique (DO) et est liée à la concentration de l'élément considéré. Cette relation émanant de la loi générale de la spectrophotométrie est la loi de BEER- LAMBERT.

$$A = DO = \log I_0/I = \epsilon .l.C$$

Où:

I : Intensité de l'énergie lumineuse transmise (émergente).

I_0 : Intensité de l'énergie lumineuse émise (incidente).

ϵ : Coefficient d'absorption atomique (constant).

l : Longueur du trajet optique (constante).

C : Concentration de l'élément absorbant (analyte).

Le dosage des métaux traces recherchés dans cette étude est réalisé au niveau du laboratoire central du CRAPC, par un spectromètre d'absorption atomique de type Spect AA 110- Varian (Annexe II, Figure C-1).

■ Conditions expérimentales

► Limite de détection (LD)

La limite de détection (seuil de détection) est définie par la plus petite valeur de concentration mesurable, c'est-à-dire donnant une absorbance égale à deux fois la variation du bruit de fond (de la solution d'analyse) (PINTA, 1979). Dans notre cas, les limites expérimentales sont données dans le Tableau 4.

Tableau 4. Condition expérimentales.

Métal	Longueur d'onde (nm)	Limites de détection (ppm)
Plomb	217.0	0 à 30
Cadmium	228.8	0 à 03
Nickel	232.0	0 à 20
Zinc	213.9	0 à 1.5
Cuivre	324.8	0 à 10

► Etalonnage

La méthode d'étalonnage utilisée est celle des standards seuls. La calibration du spectrophotomètre est réalisée à partir de 5 solutions standards (S1, S2, S3, S4 et S5) de concentrations croissantes. Pour chaque métal à analyser, les échantillons standards ont été préparés à partir des solutions mères. Les absorbances de ces 5 solutions sont mesurées, ce qui permet de tracer la courbe d'étalonnage (Absorbance = f (concentrations)). (Annexe III).

Pour les faibles concentrations, c'est-à-dire pour les faibles absorbances, la courbe est quasi linéaire (Annexe II, Figure C-2), donc de la forme :

$$Y = a X + b$$

Avec

Y : Densité optique (DO),

X : Concentration du métal à analyser,

a : Pente de la courbe, b : Ordonnée à l'origine.

2. 4. 2. Calcul de la concentration en métaux traces

Le calcul se fait par l'appareillage, qui nous donne le taux du métal dosé dans nos échantillons. Si la concentration est trop élevée, ce qui veut dire qu'elle dépasse les limites de détections pour le métal considéré, une dilution s'impose. La concentration obtenue sera alors multipliée par le facteur de dilution.

■ Calcul du poids corrigé des échantillons

Après leur lyophilisation, nos échantillons peuvent avoir piégé un certain nombre de particules d'eau dû à la période qui sépare la lyophilisation et l'analyse. Par conséquent, les poids pesés ne seraient pas les véritables poids secs. Pour obtenir les poids secs réels, une correction est effectuée à l'aide du taux le calcul du taux d'humidité. Le calcul se fait par l'application de la formule suivante (AIEA, 2001) :

$$A\% = ((P1-P2)/P1) \times 100$$

Avec

A : Taux d'humidité (%),

P1 : Poids de la coupelle vide + le poids de l'échantillon dans la coupelle (g),

P2 : Poids de l'échantillon dans la coupelle après 24 heures dans une étuve à 105 °C (g).

A la fin, les poids secs corrigés sont obtenus comme suit :

$$Pc = P - ((A\%/100) \times P)$$

Avec

Pc : Poids de l'échantillon corrigé (g),

P : Poids de l'échantillon pesé pour la minéralisation (g),

A : Taux d'humidité (%).

■ Détermination de la concentration des échantillons

La concentration du métal dans l'organisme est calculée selon la formule suivante :

$$Cps = (Cc / Ps) \times V$$

Avec

Cps : Concentration du métal en poids sec ($\mu\text{g/g}$ ou ng/g).

Cc : Concentration du métal présent dans l'analyte ($\mu\text{g/ml}$).

Ps : Poids sec corrigé de l'échantillon biologique minéralisé (g).

V : dilution ou le volume de la solution finale après minéralisation (50 ml).

La teneur en poids frais sera donnée par l'expression suivante :

$$\mathbf{C_{pf} = C_{ps} \times (P_s / P_f)}$$

Avec

C_{pf} : Concentration du métal en poids frais (µg/g ou ng/g).

C_{ps} : Concentration du métal en poids sec (µg/g ou ng/g).

P_f : Poids frais de l'échantillon biologique (g).

P_s : Poids sec corrigé de l'échantillon biologique minéralisé (g).

III. Résultats et discussion

1. Résultats

Nos résultats sont présentés en deux parties. La première porte sur le nombre d'individus de *Sardina pilchardus* obtenus par classe de tailles et des différentes mesures prises. Les concentrations des cinq métaux traces recherchés au niveau des 3 matrices sont présentées dans la deuxième partie. Les résultats sont résumés sous forme de tableaux. Une comparaison avec d'autres valeurs relevées dans la littérature est effectuée, lorsque la matrice correspond.

4. 1. 1. Classes de tailles et paramètres mesurés

Le nombre d'individus de *Sardina pilchardus* obtenus pour les 8 classes sont présentés dans le Tableau 5.

Tableau 5. Nombre d'individus pour chaque classe de taille (pour les deux prélèvements).

Classe de taille (cm)	Prélèvement du 28/04/14	Prélèvement du 19/05/14
{07-08}	–	14
{08-09}	–	7
{09-10}	–	6
{10-11}	–	18
{11-12}	5	21
{12-13}	16	16
{13-14}	8	5
{14-15}	5	–

Le Tableau 5 montre que pour une même classe de taille, le nombre d'individus n'est pas le même pour les deux prélèvements. En effet, dans le premier prélèvement qui a été effectué en avril, les stades juvéniles (de 7 à 11 cm) sont inexistantes. En revanche, trois

semaines plus tard (au deuxième prélèvement), le nombre d'individus des classes inférieures augmente.

Ceci pourrait être expliqué en partie par la biologie de *Sardina pilchardus* méditerranéenne, d'une part par sa période de ponte qui se situe en hiver, de novembre à février (MOUHOUB, 1986), et, d'autre part, cette espèce a une croissance très rapide, notamment dans sa phase juvénile. En effet, la larve de la sardine peut, en 12 jours, passer au stade juvénile (BISEAU, 2006). YONGCHUL LEE (1990) observe que contrairement à l'été où la taille de la sardine est assez stable, au printemps, la taille augmente régulièrement. Le facteur saison semble constituer un paramètre déterminant dans la répartition des classes de tailles. Ce qui pourrait expliquer l'apparition de ces stades dans notre deuxième prélèvement.

De plus, lors du deuxième prélèvement, les conditions météorologiques n'ont pas permis aux sardiniers de s'éloigner dans les zones de pêche habituelles et leur activité a eu lieu près des côtes. Or c'est dans cette zone que la concentration des stades juvéniles est plus importante, car c'est une zone phytoplanctonique (DUMAY, 2006).

Enfin notons que les petites classes de taille relevées (de 7 à 10 cm) sont inférieures à la taille marchande de 11 cm fixée par le décret exécutif n°04-188 (JORA, 2004).

Le manque d'individus pour certaines classes de tailles nous a amenés à revoir la répartition de cet échantillonnage, de sorte que seules les classes comportant un minimum de 5 individus sont considérées (UNEP, 1993).

Dans la suite du travail, les échantillons sur lesquels ont porté les différentes mesures (longueur, poids...) (Tableau 6) sont représentés par les classes de tailles considérées.

Tableau 6. Paramètres mesurés pour chaque prélèvement.

	N° Ech.	Lf	Pc	Pv	Pts
Prélèvement n°1 (28-04-2014)	01	11-12	28.55	06.50	19.70
	02	12-13	42.97	09.36	27.78
	03	13-14	50.38	09.77	33.56
	04	14-15	56.60	15.49	42.34
Prélèvement n°2 (19-05-2014)	01	07-08	36.62	05.34	19.73
	02	08-09	21.37	02.83	13.00
	03	09-10	30.61	04.29	12.46
	04	10-11	16.64	04.61	13.06
	05	11-12	23.16	06.58	16.71
	06	12-13	28.08	09.01	19.40
	07	13-14	28.81	07.75	18.00

Lf : Longueur à la fourche (cm) ;

Pc : Poids de la chair (g) ;

Pv : Poids des viscères (g) ;

Pts : Poids tête + squelette (g).

4. 1. 2. Teneurs métalliques

Les résultats des dosages des cinq métaux traces au niveau de trois matrices de *Sardina pilchardus* sont représentés par des moyennes (avec écart-type) et exprimée en ppm.

Les résultats des deux premiers prélèvements sont consignés respectivement dans les Tableaux 7 et 8. Les moyennes globales sont représentées dans le Tableau 9.

Tableau 7. Résultats des concentrations moyennes en métaux lourds pour le prélèvement n°1(ppm).

Prélèvement n°1	C	Cd	Pb	Ni	Cu	Zn
Chaire	C max	00	3.327	0.550	0.213	9.615
	C min	00	00	00	00	00
	Moyenne± ET	00	0.88±1.41	0.14±0.23	0.05±0.09	3.83±2.54
Viscères	C max	00	9.615	00	00	49.423
	C min	00	00	00	00	19.205
	Moyenne± ET	00	4.79±3.50	00	00	30.99±11.49
Tête + squelette	C max	00	0.089	00	00	22.969
	C min	00	00	00	00	7.933
	Moyenne± ET	00	0.02±0.03	00	00	13.16±5.83

ET : Ecart-type ; C : Concentration.

Tableau 8. Résultats des concentrations moyennes en métaux lourds pour le prélèvement n°2(ppm).

Prélèvement n°2	C	Cd	Pb	Ni	Cu	Zn
Chaire	C max	00	2.439	0.299	0.213	90.56
	C min	00	0.433	0.291	00	22.07
	Moyenne±ET	00	1.11±0.94	0.30±0.003	0.23±0.03	50.27±29.25
Viscères	C max	00	1.999	1.892	00	171.451
	C min	00	1.054	1.808	00	116.20
	Moyenne±ET	00	1.42±0.41	1.85±0.03	1.04±0.13	152.78±25.92
Tête + squelette	C max	00	0.359	0.798	0.31	79.66
	C min	00	0.777	0.322	0.219	64.75
	Moyenne±ET	00	0.58±0.17	0.50±0.21	0.26±0.03	72.24±6.08

Tableau 9. Résultats des concentrations moyennes en métaux lourds pour les deux prélèvements (ppm).

Matrice	C	Cd	Pb	Ni	Cu	Zn
Chaire	M n°1	00	0.88	0.14	0.05	3.83
	M n°2	00	1.11	0.30	0.23	50.27
	Moyenne± ET	00	0.99±0.11	0.22±0.07	0.14±0.08	27.03±23.19
Viscères	M n°1	00	4.79	00	00	30.99
	M2 n°2	00	1.42	1.85	1.04	152.78
	Moyenne± ET	00	3.11±1.68	0.92±0.92	0.52±0.52	91.88±60.89
Tête + squelette	M n°1	00	0.02	00	00	13.16
	M n°2	00	0.58	0.50	0.26	72.24
	Moyenne± ET	00	0.30±0.27	0.25±0.25	0.13±0.12	42.70±29.54

Il ressort de ces résultats que :

-**Le cadmium** : les résultats montrent une absence totale de ce métal dans les trois matrices analysées (chair, viscères, tête /squelette).

-**Le plomb** : les résultats montrent que la concentration moyenne du plomb au niveau des viscères (3.11 ± 1.68) est nettement supérieure à celle relevée au niveau de la chair (0.99 ± 0.112). La concentration au niveau de la tête avec squelette (0.30 ± 0.28) est la plus faible.

- **Le nickel** : les résultats montrent une concentration moyenne plus importante dans les viscères (0.92 ± 0.92), suivie de celle la tête / squelette (0.25 ± 0.25). En dernière position, nous trouvons la concentration moyenne de la chair (0.22 ± 0.08).

-**Le cuivre** : les résultats montrent que la concentration moyenne du cuivre est plus importante dans les viscères (0.52 ± 0.52), que celle dosée au niveau de la chair (0.14 ± 0.09) et de la tête +squelette (0.13 ± 0.13).

-**Le zinc** : la concentration moyenne de ce métal est largement supérieure au niveau des viscères avec un taux de 91.88 ± 60.90 , suivie par la tête / squelette (42.70 ± 29.54) et de la chair (27.03 ± 23.198) ;

En ce qui concerne nos blancs (témoins), on note l'absence de concentration des métaux lourds étudiés.

2. Discussion

Malgré le caractère préliminaire de cette étude, il ressort que les concentrations de Pb, Ni, Cu, et Zn sont plus élevées dans les viscères (qui contiennent le foie, les gonades et le contenu stomacal). Ces résultats sont en accord avec les travaux d'EL MORHIT et al. (2013) et AL KAA, et al. (2012) sur *Sardina pilchardus* et de HENRY, et al. (2004) sur le cabillaud. Puis vient la chair pour le Pb et Cu, et enfin la tête / squelette (qui contiennent les branchies) pour le Ni et le Zn.

En ce qui concerne la tête/ squelette, la concentration la plus importante est celle du Zn (42.70 ± 29.54), suivie du Pb, Ni et Cu. Nos résultats sont en accord avec ceux d'El MORHIT et al. (2013) sur la concentration des branchies ($66 \pm 22,51$).

WU et al. (2007) suggèrent que les métaux sont d'abord accumulés dans des organes cibles provisoires tel que les branchies puis transférés après aux organes digestifs tels que le foie, les reins et les intestins.

Pour la chair, la concentration du Zn est la plus importante (27.03 ± 23.19), ce qui est en accord avec les résultats enregistrés par EL MORHIT et al. (2013) pour *Sardina pilchardus* et par BELHOUCINE (2012) chez le merlu, et ne dépasse pas le seuil fixé par l'OMS ($1000 \mu\text{g/g}$ de poids frais) (in BENEY et al., 1994), suivie par le Pb (0.99 ± 0.11) qui dépasse largement le seuil fixé par la réglementation algérienne (0.3 mg/kg de poids frais). Le Ni est présent à une concentration moyenne de 0.22 ± 0.07 , inférieure à celle relevée par MERBOUH (1997) (1.37 ± 0.67) chez *Sardina pilchardus* dans le Golf d'Oran. Le Cu est quant à lui présent à une moindre concentration que les autres métaux (0.140 ± 0.08), cette concentration est inférieure à celle d'EL MORHIT et al. (2013) ($0,31 \pm 0,07$).

Pour le cadmium, les résultats obtenus pourraient s'expliquer soit par l'absence de pollution de l'espèce étudiée par ce métal dans les zones de pêche, soit par la difficulté de dosage de ce métal vu sa présence infinitésimale dans l'eau (sa concentration est beaucoup plus importante dans le sédiment que dans la colonne d'eau. Il est stocké dans les sédiments sous forme de complexe Cd-sédiment (SEDIQ, 1992 ; GONZALEZ *et al.*, 1999) .Cependant, certaines études ont pu déterminer des concentrations de Cd chez *Sardina pilchardus*, dans la chair (0.03 ± 0.02), les branchies (0.08 ± 0.01) et le foie (0.05 ± 0.02) (EL MORHIT *et al.*, 2013). Toutefois, nos résultats ne dépassent pas les limites établies par la réglementation algérienne (0.10 mg/kg de poids frais) et celles de l'OMS (2.0 µg/g de poids frais) (*in* BENEY *et al.*, 1994).

Les concentrations moyennes de plomb dans la chair sont supérieures à la limite fixée par la réglementation algérienne (0.3mg/kg de poids frais), et ceci est aussi valable pour les viscères, ce qui pourrait suggérer que le niveau de plomb est élevé dans la baie d'Alger. Par contre la tête et le squelette ont une dose de 0.3 ± 0.27 qui est égale au seuil de réglementation.

Signalons que dans la baie d'Alger, l'origine des micropolluants présents est due d'une part aux multiples rejets industriels et urbains se déversant dans le bassin, et d'autre part au trafic maritime (présence ports). Sans oublier l'apport par le relargage du sédiment, des courants et des houles.

En ce qui concerne la distribution des MT étudiés, elle se fait à travers la circulation sanguine par le sang vers les différents organes, principalement les organes accumulateurs (le foie, les reins) puis vers le système digestif, et enfin vers la chair. La tête et le squelette contiennent les branchies qui sont des organes filtreurs, c'est pour cette raison qu'on y décèle les concentrations les plus élevés après les viscères.

En ce qui concerne les blancs utilisés en même temps que chaque série, les concentrations sont nulles, ce qui nous laisse supposer que notre expérimentation est d'une qualité satisfaisante, et permet de valider la qualité de notre eau ultra pure.

CONCLUSION

Dans cette étude, nous avons abordé la contamination de *Sardina pilchardus* de la baie d'Alger par les métaux traces suivants : Cd, Pb, Ni, Cu et Zn. L'analyse a été réalisée sur trois matrices distinctes : les viscères, la chair et l'ensemble tête /squelette. Bien que notre échantillonnage ne soit pas représentatif, nos résultats nous amènent à émettre les conclusions suivantes :

- Il y a présence de métaux traces chez l'espèce étudiée, à l'exception du cadmium ;
- La distribution de ces MT semble beaucoup plus importante dans les viscères, avec le classement suivant : Zn > Pb > Ni > Cu > Cd. Bien que ces organes ne sont pas communément consommés, le risque pour le consommateur existe ;
- La tête et le squelette sont la deuxième matrice la plus contaminée, avec le même classement que celui des viscères : Zn > Pb > Ni > Cu > Cd ;
- Pour la chair, le classement des concentrations moyennes en MT est comme celui des deux autres matrices. La concentration du Pb est largement supérieure à celle fixée par la réglementation, ce qui suggère qu'il existerait une pollution potentielle du plomb dans la baie d'Alger, la concentration moyenne du Zn dépasse sa DJA (7-15 mg/jour) (BISSON et al., 2005a). La concentration moyenne du Ni (0.216 ± 0.07), ne dépasse pas la limite supérieure par l'AFSSA en 2001 (600 μ /jour), le Cu avec une concentration moyenne de 0.140 ± 0.08 ne dépasse pas la PMTDE qui correspond à une dose >35 mg/ jour.

En perspective, nous disons aussi qu'il est impérieux de refaire cette étude sur les différentes périodes de l'année avec un échantillon représentatif et sur plusieurs espèces marines bio-accumulatrices de pollution (ex : les huîtres). Il est très souhaitable que cette étude soit faite aussi bien dans les poissons que dans les sédiments et les eaux des mêmes sites.

AFSSA, 2001. Apports nutritionnels conseillés pour la population française, 3ème édition, Coord. A.Martin, Eds tech et doc. 650p.

AFSSA, 2003. Acides gras de la famille oméga 3 et système cardiovasculaire: intérêt nutritionnel et allégations. Communiqué de l'AFSSA, 70 p.

A.I.E.A., 1998. Programme préliminaire pour MED POL sur l'analyse des métaux traces dans les échantillons biologiques et les sédiments. IAEA-MEL, Laboratoire sur l'Etude de l'Environnement Marin, Monaco, 53p.

A.I.E.A., 2001. The performance study for MED POL: determination of trace elements and methylmercury in estuarine sediment sample, 64p.

ALKAA, Y., CHAFIKI, A., BEKKALI, R., BENHRAI, A. 2012. Diagnostic écotoxicologique des populations de la sardine (*Sardina pilchardus*) pêchée le long des zones côtières atlantiques allant de Safi à Cap Blanc. Science et aménagement des petits pélagiques.435-440p.

ANDRAL, B., 1994. Ecotoxicologie du Nickel pour les organismes marins. Direction de l'environnement du littoral. IFREMER. 17p.

ASSO, A., 1982. Contribution à l'étude de la pollution métallique chez la moule *Perna perna* (L) dans la région d'Alger, Thèse de Doctorat de 3ème cycle d'Océanographie Biologique. Université d'Aix-Marseille II. 135p.

AUBERT, M., 1982. Métaux lourds en Méditerranée, 3 Tome. Compagnes océanographiques du C.E.R.B.O.M. 118p.

AUBERT M., DONNIER B., 1973. Pollution du milieu marin par le mercure et le cadmium en Méditerranée. Colloque européen sur les problèmes posés par la contamination de l'homme et de son milieu par le mercure et le cadmium. CERBROM-INSERM .Nice : 1-16p.

AUBERT M., REVILLON P., BREITTMAYER J. P., GAUTHIER M., AUBERT J., FLATAU G., 1983. Métaux lourds en Méditerranée. LXVIII-LXIX : 371 p.

AUGIER, H., 2008. Le livre noir de l'environnement: Etat des lieux planétaire sur les pollutions. Monaco: Editions Alphée, Jean-Paul Bertrand. 601p.

BACHARI, F., 2009. Modélisation et cartographie de la pollution marine et de la bathymétrie à partir de l'imagerie satellitaire .Thèse de Doctorat. Spécialité : Sciences de l'Univers et Environnement. UNIVERSITE DU VAL DE MARNE PARIS XII France. 272p.

BELHOUCINE, F., 2012. Etude de la biologie de la croissance et de la reproduction d'un poisson téléostéen le merlu (*Merluccius merluccius L., 1785*) et son utilisation comme bioindicateur biologique de la pollution par les métaux lourds (Zn, Pb et Cd) dans la baie d'Oran. Thèse de Doctorat. Science de l'environnement. Université d'Oran. 275p.

BINEY, C., AMUZU, A.T., CALAMARI, D., KABA, N., MBOME, I.L., NAEVE, H., OCHUMBA, O. , OSIBANJO, O., RADEGONDE, V., SAAD, M.A.H., 1994. Etude des métaux lourds. Revue de la pollution dans l'environnement aquatique africain. Document Technique du CPCA. No. 25. Rome, FAO. 129p.

BISEAU, A., DUHAMEL, E., DANZART, M., 2006. Analyse de la pêche des petits pélagiques, sardines et anchois dans le golfe de Gascogne du 13 septembre au 13 décembre 2004. Rapport de stage. IFREMER. 81p.

BISSON, M., HULOT, C., LACROIX, LEFEVRE, J.P., MAGAUD, H., OBERSON, D., GENESTE, MORIN, A., PEPIN, G., 2003. Plomb et ses dérivés. Fiches technique de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, INERIS, 90p.

BISSON, M., DIDERICH, R., HULOT, C., HOUEIX, N., LACROIX, G., LEFEVRE, J.P., LEVEQUE, S., MAGAUD, H. et MORIN, A., 2005(a) . Zinc et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, *INERIS*, 69p.

BISSON, M., HOUEIX, N., GAY, G., LACROIX, G., LEFEVRE, J.P., MAGAUD, H., MIGNE, V., MORIN, A., TISSOT, S., 2005(b). Cuivre et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, *INERIS*, 56p.

BISSON, M., HOUEIX, N., GAY, G., JOLIBOIS, B., LACROIX, G., LEFEVRE, J.P., MAGAUD, H., MORIN, A., TISSOT, S., 2006. Nickel et ses dérivés. Fiche technique de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, *INERIS*, 74p.

BISSON, M., DIDERICH, R., HULOT, C., HOUEIX, N., LACROIX, G., LEFEVRE, J.P., LEVEQUE, S., MAGAUD, H. et MORIN, A., 2011. Cadmium et ses dérivés. Fiche

technique de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, *INERIS*, Version 2.2. 82p.

BONNEFIS, J., PATHE, M., NARDO, V., 2010. Le monde sous-marin du plongeur biologiste en méditerranée : étymologie des noms et des termes, présentation des embranchements, identification et classification des principales espèces. Paris. 320p.

BOUCHESEICHE, C., CREMILLE, E., PELTE, T., POJER, K., 2002. Guide technique n°7, Pollution toxique et écotoxicologie : Notion de base. Edition Agence de l'Eau Rhône Méditerranée et Corse, France, 121p.

BRAHIMI, B., DJABALI, F., MAMMASSE, M., 1993. Poissons des cotes Algériennes. Bulletin de l'Institut des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du littoral. ISMAL.

CASSAS, S., 2005. Modélisation de la bioaccumulation des métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule, *Mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen. Thèse de Doctorat Océanographie biologique Environnement Marin. Université Sud Toulon. 314p.

CHARLOU, J. et JOANNY, M., 1983. Dosage du mercure et d'autres métaux (Pb, Zn, Cu, Cd, Co, Ni, Cr, Mn) dans les sédiments marins par absorption atomique *in* Aminot, A., et Chaussepied, M. (Ed) : *Manuel des analyses chimiques en milieu marin*. CNEXO, Brest, 285-295 p.

CHIFFOLEAU, J. F., 2001. La contamination métallique, Programme scientifiques Seine-Aval. *Editions Ifremer*, 39p.

COSSA, D., ELBAZ-POULICHET, F., GNASSIA-BARELLI, M. et ROMEO, M., 1993. Le plomb en milieu marin. Biogéochimie et écotoxicologie, *Editions Ifremer*, Plouzané, France. N°3, 76 p.

DA SILVA J. J. R. F., 1978. Interaction of the chemical elements with biological systems. In R. J. P. WILLIAMS & J. J. R. F. DA SILVA (Eds), *New trends in bioinorganic chemistry*. Academic Press, London, UK, : 449-484

DE KONING A.J. et H MOL T., 1991. Intérêt nutritionnel de la sardine fraîche pêchée en mer Méditerranée. *Cahiers de la Nutrition et de la Diététique*, 6: 12 p.

DEVALLOIS, V., 2009. Transferts et mobilité des éléments traces métalliques dans la colonne sédimentaire des hydro systèmes continentaux. Thèse de Doctorat. Université de Provence, 267p.

DI BENEDETTO, M. 1997. Méthodes spectrométriques d'analyse et de caractérisation, Dossier SAM Métaux Lourds. Techniques spectrométriques, Axe " Génie des Procédés", centre SPIN, Ecole des Mines de Saint-Etienne. 49p.

Direction de la Pêche et des Ressources Halieutiques (DPRH), 2014. Statistiques de pêche du port d'Alger.

DJABALI, F. et MOUHOUB, R., 1989. Reproduction de la sardine (*Sardina pilchardus*, Walbaum, 1792) de la région d'Alger. PELAGOS, *bull. Ismal.*, vol. 4 (1):29-31p.

DUMAY, J., 2006. Extraction de lipides en voies aqueuse par bioréacteur enzymatique combine à l'ultrafiltration: application à la valorisation de co - produits de poisson (*Sardina pilchardus*, Walbaum, 1792). Thèse de Doctorat. Université de Nantes. France. 284p.

EFSA, 2008. Scientific Opinion of the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed. Parma, ITALIA.

EL MORHIT, M., BELGHITY, D., EL MORHIT A., 2013. Contamination métallique de *Pagellus acarne*, *Sardina pilchardus* et *Diplodus vulgaris* de la côte atlantique sud (MAROC). *Larhyss Journal*, n°14. 131-148p.

FAIRBROTHER, A., WENSTEL, R., SAPPINGTON, K. & WOOD, W., 2007. Framework for Metals Risk Assessment, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. N°68.145–227p.

FAO, 1977. Manuel des méthodes de recherche sur l'environnement aquatique. 3 éme partie : Echantillonnage et analyse du matériel biologique. *Document Techniques de Pêche*. 113 p.

FAO, 2009. Directives pour l'inspection du poisons fondée sur les risques. *Etude FAO alimentation et nutrition*, n°90, Rome. 95p.

FISHER, X., SCHNEIDER, M., BAUCHOUT, L.M., 1987. Identification des espèces pour le besoin de la pêche. Méditerranée et mer noire. Zone de pêche 37. Fiches F.A.O., révision1, Vol2, *FAO Edition*, Rome, Tome I et II. 761 - 1530p.

FOREST A., 2001. Ressources halieutiques hors quotas du Nord Est Atlantique: bilan des connaissances et analyse de scénarios d'évolution de la gestion. *Ifremer*, tome 2: 215p

FORSTNER, V. & WITTMAN, G.T.W., 1979. Metal pollution in the aquatic environmental, Springer Verlag, 486 p.

GAUJOUS D., 1995. La pollution des milieux aquatiques : aide-mémoire. 2^e édition. *Ed. Technique et documentation*. 1-220.

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

GILBIN, R., 2001. Caractérisation de l'exposition des écosystèmes aquatiques à des produits phytosanitaires: spéciation, biodisponibilité et toxicité. Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences. Université de Genève. Thèse N°3315. 195p.

GONZALEZ, J. L., CHIFFOLEAU, J. F., MIRAMAND, P. et THOUVENIN, B., 1999. Le cadmium: comportement d'un contaminant métallique en estuaire, Programme scientifique Seine Aval, *Editions Ifremer*, Plouzané, France. 31p.

GUILIZZONI, P., 1991. The role of heavy metals and toxic materials in physiological ecology of submersed macrophytes. *Aquatic Botany*. 87-109p.

HENRY F., R. AMARA, L. COURCOT, D. LACOUTURE, M.L., 2004. Bertho Heavy metals in four fish species from the French coast of the Eastern English Channel and Southern Bight of the North Sea Environment International, 30 , 675–683p.

IARC, 1993. IARC Monographs of the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 58. Beryllium, Cadmium, Mercury, and Exposures in the Glass Manufacturing Industry. : *WHO*. Lyon, France : *WHO*.

JECFA, 1982. Evaluation of certain food additives and contaminants (Twenty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). *WHO Technical Report Series*, No. 683. 55p.

JECFA, 2010. Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives. Summary and Conclusion. Seventy third meeting. Geneva, Switzerland, OMS. 79p.

JORA, 2004. Journal Officiel de la République Algérienne, n°44. 24p.

JORA, 2011. Journal Officiel de la République Algérienne, n°25. 23p.

LA CHAMBBRE, M. et FISSON, C., 2007. La contamination chimique : quel risque en estuaire de la seine ? . Fiche substance : Nickel. Seine-Avale, groupement d'intérêt public. 10p.

LABORATOIRE D'ETUDE MARITIME(L.E.M), 1998. Etude de délimitation d'une zone d'extraction de sable en baie d'Alger.

LEBLANC, J. C., GUERIN, T., VERGER, P. et VOLATIER, J. L., 2004. Etude de l'alimentation totale française. Mycotoxines, minéraux et éléments traces. *INRA*, Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires Rurales. 72p.

LECLAIRE, L., 1972. La sédimentation holocène sur le versant méridional du bassin Algéro-Baléares. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, nouvelle série, C, Sciences de la terre. Tome XXIV, fascicule unique, 391p.

LECOINTRE, G. et LE GUYADER, H., 2002. La classification phylogénétique du vivant. 2ème édition. Paris : *Edition Belin*. France. 543p.

LE GOFF, F. et BONNOMET, V., 2004. Rapport technique : Devenir et comportement des métaux dans l'eau: Biodisponibilité et modèles BLM. 87 p.

MAAS-VAN BERKEL, B., VAN DEN BOOGAARD, B., HEIJNEN, C., 2004. La conservation du poisson et de la viande. Agrodok n° 12, Paris. 90p

MAOUCHE, S., 1987. Mécanisme hydro sédimentaires en baie d'Alger (Algérie) : approche sédimentologiste, géochimique et traitement statistiques. Thèse de Doctorat en Océanologie, Université de Perpignan, 214p.

MARCHAND, M., ABARNOU, A. et MARCAILLOU-LEBAUT, C., 1990. Les polychlorobiphényles (PCB) en milieu marin : biogéochimie et écotoxicologie. Rapport scientifique et technique n°18 de *l'IFREMER*, France, 162p.

MARCHAND, M. et KANTIN, R., 1997. Contaminants chimiques en milieu aquatiques. *OCEANIS*, N°4, Vol 23. 677-694 p.

MARCHAND, M. et TISSIER, C., 2006. Analyse du risque chimique dans le milieu marin ; l'approche méthodologique européenne. *IFREMER*, 123p.

MERBOUH, N., 1995. Contribution à l'étude de la contamination par les métaux lourds (Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn) d'un poisson pélagique, la Sardine (*Sardina pilchardus*, Walbaum, 1792), pêché dans le Golf d'Oran. Thèse de Magistère. Option : Pollution Marine, *ISMAL*.139p.

MOUHOU, R., 1986. Contribution à l'étude de la biologie et de la dynamique de la population exploitée de la sardine (*Sardina pilchardus*, Walbaum, 1792) des cotées algéroises. Thèse de Magistère. USTHB. Alger. 163p.

NEFF, J. M., 2002. Bioaccumulation in Marine Organisms: Effect of contamination from oil well produced water. *Elsevier Science Publishers*, Amsterdam.472p.

PICHOT, P., ALDEBERT, Y., 1987. La pêche de la sardine en méditerranée. Science et Pêche, Bulletin, *IFREMER*, N° 277. 16p.

PINTA, M., 1979. Spectrométrie d'absorption atomique. Application à l'analyse chimique. Masson. *O.R.S.T.O.M.Ed.*, Tome 1, 2ème édition, 262p.

Programme d'Aménagement Côtier Algérois (PAC), 2005. Protection des sites sensibles naturels marins du secteur Cap Djinet au Mont Chenoa. Impacts des activités anthropiques, Projet PAC/ MATE-PAM/CAR ASP, 62p.

QUERO, J.C. et VAGNE, J.J., 1997. Les poissons de mer des pêches française. Edition Delachaux et Niestlé, *IFREMER*. 304p.

RAMADE, F., 1979. Ecotoxicologie. *Masson. Ed.* Fr: 228p.

SADIQ, M., 1992. Toxic metal chemistry in marine environments. *Edition Marcell Dekker*, INC, 390p.

SCHULZ-BALDES, M.,1974. Lead uptake from seawater and food, and lead loss In the common mussel, *Mytilus edulis*. *Mar Biol.* 25: 177-193.

SIDHU, K.S., 2003. Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. *Regul. Toxicol. Pharm.*, 38: 336-44p.

UNEP/ FAO/ IOC/ AIEA, 1993. Guidelines for monitoring Chemical contaminants in the Sea using marine organisms. *Reference Methods For Marine Pollution Studies* No. 6, Monaco. 28p.

WANG, W .X. & FISHER, N.S., 1997. Modeling the influence of body size on trace element accumulation in the mussel “*Mytilus edulis*”. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 161, 103-115p.

WHO/FAO, 1977. Dietary fats and oils in human nutrition. Report of an expert consultation.

Wu, S.M., Shih, M-J. & Ho, Y.-C. 2007. Toxicological stress response and cadmium distribution in hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.) upon cadmium exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part C 145: 218–226

YONGCHUL LEE, J., 1990. La sardine du golfe du Lion (*Sardina pilchardus sardina* regan). *Rev. trav. /nst. pêches marit.* 25 (4). p : 419-511.

Annexe I

Nettoyage des instruments

Pour le nettoyage des instruments, nous avons suivi le protocole de l'AIEA (1998), cependant certains éléments ont été modifiés en fonction de leur disponibilité au laboratoire : l'eau bidistillée a été remplacée par de l'eau distillée. La procédure s'est effectuée comme suit :

- Lavage aux détergents commerciaux ;
- Rinçage à l'eau courante (eau du robinet) ;
- Rinçage à l'eau distillée;
- Séchage à l'étuve à 70°C pour le matériel en verre et en téflon et à 40°C pour le matériel en polyéthylène (les flacons) et en matière plastique (sachets, boîtes de Pétri) ;
- Rinçage à l'eau acidulée (5%) préparée à partir d'acide nitrique (HNO_3 pour analyse) concentré à 69% ;
- Rinçage à l'eau distillée ;
- Séchage à l'étuve.

Ces opérations sont effectuées impérativement avant chaque utilisation du matériel.

Annexe II

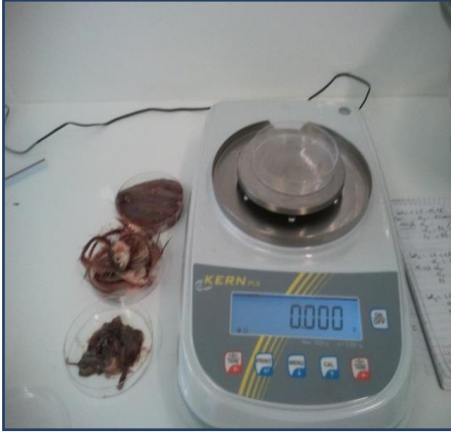


Figure A-1. Pesée de chaque lot.



Figure A-2. Broyage et pesée des lyophilisats.



Figure B-1. Pesée des échantillons pour la minéralisation.

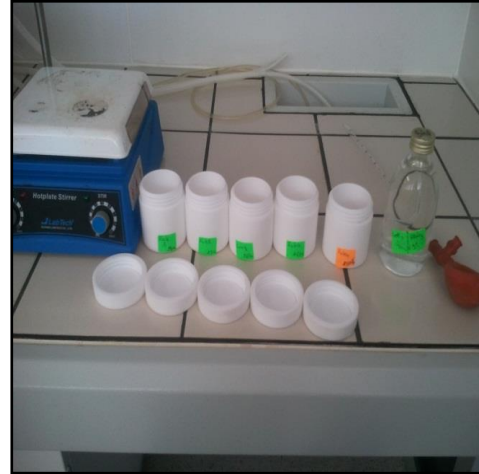
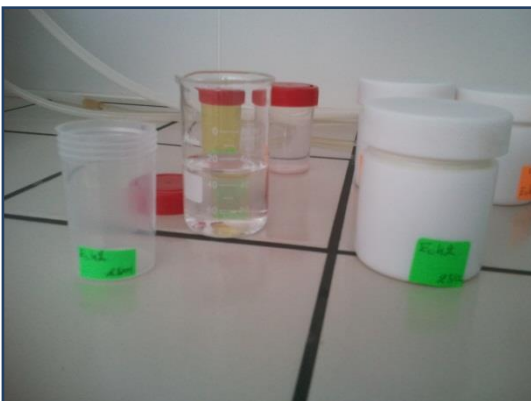


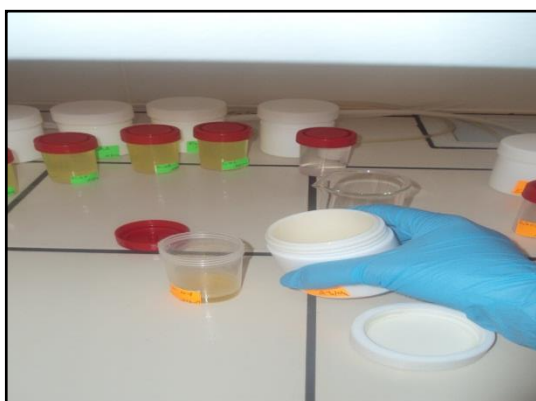
Figure B-2. Ajout de 5 ml de HNO_3 à 69%.



1



2



3



4

Figure B-3. Préparation des minéralisât (1, 2, 3, 4).



Figure C-1. La Spectrométrie d'Absorption Atomique SAA.

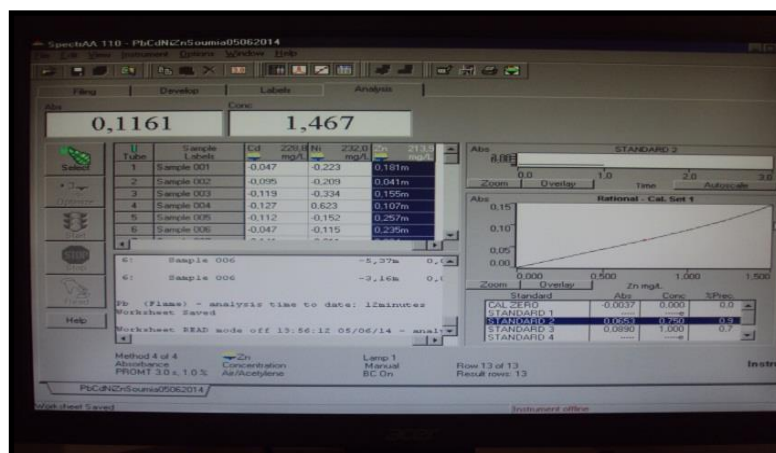


Figure C-2. Résultats obtenus par SAA.

Tableau A- 1. Gammes étalons des métaux traces analyses.

Cd	Concentration (ppm)	Absorbance
STD1	0.5	0.0478
STD2	1	0.0940
STD3	1.5	0.1388
STD4	2	e
STD5	2.5	0.2238

Pb	Concentration (ppm)	Absorbance
STD1	0.5	e
STD2	05	0.0475
STD3	10	0.1769
STD4	15	0.2830
STD5	20	0.3887

Zn	Concentration (ppm)	Absorbance
STD1	0.5	e
STD2	0.75	0.0653
STD3	1	0.0890
STD4	1.25	e
STD5	1.5	0.1495

Cu	Concentration (ppm)	Absorbance
STD1	1	0.1047
STD2	2	0.2112
STD3	6	0.6229
STD4	8	0.7799
STD5	10	0.8562

Ni	Concentration (ppm)	Absorbance
STD1	0.5	e
STD2	1	0.0083
STD3	5	0.0473
STD4	10	0.1019
STD5	15	0.1555
STD6	20	0.2043

e : absorbance non donnée par l'appareillage.

Figure A-2. Droites d'étalonnage des métaux traces analysés.

