

UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA 1

Institut des sciences vétérinaires

THESE DE DOCTORAT

Spécialité : sciences vétérinaires

**CONTAMINATION DE LA SARDINE ET DE L'ESPADON PAR LES
METAUX LOURDS ET EVALUATION DU RISQUE D'EXPOSITION
POUR LES CONSOMMATEURS ALGERIENS**

PAR

Fetta MEHOUEL

Devant le jury composé de :

N. SAHRAOUI	Prof., Université SAAD DAHLAB BLIDA 1	Présidente
T.M. HAMDI	Prof., Ecole nationale vétérinaire d'Alger	Examineur
M. ZAOUANI	MCA., Ecole nationale vétérinaire d'Alger	Examineur
R. BELABBAS	MCA., Université SAAD DAHLAB BLIDA 1	Examineur
L. BOUAYAD	MCA., Ecole nationale vétérinaire d'Alger	Promotrice
A. BERBER	Prof., Université SAAD DAHLAB BLIDA 1	Co-promoteur

Soutenue à Blida, le 30 Juin 2020

RESUME

Dans cette étude les niveaux de contamination par l'arsenic (As), le plomb (Pb), le cadmium (Cd), le mercure (Hg) et le méthylmercure (MeHg) ont été déterminés dans la chair de deux espèces de poisson ; la sardine (*Sardina pilchardus*) et l'espadon (*Xiphias gladius*) capturées dans les côtes algériennes. La quantification de l'As, le Pb et le Cd a été effectuée par la méthode de spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif (ICP-MS), la quantification du Hg et du MeHg a été effectuée par l'analyseur direct du mercure (DMA). Les résultats obtenus ont été comparés aux seuils limites réglementaires national et international. Par la suite, le risque pour le consommateur algérien a été évalué par l'estimation des doses journalières d'exposition (DJE), du quotient de danger (THQ) et de l'indice de danger (HI).

Les concentrations moyennes de l'As et de Pb enregistrées sont plus élevées dans la chair de la sardine (1,82; 0,10 mg kg⁻¹ de poids frais, respectivement) que celles obtenues dans la chair de l'espadon (1,10 mg kg⁻¹ poids frais; non déterminée) dont les différences sont significatives entre les deux espèces, tandis que les concentrations moyennes de Hg et de MeHg sont plus élevées dans la chair de l'espadon (0,61, 0,57 mg kg⁻¹ de poids frais pour le Hg et le MeHg respectivement) que celles obtenues dans la chair de la sardine (0,04 mg kg⁻¹ de poids frais) et les différences sont significatives. La concentration moyenne de Cd dans la chair des deux espèces est similaire (0,01 mg kg⁻¹ de poids frais) ; les différences ne sont pas significatives.

L'As est le métal dominant dans les deux espèces et dans les trois zones d'étude, la concentration la plus élevée est observée dans la sardine de Bejaia (2.98 mg kg⁻¹ de poids frais). Le Pb et le Cd ont enregistré des concentrations

trop faibles dans les deux espèces et dans les trois zones d'étude, les valeurs varient du non détectable à 0,12 mg/kg de poids frais. Quant au Hg et au MeHg, les concentrations élevées ont été observés dans l'espadon de Bejaia (0,77 ; 0,64 mg kg⁻¹ de poids frais respectivement).

La comparaison des concentrations de métaux obtenues avec les seuils limites réglementaires a montré que nos résultats étaient inférieurs aux valeurs-limites. Les valeurs de (DJE) estimées dans le cas de la sardine pour l'As, le Cd et le Pb sont de 0,29 ; 0,0016 ; 0,016 µg/kg de poids corporel respectivement et de 0,0064 µg/kg de poids corporel pour le Hg et MeHg. Celles estimées dans le cas de l'espadon pour l'As, le Cd, le Hg et le MeHg sont de 0,18 ; 0,0016 ; 0,098 ; 0,092 µg/kg de poids corporel respectivement et inestimable pour le Pb. Toutes ces valeurs sont inférieures aux doses journalières tolérables provisoires (DJTP) fixées par l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et le comité d'experts FAO/OMS sur les additifs alimentaires (JECFA). Le THQ et le HI enregistrés sont inférieurs au seuil « 1 ». Par conséquent le consommateur algérien ne court pas de risque d'exposition à la toxicité de ces métaux lourds.

Mots clés : métaux lourds ; sardine, espadon, quotient de danger, indice de danger, risque.

ABSTRACT

In this study, the levels of contamination by arsenic (As), lead (Pb), cadmium (Cd), mercury (Hg) and methylmercury (MeHg) were determined in the flesh of two species of fish; sardines (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) caught on the Algerian coasts. The quantification of As, Pb and Cd was carried out by the inductively coupled plasma mass spectrometer method (ICP-MS), the quantification of Hg and MeHg was carried out by the direct mercury analyzer (DMA). The results obtained were compared with the national and international regulatory thresholds. Subsequently, the risk for the Algerian consumer was assessed by estimating daily exposure doses (DEDs), target hazard quotient (THQ) and hazard index (HI).

The average concentrations of As and Pb recorded were higher in the flesh of sardine (1.82; 0.10 mg kg⁻¹ fresh weight, respectively) than those obtained in the flesh of swordfish (1.10 mg kg⁻¹ fresh weight; not determined) with significant differences between the two species, while the average concentrations of Hg and MeHg were higher in the flesh of swordfish (0.61, 0.57 mg kg⁻¹ fresh weight for Hg and MeHg respectively) than those registered in the flesh of sardine (0.04 mg kg⁻¹ fresh weight) and the differences are significant. The average concentration of Cd in the flesh of the two species was similar (0.01 mg kg⁻¹ of fresh weight) and the differences are not significant.

Arsenic was the dominant metal in both species and in the three study areas, the highest concentration was observed in the sardine of Bejaia (2.98 mg kg⁻¹ fresh weight). Pb and Cd recorded too low concentrations in the two species and in the three study areas, the values vary from not detectable to 0.12 mg kg⁻¹ of

fresh weight. As for Hg and MeHg, the highest concentrations were observed in swordfish from Bejaia (0.77; 0.64 mg kg⁻¹ fresh weight, respectively).

A comparison of obtained metals concentrations with the regulatory limit thresholds showed that our results were below the limit values. The values of (DEDs) estimated in the case of sardine for As, Cd and Pb were 0.29; 0.0016; 0.016 µg kg⁻¹ body weight respectively and 0.0064 µg kg⁻¹ body weight for Hg and MeHg). Those estimated in the case of swordfish for As, Cd, Hg and MeHg were 0.18; 0.0016; 0.098; 0.092 µg / kg body weight respectively and no-estimated for Pb. All these values did not exceed the provisional tolerable Daily intake (PTDI) established by the European Food Safety Authority (EFSA) and by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). The THQ and HI recorded were below the threshold "1". Consequently, the consumption of these fish does not pose risk to the algerian consumers.

Key words: sardine, swordfish, heavy metals, target hazard quotient, hazard index, risk.

ملخص

في هذه الدراسة تم تحديد مستويات التلوث بالزرنيخ، الرصاص، الكاديوم، الزئبق والزرنيق المثلي في لحم نوعين من الأسماك؛ السردين وسمك أبو سيف التي تم اصطيادها في السواحل الجزائرية. تم إجراء القياس الكمي للزرنيخ، الرصاص والكاديوم بواسطة طريقة قياس الطيف الكتلي للبلازما المقترنة بالحدف، وتم إجراء القياس الكمي للزرنيق والزرنيق المثلي بواسطة محلل الزئبق المباشر. تمت مقارنة النتائج التي تم الحصول عليها مع العتبات التنظيمية الوطنية والدولية. وتم بعد ذلك تقييم المخاطر التي يتعرض لها المستهلك الجزائري من خلال تقدير جرعات التعرض اليومية، حاصل الخطر، مؤشر الخطر.

متوسط تركيزات الزرنيخ والرصاص المسجلة مرتفعة في لحم السردين (1.82؛ 0.10 ملغ/كغ من الوزن الطازج على التوالي) مقارنة بتلك التي تم الحصول عليها في لحم سمك أبو سيف (1.10 ملغ/كغ من الوزن الطازج، غير محددة). في حين أن متوسط تركيزات الزئبق المثلي والزرنيق المثلي مرتفعة في لحم سمك أبو سيف (0.61؛ 0.57 ملغ/كغ من الوزن الطازج على التوالي) مقارنة بتلك التي تم الحصول عليها في لحم السردين (0.04 ملغ/كغ من الوزن الطازج). متوسط تركيز الكاديوم في لحم النوعين من الأسماك متساوي (0.01 ملغ/كغ من الوزن الطازج).

الزرنيخ هو المعدن السائد في كلا النوعين من الأسماك وفي مناطق الدراسة الثلاثة حيث لوحظ أعلى التركيز في سردين بجاية (2.98 ملغ/كغ من الوزن الطازج). الرصاص والكاديوم سجلا تركيزات منخفضة للغاية في نوعين من الأسماك وفي مناطق الدراسة حيث تختلف القيم من غير محددة إلى 0.12 ملغ/كغ من الوزن الطازج. أما بنسبة للزرنيق و الزئبق المثلي فقد لوحظت تركيزات عالية في سمك أبو سيف لمنطقة بجاية (0.77؛ 0.64 ملغ/كغ من الوزن الطازج على التوالي).

أظهرت مقارنة تركيزات المعادن التي تم الحصول عليها مع عتبات الحد التنظيمية أن نتائجا أقل من القيم الحدية. قيم جرعات التعرض اليومية المقدرة في حالة السردين للزرنيخ، الكاديوم والرصاص هي 0.29؛ و0.0016؛ و0.016 ميكروغرام /كغ من وزن الجسم على التوالي و0.0064 ميكروغرام /كغ من وزن الجسم للزرنيق و للزرنيق المثلي. تلك المقدرة في حالة سمك أبو سيف بالنسبة للزرنيخ، الكاديوم، الزئبق و الزئبق المثلي هي 0.18؛ 0.016؛ 0.098؛ و0.092 ميكروغرام /كغ من وزن الجسم على التوالي ولم يتم تقديرها في حالة الرصاص. كل هذه القيم أقل من الجرعات اليومية المؤقتة المسموح بها التي وضعتها الهيئة الأوروبية لسلامة الأغذية ولجنة الخبراء التابعة

للمنظمة الأغذية والزراعة ومنظمة الصحة العالمية بشأن المضافات الغذائية. حاصل الخطر ومؤشر الخطر أقل من العتبة 1 وبالتالي فإن المستهلك الجزائري ليس متعرض لخطر سمية هذه المعادن.

الكلمات المفتاحية: السردين، سمك أبو سيف، المعادن الثقيلة، حاصل الخطر، مؤشر الخطر، الخطر.

REMERCIEMENTS

Au terme de ce modeste travail, je ressens aussi bien la joie que le devoir de remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de cette étude et qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à ma formation scientifique.

Ma gratitude et mes plus vifs remerciements s'adressent en premier à ma directrice de thèse, Madame **Leila BOUAYAD** maitre de conférences A à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger qui m'a permis de préparer cette thèse, pour sa gentillesse, sa disponibilité et ses orientations durant toutes ces années de travail depuis le magister jusqu'à présent. Je la remercie aussi d'avoir consacré un temps précieux à la correction de cette thèse. Qu'elle trouve ici toute ma sympathie. Merci infiniment.

Mes remerciements s'adressent à mon co-directeur de thèse monsieur **Ali BERBER**, professeur à l'Institut des Sciences Vétérinaires de Blida, pour sa disponibilité et son aide pendant ces années de travail.

J'adresse mes plus sincères remerciements à madame **Naima SAHRAOUI**, Professeur à l'Institut des Sciences Vétérinaires de Blida pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de mon travail. Qu'elle trouve ici l'expression de ma plus profonde gratitude et mes plus vifs remerciements.

Je tiens à remercier monsieur **Taha Mossadak HAMD**I, professeur à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger pour l'honneur qu'il m'a fait de participer à ce jury et d'examiner mon travail, mes sincères remerciements et toute ma considération.

Je remercie également monsieur **Mohamed ZAOUANI**, maître de conférences A à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger pour l'honneur qu'il m'a fait d'examiner mon travail. Qu'il trouve ici l'expression de mes vifs remerciements et mes sincères respects.

Je tiens à remercier également Monsieur **Rafik BELABAS**, Maître de conférences A à l'Institut des Sciences Vétérinaires de Blida, pour l'honneur qu'il m'a fait d'évaluer ce travail et de faire partie du jury. Qu'il trouve ici mes remerciements et mes sincères respects.

C'est avec un énorme plaisir que je remercie **Inge VAN HAUTEGHEM** et **Mieke VAN DE WIELE** managers du laboratoire de l'Agence Fédérale de la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA) à Gentbrugge en Belgique, pour leur accueil chaleureux dans le laboratoire où j'ai réalisé une grande partie de mon travail expérimental et d'avoir mis à ma disposition tout le matériel nécessaire pour le réaliser, pour leur disponibilité pendant tout ce temps, leur gentillesse, leurs conseils, les mots ne suffiront jamais pour exprimer ma reconnaissance. Sans oublier aussi le personnel du laboratoire de l'unité de chimie inorganique pour leur aide précieuse, leur gentillesse, leur disponibilité : **Vanessa, Sophie, Francine, Marnix, Annemie, Gina**.... grâce à vous j'ai pu finir la partie pratique dans un laps de temps court.

Je remercie vivement professeur **ALAMER** directrice générale du Laboratoire du Centre National de Toxicologie (CNT), Madame **Kahina BETTANE** responsable de l'unité de toxicologie alimentaire d'avoir mis à ma disposition les moyens nécessaires pour réaliser une partie de mon travail, pour leurs gentillesses et aides précieuses. Je remercie aussi **Djidjigua DJIROUD** pour son suivi et ses conseils.

J'adresse mes sincères remerciements à la directrice de la section des données statistiques du Ministère de la Pêche et des Ressources Halieutiques madame **Leila LOUNACI** pour son aide précieuse, sa disponibilité et sa gentillesse.

Je remercie infiniment Madame **Ouarda AYADI**, Maitre de conférences A à l'Institut des Sciences Vétérinaire de Constantine, pour son aide précieuse, ses conseils, sa gentillesse et sa disponibilité.

Mes remerciements s'adressent aussi à **Madame Samira ALI AHMED et messieurs Kamilou OURO SAMA et Michel MARENGO**, pour leur aide, leur disponibilité, leurs conseils. Grand merci.

Je tiens à remercier aussi **Aghiles Hammas**, pour son aide précieuse, ses conseils, tu m'as toujours soutenu et accompagné pendant ces années de recherche.

Je remercie aussi le personnel du service de la post- graduation de l'Institut des Sciences Vétérinaires de Blida, pour leur disponibilité durant ces quatre années du travail.

Je réserve non seulement mes remerciements mais aussi ma gratitude à **mes parents**, je leur suis reconnaissante, pour leur soutien moral et financier, leurs encouragements et leur amour qui m'a permis d'avancer dans la vie.

TABLE DES MATIERES

RESUME	2
ABSTRACT	4
RMERCIEMENTS	8
TABLE DES MATIERES	11
Liste des illustrations, graphiques et tableaux	16
INTRODUCTION	18
CHPITRE 1	
METAUX LOURDS	
1.1. Généralités	22
1.1.1. Définition	22
1.1.2. Sources des métaux lourds dans l'environnement	24
1.1.2.1. Sol	24
1.1.2.2. Air	25
1.1.2.3. Eau de mer	25
1.2. Principaux métaux lourds	26
1.2.1. Arsenic (As)	26
1.2.1.1. Histoire	26
1.2.1.2. Propriétés	26
1.2.1.3. Sources dans l'environnement	27
1.2.1.4. Utilisations	27
1.2.1.5. Comportement dans l'eau de mer	29
1.2.2. Cadmium (Cd)	30
1.2.2.1. Histoire	30
1.2.2.2. Propriétés	30
1.2.2.3. Sources dans l'environnement	32
1.2.2.4. Utilisations	34
1.2.2.5. Comportement dans l'eau de mer	34
1.2.3. Mercure (Hg)	36
1.2.3.1. Histoire	36
1.2.3.2. Propriétés	37
1.2.3.3. Formes du mercure	38
1.2.3.4. Sources dans l'environnement	38
1.2.3.5. Utilisations	39
1.2.3.6. Comportement dans l'eau de mer	40
1.2.4. Plomb (Pb)	41
1.2.4.1. Histoire	41

1.2.4.2. Propriétés	42
1.2.4.3. Sources dans l'environnement	43
1.2.4.4. Utilisations	44
1.2.4.5. Comportement dans l'eau de mer	45
CHAPITRE 2	
CONTAMINATION DES POISSONS PAR LES METAUX LOURDS	
2.1. Principaux généraux	46
2.1.1. Spéciation et biodisponibilité des métaux lourds en milieu marin	46
2.1.2. Devenir des métaux lourds dans le milieu marin	47
2.1.3. Facteurs de variations de la bioaccumulation des métaux lourds par les poissons	49
2.2. Contamination des poissons par l'arsenic (As)	52
2.2.1. Toxicocénitique	53
2.2.2. Toxicité	54
2.3. Contamination des poissons par le cadmium (Cd)	54
2.3.1. Toxicocénitique	54
2.3.2. Toxicité	56
2.4. Contamination des poissons par le mercure (Hg)	57
2.4.1. Bioamplification du méthylmercure le long du réseau trophique marin	57
2.4.2. Toxicocénitique	58
2.4.3. Toxicité	60
2.5. Contamination des poissons par le plomb (Pb)	60
2.5.1. Toxicocénitique	60
2.5.2. Toxicité	61
2.6. Bases réglementaires	62
2.6.1. Réglementation Algérienne	62
2.6.2. Réglementation européenne et internationale	62
CHAPITRE 3	
INTOXICATIONS AUX METAUX LOURDS	
3.1. Intoxication à l'arsenic (As) (Arsenicisme)	64
3.1.1. Sources d'intoxication	64
3.1.4. Symptomatologie de l'intoxication à l'arsenic	64
3.1.4.1. Intoxication aiguë (Arsenicisme aigu)	65
3.1.4.2. Intoxication chronique (Arsenicisme chronique)	65
3.1.5.1. Traitement de l'intoxication à l'arsenic	66
3.1.6. Avis du comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA)	67
3.2. Intoxication au cadmium (Cd)	67
3.2.1. Sources d'intoxication	67
3.2.2. Symptomatologie de l'intoxication au cadmium	68
3.2.2.1. Intoxication aiguë	68
3.2.2.2. Intoxication chronique	72
3.2.3. Traitement de l'intoxication au cadmium	73
3.2.4. Avis de l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et de	73

comité mixte FAO/ OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA)	
3.3. Intoxication au mercure (Hg)	73
3.3.1. Sources d'intoxication	73
3.3.2. Symptomatologie de l'intoxication au mercure inorganique	74
3.3.2.1. Intoxication aiguë	74
3.3.2.2. Intoxication chronique	74
3.3.3. Symptomatologie de l'intoxication au mercure organique (méthylmercure)	75
3.3.4. Mécanisme de protection de l'organisme contre le mercure	78
3.3.5. Traitement de l'intoxication au mercure	78
3.3.6. Avis de l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et de comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA)	79
3.4. Intoxication au plomb (Pb) (Saturnisme)	80
3.4.1. Sources d'intoxication	80
3.4.2. Symptomatologie de l'intoxication	81
3.4.2.1. Intoxication aiguë (Saturnisme aiguë)	81
3.4.2.2. Intoxication chronique (Saturnisme chronique)	81
3.4.3. Mécanisme de protection de l'organisme contre le plomb	83
3.4.4. Traitement de l'intoxication au plomb	83
3.4.5. Avis de l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et de comité mixte FAO/ OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA)	84
3.4.6. Recommandation de l'OMS sur le plomb dans l'eau de boisson	84
CHAPITRE 4	
METHODES D'ANALYSE DES METAUX LOURDS AVEC L'EVALUATION DU RISQUE CHIMIQUE	
4.1. Méthodes d'analyse par spectrométrie par plasma à couplage inductif (ICP-MS)	85
4.1.1. Principe de l'analyse par ICP-MS	85
4.1.2. Appareillage	86
4.1.3. Mesure	89
4.1.4. Domaine d'utilisation	90
4.1.5. Avantages et inconvénients de la technique	90
4.2. Méthode d'analyse par l'analyseur direct de mercure (DMA)	91
4.2.1. Principe de l'analyse par DMA	91
4.2.2. Appareillage	91
4.2.3. Mesure	92
4.2.4. Domaine d'application	92
4.2.5. Avantages et inconvénients de la technique	93
4.3. Généralités	94
4.4. Intérêts de l'évaluation du risque dans l'analyse du risque chimique en sécurité des aliments	95
4.5. Evaluation du risque pour les dangers chimiques (métaux lourds)	95
4.5.1. Identification des dangers	96
4.5.2. Caractérisation des dangers	96
4.5.3. Evaluation de l'exposition de la population	96
4.5.4. Caractérisation des risques	97

CHAPITRE 5

CONTAMINATION DE LA SARDINE ET DE L'ESPADON PAR LES METAUX LOURDS (PARTIE 1)

5.1. Matériels	98
5.1.1. Plan d'échantillonnage	98
5.1.1.1. Espèces étudiées	98
5.1.1.2. Métaux lourds analysés	99
5.1.1.3. Zones d'étude et points d'échantillonnage	99
5.1.2. Matériel de laboratoire	101
5.1.3. Matériel de traitement	103
5.1.4. Autre matériel	103
5.1.5. Réactifs	104
5.2. Méthodes	103
5.2.1. Préparation des échantillons	104
5.2.1.1. Domaine d'application	105
5.2.2. Préparation du matériel pour l'analyse	108
5.2.3. Dosage de l'As, Cd, Pb, Hg et MeHg	108
5.2.3.1. Dosage d l'As, Cd et Pb	108
5.2.3.1.1. Traitement des échantillons (digestion)	108
5.2.3.1.2. Mode opératoire	108
5.2.3.1.3. Dosage par ICP-MS	110
5.2.3.1.4. Principe	110
5.2.3.1.5. Préparation des solutions d'essai pour l'analyse	110
5.2.3.1.6. Préparation des solutions d'étalonnage	110
5.2.3.1.7. Calcul des résultats	111
5.2.3.1.8. Contrôle de qualité de l'analyse	111
5.2.3.1.9. Limite de détection et de quantification	111
5.2.3.2. Dosage de Hg	112
5.2.3.2.1. Prise d'essai	112
5.2.3.2.2. Dosage par l'analyseur direct du mercure (DMA)	112
5.2.3.2.3. Contrôle qualité de l'analyse	113
5.2.3.2.4. Dosage de MeHg par L'analyseur de MeHg	113
5.2.3.2.5. Domaine d'application	114
5.2.3.2.6. Extraction de la phase oragnique de Hg	114
5.2.3.3. Analyse de MeHg	116
5.2.3.4. Calcul des résultats	116
5.2.3.5. Contrôle qualité de l'analyse	116
5.2.4. Analyse statistique	117
5.3. Résultats	118
5.3.1. Détermination des limites de détection et de quantification	118
5.3.2. Résultats de la contamination de la sardine et de l'espadon par les métaux lourds	118
5.3.3. Répartition de la contamination par les métaux lourds dans la sardine et l'espadon en fonction des zones d'étude	121

5.3.3.1. Résultats du dosage des métaux lourds dans la sardine en fonction des zones d'étude	121
5.3.3.2. Résultats du dosage des métaux lourds dans l'espadon en fonction des zones d'étude	125
5.3.4. Comparaison des concentrations obtenues avec les seuils limites réglementaires	128
5.4. Discussion	131
CHAPITRE 6	
EVALUATION DU RISQUE (PARTIE 2)	
6.1. Matériels	142
6.1.1. Consommation annuelle du poisson par habitant en Algérie	142
6.1.2. Poids corporel	142
6.1.3. Concentration moyenne des métaux lourds	143
6.2. Méthode d'évaluation du risque d'exposition aux métaux lourds via la consommation de sardine et de l'espadon	143
6.2.1. Estimation de la dose journalière d'exposition (DJE)	143
6.2.2. Détermination du quotient de danger (THQ) (Caractérisation du risque)	144
6.2.3. Détermination de l'indice de danger (HI) (Hazard index) (Caractérisation du risque)	145
6.3. Résultats	146
6.3.1. Estimation des doses journalières / hebdomadaires d'exposition et comparaison avec des valeurs réglementaires	146
6.3.1.1. Estimation des doses journalières/ hebdomadaires d'exposition dans le cas de la sardine et de l'espadon pour un adulte	146
6.3.1.2. Estimation des doses journalières/ hebdomadaires d'exposition liées à la sardine par région d'étude	148
6.3.1.3. Estimation des doses journalières/ hebdomadaires d'exposition liées à l'espadon par région d'étude	150
6.3.2. Estimation du quotient de danger (THQ) et l'indice de danger (HI)	151
6.4. Discussion	153
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	158
PERSPECTIVES	161
APPENDICE A	
APPENDICE B	
APPENDICE C	
APPENDICE D	
REFFERNCES	

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1 : Cycle de l'arsenic	30
Figure 1.2 : Cycle biogéochimique simplifié du cadmium et principaux processus d'échange dissous- particulaire	36
Figure 1.3 : Cycle biochimique et formes du mercure dans l'écosystème marin	41
Figure 2.1 : Bioamplification du mercure le long de la chaîne trophique marine	51
Figure 2.2 : Bioamplification du méthylmercure le long du réseau trophique marin	58
Figure 4.1 : Constituants d'un spectromètre de masse par plasma à couplage inductif (ICP-MS)	86
Figure 4.2 : Source de plasma à couplage inductif	89
Figure 4.3 : Analyseur direct du mercure	92
Figure 5.1 : Localisation géographique des différentes zones d'étude	100
Figure 5.2 : Spectromètre de Masse par Plasma à Couplage Inductif (Perkin Elmer sciex)	102
Figure 5.3 : Analyseur Direct de Mercure (AMA- 254 Mercury Analyzer)	102
Figure 5.4 : Analyseur direct de Méthylmercure (AMA- 1 Methylmercury analyzer)	103
Figure 5.5 : Matrice prête au broyage	107
Figure 5.6 : Matrice Broyée	107
Figure 5.7 : Etiquetage et enregistrement des broyats de poisson	107
Figure 5.8 : Prise d'essai	109
Figure 5.9 : Tubes en téflon	109
Figure 5.10 : Digestion sous pression par microonde (MARS EXPRES)	109
Figure 5.11 : Prise d'essai	112
Figure 5.12 : Rinçage des nacelles	112
Figure 5.13 : Disposition des nacelles sur le carrousel	113
Figure 5.14 : Prise de la nacelle par le bras de passeur automatique	113
Figure 5.15 : Etapes de l'extraction de mercure organique (laboratoire AFSCA, 2017)	115
Figure 5.16 : Variations des concentrations des métaux lourds dosés dans les deux espèces de poisson (mg/kg de poids frais)	120
Figure 5.17 : Variations des concentrations des métaux lourds dosés dans la sardine en fonction des zones d'étude (mg/kg de poids frais)	123
Figure 5.18 : Variations des concentrations des métaux lourds dosés dans l'espadon en fonction des zones d'étude (mg/kg de poids frais)	127
Tableau 2.1 : Capacité de bioconcentration de quelques espèces marine	50
Tableau 5.1 : Limite de détection et de quantification (mg/kg)	118
Tableau 5.2 : Variations des concentrations des métaux lourds dosés dans les deux espèces de poissons	119
Tableau 5.3 : Variations des concentrations des métaux lourds dosés dans la sardine en fonction des zones d'étude (mg/kg de poids frais)	122
Tableau 5.4 : Variations des concentrations des métaux lourds dosés dans l'espadon en fonction des zones d'étude (mg/kg de poids frais)	126
Tableau 5.5 : Tableau comparatif entre les moyennes enregistrées et les seuils limites réglementaires nationale et internationales dans la chair de la sardine et de l'espadon (mg/kg de poids frais)	129
Tableau 6.1 : Doses orale de référence en mg/kg / jour	145

Tableau 6.2 : Estimation des doses journalières / hebdomadaires pour un adulte Algérien (μg /kg de poids corporel)	147
Tableau 6.3 : Doses journalières/ hebdomadaires estimées liées à la sardine par région d'étude (μg /kg de poids corporel)	148
Tableau 6.4 : Doses journalières/ hebdomadaires estimées liées à l'espadon par région d'étude (μg /kg de poids corporel)	150
Tableau 6.5 : Quotient de danger (THQ) et indice de danger pour un adulte Algérien	152

INTRODUCTION

Le poisson joue un rôle primordial dans l'alimentation humaine à l'échelle mondiale, sa consommation augmente de jour en jour en raison de la prise de conscience de ses bienfaits pour la santé [1, 2]. Le poisson constitue une source importante de protéines de haute valeur biologique, de vitamines, de minéraux essentiels et d'acides gras insaturés connus pour leurs bienfaits pour la santé [3]. La consommation de la chair de poisson est fortement recommandée par les diététiciens en raison de la présence d'acides gras oméga-3 tels que l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA) qui protègent contre les maladies coronariennes et contribuent à un développement neurologique satisfaisant chez les enfants [4,2]. La plupart des directives alimentaires européennes recommandent un minimum de deux portions de poisson par semaine afin de garantir l'apport en nutriments essentiels [5].

Cependant, de nombreuses activités naturelles et anthropiques polluent nos mers avec divers polluants chimiques tels que les métaux lourds et les métalloïdes qui s'accumulent dans les organismes marins en particulier les poissons [1,6]. L'arsenic, le cadmium, le plomb et le mercure sont les principaux éléments non essentiels qui contribuent aux risques pour la santé humaine par la consommation d'aliments. Le plomb, le cadmium et le mercure ne sont pas requis pour le corps humain et leurs effets toxiques ont été enregistrés à des concentrations extrêmement faibles, ils occupent des postes supérieurs dans toutes les listes de substances toxiques [7,8]. Ils peuvent s'accumuler dans les poissons qui se trouvent généralement à des niveaux trophiques marins élevés ce qui compromet leurs effets bénéfiques en causant de graves dommages à la santé humaine via leur consommation lorsque la contamination et l'exposition sont importantes [9,10]. Les métaux lourds sont l'un des contaminants les plus importants des écosystèmes aquatiques en raison de leur toxicité, leur longue

persistance, leur bioaccumulation et leur bioamplification dans la chaîne alimentaire [11].

L'exposition aux métaux peut endommager plusieurs organes, même à des niveaux d'exposition faibles. Le mercure peut s'accumuler dans le cerveau, les intestins, les reins, le foie et le placenta. L'exposition prolongée au cadmium est toxique pour divers tissus, notamment les reins, le foie et les systèmes nerveux central et périphérique. L'exposition à une faible dose de plomb a été associée à des effets neurologiques, immunologiques, cardiovasculaires, rénaux et/ou reproductifs et à des effets sur le développement. L'exposition à l'arsenic entraîne une variété de complications dans les systèmes organiques: tégumentaire, nerveux, respiratoire, cardiovasculaire, hématopoïétique, immunitaire, le système endocrinien, hépatique, rénal et reproducteur [12].

L'analyse des métaux lourds dans les produits de la pêche est l'une des activités les plus importantes à prendre en considération pour contrôler leur sécurité [13]. En réponse aux préoccupations du public concernant l'exposition aux métaux par la consommation de produits de mer, qui a causé des incidents tels que la maladie de Minamata au Japon, des organismes internationaux concernés par la sécurité sanitaire des aliments ont établi des doses limites pour les métaux dans divers types de produits de mer [8].

L'une des principales voies d'exposition humaine aux métaux/métalloïdes est la consommation de poissons, atteignant plus de 90 % par rapport aux autres voies d'exposition. Par conséquent, l'évaluation du risque lié aux métaux/métalloïdes par l'ingestion alimentaire est une question importante. L'agence de protection de l'environnement des États-Unis (US EPA) a proposé plusieurs méthodes pour l'évaluation du risque potentiel pour la santé humaine, comme l'estimation de la dose journalière d'exposition, le quotient de danger cible (THQ), l'indice de danger (HI) et le risque cancérigène (RC) [13].

Cette étude est une continuité d'une étude réalisée dans le cadre d'un magister qui avait pour thème « **Evaluation de la contamination de la sardine et de l'espadon par les métaux lourds (mercure(Hg), plomb(Pb), cadmium(Cd))** ». Ce travail a porté ses fruits et a abouti sur une publication d'un article intitulé « Evaluation of the heavy metals (mercury, lead and cadmium) contamination of sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) fished in three Algerian coasts » (**appendice**). Pour le choix de ces deux espèces de poisson: la sardine est considérée comme étant l'espèce la plus pêchée et la plus consommée par la population Algérienne, quant à l'espadon est une espèce prédatrice capable d'accumuler des taux élevés de métaux lourds en raison de sa situation au sommet de la chaîne trophique marine.

Dans l'étude suscitée, nous avons observé des concentrations inquiétantes de métaux lourds : cadmium (0,55 ; 0,57mg/kg), plomb (2,13 ; 3,9mg/kg) et mercure (0,62 ; 0,56mg/kg) dans la chair de la sardine et de l'espadon étudiés respectivement, elles dépassaient largement les seuils limites réglementaires acceptés. Devant ces résultats, nos questions se sont posées. Le consommateur algérien est-il exposé à ces métaux toxiques ? Que risque-t-il en consommant ces poissons ? Le mercure accumulé dans ces poissons était-il sous sa forme organique toxique ?.....

Toutes ces questions devaient trouver réponses et c'est ce qui nous a incité à nous approfondir plus dans cette thématique, tout on en élargissant l'analyse à d'autres éléments toxiques par l'utilisation de méthodes de dosage nouvelles et plus précises.

Notre approche pour réaliser ce travail est divisée en deux parties pour atteindre deux objectifs distincts :

1. La première partie ayant pour objectif :

- D'évaluer les niveaux de contamination de la chair de la sardine (*Sardina pilchardus*) et de l'espadon (*Xiphias gladius*) pêchées et commercialisées dans trois régions du littoral algérien (Alger (Nord-Centre), Bejaia (Nord-Est), Oran (Nord-ouest) par le plomb, le cadmium et le mercure en adoptant de nouvelles techniques analytiques plus sensibles et plus performantes.

- Elargir la liste des éléments toxiques à l'arsenic qui est connu pour contaminer les milieux marins, et à la forme organique du mercure connu pour être la forme la plus toxique en l'occurrence le méthylmercure.

- Comparer les concentrations obtenues aux seuils limites réglementaires nationale et internationale.

2. La deuxième partie a pour objectif l'évaluation du risque d'exposition du consommateur algérien aux métaux lourds via la consommation de ces poissons, par l'estimation des doses journalières d'exposition et les comparer aux doses journalières tolérables fixées par le comité mixte FAO/OMS d'expert des additifs alimentaire (JECFA) et l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et par le calcul de quotient de danger (THQ) et l'indice de danger (HI).

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1

LES METAUX LOURDS

1.1.Généralités

1.1.1. Définition

Un métal est un élément chimique issu le plus souvent d'un minerai doté d'un éclat particulier, bon conducteur de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristiques de dureté ,de malléabilité et ductilité se combinant ainsi aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisés par l'homme depuis l'antiquité [14, 15].

La dénomination « métaux lourds » est prise en compte le plus souvent selon deux notions :

- Notion de densité : Sont les éléments métalliques naturels, métaux ou dans certains cas métalloïdes caractérisés par une forte masse volumique, supérieur à 5g par cm³ [14].
- Notion de toxicité : Ils présentent un caractère toxique à la fois pour l'environnement, pour la santé de l'homme et les autres êtres vivants [16].Ce sont des polluants qui s'accumulent dans l'organisme après exposition à court ou à long terme et entraînent des effets dévastateurs sur les différents systèmes et fonctions (le système nerveux, les fonctions rénales, hépatiques, respiratoires et autres) [17].

Les métaux lourds sont présents dans tout l'environnement, en quantités très faibles généralement. On parle de traces de métaux lourds [18].

La classification en « métaux lourds (toxiques) » est souvent discutée car certains métaux toxiques ne sont pas particulièrement « lourds » (ex : le zinc), tandis que certains éléments toxiques ne sont pas des métaux mais des métalloïdes (ex: l'arsenic). Pour ces différentes raisons, la plupart des scientifiques préfèrent à l'appellation métaux lourds, l'appellation « Eléments Traces Métalliques » (**ETM**) ou par extension « éléments traces » [18].

Nous distinguons ainsi:

- **Oligo-éléments (métaux ou non métaux):** Ils sont indispensables au déroulement des processus biologiques mais à de très faibles doses, ils deviennent toxiques à de fortes concentrations. C'est le cas du Fer (Fe), Cuivre (Cu), Zinc (Zn), Cobalt (Co), Manganèse (Mn), Chrome (Cr), Molybdène (Mo), Sélénium (Se), Nickel (Ni), Vanadium (V), Titane (Ti), Arsenic (As)... [18].
- **Métaux lourds:** Ils n'ont aucun rôle biologique connu, ils sont considérés comme toxiques, tels que le Plomb(Pb), le Cadmium(Cd) et le Mercure(Hg) [19].

Les métaux lourds sont dangereux pour les organismes vivants à cause d'un certain nombre de caractéristiques qui leurs sont communes à tous, à savoir :

- Non biodégradables et persistants au cours du temps.
- Toxiques dès qu'ils dépassent les limites de tolérance.
- Tendance à s'accumuler dans les organismes vivants et à se concentrer au cours des transferts des matières dans les chaînes trophiques [20, 21].

Par extension le terme "métaux lourds" est associé à d'autres métaux et métalloïdes présents dans le tableau périodique à partir de la première série de transition [22]. Tout au long de cette étude, nous utiliserons le terme « métaux lourds » dans le souci d'harmoniser la terminologie utilisée.

1.1.2. Sources de métaux lourds dans l'environnement

La contamination de l'environnement par les métaux lourds possède diverses origines naturelles et ou anthropiques. Cependant, les sources anthropiques sont les plus importantes, suite au développement du mode de vie humain grâce aux sciences et à la technologie [23, 24].

1.1.2.1.Sol

Les métaux lourds dans sol sont d'origine à la fois naturelle et anthropique [25].

A. Sources naturelles

Les métaux lourds sont présents naturellement dans les roches, ils sont libérés lors de l'altération de celles-ci pour constituer le fond géochimique. Leurs concentrations naturelles dans les sols varient selon la nature de la roche, son âge et sa localisation [26].

B. Sources anthropiques

L'activité anthropique est la source majeure de contamination du sol [27]. Les principaux types de pollutions responsables de l'augmentation des flux de métaux sont :

- La pollution atmosphérique qui résulte des activités industrielles (rejets d'usines) et urbaines (gaz d'échappement, etc...) [26].

- la pollution liée aux activités agricoles (utilisation de pesticides et d'engrais chimiques et du fumier de bétail, irrigation par les eaux usées, etc...) [28].
- Les pollutions industrielles provenant des usines de production, tels que : les produits chimiques divers (industries chimiques), les matières organiques et les graisses (industries agro-alimentaires), les matières radioactives (centrales nucléaires, traitement des déchets radioactifs) et les produits issus de la métallurgie [26].

1.1.2.2. Air

Les métaux lourds se dispersent dans les hautes couches de l'atmosphère et retombent ailleurs sous forme de gaz, d'aérosols et de particules, après un transport sur de très longues distances [29, 30]. La pollution atmosphérique naturelle provient de diverses sources telles que les plantes, la décomposition radiologique, les incendies de forêt, les volcans et autres sources géothermiques et les émissions provenant du sol et de l'eau [31].

Les activités humaines représentent la principale source de pollution de l'air, à l'instar de l'extraction et de la fusion de métaux non ferreux, de la combustion du charbon industriel et des émissions des véhicules [32].

1.1.2.3. Eau de mer

Les métaux lourds pénètrent sans cesse dans l'écosystème marin à partir de sources naturelles (l'altération des roches et les éruptions volcaniques) [33, 34]. Néanmoins, les activités anthropiques restent les sources les plus importantes à l'origine de la pollution marine. Nous citerons : la fusion de minerais métalliques, la fabrication industrielle et les applications commerciales des métaux, la combustion de combustibles fossiles, les effluents domestiques et de déchets urbains, les eaux de ruissellement, les retombées atmosphériques des poussières émises lors de l'incinération de déchets (mercure), la combustion

d'essence automobile (plomb) les poussières de minerais de fer et de manganèse... [35].

Après la pénétration dans les écosystèmes aquatiques, les métaux lourds se répartissent entre la phase aqueuse et les sédiments. Une grande quantité est déposée dans les sédiments, tandis que, seulement une petite partie des ions métalliques libres reste dissoute dans la colonne d'eau [36]. Les sédiments sont le dépôt principal et la source des métaux lourds dans l'environnement aquatique et jouent un rôle important dans le transport et le stockage des métaux potentiellement dangereux [37].

Les métaux lourds peuvent s'accumuler dans les micro-organismes, la flore et la faune aquatique, qui, à son tour, peut entrer dans l'alimentation humaine et entraîner des problèmes de santé [38].

1.2. Principaux métaux lourds toxiques

1.2.1. Arsenic (As)

1.2.1.1. Histoire

Son nom vient du latin *arsenicum*, tiré du grec *arsenikon* « qui dompte le mâle » en raison de sa forte toxicité. Son appellation « Arsène » est tiré aussi de la racine grecque *arsen* (mâle) [39].

1.2.1.2. Propriétés

A. Physiques

Il possède des propriétés similaires à celles des éléments voisins surtout avec le phosphore. Sa masse atomique est de 74,9 g/mole, son point de fusion est de 817°C, son point de sublimation est égal à 613°C et sa tension de vapeur est de 1mm Hg à 372°C. Il se rapproche des métaux par sa capacité de former

des alliages, des oxydes et sa conductivité électrique et thermique ce qui justifie son utilisation dans l'industrie électronique [40].

B. Chimiques

L'arsenic est un élément chimique de la famille des pnictogènes, de symbole As et de numéro atomique 33 [39]. Il appartient au groupe VA de la classification périodique des éléments chimiques [40]. Il présente des propriétés intermédiaires entre celles des métaux et des métalloïdes. La configuration électronique de l'arsenic induit quatre degrés d'oxydation possibles : l'arsenic (-3), l'arsenic métallique (0), l'arsénite (+3) et l'arséniate (+5) [41].

Les composés de l'arsenic rencontrés dans l'environnement correspondent principalement à des espèces inorganiques, présentant les deux degrés d'oxydation As (V) et As (III) : arsénates et arsénites, respectivement. Ils sont solides ou liquides voire gazeux, Il existe plus de 200 minéraux contenant de l'arsenic qui correspondent à des arsénates, des sulfures et sels sulfatés, des arsénites, des arséniures ou encore des oxydes [39].

C. Biologiques

L'arsenic est un élément toxique et cancérigène, il n'a aucune fonction biologique dans le corps humain [42, 43].

1.2.1.3. Sources dans l'environnement

A. Sol

La source dominante de l'arsenic dans le sol est géologique, et par conséquent, elle dépend de sa concentration dans la roche mère. Des entrées supplémentaires peuvent être obtenues localement à partir de sources industrielles, telles que la fonte et la consommation des combustibles fossiles, la production du ciment, les activités minières et

ou encore de sources agricoles telles que les pesticides et les engrais phosphatés [44].

B. Air

L'arsenic est libéré dans l'atmosphère à partir de sources naturelles et anthropiques. Les entrées naturelles sont causées par l'érosion éolienne, les émissions volcaniques et par volatilisation à faible température à partir des surfaces du sol et les aérosols marins. Les principales sources anthropiques sont la consommation de combustibles fossiles (surtout le charbon), les fonderies, la production de métaux, les intrants agricoles et l'incinération des déchets. Les émissions mondiales d'arsenic naturel ont été estimées à environ 7.900 tonnes par an, tandis que les sources anthropiques d'arsenic atmosphérique (environ 18.800 – 23.600 tonnes par an) s'élevaient à environ 75% du flux d'arsenic atmosphérique mondial [44, 45].

C. Eau de mer

L'arsenic est un métalloïde répandu dans l'environnement marin en raison des sources naturelles et anthropiques. Les sources naturelles sont essentiellement l'éruption volcanique, les sources chaudes, les dépôts atmosphériques par volatilisation à basse température, les embruns, les apports fluviaux, les geysers et les fluides hydrothermaux marins des crêtes océaniques actives [46]. La source la plus commune de concentrations élevées d'arsenic dans l'environnement est attribuée aux activités anthropiques, les activités minières en sont les principales. Cependant, d'autres activités anthropiques utilisant l'As, telles que l'agriculture, la foresterie et l'industrie, ont également été reconnues comme sources de contamination de l'eau de mer [47].

1.2.1.4. Utilisations

La vaste applicabilité de l'arsenic est visible dans de nombreux domaines [48]. Historiquement, les composés de l'arsenic ont été utilisés pour des

applications pharmaceutiques et à des fins médicales [49]. En hématologie, le trioxyde d'As est parfois utilisé dans les thérapies contre les leucémies aigues promyélocytaires [50]. Utilisé abondamment en agriculture (pesticides), dans la préservation du bois, comme additif alimentaire pour le bétail et en électronique (cellules solaires, applications de semi-conducteurs).

L'Arsenic est aussi utilisé dans l'industrie métallurgique, l'industrie du verre, comme pigment pour peinture, en pyrotechnie et comme colorant [49,50].

1.2.1.5. Comportement dans l'eau de mer

Le cycle biogéochimique de l'arsenic en milieu marin comporte plusieurs cycles physico-chimiques (oxydation / réduction, précipitation / solubilisation, adsorption / désorption) (figure 1.1) et ses effets toxiques sont surtout liés à sa spéciation. De nombreux facteurs biologiques comme les bactéries marines, le phytoplancton, les algues et les autres organismes marins contribuent et jouent un rôle important et clé dans la spéciation et le cycle biogéochimique de l'arsenic [51]. Il est le quatorzième élément le plus abondant dans l'eau de mer avec une concentration moyenne de 2,0 µg /l. Mais en général, cette concentration reste relativement stable. Certaines variations peuvent survenir en raison de l'absorption biologique de l'eau de mer en surface [52]. L'Arsenic est présent sous diverses formes chimiques notamment l'arséniate (As (V)), l'arsénite (As (III)) et l'arsenic méthylé [53]. La forme inorganique est plus toxique que la forme organique. La toxicité des composés inorganiques dépend à la fois de l'état d'oxydation de l'arsenic (-3, +3 et +5) et des propriétés du composé [52]. L'arsénite (AsIII) et l'arséniate (AsV) sont les formes les plus abondantes et l'As III est 60 fois plus toxique et mobile qu'AsV [43].

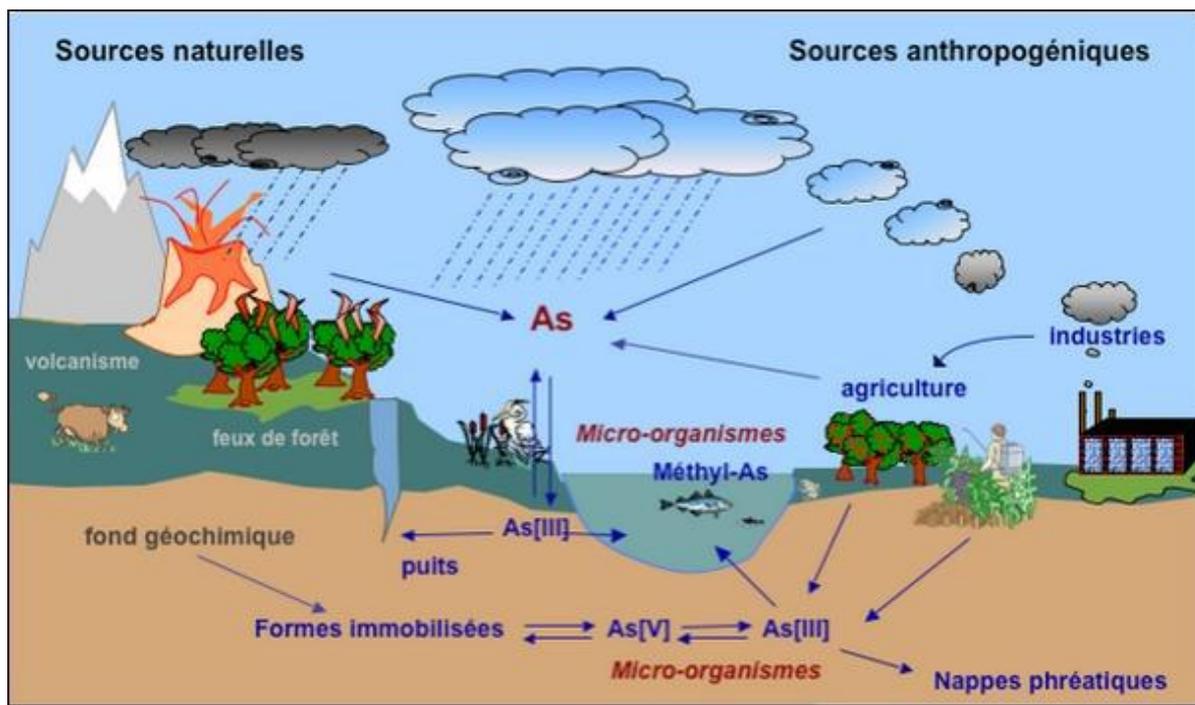


Figure 1.1 : Cycle de l'arsenic [44].

1.2.2. Cadmium (Cd)

1.2.2.1. Histoire

Le cadmium fut découvert en 1808 par Magnus Martin af Pontin, mais c'est en 1817 que le chimiste allemand Friedrich Stromeyer le prépara pour la première fois [55]. Son nom a pour origine *cadmia* en latin et *Kadmeia* en grec. Il était extrait d'un minerai, la « calamine » ancien nom donné au carbonate de zinc, aux environs de la ville de Thèbes en Grèce, qui fut fondée par Cadmos [56].

1.2.2.2. Propriétés

A. Physiques

C'est un métal blanc argenté ayant des propriétés physiques proches de celle du zinc. Il fond à 320,9°C et bout à 767°C. Lors de l'ébullition du cadmium, il se dégage des vapeurs jaunes toxiques. Sa masse spécifique

(densité) est de 8 650 kg/m³. Il est ductile (résistance à l'étirement), mou, malléable (résistance à l'aplatissement) et résiste à la corrosion atmosphérique, ce qui en fait un revêtement de protection pour les métaux ferreux [57, 58].

B. Chimiques

Le cadmium (Cd) est un élément chimique appartenant au groupe IIB des métaux de transition dans le tableau périodique des éléments de Mendeleïev avec un numéro atomique 48 et une masse atomique d'environ 112,4 g/mol. Il est rencontré sous forme métallique ou de sels (oxyde, chlorure, sulfure..). Les sels de cadmium ont une très grande stabilité thermique et chimique [56].

A température ordinaire et à sec, le cadmium n'est pas attaqué par l'oxygène, il s'oxyde lentement en présence d'humidité. Le cadmium métallique est facilement attaqué par les acides même les plus faibles, comme les acides organiques présent dans les substances alimentaires, il se dissout lentement dans les acides chlorhydriques et sulfuriques dilués avec dégagement d'hydrogène. En présence de l'acide nitrique dilué, il se forme de l'oxyde d'azote [59].

C. Biologiques

Le cadmium n'est pas essentiel au développement des organismes animaux ou végétaux et ne participe pas au métabolisme cellulaire. En revanche, ses propriétés physiques et chimiques, proches de celles du calcium, lui permettent de traverser les barrières biologiques et de s'accumuler dans les tissus [60].

1.2.2.3. Sources dans l'environnement

Le cadmium est un métal peu répandu à l'état naturel, il est présent à l'état d'impuretés dans divers minerais, notamment le zinc, le plomb et le cuivre. Les minéraux les plus importants contenant le cadmium sont la greenockite (CdS), très souvent associée à la sphalérite (ZnS), et l'otavite (CdCO₃) [56].

A. Sol

Le cadmium dans le sol peut avoir deux sources différentes :

- **Sources naturelles**

Il est présent dans toutes les roches, plus abondant dans les roches sédimentaires que dans les roches magmatiques. Il abonde aussi dans les sédiments riches en carbone, sulfure et phosphate [61].

- **Sources anthropiques**

Généralement, les sources les plus importantes du cadmium qui contaminent les sols sont :

- **Emissions atmosphériques** (transportés dans l'air et se déposent sur les sols et la végétation)
 - Fabrication d'engrais phosphatés
 - Emissions industriels / urbaines générales
 - Incinération des déchets solides municipaux
 - Combustion des combustibles fossiles (pétrole, charbon, tourbes).
 - Poussière de la route
- **contamination directe**
 - Engrais phosphatés
 - Boues de station d'épuration
 - Déchets solides municipaux compostés
 - Résidus des cendres issues de la combustion du charbon, du bois, etc...

- **Contamination accidentelle/ fugitive**
- Terrains industriels contaminés (usines chimiques, etc.)
- Décharges de déchets miniers
- Corrosion de structures métalliques galvanisées [62].

Les sources anthropiques jouent un rôle beaucoup plus important que les sources naturelles dans sa dispersion [63].

B. Air

- **Sources naturelles**

Le cadmium est émis dans l'atmosphère à partir des sources naturelles, principalement liées aux activités volcaniques [64].

- **Sources anthropiques**

Dans l'air ambiant, le Cd se trouve sous forme de particules ou de vapeurs. Diverses sources anthropiques rejettent du Cd dans l'atmosphère: l'incinération des ordures ménagères, l'application de produits phytosanitaires et les industries métallurgiques. Le traitement de métaux, notamment du zinc, et le grillage des minerais de cuivre et de nickel peuvent dégager des vapeurs de Cd. Les fonderies et les usines d'affinage sont responsables de fortes concentrations atmosphériques de Cd dans les villes très industrialisées. De même, les cendres et les résidus d'incinération résultant de la combustion d'objets contenant du Cd (peintures, PVC, colorant, additif ou catalyseur). Le tabagisme représente une importante source de Cd; en effet, une cigarette contient 1 à 2 µg de Cd. Plus le tabac est cultivé à proximité d'une zone industrialisée, plus il contient du Cd [65].

C. Eau de mer

Les principales sources de cadmium dans les écosystèmes marins et saumâtres peuvent être les éruptions volcaniques et l'érosion naturelle de la croûte terrestre, mais elles sont liées principalement aux activités anthropiques, telles que les activités industrielles (Les fonderies et les mines, incinération des déchets électroniques) et des processus agricoles (engrais phosphorés) [66].

1.2.2.4. Utilisations

Le cadmium métal et ses composés minéraux sont utilisés dans une large variété de matériaux et de procédés industriels [67]:

- Revêtement anticorrosion des métaux (acier, fonte, alliages de cuivre, aluminium...).
- Constituants de nombreux matériels électriques: Batteries alcalines, cellules photoélectriques, semi-conducteurs...
- Constituants de nombreux alliages : A bas point de fusion (fusibles, extincteurs automatiques...) ; antifriction (roulement à billes spéciaux ; à haute conductibilité (câbles électriques) ; modérateurs de neutrons (barres pour réacteurs nucléaires).
- Stabilisants pour plastiques.
- Pigments pour peintures, plastiques, verres et céramiques.
- Substances luminescentes pour télévision.

1.2.2.5. Comportement dans l'eau de mer

Le cadmium est un élément non conservatif que l'on rencontre en milieu aquatique sous diverses formes physiques (dissoute, colloïdale et particulaire) et sous différentes formes chimiques (minérale ou organique). Un ensemble de variables physico-chimiques du milieu (Salinité, pH...) gouvernent les transformations du cadmium dans l'environnement (figure 1.2) [68].

- Le cadmium dissous : A un pH égal à 8, la forme ionisée Cd^{2+} est dominante, à pH élevé il est précipité sous forme de carbonate. Lorsque la salinité augmente les formes prédominantes sont des complexes chlorés (CdCl^+ , CdCl_2). Il peut être aussi complexé par l'acide nitriloacétique [68].
- Le cadmium lié à des colloïdes: La précipitation de CdCO_3 ou de complexes organiques peut créer des composés colloïdaux, spécialement dans une eau calcaire [68].
- Le cadmium lié à des particules : Le cadmium peut être adsorbé sur des particules en suspension telles que le limon, l'hydroxyde de fer ou de manganèse. Il peut aussi être incorporé dans des phytoplanctons. La majorité des particules en suspension va sédimenter, le cadmium peut alors être relargué, particulièrement lorsque les matières organiques sont dégradées en aérobie [68].

Les organismes marins accumulent le cadmium seulement sous la forme libre ionisée Cd^{2+} qui est la principale forme toxique, il n'existe aucune bioaccumulation de cadmium sous forme de complexes chlorés par les organismes marins [69, 70].

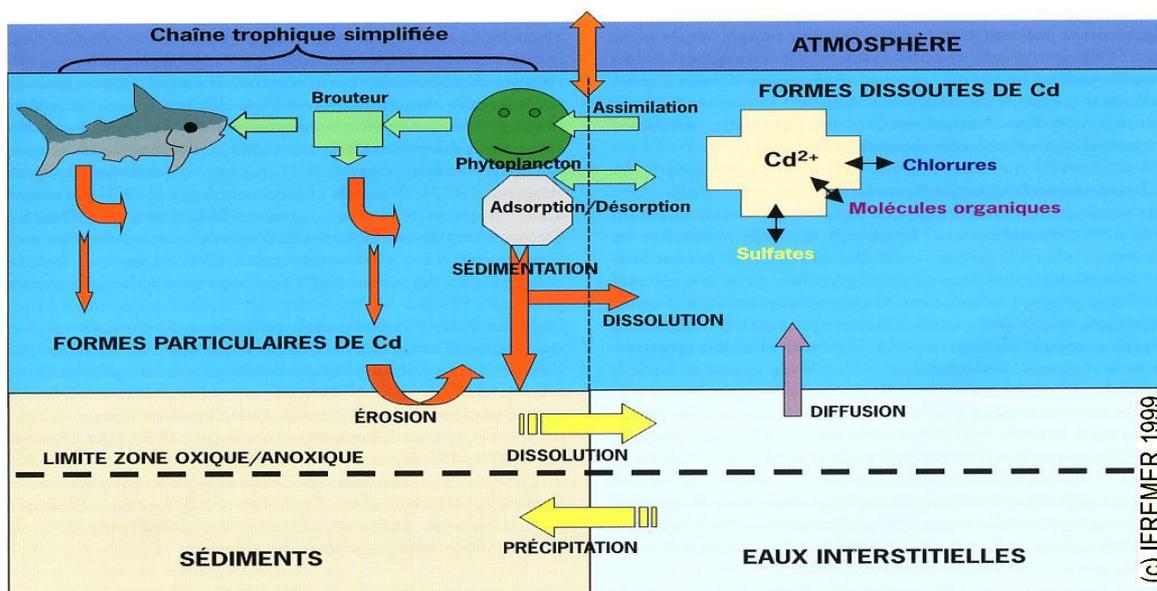


Figure 1.2 : Cycle biogéochimique simplifié du cadmium et principaux processus d'échange dissous-particulaire [68].

1.2.3. Mercure(Hg)

1.2.3.1. Histoire

Le mercure est utilisé depuis l'antiquité, il était désigné autrefois par le nom « vif argent », et représenté par la planète Mercure (d'où son nom), son symbole Hg, provient du grec latinisé *hydrargyrum* qui signifie « argent liquide » [71]. Le mercure a été le premier métal trouvé, et ses différents composés ont été utilisés à toutes les périodes de l'histoire. Ils ont retrouvés du mercure dans les tombeaux égyptiens. Il est aussi présent dans beaucoup de civilisations anciennes comme métal magique capable de chasser les mauvais esprits. Le mercure était aussi un métal de choix pour les alchimistes. Ils lui octroyaient des propriétés mystiques, il était utilisé dans les essais de dismutation du plomb en Or. A partir du 15^{ème} siècle, le mercure a été utilisé comme médicament pour soigner la syphilis [69].

1.2.3.2. Propriétés

A. Physiques

Le mercure est le seul métal liquide à température ordinaire. Ce liquide blanc argenté, brillant, inodore, très dense et très mobile, est pratiquement insoluble dans l'eau comme dans les solvants organiques usuels. Il présente un coefficient de dilatation thermique élevé ce qui explique que l'on ait fait largement usage du mercure dans les thermomètres [72].

B. Chimiques

Le numéro atomique de cet élément est 80, sa masse atomique est de 200,6 g.mol⁻¹ [73]. A température ordinaire et à sec, le mercure n'est pas oxydé par l'air, ni par l'oxygène, mais en présence de traces de vapeurs d'eau, l'oxydation peut se produire lentement, elle est accélérée par des impuretés métalliques, des radiations ultraviolettes et par l'augmentation de la température (oxydation maximale vers 350°C). Le soufre et les halogènes se combinent facilement au mercure à température ambiante [72].

La plupart des métaux tels que l'étain, le cuivre, l'or ou l'argent sont solubles dans le mercure à température ambiante pour former un amalgame [72].

C. Biologiques

Le mercure fait partie des polluants métalliques les plus toxiques aussi bien pour la santé humaine que pour la biocénose, sa forme organique " le méthylmercure " est plus préoccupante du fait de sa plus grande stabilité et de ses propriétés physico-chimiques. Son caractère hydrophobe lui confère une liposolubilité permettant le passage des barrières cellulaires [74].

1. 2.3.3. Formes du mercure

Elles sont encore appelées « espèces chimiques ». Le mercure se présente en deux familles distinctes [18]:

- ❖ Le mercure métallique qui prend lui-même trois formes différentes [18] :
 - Le mercure métallique élémentaire, sous forme liquide (noté Hg), c'est le mercure classique, sous sa forme la plus connue, qui est utilisé dans les thermomètres. Il est liposoluble.
 - Le mercure sous forme gazeuse (noté Hg⁰). Plus la température monte, plus le mercure se transforme en vapeurs très volatiles.
 - Le mercure inorganique, sous forme ionique, c'est ce qu'on appelle les atomes de mercure (noté Hg⁺²). Il est liposoluble.
- ❖ L'autre grande famille est constituée par le mercure organique [18]. Le **méthylmercure, la forme la plus toxique du mercure**, cette toxicité est due au fait qu'elle est directement assimilable par les organismes vivants et bioaccumulable le long de la chaîne trophique [75].

1.2.3.4. Sources dans l'environnement

Le mercure est un contaminant mondial provenant de sources naturelles et anthropiques, il est transporté par voie atmosphérique à longue distance et déposé dans un large éventail d'écosystèmes (air, sol, eau) indépendamment de ses sources d'émission [76].

Les sources naturelles représentent toutes les émissions directes de Hg provenant de processus tels que les éruptions volcaniques, les activités géothermiques ou érosion des sols ou minéraux contenant naturellement du mercure, principalement sous forme de cinabre (HgS), les incendies de forêt, le

dégazage de la croûte terrestre et des eaux de surface. Au niveau mondial, environ 30% des émissions de Hg proviennent de sources naturelles [77, 73]. Les émissions anthropiques proviennent principalement de la combustion du charbon, la production de métaux non ferreux, la production du ciment, la production de chlore alcali et l'incinération des déchets [77, 78].

Le mercure émis par ces sources naturelles et anthropiques est principalement transporté dans les milieux aquatiques par voie atmosphérique et par les ruissellements terrestres (industriels et agricoles) sous sa forme inorganiques (Hg^{+2}) [79]. La mobilisation des sédiments et des apports hydrothermaux sous-marins contribuent également aux quantités de mercure dans le compartiment marin [73].

1.2.3.5. Utilisations

Depuis plus de 3000 ans, l'Homme a utilisé le Hg pour de nombreuses applications. Les chinois employaient le minerai rouge de cinabre, composé de sulfure de mercure (HgS), comme colorant d'encre; les orpailleurs utilisaient le mercure élémentaire pour extraire l'or (activité toujours d'actualité) ; le calomel (Hg_2Cl_2) rentrait dans la composition de « poudres à dentition » au XXème siècle, utilisées pour prévenir les douleurs liées à la pousse des dents chez les nouveaux nés [78]. Il a été utilisé dès le moyen âge dans le traitement de la syphilis mais également jusqu'au 20^{ème} siècle comme diurétique ou contre le psoriasis. Il est encore utilisé dans la confection de certains vaccins ou antiseptiques, dans des préparations vendues pour éclaircir la peau ou en médecine traditionnelle chinoise. Il est utilisé comme colorant ou pour amalgamer l'argent destiné à produire la monnaie [80, 81]. A l'heure actuelle, le mercure est encore très largement utilisé [72,81] :

- Dans le domaine médical (antiseptiques, amalgames dentaires) ou encore dans des produits cosmétiques à titre d'agent de conservation.

- Dans la fabrication de nombreux instruments de mesures (nanomètre, thermomètre baromètre etc.).
- Dans l'industrie chimique (électrolyseur à cathode de mercure dans l'industrie du chlore, catalyseur au mercure pour la production de chlorure de vinyle à partir d'acétylène).
- Le secteur artisanal de la mine aurifère engendrant une contamination importante de l'environnement.
- Dans l'industrie électrique comme constituant de piles, de lampes, de tubes fluorescents avec certaines restrictions réglementaires sur les teneurs en mercure présent dans ces produits.
- Dans certains pesticides et fongicides.

1.2.3.6. Comportement dans l'eau de mer

Le mercure inorganique libéré dans le milieu aquatique peut y subir divers processus biochimiques (l'oxydation, la réduction, la méthylation et la déméthylation). Un processus biogéochimique clé du mercure est la méthylation, qui produit le méthylmercure (MeHg) [82], elle se fait par la complexation du mercure inorganique avec un groupement méthyle (CH₃) [83]. La méthylation se produit naturellement dans le milieu aquatique par deux voies générales: Le métabolisme microbien (processus biotiques) et la méthylation chimique (processus abiotique) (figure 1.3) [84].

La production du méthylmercure est particulièrement préoccupante, car il est soluble dans l'eau et facilement transféré des sédiments à l'eau, puis au biote comme le poisson [85]. Ceci explique sa forte capacité de bioaccumulation dans de nombreux organismes aquatiques [86]. Particulièrement les poissons pélagiques carnivores (daurade, thon, espadon, marlin, requin) [87].

En raison de cette bioaccumulation, la présence dans l'eau d'une quantité même infime de mercure peut entraîner des effets nocifs pour les organismes aquatiques et leurs prédateurs. Les plantes aquatiques absorbent le mercure inorganique et le méthylmercure directement du milieu ambiant tandis que les animaux aquatiques (poissons, mollusques et crustacés) l'absorbent à la fois du milieu ambiant et par l'intermédiaire des proies contaminés qu'ils consomment [86].

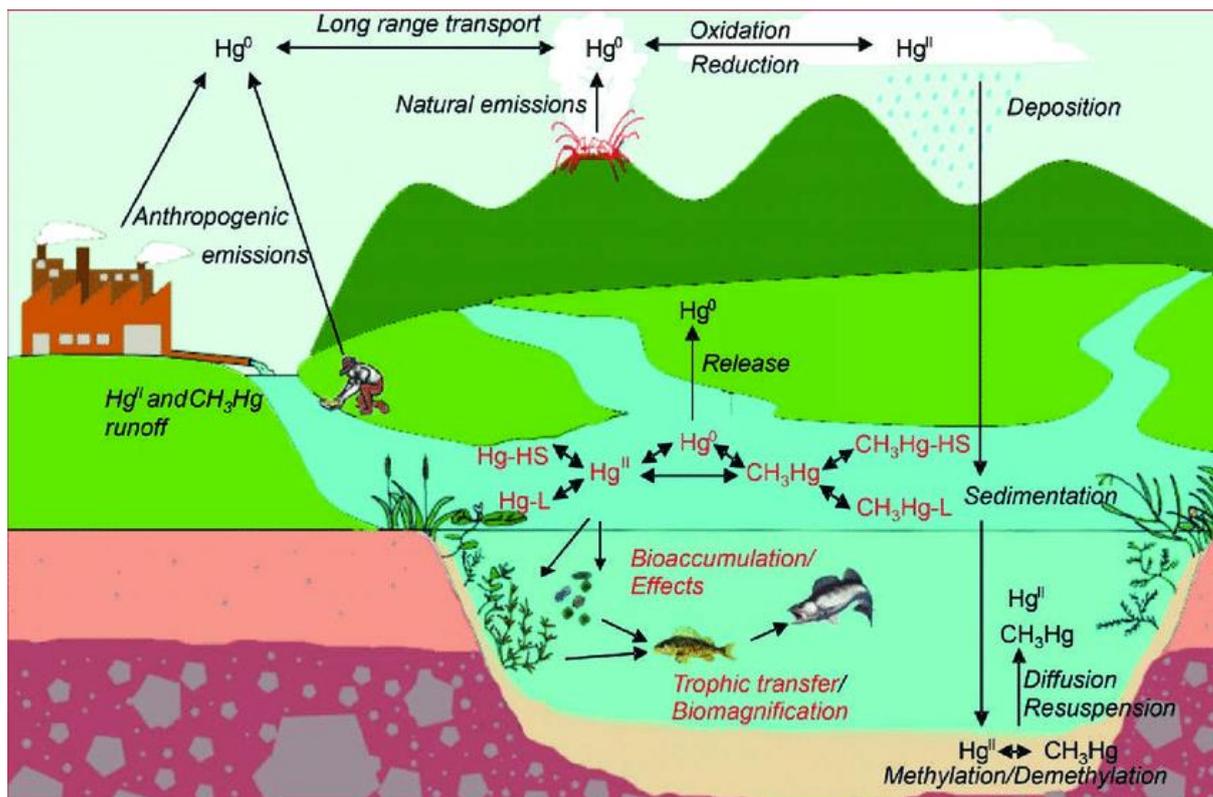


Figure 1.3 : Cycle biochimique et formes du mercure dans l'écosystème marin [88].

1.2.4. Plomb(Pb)

1.2.4.1. Histoire

Le plomb (Pb) du latin plumbum [89] est l'un des métaux les plus anciennement et les plus largement utilisés par l'homme : C'est l'un des éléments des pigments retrouvés dans les tombes néandertaliennes moustériennes (40 000 ans avant Jésus-Christ). Il est présent dans des objets décoratifs provenant de

sites néolithiques anatoliens (6 200 ans avant Jésus-Christ). Il était utilisé par les Égyptiens et les Hébreux, 4 000 ans avant Jésus-Christ et les Phéniciens ont commencé à l'extraire en Espagne environ 2 000 ans avant notre ère. Les Grecs et les Romains l'ont employé pour produire des céramiques. C'était le métal utilisé dans toutes les cités romaines pour l'adduction d'eau ; les Romains se servaient aussi de l'acétate de plomb comme édulcorant et conservateur de vin. La connaissance de la toxicité du plomb est également très ancienne [90].

1.2.4.2. Propriétés

A. Physiques

Le plomb est un métal lourd inodore de couleur grise bleutée [91]. Il a une densité relative élevée de $11,3 \text{ g/cm}^3$ et un faible point de fusion de $328 \text{ }^\circ\text{C}$. Parmi les autres caractéristiques permettant de l'identifier, on retrouve sa douceur, ductilité et malléabilité, sa faible conductivité électrique, sa haute résistance à la corrosion et sa capacité d'interagir avec des produits chimiques organiques [92].

B. Chimiques

Le plomb appartient au quatrième groupe de la classification périodique. Sa masse atomique est de $207,2 \text{ g}$ et son nombre atomique est égal à 82 [89].

A température ambiante, le plomb résiste très bien à l'action des acides sulfuriques, phosphoriques, chromiques, fluorhydriques, mais il est attaqué par l'acide nitrique. Il est également attaqué par l'acide chlorhydrique et l'acide sulfurique concentrés [93]. Ses formes chimiques sont nombreuses (plomb métal, dérivés organiques, dérivés inorganiques) [86].

C. Biologiques

Le plomb n'a aucun rôle physiologique connu chez l'être humain, sa détection dans l'organisme va toujours être considérée comme une contamination [94]. Il a la capacité d'imiter les ions

physiologiques importants tels que le zinc et le calcium, il peut se lier ainsi aux enzymes et aux protéines importantes, ce qui perturbe leurs fonctions biologiques [95].

1.2.4.3. Sources dans l'environnement

Le plomb est omniprésent dans l'environnement (air, sol, eau), il se produit naturellement par les activités volcaniques, la dégradation minière, l'érosion et l'altération des roches [96, 97]. Il est largement présent dans la croûte terrestre sous forme de minerais comme la galène (sulfure), la cérusite (carbonate) et l'anglésite (sulfate). Dans le minerai, le plomb est souvent associé à l'argent et au zinc. L'antimoine, l'arsenic, le bismuth et le cuivre sont d'autres éléments fréquemment présents dans les minerais de plomb. La production du plomb peut aussi résulter de la décomposition radioactive de l'uranium, du thorium et du radon, mais c'est une source naturelle mineure [90].

Les activités anthropiques contribuent d'une manière significative à l'augmentation de son niveau dans l'environnement, par l'extraction du plomb et d'autres métaux, les procédés industriels utilisant le plomb, la combustion du charbon, le pétrole, ou des déchets contribuant à la libération du plomb dans l'environnement, l'utilisation du plomb dans l'essence, la production d'accumulateurs électriques, traitement des eaux usées et la production d'engrais [96, 98].

Il pénètre dans l'environnement aquatique, suite à des rejets industriels ou des transferts entre les différents compartiments de l'environnement (sols pollués, retombées atmosphériques, épandage de boues de stations d'épuration...) [14].

1.2.4.4. Utilisations

- Le plomb est employé pour la fabrication des batteries et accumulateurs (batteries de démarrage des automobiles, batteries de traction...) [87].
- Il permet le revêtement anticorrosion des câbles « haute tension » souterrains ou sous-marins [87].
- Les composés minéraux sont des pigments pour peintures, vernis, émaux et céramiques ; ils sont employés en poterie (faïence, tuiles, vernissées), verreries et cristallerie [87].
- Les composés organiques sont des agents siccatifs de peintures, des stabilisants du PVC(en fixant le chlore, ils retardent son vieillissement) et des additifs lubrifiants « haute pression » [87].
- Les sels de plomb ont été utilisés dans les cosmétiques, les médicaments, et les peintures [99].
- En tant que microbicide, le plomb est également utilisé dans la conservation des aliments. Un concentré de jus de raisin (sapa) couramment utilisé comme édulcorant est préparé de préférence dans des récipients en plomb [99].

1.2.4.5. Comportement dans l'eau de mer

Le plomb existe sous trois formes essentielles: le plomb dissous, le plomb colloïdal et le plomb particulaire [100].

Le plomb étant un métal peu mobile, il a tendance à s'accumuler. Éliminé de l'eau soit par migration vers les sédiments où il est retenu par adsorption sur la matière organique et les minéraux d'argile, soit par précipitation comme sel insoluble (carbonate, sulfate ou sulfure), ce qui réduit le risque de contamination

du milieu aquatique à court terme. La quantité du plomb restant en solution sera fonction du pH [14].

Le plomb se trouve principalement sous sa forme dissoute dans l'eau, dont une proportion importante (50–70%) est sous forme de composés organiques qui sont les plus toxiques [101].

CHAPITRE 2

CONTAMINATION DES POISSONS PAR LES METAUX LOURDS

2.1. Principes généraux

2.1.1. Spéciation et biodisponibilité des métaux lourds en milieu marin

La spéciation et la biodisponibilité des métaux lourds dans le milieu marin sont deux notions importantes à connaître pour la compréhension du processus de la bioaccumulation [100]. La spéciation correspond à l'ensemble des formes physico-chimiques réunies d'un élément, formant sa concentration totale dans un milieu donné [102].

Deux grands types de spéciation sont définis : physique et chimique. La spéciation physique d'un métal est sa répartition à travers les formes particulières (> 220 nm), colloïdales (10-220 nm) et dissoutes « vraies » (< 10 nm). La spéciation chimique, quant à elle, concerne la distribution d'un élément selon différentes catégories d'espèces chimiques [102].

Il existe trois types d'interactions contrôlant la spéciation d'un métal en milieu marin [102]:

- **Précipitation** : qui définit le passage d'un élément chimique de l'état dissout à l'état solide. En milieu marin, les métaux lourds précipitent principalement sous forme d'hydroxydes, de carbonates, de phosphates ou de sulfures [102].
- **Adsorption** : qui est le phénomène par lequel les métaux se fixent sur la surface solide d'un substrat. Elle est généralement réversible par désorption [102].

- **Complexation** : Se réfère à l'association d'un métal à des ions inorganiques ou des molécules organiques naturelles ou synthétiques [102].

La spéciation du métal contrôle sa toxicité et son assimilation par les organismes marins et affecte sa biodisponibilité [100].

L'absorption du contaminant par les organismes marins à partir de l'eau ou de la nourriture ingérée dépend de la forme chimique du métal, toutefois la fraction qui est absorbée ne représente qu'une partie du total présent dans le milieu, par conséquent elle est appelée **fraction biodisponible** [100]. La biodisponibilité est définie comme étant la capacité du métal à être intégrée ; c'est une caractéristique instantanée, elle dépend de plusieurs facteurs tels que la forme du métal ou encore sa spéciation et dépend aussi des caractéristiques chimiques de l'eau dans laquelle il est déversé (température, pH et salinité) [100, 103, 104].

2.1.2. Devenir des métaux lourds dans le milieu marin

La pollution du milieu marin est essentiellement localisée dans la zone côtière où s'écoulent les fleuves et les déversements d'usines et d'égouts [57]. Les micropolluants ne s'accumulent pas dans l'eau (réceptrice), ils sont assez rapidement transférés dans les sédiments où ils sont en partie métabolisés par les organismes vivants et mis en circulation dans les chaînes alimentaires où leurs toxicités se développent [57].

Les micro-organismes marins introduisent ces micropolluants dans la biosphère, ils sont les premiers maillons des chaînes alimentaires le long desquelles les polluants rémanents vont s'accumuler dans les tissus des mangeurs successifs et ce par bioaccumulation [57].

Les métaux s'accumulent dans les organismes et particulièrement dans la chair des poissons, ils constituent une menace pour la faune terrestre et marine et pour les consommateurs humains situés au sommet de la chaîne alimentaire [57]. L'irréversibilité de cette pollution est particulièrement préoccupante du fait qu'il est pratiquement impossible de récupérer aisément ces métaux, une fois dissipés dans la nature, leur rémanence est la cause même d'une accumulation difficilement contrôlable [57].

La bioaccumulation est un processus d'assimilation et de concentration des métaux lourds dans l'organisme [57]. Elle se déroule en trois temps [57]:

2.1.2.1. Assimilation

Toute absorption n'est pas nécessairement dangereuse. D'une part, tout dépend des concentrations du polluant. D'autre part il ne faut s'intéresser qu'à la fraction soluble, biodisponible du métal. La fraction insoluble, peu biodisponible étant éliminée par différentes voies [18].

La fraction soluble, biodisponible (assimilable) se rencontre dans certains organes (organotropisme). Cette réceptivité est due soit à une fonction particulière de l'organe (le foie, principal siège de métabolisme ; les reins, siège de l'excrétion), soit à la composition physico-chimique du métal qui va favoriser son stockage et permettre son accumulation (calcium/ plomb dans les os) [105]. Il existe également des différences liées aux métaux eux même ; le cadmium se rencontre presque exclusivement dans le tube digestif, le foie et les reins. Le plomb diffuse dans la peau, les muscles et la colonne vertébrale. Le mercure dans sa forme organique diffuse dans le système nerveux [105].

2.1.2.2. Bioconcentration

Elle est définie comme étant le processus par lequel une substance (ou un élément) se retrouve dans un organisme vivant à une concentration supérieure à celle de son milieu environnant. Tous les métaux lourds en général sont concernés par la bioconcentration [105]. Ce processus d'accumulation s'exprime par un ratio entre la concentration du contaminant étudié dans le milieu et sa concentration dans l'organisme. Ce ratio est dit «facteur de bioconcentration (FBC)» [105].

La bioconcentration est différente d'une espèce marine à une autre et d'un métal à un autre (tableau 2.1). En effet, il semblerait que les fruits de mer, mollusques et crustacés et dans une moindre mesure certains poissons sont d'excellents capteurs de polluants [105].

Tableau 2.1: Capacité de bioconcentration de quelques espèces marines [18].

Métal Espèce	Cadmium	Plomb	Mercuré
Plantes aquatiques	Faible	Faible	Faible
Invertébrés	Moyenne à forte	Moyenne	Moyenne à forte
Vers	Moyenne	Moyenne	Moyenne à forte
Mollusques	Moyenne	Moyenne	Moyenne à forte
Crustacés	Forte	Moyenne	Très forte
Moules	Forte	Forte	Moyenne
Huitres	Très forte	Moyenne	Faible
Poissons	Faible	Faible	Moyenne à forte
Hareng/sardine	Faible	Faible	Faible
Plie/sole	Faible	Faible	Moyenne
Bar/roussette	Moyenne	Moyenne	Moyenne
Espadon/thon	Moyenne	Moyenne	Forte

2.1.2.3. Bioamplification (ou biomagnification)

Les transferts de métaux entre les individus du milieu marin suivent un processus classique dit « transferts trophiques » [18]. Le polluant, présent dans les algues et les micro-organismes est ingéré par un herbivore, lui-même proie d'un carnivore, lui-même proie d'un super carnivore, animal ou homme [18]. Au bout de la chaîne alimentaire, le consommateur final aura bioaccumulé les formes solubles des métaux [18].

Selon les prédateurs et les métaux, les concentrations peuvent augmenter au fur et à mesure que l'on progresse dans la chaîne trophique, comme c'est le cas pour le mercure sous sa forme méthylée (figure 2.1) [18].

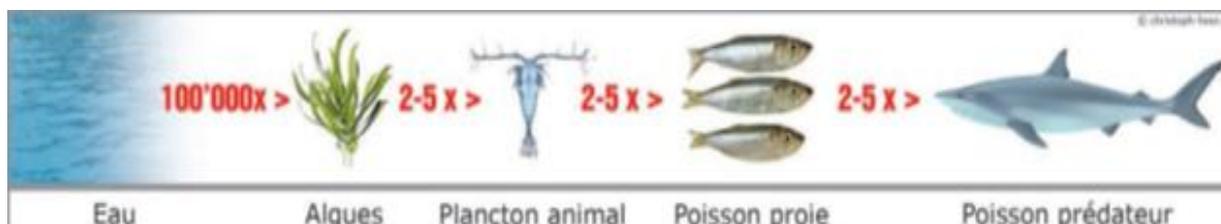


Figure 2.1: Bioamplification du mercure le long de la chaîne trophique marine [88].

2.1.3. Facteurs de variation de la bioaccumulation des métaux lourds par les poissons

Trois groupes de facteurs sont susceptibles de faire varier l'intensité de la bioaccumulation des métaux lourds par les poissons : Le contaminant, l'organisme accumulateur et le milieu marin [106].

2.1.3.1. Contaminant (métaux lourds)

Les facteurs de variation sont :

- Le degré de pollution du milieu : Il apparaît nettement dans diverses études que les concentrations des métaux lourds trouvés chez les poissons correspondent à celle de l'eau [107].
- Les propriétés physico-chimiques des métaux : La nature et la forme des métaux lourds (ionique/ élémentaire, complexes, dissous/ particulaire) influencent leur diffusion à travers la barrière biologique que forme le plasmalemm, ils conditionnent ainsi leur capacité de bioaccumulation [106]. Les formes ioniques sont celles dont la biodisponibilité est la plus élevée, car Hg^{2+} , Cd^{2+} et Pb^{2+} diffusent à

travers la membrane biologique par des canaux protéiques non spécifiques. Les complexes volumineux sont plus difficilement absorbés [106].

2.1.3.2. Organisme accumulateur (les poissons)

La bioaccumulation dépend des variations interspécifiques, mais aussi individuelles des poissons à savoir : la taille, l'âge, le sexe, le cycle de reproduction, les modèles de natation, l'alimentation et la localisation géographique [107].

L'activité métabolique est également l'un des plus cruciaux facteurs d'accumulation de métaux lourds dans les tissus des poissons, l'accumulation chez les organismes jeunes est généralement supérieure à celui des organismes âgés, puisque leur activité métabolique est beaucoup plus importante [107].

2.1.3.3. Milieu marin

La température, la salinité, le pH et la présence des ligands dans le milieu marin influencent la bioaccumulation des métaux lourds [107].

La saison de l'année est aussi un facteur important à prendre en compte (lessivage des sols par les fortes pluies) [107].

2. 2. Contamination des poissons par l'arsenic (As)

La concentration de l'arsenic est généralement très élevée (50 mg / kg ou plus de masse humide) dans les organismes marins [108]. Les deux formes inorganiques l'arsénite [As³⁺] et l'arséniate [As⁵⁺] sont les plus dominantes [109]. Les formes organiques de l'arsenic sont représentées par : L'acide mono methylarsenic, l'acide dimethyl arsenic, l'arsénobétaïne, l'arsenocholine et les différentes acides arsenolipides et arsenosucres [110]. Ces formes organiques contribuent d'avantage à l'arsenic total des poissons et des fruits de mer que les

formes inorganiques, qui contribuent à moins de 1 à 4% [51]. L'arsénobétaïne, soit l'espèce de l'arsenic majeure dans les poissons marins, constitue souvent plus de 95% de l'arsenic total présent [111].

2.2.1. Toxicocinétique

2.2.1.1. Absorption

L'arsenic inorganique est plus toxique et plus mobile que l'arsenic organique. Cependant la forme inorganique peut se transformer en forme organique par biométhylation par les phytoplanctons, alors que les composés organiques peuvent se transformer en composés inorganiques par l'activité microbienne. Les poissons absorbent l'arsenic inorganique via l'eau et la nourriture et seulement via la nourriture pour l'arsenic organique (arsénobétaïne) [112]. Des études ont suggéré que l'arsenic ne se bioamplifie pas le long de la chaîne alimentaire marine [112].

2.2.1.2. Distribution

L'arsénobétaïne s'accumule dans les organes majeurs (foie, rein) et à un taux plus élevé dans le tissu musculaire [111]. L'arsenic inorganique s'accumule plus dans le foie et l'estomac et à des faibles concentrations dans les branchies et le tissu musculaire [113].

La répartition de l'arsenic dans les différents tissus du poisson est déterminée par le temps d'exposition et le taux d'excrétion via les matières fécales, l'urine et les membranes respiratoires [113].

2.2.1.3. Elimination

Les voies d'excrétion sont représentées par le rein (urine), le foie (bile), les branchies et la peau [111, 43].

2.2.2. Toxicité

La toxicité de l'arsenic pour les organismes marins est très dépendante de la forme chimique sous laquelle il se présente [114].

Dans le poisson, les branchies sont les principaux sites d'échange de gaz respiratoire et d'absorption des polluants, tandis que le foie est considéré comme l'organe majeur pour la métabolisation et la toxicité de l'arsenic [115]. L'arsenic favorise la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et module également les enzymes antioxydantes comme la glutathion réductase (GR), les glutathion-S-transférases (GST) [115]. Plusieurs études ont également montré l'apparition de dommages oxydatifs en termes de la peroxydation lipidique et de la perte d'intégrité de l'ADN [115].

La réduction de l'AsV en As III peut permettre la fixation de l'arsenic dans l'organisme avec interaction sur les groupes thiols. Pour les échelons trophiques supérieurs la sensibilité à l'arsenic est beaucoup moins critique. Il faut atteindre des concentrations de l'ordre de 100 à 500 µg/l pour noter les premiers effets toxiques sur les **macroalgues**, les **crevettes** ou les **poissons** [116]. La toxicité se manifeste en affectant les différents systèmes et fonctions tels que la croissance, la reproduction, la régulation des ions, la smoltification, l'expression génétique, la fonction immunitaire, les activités enzymatiques, et l'histopathologie du poisson [47].

2.3. Contamination des poissons par le cadmium(Cd)

2.3.1. Toxicocinétique

2.3.1.1. Absorption

Le cadmium se trouve dans le milieu marin sous forme d'ions libres, ainsi que dans une variété de complexes avec des particules en suspension et dans les sédiments [117].

Il existe deux grandes voies majeures d'exposition des organismes d'eau de mer au cadmium, principalement les poissons [117]. Les ions métalliques dissous dans l'eau sont absorbés par les branchies et d'autres surfaces perméables du corps, alors que les métaux liés aux particules solides sont ingérés, puis détachés de leurs particules porteuses dans le système digestif et absorbés par l'épithélium intestinal [117]. L'importance de ces voies varie en partie en fonction des caractéristiques chimiques et physiques de l'eau et les sédiments [117].

2.3.1.2. Distribution

Chez les poissons, les branchies présentent une forte concentration de cadmium. Il est transporté dans le sang où il se distribue principalement dans le foie et les reins qui sont les principaux organes d'accumulation lors d'une exposition aigue et chronique et dans une moindre mesure dans la masse viscérale [118, 119].

La teneur en cadmium dans la partie comestible du poisson (tissu musculaire) est généralement très faible [120]. Ce constat ne diminue en rien le risque potentiel encouru pour la santé humaine à moyen et à long terme [121].

Le cadmium est stocké dans les mitochondries et le noyau où il peut se lier à l'ADN [118]. Dans le cytoplasme, il est pris en charge par les métallothionéines qui sont des protéines riches en acides aminés soufrés et pauvres en acides aminés aromatiques, elles permettent une liaison stable avec les ions cadmium (Cd^{+2}) [118].

2.3.1.3. Elimination

L'élimination du cadmium chez les poissons est faible, elle se fait principalement par l'urine. Cette élimination rénale ne semble dépendre que de

l'intensité de l'exposition, en effet, elle est indépendante de l'activité métabolique ou de la taille de l'individu [118, 122].

2.3.2. Toxicité

Même à des faibles concentrations, le cadmium peut s'accumuler dans l'organisme des poissons en entraînant plusieurs effets toxiques en particulier dans les stades précoces de la vie [123, 124]. La toxicité aigue du cadmium affecte généralement l'homéostasie ionique, en particulier celle du calcium. La toxicité chronique peut affecter une grande variété de processus et de fonctions physiologiques [125]. Le cadmium peut générer indirectement un stress oxydatif et des radicaux libres pouvant être causés par la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou par l'épuisement des niveaux d'antioxydants cellulaires [126]. De plus il est responsable des perturbations endocriniennes et ionorégulatrices, de l'histopathologie et de la dépression du système immunitaire, susceptibles d'affecter ainsi la croissance et la survie des poissons [122]. L'exposition au cadmium peut perturber aussi le métabolisme respiratoire des poissons, entraîner les modifications des paramètres biochimiques sanguins, des perturbations de la reproduction et de la capacité de régulation des ions de l'ensemble du corps et du plasma [126, 127].

La toxicité du cadmium pour les organismes marins varie de manière significative et dépend principalement de la concentration de sa forme ionique libre [66]. Elle est réduite par la complexation de l'ion cadmium (Cd^{2+}) par des anions organiques et inorganiques et par des interactions concurrentielles entre les ions calcium (Ca^{2+}) et les ions cadmium (Cd^{2+}) pour les sites d'absorption [128]. L'acclimatation à l'exposition au cadmium implique une variété de processus de défense et de détoxification, tels que les antioxydants (catalase), la métallothionéine, le glutathion et les protéines du choc thermique [128].

2.4. Contamination des poissons par le mercure(Hg)

2.4.1. Bioamplification du méthylmercure (MeHg) le long du réseau trophique marin

Si plusieurs métaux lourds peuvent être bioaccumulés dans les organismes marins, le MeHg a la particularité d'être bioamplifiable: on observe ainsi une augmentation des concentrations de MeHg depuis l'environnement et en remontant les réseaux trophiques marins [129].

Le mercure sous sa forme organique (méthylmercure), possède la propriété de se fixer dans les êtres vivants environ dix fois plus vite que le mercure inorganique [130]. Il traverse facilement les différentes barrières biologiques et son temps de séjour dans l'organisme est supérieur à celui du mercure inorganique. Le méthylmercure est présent en bien plus forte quantité que le mercure inorganique dans l'organisme des poissons des milieux marins contaminés [130]. Il est bioaccumulable et biomagnifiable le long de la chaîne alimentaire, c'est-à-dire qu'il se cumule et se transmet de façon exponentielle d'un organisme marin à un autre depuis la base de la chaîne alimentaire (zooplancton, invertébrés...), jusqu'aux plus gros prédateurs (figure 2.2) [130]. L'absorption se fait surtout à partir de l'alimentation, la concentration dépendra donc du régime alimentaire de l'être vivant et de ce fait, de sa place dans la chaîne alimentaire [130]. Les grands prédateurs (espadon, thon) qui sont situés au bout de chaîne trophique sont exposés à des concentrations relativement élevées (> 1 ppm) [74, 131]. Chez les poissons carnivores, le facteur temps joue un rôle important car il est nécessaire à l'accroissement de la bioaccumulation chez les consommateurs terminaux, lesquels possèdent généralement une longue durée de vie et des biomasses individuelles élevées [130].

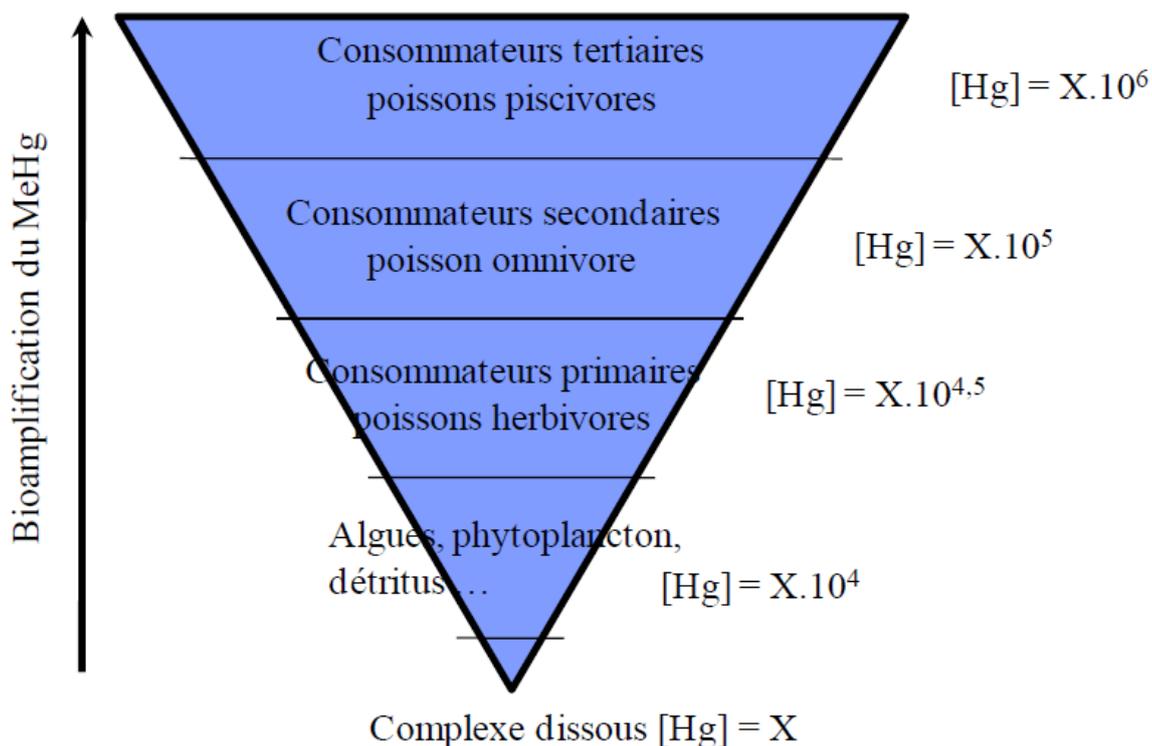


Figure 2.2: Bioamplification du méthylmercure le long du réseau trophique marin [83].

2.4.2. Toxicocinétique

2.4.2.1. Absorption

Les différentes formes du mercure entrant en contact avec les organismes marins proviennent de l'eau environnante, des sédiments et de la nourriture [83].

Le mercure inorganique traverse moins facilement les barrières biologiques que le méthylmercure, il présente un taux d'absorption au niveau de la barrière intestinale de l'ordre de 10% lorsque la contamination se fait par voie trophique [83]. Cependant, la barrière intestinale ainsi que l'épithélium branchial sont très perméables au méthylmercure [83].

Le méthylmercure est absorbé et accumulé plus que les autres formes. 99% du mercure bioaccumulé est sous cette forme méthylée (méthylmercure) [132].

2.4.2.2. Distribution

L'organotropisme du mercure est, dans un premier temps, conditionné par la voie d'exposition de l'organisme [133]. Chez les poissons, après contamination expérimentale via la voie directe (l'eau) ; les branchies et le muscle présentent les plus fortes concentrations [133]. Cependant après contamination par la voie trophique, la bioaccumulation dans les branchies est faible, alors que le foie, le cerveau et le tissu musculaire présentent des concentrations élevées et similaires [133]. La plupart des contaminants s'accumulent en grande quantité dans le foie, qui est le principal organe de désintoxication; cependant, en raison de son affinité pour le thiol (-SH), un composé structural du muscle, le mercure a tendance à se bioaccumuler plus dans le muscle [134].

La forme chimique du métal influence aussi fortement la distribution de ce dernier dans l'organisme ; le méthylmercure est principalement stocké dans le tissu musculaire (peut atteindre des concentrations de 10^6 à 10^7 supérieures à celles des eaux) et le cerveau, alors que le mercure inorganique se retrouve dans les organes "épurateurs" (foie et reins) [133, 134].

Outre la forme chimique du métal, une multitude de facteurs biologiques peuvent influencer les niveaux et les cinétiques d'accumulation du mercure par les organismes marins. Ces facteurs sont représentés par : le stade de reproduction, le sexe, la taille, l'âge et le régime alimentaire des individus [133, 134].

2.4.2.3. Elimination

Le mercure inorganique se retrouve principalement dans le foie et les reins en vue d'être éliminé par excrétion [133]. Bien que les organismes marins soient dotés de mécanismes de déméthylation et d'excrétion intestinale et rénale, la

vitesse de sortie du méthylmercure reste faible comparativement à la vitesse d'entrée, il y a de ce fait bioaccumulation au cours de la vie [86].

2.4.3. Toxicité

L'exposition au mercure peut entraîner divers effets indésirables chez les poissons à l'échelle physiologique, histologique, biochimique, enzymatique et génétique [135]. La toxicité induite est influencée par divers facteurs tels que l'espèce, l'âge, les conditions environnementales, la concentration et la durée d'exposition [135]. La forme chimique du mercure joue un rôle important dans la toxicité, la forme méthylée est 50 à 100 fois plus toxique que la forme inorganique initiale (H^{+2}) puisqu'elle est bio-amplifiable [136].

La toxicité aiguë du méthylmercure suite à l'exposition des poissons à des fortes doses (0,6 mg / kg de poids humide) peut conduire à des dommages neurologiques, y compris la réduction de l'activité natatoire, la perte d'équilibre, et éventuellement la mort, alors que l'exposition chronique à des faibles doses (0,1 mg / kg de poids humide) peut également causer des points plus subtils de toxicité, avec des effets délétères possibles à la fois chez l'individu tels que les troubles métaboliques et d'osmo-régulation, baisse de la capacité à capturer les proies, troubles neurologiques, de reproduction et de développement [132, 137].

Le stress oxydatif et l'apoptose semblent être deux principaux mécanismes affectés par l'exposition au méthylmercure au niveau cellulaire dans les poissons [138].

2.5. Contamination des poissons par le plomb (Pb)

2.5.1. Toxicocinétique

Le plomb ionique (Pb^{+2}) entre dans l'organisme des poissons par les branchies, la surface du corps et aussi par l'ingestion directe. L'absorption à partir de l'eau contaminée est plus importante que celle via la nourriture [139, 140]. La bioaccumulation est bien documentée dans la peau, les branchies, l'estomac, les

muscles, les intestins, le foie, le cerveau, les reins et les gonades, mais leurs principaux organes cibles sont : le foie, les reins et les muscles [139].

Contrairement aux composés inorganiques du plomb, le plomb tétra alkyle est rapidement absorbé par les poissons et rapidement éliminé après la fin de l'exposition [141].

2.5.2. Toxicité

L'exposition au plomb entraîne une vaste gamme d'effets toxiques sur les fonctions physiologiques, comportementales et biochimiques des poissons; il endommage également le système nerveux central, le système nerveux périphérique, le système immunitaire, le système hématopoïétique, le système cardiovasculaire et les organes tels que le foie et les reins [142, 143]. Il provoque aussi des troubles de la reproduction, de la croissance [107,143].Par conséquent, l'exposition au plomb peut être mortelle, même à de faibles concentrations, en raison de sa bioaccumulation [143].

Le plomb est l'un des métaux les plus toxiques dans l'environnement marin en raison de sa capacité à imiter les métaux biologiquement importants, principalement le calcium, le fer et le zinc [144].Il peut entrer dans la cellule en raison de sa similitude avec le calcium, en utilisant ses voies du transport. Il peut également réduire l'afflux unidirectionnel du sodium (Na^+), souvent en corrélation avec l'inhibition de la Na^+ / K^+ ATPase, une enzyme essentielle pour le maintien du volume cellulaire [145].

Son accumulation peut nuire à la fonction cellulaire, il a une forte affinité pour les groupes sulfhydriles et affecte l'activité enzymatique, la respiration mitochondriale, les fonctions neurologiques, la synthèse des protéines et la formation de globules rouges .Le plomb peut interagir avec une variété de lipides cellulaires, modifiant ainsi la composition des membranes cellulaires. Il en résulte

des perturbations d'intégrité de la membrane, de la perméabilité et de fonction, ce qui augmente la sensibilité à la peroxydation des lipides [137].

L'absorption du plomb entraîne également la production des espèces réactives d'oxygène (ERO) qui aboutissent à l'épuisement des systèmes de défense antioxydant cellulaire, une déstabilisation des membranes cellulaires et des dommages de l'ADN [137]. L'accumulation du plomb dans les mitochondries et autres organites peut causer des troubles graves du bilan énergétique des tissus et finalement la mort cellulaire [137].

2.6. Bases réglementaires

L'Algérie et l'Union Européenne (UE) ainsi que d'autres pays à l'instar de l'Australie et la Nouvelle-Zélande ont fixé des teneurs maximales pour le cadmium, le mercure, le plomb et l'arsenic dans les poissons afin d'arriver à un niveau élevé de protection de la santé publique, en particulier pour les groupes sensibles de la population.

2.6.1. Réglementation Algérienne

- L'arrêté interministériel du 30 Moharram 1432 correspondant au 5 janvier 2011 fixant les seuils-limites de présence de contaminants chimiques (dont font partie les métaux lourds), microbiologiques et toxicologiques dans les produits de la pêche et de l'aquaculture (les limites réglementaires en vigueur sont présentées en appendice B) [146].

2.6.2. Réglementation Européenne et internationale

- Le règlement (CE) N° 1881/2006 du 19 décembre 2006 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires dont font partie les métaux lourds [147].

- Le système de norme alimentaire de l'Australie et Nouvelle-Zélande de 2011 ont fixé un seuil de 2mg/kg de poids frais pour l'arsenic dans les poissons [148].

CHAPITRE 3

INTOXICATIONS AUX METAUX LOURDS

3.1. Intoxication à l'arsenic (As) (Arsenicisme)

3.1.1. Sources d'intoxication

Les aliments et l'eau potable sont les principales voies d'exposition à l'arsenic, Les espèces d'arsenic organiques comme l'arsénobétaïne et les différents arsenosucres sont les formes les plus courantes dans les poissons et les autres fruits de mer, tandis que dans les aliments d'origine terrestre, les formes inorganiques sont les plus prédominantes ; les arséniates (As (V) et arsénites As (III)) et les espèces arsenicales méthylées simples (méthylarsonate, méthylarsénite et diméthylarsinate (DMA)) [149, 150]. Les formes de l'arsenic inorganiques sont plus toxiques que les composés organiques, l'As (III) est considéré comme plus toxique que l'As (V) [149]. Dans l'alimentation, l'arsenic peut provenir des poissons, des crustacés et coquillages, de la volaille, des produits laitiers et des céréales [151].

3.1.2. Symptomatologie de l'intoxication à l'arsenic

Les problèmes de santé environnementale liés à l'arsenic ont été rapportés pour la première fois par Friberg en 1975 [152]. Une épidémie massive d'empoisonnement à l'arsenic s'est produite chez les jeunes enfants l'été de 1955 au Japon. L'intoxication provenait de la consommation de lait en poudre à laquelle du phosphate de sodium contaminé à l'arsenic a été rajouté comme stabilisateur [152].

Le tableau clinique d'une intoxication à l'arsenic varie selon le type d'exposition [153]. À la suite d'une exposition importante sur une courte période

(jours ou semaines), les manifestations sont sévères et peuvent apparaître sur une période de quelques heures à plusieurs semaines [153].

3.1.2.1. Intoxication aigue (Arsenicisme aigue)

Les manifestations précoces sont gastro-intestinales (douleurs abdominales sévères, nausées, vomissements, diarrhée aqueuse sanguinolente). L'intoxication aigue se manifeste également par des céphalées importantes, des anomalies cardiaques, des étourdissements, de la faiblesse, de la léthargie, un œdème facial et des crampes musculaires [151,153, 154]. Des atteintes importantes peuvent survenir sur le plan cardiovasculaire, respiratoire, neurologique, hépatique, rénal et hématologique, et peuvent entraîner la mort [153]. La dose létale est de 120-200 mg chez l'adulte et de 2 mg /kg chez l'enfant [154].

3.1.2.2. Intoxication chronique (Arsenicisme chronique)

L'exposition chronique peut être asymptomatique pendant plus d'une décennie. La forme chimique et physique de l'arsenic, la voie d'entrée, la dose et la durée de l'exposition, l'âge et le sexe de l'individu affectent la gravité de la toxicité[151,153].L'intoxication chronique entraîne un grand désordre multisystémique, tels que la fatigue, des symptômes gastro-intestinaux, des atteintes du système nerveux, des atteintes cardiovasculaires en particulier l'infarctus du myocarde qui peut être une cause importante de surmortalité, une anémie et une atteinte hépatique [151,153].Des lésions caractéristiques de la peau (hyperpigmentation et hyperkératose des paumes des mains et de la plante des pieds), et des leucomélanoses (pigmentation en gouttes de pluie). Ces manifestations cutanées peuvent entraîner de graves problèmes sociaux, tels que la discrimination et un sentiment d'isolement vis-à-vis de la société [151, 153,154]. Selon l'OMS [151], Baillargeon et Patry [153] et Jain et Chandramani [154] des effets sur le développement fœtal peuvent également être observés (avortements, naissances prématurées, mortinatalités), le diabète, l'hypertension et des maladies respiratoires peuvent également être liées à une intoxication chronique à l'arsenic. Des séquelles sont fréquentes, tant à la suite d'une intoxication aigüe que chronique [151, 153,154].

L'action cancérigène de l'arsenic est bien documentée. Le Centre International de Recherche sur le Cancer classe l'arsenic comme étant un cancérigène du groupe 1 [150].

L'action cancérigène serait liée à l'altération de la réparation de l'ADN, la modification de l'expression du gène p53, la génération de radicaux libres et l'activation d'un proto-oncogène entraînant la surproduction d'une oncoprotéine stimulant anormalement la division cellulaire [155].

3.1.3. Traitement de l'intoxication à l'arsenic

3.1.3.1. Traitement de l'intoxication aigue

L'exposition aiguë à l'arsenic inorganique toxique peut rapidement entraîner la mort, et il y a peu de façons pour sauver la vie du patient [156]. L'hémodialyse peut éliminer l'arsenic de la circulation sanguine, mais seulement avant qu'il ne se lie aux tissus, l'irrigation de l'estomac ou de l'intestin peut être tentée, mais peu de données indiquent que ces tentatives seront couronnées de succès [156]. Il est recommandé de consulter un néphrologue et un toxicologue dès que possible. D'autres consultants peuvent aussi être appelés (hématologue, psychiatre ou autres) [156].

La thérapie de chélation (l'utilisation de médicaments qui se lient sélectivement et qui inactivent efficacement les substances) est habituellement recommandée [156]. Le médicament et l'arsenic liés sont ensuite excrétés dans l'urine. Le médicament de chélation de choix est le Dimercaprol (également appelé BAL British Anti Lewisite); Succimer (DMSA) a également été utilisé avec succès, et Dimerval (DMPS) [156]. L'injection intramusculaire de Dimercaprol 3-5 mg / kg toutes les 4 h pour les 48 premières heures, puis toutes les 6 heures pour les 24 heures suivantes a été trouvé efficace. Ipecac est aussi utilisé pour induire

le vomissement, le lavage gastrique et l'utilisation de charbon actif aident à réduire l'absorption de l'arsenic [154].

3.1.3.2. Traitement de l'intoxication chronique

Il n'y a aucun traitement connu pour l'intoxication chronique à l'arsenic qui soit efficace pour l'individu [154]. La meilleure option consiste à minimiser l'exposition à la source d'arsenic et à fournir des soins favorables au patient [154].

Une eau potable et de cuissons saines sont les plus importants éléments pour éviter toute exposition supplémentaire [154]. Un régime riche en protéines et en vitamines A, E et C aident à la récupération des symptômes précoces [154]. Les suppléments médicaux sous forme d'antioxydants avec de la vitamine A, E et C sont bénéfiques [154]. Les patients présentant une intoxication sévère avec des complications ont besoin d'une durée du traitement assez longue et le nécessaire pour récupérer est prolongé. Les pommades Kératolytiques donnent un soulagement symptomatique des lésions cutanées kératosiques [154]. Enfin, le traitement symptomatique constitue le pilier du traitement jusqu'à ce que la toxicité réduise progressivement [154].

3.1.4. Avis du Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA)

Afin d'éviter les risques liés à l'arsenic, le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA) a fixé une dose hebdomadaire tolérable provisoire (DHTP) de 15µg/kg pour l'arsenic inorganique [157].

3.2. Intoxication au cadmium (Cd)

3.2.1. Sources d'intoxication

L'alimentation, est la source principale d'exposition au cadmium pour la population générale des non-fumeurs [158]. Il est présent de façon importante

dans certains aliments, comme les produits de la mer, les abats, certaines céréales (Riz, blé...), les champignons et les légumes et dans une moindre mesure, les fruits et la viande [56]. Les apports moyens journaliers sont d'environ 10 à 35 µg chez l'adulte non-fumeur. L'apport de cadmium dans l'eau de boisson est en général inférieur à 0,1 µg/l [56]. Les produits de la mer représentent 8 à 25% de l'exposition alimentaire au cadmium [86].

3.2.2. Symptomatologie de l'intoxication au cadmium

Les manifestations cliniques des intoxications au cadmium et leurs traitements dépendent de la voie d'exposition, de l'organe cible, mais surtout du type d'exposition (aigue ou chronique) [56]. Les expositions aiguës, sont généralement uniques et d'intensité élevée alors que les expositions chroniques sont répétées dans le temps et d'intensité plus faible, elles ne conduisent pas à des symptômes immédiats [56].

3.2.2.1. Intoxication aigue

L'ingestion de cadmium ou de ses composés inorganiques peut survenir lors de la prise d'aliments ou de boissons contaminés par du cadmium [56, 65]. Il provoque rapidement à partir de 3 mg ingéré; une salivation, des nausées, des vomissements souvent sanglants associés à des douleurs abdominales intenses, des diarrhées et des myalgies [56, 65]. Les pertes digestives engendrent des troubles hydro-électrolytiques et une hypovolémie [56, 65]. Les troubles hémodynamiques sont responsables d'une insuffisance rénale aigue, associés à l'effet toxique direct du cadmium sur les tubules rénaux. Une cytolyse hépatique modérée est parfois observée [56, 65]. Certains auteurs ont décrit l'apparition d'œdèmes facio-tronculaires [56, 65]. Lors d'intoxications massives, le patient décède en quelques heures dans un tableau de collapsus cardio-vasculaire, d'acidose métabolique majeure et d'une coagulopathie de consommation [56, 65]. La dose orale létale pour l'homme est estimée à 350-3500 mg de cadmium [159].

3.2.2.2. Intoxication chronique

- **Atteinte rénale**

Le rein est l'organe cible le plus sensible à une exposition alimentaire chronique de faible intensité au cadmium [160]. Le premier signe de lésions rénales est habituellement une dysfonction des tubules proximaux se traduisant par l'élévation de l'excrétion urinaire de protéines de faible poids moléculaires comme la β 2-microglobuline, l' α -microglobuline et la *N*-acétylglucosaminidase. L'évolution de la tubulopathie proximale peut être responsable d'une hypercalciurie parfois compliquée de lithiases urinaires, d'une hyperphosphaturie, d'une glucosurie et d'une aminoacidurie, réalisant un syndrome de Fanconi (syndrome réno-tubulaire) [59]. Après une exposition prolongée et/ou forte, les lésions tubulaires peuvent évoluer vers un dysfonctionnement glomérulaire avec une baisse du taux de filtration glomérulaire, et finalement vers une insuffisance rénale [161].

L'atteinte fonctionnelle tubulaire rénale apparaît lorsque la concentration du cadmium dans le cortex rénal atteint environ 200 μ g/g de tissu rénal [162].

- **Atteinte osseuse**

Il s'agit d'une ostéomalacie, avec parfois ostéoporose, fractures spontanées, fissurations osseuses consécutives à un défaut d'activation de la vitamine D et à une perte rénale du phosphate de calcium [163].

Cette toxicité se traduit par une affection désignée par le syndrome Itaï- Itaï. C'est la forme la plus sévère d'intoxication chronique au cadmium [164]. Ce syndrome endémique de la région de la rivière Jinzu au Japon, où la population a été exposée à des niveaux élevés de cadmium provenant de riz irrigué avec de l'eau contaminée [160, 165]. Ce syndrome se manifeste par une décalcification

osseuse (ostéomalacie) et une diminution de la masse osseuse (ostéoporose) associée à un dysfonctionnement des reins [166].

Les premiers symptômes sont une douleur dans l'os fémoral suivie d'une douleur dans la colonne vertébrale et les côtes [166]. Au stade le plus avancé de la maladie, les os se brisent au moindre choc occasionnant de multiples fractures extrêmement douloureuses qui sont à l'origine du nom de la maladie [165].

- **Atteinte cardiovasculaire et hématologique**

L'épuisement des enzymes antioxydantes (La peroxydase, spécifiquement le glutathion et le superoxyde dismutase) est proposé comme un mécanisme d'effets cardiotoxiques du cadmium [167]. Plusieurs études récentes ont mis en évidence un lien entre les niveaux du cadmium urinaire et la survenue d'une athérosclérose, une hypertension artérielle et l'infarctus du myocarde [168].

L'exposition au cadmium par voie orale réduit l'absorption gastro-intestinale du fer, ce qui peut entraîner une anémie si l'apport alimentaire en fer est faible. L'anémie a été trouvée dans certains cas chez les humains avec l'exposition alimentaire chronique au cadmium [167]. Cette dernière entraîne aussi l'hyper coagulation augmentant ainsi le risque de la thrombose [169].

- **Atteinte cutanée**

L'empoisonnement chronique au cadmium se traduit par des manifestations cutanées : l'hyperkératose et une acanthose, accompagnée de modifications ulcéreuses occasionnelles et d'une augmentation de l'indice mitotique des cellules de la peau [164].

- **Effet sur le développement fœtal**

Il y a très peu de données sur les effets du cadmium sur le développement fœtal chez les humains [167]. Certaines études ont mis en évidence des effets fœtotoxique du cadmium par voie orale, à la suite d'exposition avant et pendant la grossesse, se traduisant notamment par une diminution du poids moyen des fœtus ou des nouveau-nés [59]. Le cadmium s'avère aussi tératogène, avec de nombreuses malformations rapportées, principalement squelettiques [59]. Les doses requises sont comprises entre 1 et 20 mg de cadmium/kg/j [59].

- **Effet cancérigène**

Le cadmium est classé comme un carcinogène de type I par le centre international de recherche sur le cancer [164].

L'exposition au cadmium par voie orale dans une alimentation contaminée provoque dans la population une augmentation de la fréquence de certains cancers : Poumons, seins, vessie, endomètre et pancréas. Ces effets ont été observés dans plusieurs pays comme la Belgique et le Japon où il existe une forte pollution de l'environnement [59, 164].

L'association entre la mortalité par le cancer et le cadmium d'origine alimentaire a été évaluée sur plusieurs groupes de la population japonaise. La mortalité par cancer enregistre une augmentation d'un facteur 2,5 chez les femmes présentant une altération tubulaire acquise par des niveaux d'exposition moyens correspondant à une concentration urinaire de 12,1 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ de créatinine. Dans une autre étude, une augmentation d'un facteur 2,58 du taux de mortalité par cancer est rapportée chez les sujets présentant une altération tubulaire [162].

- **D'autres effets du cadmium**

Le cadmium est soupçonné de causer plusieurs autres effets défavorables à la santé humaine [165]. Le stress oxydatif généré par le cadmium pourrait être un facteur important dans plusieurs troubles neurologiques tels que les maladies d'Alzheimer et de Parkinson mais également dans l'altération du système cardiovasculaire [165].

3.2.3. Traitement de l'intoxications au cadmium

3.2.3.1. Intoxication aigue

Selon l'ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), il est recommandé de prendre en charge la toxicité aiguë à fortes doses de cadmium par le remplacement des fluides, la ventilation mécanique et l'apport en oxygène [170]. Le traitement per os est tout d'abord symptomatique [56]. L'évacuation gastrique est justifiée tant que la radiographie de l'abdomen sans préparation montre des opacités ; le cadmium étant radio-opaque [56].

De nombreux agents chélateurs augmentent l'excrétion rénale du cadmium et diminuent sa toxicité [56]. Cependant, certains de ces agents comme l'acide éthylène-diamine-tétra-acétique(EDTA) calcique disodique, le calcium trisodium-diéthylène-triamine-penta-acétate (Ca-DTPA), le 2,3-dimercapto-1-propane sulfonate (DMPS) et le diéthyl-dithio-carbamate (DDTC), aggravent les effets toxiques du cadmium [56].

Par ailleurs, certains auteurs proposent une chélation per os par de l'acide 2,3-dimercapto-succinique DMSA à la dose de 30 mg/kg/jour en trois prises sans dépasser la dose de 1,8 g/ jour [56]. En effet, l'administration rapide per os de DMSA après une ingestion aiguë de cadmium réduirait efficacement l'absorption intestinale et la toxicité du cadmium [56].

3.2.3.2. Intoxication chronique

Il n'existe pas de traitement spécifique de l'intoxication chronique au cadmium. Comme mentionné dans le traitement des intoxications aiguës, certains agents chélateurs sont dangereux [56]. Le DMSA n'aurait pas d'effet en cas d'intoxication chronique. Cependant, expérimentalement chez le petit animal, l'administration de N acétylcystéine a pu guérir des lésions tubulaires [56].

3.2.4. Avis de l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et du Comité mixte FAO / OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA)

Le groupe scientifique sur les contaminants de la chaîne alimentaire (CONTAM) de l'EFSA a adopté un avis sur le cadmium dans l'alimentation en 2009. Dans cet avis, une dose hebdomadaire tolérable provisoire considérablement plus faible de 2,5 µg/ kg de poids corporel a été établie par ce groupe. Ceci correspond à une dose journalière tolérable de 0,36 µg/ Kg de poids corporel [170]. En 2010 le Comité mixte FAO / OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA) a établi une dose hebdomadaire tolérable provisoire (DMTP) pour le cadmium de 7 µg /kg de poids corporel [171].

3.3. Intoxication au mercure (Hg)

3.3.1. Sources d'intoxication

Pour les personnes non exposées professionnellement, la principale source d'exposition au mercure est l'alimentation, essentiellement sous la forme organique « méthylmercure » [173,174].

Les poissons et les autres produits de la mer sont les aliments qui contiennent des taux de mercure les plus élevés (1-11 à 400mg/kg), principalement sous la forme organique (méthylmercure) [173]. Dans les autres groupes d'aliments, la forme prédominante est le mercure inorganique, les

concentrations sont généralement faible (0,1 à 50µg/kg), bien que des valeurs très élevées aient été rapportées (0,498 à 10 mg/kg) [173].

Le méthylmercure reste un sujet de préoccupation pour les populations grosses consommatrices de poissons [175].

3.3.2. Symptomatologie de l'intoxication au mercure inorganique

3.3.2.1. Intoxication aigue

Les intoxications aigues sont essentiellement liées à l'ingestion volontaire ou accidentelle de chlorure mercurique. Le tableau initial est lié au pouvoir caustique des sels inorganiques dans le tractus digestif [176]. Des douleurs abdominales, des vomissements sanglants, voire même des perforations digestives ont été observés [176]. Une stomatite, une gastroentérite et une colite ulcéro-hémorragique peuvent compliquer le tableau. Le décès peut survenir sur un état de choc hémodynamique, une défaillance cardiovasculaire ou une insuffisance rénale aigue anurique par nécrose tubulaire [176].

La dose de chlorure mercurique pouvant être mortelle est de l'ordre de 1,5g [177].

3.3.2.2. Intoxication chronique

Lors d'expositions chroniques aux dérivés inorganiques du mercure, le rein est l'organe cible critique [176]. La sévérité et la réversibilité des lésions dépendent de l'intensité et de la durée de l'exposition [176].

- **Atteinte rénale**

L'exposition chronique au mercure inorganique entraîne des néphropathies [178]. Cette forme du mercure s'accumule au niveau des tubules proximaux du rein et la zone superficielle de la médullaire externe [176]. Lors de fortes expositions au mercure inorganique, des tubulopathies dose-dépendantes et des glomérulonéphrites à dépôts extra-membraneux sont observées [176]. Les atteintes tubulaires semblent survenir au-delà d'un certain seuil d'exposition, classiquement lorsque l'excrétion urinaire du Hg dépasse 50ug/g de créatinine [176]. Une augmentation de l'excrétion de la N-acétyl- B-D-glucosaminidase (NAG) à partir de 25 ug/g de créatinine de Hg urinaire suggère une atteinte tubulaire débutante. En revanche, il n'a pas été établi de seuil de survenue des atteintes glomérulaires [176].

- **Atteinte immunitaire**

Bien que la toxicité immunologique du mercure et de ses dérivés soit peu documentée, il semblerait qu'une exposition répétée à de faibles doses de mercure inorganique réduise la prolifération lymphocytaire, entraînant une immunodépression qui peut interagir avec d'autres facteurs génétiques ou acquis, et provoquer le développement de maladies auto-immunes [179].

3.3.3 Symptomatologie de l'intoxication au mercure organique (méthylmercure)

Le méthylmercure est connu pour être le plus toxique parmi les composés du mercure [180]. Il a été responsable de nombreuses intoxications collectives graves, les premiers accidents très sérieux sont illustrés par la dramatique intoxication des villageois de la baie de Minamata au Japon entre 1953 et 1956 [87]. Le même scénario s'est produit au Japon à Niigata le long du fleuve Agano en 1964-1965 [87]. D'autres séries d'intoxications sont survenues en Irak en 1971-1972, au Pakistan, au Guatemala, mais également aux Etats-Unis et en France suite à l'ingestion répétée de pain, contaminé par des fongicides organomercuriels (méthylmercure) [87].

L'exposition aiguë au MeHg entraîne des signes d'intoxications retardés [176]. Les effets peuvent résulter d'une absorption d'une forte dose unique (plusieurs milligrammes par kilogramme) ou d'une contamination répétée à des doses plus faibles [176]. Ils semblent survenir avec une période de latence inversement proportionnelle à l'importance de l'exposition [176].

- **Atteinte du système nerveux**

Dans un premier temps, des paresthésies des lèvres et des extrémités distales, une asthénie, un malaise général et une atteinte du champ visuel réversible sont observés lors d'intoxications peu sévères, puis suivent une encéphalopathie sévère avec détérioration intellectuelle, des troubles de mastication et de déglutition, des troubles du comportement (euphorie, dépression), une ataxie cérébelleuse, une dysarthrie, une cécité d'origine corticale, une surdité d'origine centrale et cochléaire, incapacité de marcher seul et une faiblesse musculaire [176,181, 182]. Des maladies comme l'Alzheimer et de Parkinson peuvent aussi apparaître [176,181, 182]. Dans les cas critiques, des tremblements myocloniques et des mouvements choréïques sont présents, lesquels conduisent le plus souvent au coma et à la mort [176].

Le MeHg traverse la barrière placentaire où il exerce un effet fœtotoxique et tératogène. La concentration de MeHg dans le cerveau fœtal est de 5 à 7 fois plus importante que celle du sang maternel [182]. Le système nerveux en développement est plus vulnérable aux effets du MeHg que celui des adultes et contrairement aux altérations cérébrales localisées chez l'adulte, dans le jeune cerveau en pleine période de croissance, les lésions produites sont beaucoup plus diffuses et étendues comme de graves déficiences sensorielles, une paralysie générale, réflexes hyperactifs et / ou altération du développement mental [182]. A Minamata les mères exposées durant leur grossesse et n'ayant eu aucun symptôme ont donné naissance à des enfants avec des malformations et des retards staturo-pondéraux [183]. Des troubles psychomoteurs notamment, un

retard à l'apprentissage de la marche, le retard et la perturbation du langage et de la mémoire, déficit d'attention et l'autisme peuvent être également observés [179].

- **Atteinte rénale**

La toxicité rénale est rarement rapportée après l'exposition humaine au MeHg [184]. Certains auteurs rapportent une atteinte rénale liée à la formation secondaire de mercure inorganique [176].

- **Atteinte cardiovasculaire**

L'exposition au méthylmercure provoque des effets négatifs potentiels sur le système cardiovasculaire, elle peut être à l'origine de l'athérosclérose, l'infarctus du myocarde, l'arythmie cardiaque et l'hypertension [185].

- **Atteinte immunitaire**

Le système immunitaire est récemment prouvé comme étant une autre cible pour le méthylmercure [186]. Des études suggèrent que l'exposition au méthylmercure inhibe la réponse immunitaire aux infections, avec l'induction ou l'exacerbation des maladies auto-immunes [187].

En effet, il intervient en bloquant les fonctions immunitaires du manganèse et du zinc, d'où un déficit en enzymes antioxydantes (les superoxide dismutases). [179]. Il en résulte diverses maladies, comme la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, les cancers, le syndrome de Down, la dengue [179].

- **Effet cancérigène**

Le centre international de recherche sur le cancer, a classé le méthylmercure comme cancérigène possible pour l'homme (groupe B) [188].

3.3.4. Mécanismes de protection de l'organisme contre le mercure

Au niveau intracellulaire, le mercure se retrouve en contact avec divers types de molécules de tailles et de propriétés chimiques différentes auxquelles il se complexe avec tout de même une forte affinité pour les groupements thiols (SH) (le glutathion (GSH), un acide aminé libre (la cystéine) et les métallothionéines (MT)). Une fois complexé à ces composés cellulaires, le mercure va être pris en charge par divers mécanismes cellulaires pour être au final excrété en partie [83].

Le sélénium (Se), est un oligo-élément essentiel connu pour réduire et même prévenir la toxicité du MeHg. Plusieurs études ont montré que le (Se) peut offrir un effet protecteur envers la toxicité du mercure par plusieurs mécanismes, y compris: La séquestration du Hg, l'effet antioxydant, la synthèse de glutathion(GSH), l'augmentation de l'activité de la peroxydase, et l'augmentation de la déméthylation [189]. En outre, la toxicité du MeHg ne se produit pas lorsque le sélénium est présent en excès dans les tissus [189].

3.3.5. Traitement de l'intoxication au mercure

3.3.5.1. Mercure inorganique

Lors d'intoxication aigue au mercure inorganique un traitement immédiat avec des agents chélateurs est recommandé avec certaines espèces d'oligo-éléments (le zinc et le sélénium) qui ont le pouvoir d'induire les protéines de liaison aux métaux, telles que la métallothionéine et la sélénoprotéine-P [82,190]. Les agents chélateurs incluent le Dimercaprol (BAL), D-pénicillamine (DPCN), dimercaptopropanesulfonate (DMPS) et Succimer (acide dimercaptosuccinique, DMSA) [190]. L'ion mercurique (Hg^{+2}) est facilement chélaté par les groupements thiols des agents chélateurs [176]. Cependant, on ignore si le traitement est vraiment efficace chez les patients gravement intoxiqués. En outre, les indications pour la thérapie des chélateurs n'ont pas encore été pleinement établies [190].

Le mercure étant radio-opaque, l'efficacité du lavage est contrôlée par radiographie, suivie d'un bilan lésionnel par fibroscopie œsogastroduodénale. L'administration de résine thiolée, peut favoriser l'excrétion fécale et bloquer le cycle entérohépatique [176].

Lors d'exposition chronique au mercure inorganique, la chélation par le DMSA est indiquée, s'il existe des signes cliniques d'intoxication mercurielle, La dose est de 10 à 20mg/kg par jour en cas d'intoxication chronique (maximum de 1,8 g/j chez l'adulte) [176].

En cas d'insuffisance rénale, il est nécessaire de mettre en route une épuration extra-rénale [175].

3.3.5.2. Mercure organique

Il n'existe aucune thérapie connue efficace pour réduire les dommages neuronaux [59]. L'exposition au méthylmercure d'origine alimentaire (le poisson) se produit généralement sur une longue période allant de plusieurs mois à plusieurs années [59]. Au moment où les symptômes et les signes neurologiques se développent, des lésions neuronales irréversibles ont déjà eu lieu et le traitement par chélateur n'est pas efficace. Bien entendu, il est important d'éliminer une source alimentaire contaminée afin d'éviter toute exposition et tout dégât supplémentaires [59].

3.3.6. Avis de l'autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et du Comité mixte FAO / OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA)

Le groupe scientifique d'étude sur les contaminants de la chaîne alimentaire (CONTAM) de l'EFSA a établi une DHTP de 4 µg/kg de poids corporel pour le mercure inorganique et une DHTP de 1,3 µg/kg de poids corporel pour le

méthylmercure qui est bien inférieure à la DHT établie par la JECFA de 1,6 µg/kg de poids corporel) [191].

L'exposition moyenne au méthylmercure dans les aliments est peu susceptible de dépasser la DHTP, mais la probabilité d'atteindre un tel niveau augmente. Chez les personnes qui consomment de grandes quantités de poissons de façon régulière le risque est élevé, en particulier chez les femmes enceintes avec et exposition du fœtus à un moment critique du développement cérébral [191].

L'exposition au mercure inorganique par l'intermédiaire de l'alimentation est peu susceptible de dépasser la DHTP pour la plupart des individus, à moins qu'elle ne soit combinée avec d'autres sources d'exposition (principalement dérivée des produits d'obturation dentaire) [191].

3.4. Intoxication au plomb (Pb)(Saturnisme)

3.4.1. Sources d'intoxication

La voie orale reste la principale voie d'exposition [91]. Les aliments (les fruits, les légumes, les céréales, la viande, le vin...) constituent la source d'exposition majeure au plomb pour la population générale, réalisant actuellement un apport quotidien moyen compris entre 50 et 70 µg [83]. Les produits de la mer représentent 3 à 11% de l'exposition alimentaire [86].

Une autre source d'intoxication est l'eau de boisson qui circule dans des canalisations en plomb ou lorsqu'elle entre en contact avec le plomb utilisé pour la protection des parois internes des citernes de stockage [177].

L'intoxication au plomb résulte aussi souvent des ustensiles utilisés en cuisine plus spécialement des poteries et des céramiques colorées par des émaux plombifères, qui cèdent du plomb aux aliments acides, tels que ceux contenant du vinaigre (salade), de l'acide citrique (fruits), de l'acide tartrique (vin), voire des acides gras (graisses rances) [177].

Les emballages métalliques notamment les boîtes de conserves peuvent comporter des parties soudées susceptibles de contaminer les aliments à leur contact qui peuvent être à l'origine d'intoxications [177].

3.4.2. Symptomatologie de l'intoxication

3.4.2.1. Intoxication aiguë (Saturnisme aigu)

Elle se caractérise surtout par un violent syndrome gastro-intestinal (anorexie, nausées, vomissements, douleurs et crampes abdominales), des lésions hépatiques et rénales, des arthralgies, de l'hypertension et des effets neurologiques (malaise, somnolence, encéphalopathie) qui peuvent conduire à des convulsions et à la mort [192,193]. Ces symptômes se manifestent à partir d'une plombémie de 100 à 120 $\mu\text{g}/\text{dl}$ chez l'adulte et de 80 à 100 $\mu\text{g}/\text{dl}$ chez l'enfant [159].

3.4.2.2. Intoxication chronique (Saturnisme chronique)

Elle apparaît à des niveaux du plomb dans le sang d'environ 40-60 $\mu\text{g} / \text{dl}$ [194]. Et se caractérise par :

- Des troubles de l'état général (malaise, fatigue, léthargie, anorexie, amaigrissement) [177].
- Des troubles hématologiques comme l'anémie [177].

- Des troubles gastro-intestinaux (vomissement, constipation, douleurs abdominales) [177].
- Des troubles nerveux, de type « encéphalopathie ». Chez l'enfant, on peut observer des céphalées, de l'irritabilité et de la torpeur intellectuelle, pouvant entraîner des retards d'apprentissage et de développement, un déficit d'attention, des convulsions, hallucinations, des comportements antisociaux, des maux de tête, de la paralysie et un coma [177, 195,196].
- Des troubles rénaux, de type néphropathie avec oligurie, insuffisance rénale irréversible associée à l'apparition de la goutte, l'hypertension, l'élévation de l'azotémie, hyper uricémie, diminution de la clairance de la créatinine et apparition d'une protéinurie [177, 197].
- Des troubles osseux (fragilité osseuse, ostéoporose, ostéomalacie) [198].
- Des lésions vasculaires avec des conséquences potentiellement mortelles y compris l'hypertension, l'infarctus de myocarde et les maladies cardiovasculaires comme les accidents vasculaires cérébraux [193,194].
- **Effet de l'intoxication sur la reproduction**

La toxicité du plomb entraîne un certain nombre d'effets néfastes sur la santé reproductive des hommes et des femmes [197]. Chez l'homme l'exposition étant associée à une atteinte de la morphologie et la motilité des spermatozoïdes [199]. Chez la femme, elle provoque une augmentation de l'incidence des fausses couches, des accouchements prématurés et de la fœtotoxicité (malformations congénitales) et d'infertilité [177,200].

- **Effets sur le système immunitaire**

Le système immunitaire fait partie des systèmes corporels les plus sensibles aux effets du plomb [179]. Le plomb est un toxique immunitaire; il modifie les niveaux hormonaux et les paramètres d'immunité [179]. L'immunotoxicité induite par le plomb modifie le métabolisme et la production de macrophages et de lymphocytes T [179]. Cela induit des altérations fonctionnelles des cellules immunocompétentes, ce qui entraîne une immunosuppression qui élève les risques pour le corps liés aux agents infectieux, aux maladies auto-immunes et au cancer [179].

- **Effet cancérigène du plomb**

Le Centre international de Recherche sur le Cancer (CIRC) a classé le plomb comme cancérigène probable pour l'homme [197].

3.4.3. Mécanismes de protection de l'organisme contre le plomb

L'exposition au plomb entraîne une augmentation des niveaux de métallothionéines dans les tissus, ces derniers jouent un rôle majeur dans la détoxification du plomb en le séquestrant [201]. Ce qui suggère que les humains exprimant mal les métallothionéines sont plus prédisposés à la toxicité du plomb [201].

3.4.4. Traitement de l'intoxication au plomb

3.4.4.1. Intoxication aigue

Le traitement repose sur l'administration d'antalgiques pour lutter contre les douleurs abdominales, et sur la perfusion intraveineuse d'un chélateur, le sel disodique et monocalcique de l'acide éthylène-diamine-tétra-acétique(EDTA), ou EDTA calcicodisodique ou EDTA calcique, le plomb remplace le calcium et forme un complexe (un chélate) soluble, rapidement éliminé dans l'urine [177].

Il est nécessaire de doser la créatinine avant le début d'un chélateur car le traitement risque de faire apparaître ou d'aggraver une insuffisance rénale [202].

3.4.4.2. Intoxication chronique

Le traitement comporte aussi l'administration d'EDTA calcique en perfusion. Dans les deux cas, il faut suivre la plombémie, surveiller l'état du rein et moduler les doses en conséquence. D'autres chélateurs peuvent être utilisés, notamment l'acide dimercaptosuccinique ou DMSA (succiner : Succicaptal^R), actifs par voie orale et bien tolérés [170,177].

Une médication symptomatique, comprenant des antianémiques, des corticoïdes, des vitamines du groupe C, E, B et des éléments comme le zinc, le sélénium, le fer et le calcium sont également nécessaires [170,177].

3.4.5. Avis de l'autorité européenne de sécurité des aliments(EFSA) et du Comité mixte FAO / OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA)

Le Comité mixte FAO / OMS d'experts des additifs alimentaires a fixé une dose hebdomadaire tolérable provisoire (DHTP) de 25µg / kg de poids corporel [203].

Le groupe scientifique d'étude sur les contaminants de la chaîne alimentaire (CONTAM) a conclu que les niveaux actuels d'exposition au plomb présentaient un risque faible à négligeable pour la plupart des adultes mais qu'il existait des inquiétudes potentielles en ce qui concerne les effets possibles sur le développement neurologique des fœtus, des nourrissons et des enfants [204].

3.4.6. Recommandations de l'OMS sur le plomb dans l'eau de boisson

L'OMS a établi une valeur indicative pour des concentrations maximales de plomb dans l'eau de boisson de 0,010 mg/l [192].

CHAPITRE 4

METHODES D'ANALYSE DES METAUX LOURDS ET EVALUATION DU RISQUE CHIMIQUE

Plusieurs méthodes en été utilisé pour doser et analyser des métaux lourds dans les denrées alimentaires, dans ce chapitre nous développerons les deux méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail : La méthode de spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif (ICP-MS) et la méthode d'analyse par l'analyseur direct du mercure (DMA).

4.1. Méthode d'analyse par spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif (ICP-MS)

Depuis le début des années 80, la spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif est devenue l'une des techniques les plus importantes de l'analyse élémentaire, elle a connu une croissance et une utilisation accrue. Ce succès est dû à une excellente limite de détection de la plupart des éléments, une sélectivité élevée, une précision et une exactitude raisonnablement élevée [205].

4.1.1. Principe de l'analyse par ICP-MS

L'ICP-MS est une technique largement utilisée pour le dosage simultané de plus de 70 éléments en quelques minutes de différents types d'échantillons sous forme liquide, gazeuse ou solide [206,207]. Eléments qui pourraient se retrouver même à l'état ultra-trace [208]. Cette technique instrumentale d'analyse repose sur la séparation, l'identification et la quantification des éléments constitutifs d'un échantillon en fonction de leur masse [209]. Elle est basée sur le principe général qu'un analyte envoyé à travers un plasma où la température peut atteindre 6000 K

sera atomisé et partiellement ionisé. Les ions chargés positifs sont séparés par un spectromètre de masse et sont détectés par un électron détecteur du multiplicateur [210].

L'analyse des échantillons par ICP-MS est divisée en quatre étapes : introduction-nébulisation, ionisation, séparation en masse et détection [209].

4.1.2. Appareillage

Un système ICP-MS comprend les parties suivantes (figure 4.1) [210]:

- Système d'introduction des échantillons
- Source de plasma
- Région d'interface
- Système de focalisation ionique
- Spectromètre de masse
- Détecteur

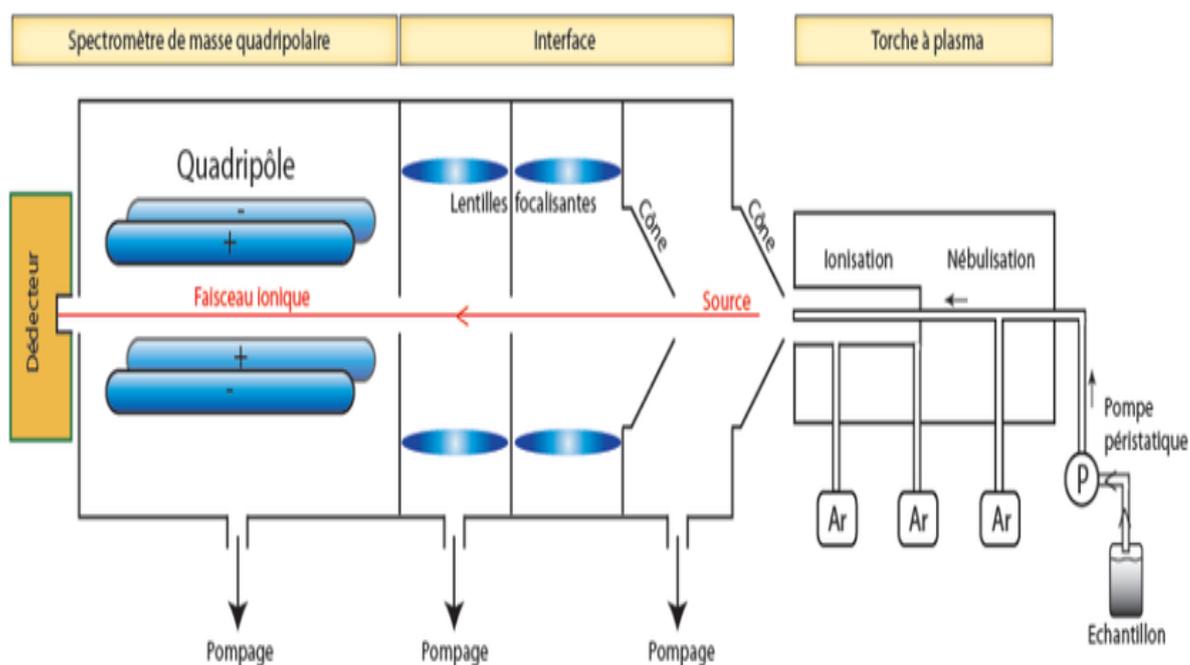


Figure 4.1: Constituants d'un spectromètre de masse par plasma à couplage inductif [211].

4.1.2.1. Système d'introduction des échantillons

Les échantillons analysés sont généralement des liquides, ils doivent être introduits dans le plasma sous forme d'aérosols fins afin de faciliter l'ionisation sans éteindre le plasma [210]. Le système d'introduction d'échantillon se compose **d'un nébuliseur** et d'une **chambre de pulvérisation** pour éliminer les grosses gouttelettes qui pourraient déstabiliser le plasma et atténuer les fluctuations dans le flux de l'échantillon [210].

L'aérosol produit par le nébuliseur traverse ensuite la chambre de pulvérisation [210]. Elle ne permet qu'à la fraction des gouttelettes inférieures à quelques microns de procéder au plasma tandis que le reste de l'aérosol polydispersif est rejeté comme déchet [210]. Ces déchets sont pompés par le bas du cylindre pendant que la plus fine fraction de l'aérosol passe au plasma par un tube au sommet de la chambre de pulvérisation [210].

4.1.2.2. Source de plasma

Le plasma est obtenu par couplage inductif à pression atmosphérique entre un champ électromagnétique radiofréquence et un flux de gaz rare, généralement l'argon, au sein duquel l'échantillon en solution est introduit sous forme d'un aérosol [212]. La figure 4.2 présente le schéma de principe d'une source plasma à couplage inductif appelée également torche à plasma [212].

Le plasma fonctionne à environ 6000 K, ainsi, lorsque l'échantillon injecté atteint le plasma, il est séché, vaporisé, atomisé et partiellement ionisé [210].

La torche à plasma est généralement constituée de trois tubes concentriques :

- Le tube extérieur dans lequel circule le gaz plasmagène avec un débit élevé (14 L.min⁻¹). Ce flux de gaz est à l'origine de la création du plasma.
- Le tube intermédiaire contient le gaz auxiliaire avec un débit plus faible (0,5 à 2 L.min⁻¹). Ce gaz permet de positionner le plasma par rapport à l'injecteur et à la spire.
- Le tube interne appelé injecteur conduit le gaz de transport ou de nébulisation transportant l'échantillon sous forme d'aérosol avec un débit compris en 0,6 et 1,2 L.min⁻¹. Généralement composé d'argon, de l'oxygène peut être introduit dans ce flux de gaz afin de favoriser la combustion d'échantillons riches en carbone [212].

Une étincelle à haute tension à travers le gaz initie le plasma en éjectant des électrons et leur donne assez d'énergie pour subir des collisions inélastiques avec les atomes d'argon. Le plasma est maintenu en appliquant une puissance RF (généralement 750 - 1500 W) à la bobine d'induction, créant un champ électromagnétique oscillant à haute fréquence qui accélère les électrons libres [210]. Un plasma à l'état stable est obtenu lorsque le taux des électrons éliminés des atomes d'argon par collision est égal au taux auquel ces électrons sont perdus par recombinaison [210]. Toutes ces réactions en chaîne se déroulent en faisceau de gaz qui maintient d'abord la neutralité de charge, jusqu'à ce que les électrons les plus mobiles tendent à quitter le faisceau sous l'effet de la diffusion de charge et à la répulsion électrostatique [210].

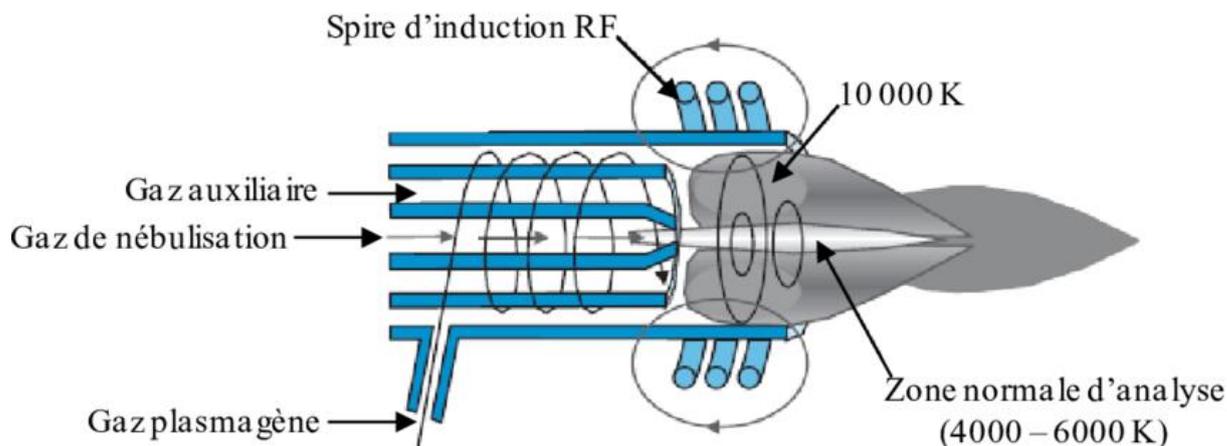


Figure 4.2: Source de plasma à couplage inductif [212].

4.1.2.3. Région d'interface et système de focalisation ionique

L'interface permet de passer d'un plasma à haute température et à pression atmosphérique au vide de l'analyseur à température beaucoup plus faible [212]. L'interface est composée de deux cônes, l'échantillonneur (sampler) et l'écumoire (skimmer). L'échantillonneur permet d'extraire les ions du plasma [212].

4.1.2.4. Spectromètre de masse

Très souvent quadripôle, le spectromètre de masse sépare les ions en fonction de leur masse [211].

4.1.2.5. Détecteur

Le détecteur permet d'enregistrer les impulsions de courant provenant des ions frappant le détecteur, à des taux de comptage plus élevés [210].

4.1.3. Mesure

Les résultats quantitatifs sont obtenus en comparant l'intensité du signal mesurée pour un élément dans un échantillon à l'intensité du signal pour le même élément dans une solution standard ou un matériau de référence certifié (CRM),

également appelé standard externe [213]. Les instruments ICP-MS présentent des schémas de dérive cycliques dans le temps, ce qui signifie qu'il y a une relation entre la force du signal et les changements de concentration élémentaire de l'échantillon pendant les analyses. Pour l'échantillon liquide, la quantification est relativement simple; l'étalon interne est un élément absent de l'échantillon matériel, et chaque échantillon et solution standard sont enrichis avec une concentration connue de l'élément [213]. Les normes externes sont généralement produites en diluant des solutions élémentaires de commerce avec de l'eau ultra-pure et de l'acide nitrique pour produire différentes concentrations [213].

4.1.4. Domaine d'utilisation

La spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif (ICP-MS) est l'une des techniques analytiques diversifiées avec de nombreux types de systèmes différents pour répondre aux différentes exigences analytiques de différents domaines de recherche [214].

4.1.5. Avantages et inconvénients de la technique

L'ICP-MS peut analyser plus de 90 % des éléments de la classification périodique grâce à la forte efficacité d'ionisation de la source à plasma d'argon. Cette technique a peu d'effets sur la matrice aussi [212]. Les performances élevées en termes de sensibilité et de limite de détection des éléments de l'ordre de la ppb, ainsi que les faibles niveaux d'incertitudes associés aux mesures élémentaires et isotopiques font de l'ICP-MS une technique analytique des plus répandues dans l'analyse des éléments métalliques [212].

Toutefois, il peut y avoir recombinaison des ions dans la queue du plasma causant des interférences [215]. De plus, l'introduction de solvants organiques dans la source de l'ICP-MS tend à diminuer les performances analytiques de cet instrument [212]. Les ICP-MS sont des appareils très coûteux, que ce soit lors de l'achat (de l'ordre de 500 000 \$) ou de l'opération [215].

4.2. Méthode d'analyse par l'analyseur direct de mercure(DMA)

4.2.1. Principe de l'analyse par DMA

Les principes de fonctionnement combinent l'analyse thermique de l'échantillon suivie d'une réduction catalytique du mercure et d'une amalgamation sur un mélange d'or pour le piégeage du mercure en phase vapeur; ensuite, le mercure sera désorbé et mesuré par spectrométrie d'absorption atomique [216].

4.2.2. Appareillage

L'analyseur direct de mercure de marque Milestone comprend (figure 4.3) :

- Un échantillonneur automatique et des nacelles de verre ou de nickel pour recevoir l'échantillon;
- Une chambre de séchage et de décomposition;
- Un tube pour la catalyse;
- Une unité pour amalgamer le mercure;
- Une lampe de mercure avec deux cellules de mesure;
- Un logiciel et un ordinateur permettant le réglage de l'appareil, l'étalonnage, le calcul des résultats et la saisie de l'information analytique [217].

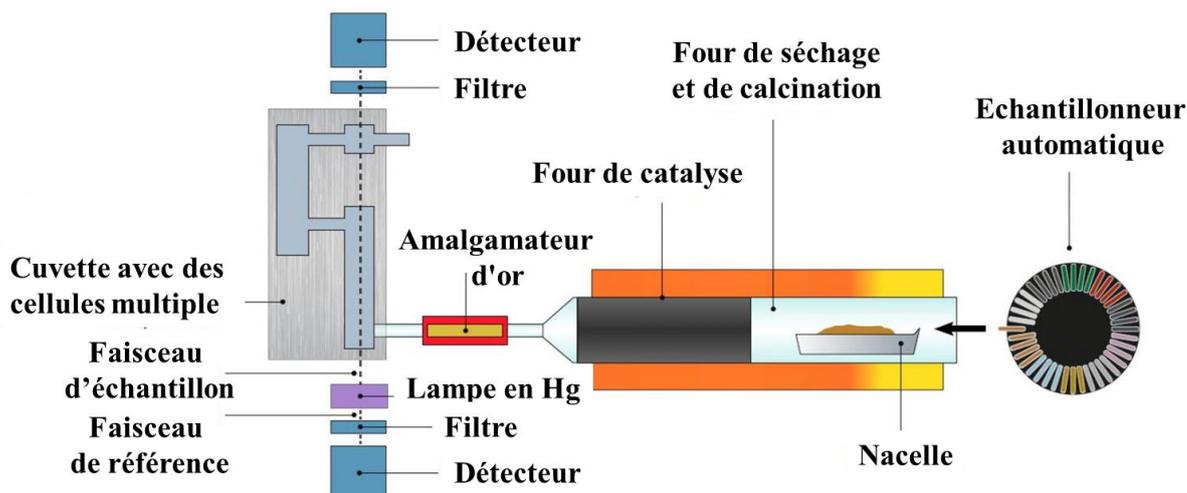


Figure 4.3: Analyseur direct du mercure [218].

4.2.3. Mesure

Le DMA dispose d'un processus qui permet de mesurer le mercure avec précision et qui comprend plusieurs étapes [219]. L'échantillon est placé dans un four de pyrolyse et chauffé à des températures élevées pour libérer le mercure dans un gaz porteur (air) en écoulement [219]. Le gaz traverse un lit catalytique qui convertit toutes les formes de mercure en mercure élémentaire. Le mercure est ensuite concentré sur un amalgamateur. Une fois la pyrolyse terminée, l'amalgamateur est chauffé instantanément pour libérer le mercure qui est ensuite mesuré quantitativement dans le spectromètre. L'analyse de chaque échantillon prend de 5 à 8 minutes [219].

4.2.4. Domaine d'application

Cette technique est utile pour quantifier le mercure total dans l'eau, le sol et les diverses matrices biologiques en utilisant des échantillons de petite taille [218,220].

4.2.5. Avantages et inconvénients de la technique

Cette technique peut être utilisée pour analyser des échantillons solides et liquides sans traitement (minéralisation), ce qui simplifie l'analyse [216,219]. Elle présente les avantages d'une grande rapidité et d'un blanc extrêmement bas puisque aucun réactif chimique n'est utilisé. 40 échantillons peuvent être chargés sur le carrousel (l'échantillonneur automatique) et analysés en même temps. Il n'est pas nécessaire d'attendre car l'échantillonneur automatique permet d'analyser chaque échantillon dans l'ordre séquentiel jusqu'à ce que tous les échantillons soient analysés [216,219]. Elle permet aussi de réduire considérablement les pertes et la contamination [221]. Cette technique donne aussi des limites de détection aussi basse que 0,001 ng de mercure et peut mesurer jusqu'à 30.000 ng de mercure ce qui offre donc un avantage par rapport aux autres méthodes comme la spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif (ICP-MS) et à la spectrométrie d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP-AES) [216,222].

Cependant, certains inconvénients peuvent apparaître, ce sont ceux liés à l'homogénéité de l'échantillon et à la complexité de la matrice. Les échantillons à forte teneur en sel réduisent la durée de vie de l'amalgame en raison de la rouille [216]. En outre et compte tenu de l'intérêt que présente la spéciation du mercure, le principal inconvénient du DMA est l'impossibilité d'établir une distinction entre différentes espèces de mercure, fournissant uniquement des informations sur la quantité totale de mercure [216].

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 5

CONTAMINATION DE LA SARDINE ET DE L'ESPADON PAR LES METAUX LOURDS (PARTIE 1)

5.1. Matériels

5.1.1. Plan d'échantillonnage

5.1.1.1. Espèces étudiées : le choix des espèces de poissons à étudier n'est pas fortuit, les motivations du choix du deux types de poissons à prendre en considération sont en premier lieu, leurs places de favoris dans les habitudes alimentaires du consommateur algérien et en second lieu leurs places dans la chaîne trophique marine. Ainsi, nous avons choisi la sardine et l'espadon.

- Sardine (*Sardina pilchardus*) est une espèce d'une grande importance commerciale, elle représente l'espèce la plus pêchée et la plus consommée par la population algérienne [229]. Sa production a été estimée à 50853 tonnes en 2018 [230].
- Espadon (*Xiphias gladius*) est la deuxième espèce faisant l'objet de notre étude du fait de sa capacité d'accumuler des concentrations considérables de métaux lourds de par sa situation au sommet de la chaîne trophique marine et de son taux de prédation extrêmement élevé [231]. Sa production est estimée à 645 tonnes en 2018 [230].

5.1.1.2. Métaux lourds analysés

Dans cette étude nous avons opté pour l'analyse des éléments métalliques les plus toxiques ; l'arsenic(As), le cadmium(Cd), le plomb(Pb), le mercure(Hg) et le méthylmercure (MeHg).

5.1.1.3. Zones d'étude et points d'échantillonnage

Les zones maritimes choisies pour y réaliser les prélèvements sont celles déjà prises en considération par l'étude antérieure et ce dans le but de continuer la prospection de la contamination par les métaux lourds des poissons capturés dans ces eaux.

Les zones géographiques de la façade maritime algérienne prises en considération sont au nombre de trois : la région Nord- Centre (Alger), la région Nord- Est (Bejaia) et la région Nord- Ouest (Oran) (figure 5.1). Ces trois zones portuaires sont situées à proximité des grandes métropoles urbaines et industrialo-portuaires qui font objet d'une pollution marine élevée et avérée [232].

Les points de prélèvements des échantillons sont : les pêcheries de ces trois grands ports pour la sardine et les étals des marchés de poisson pour l'espadon.

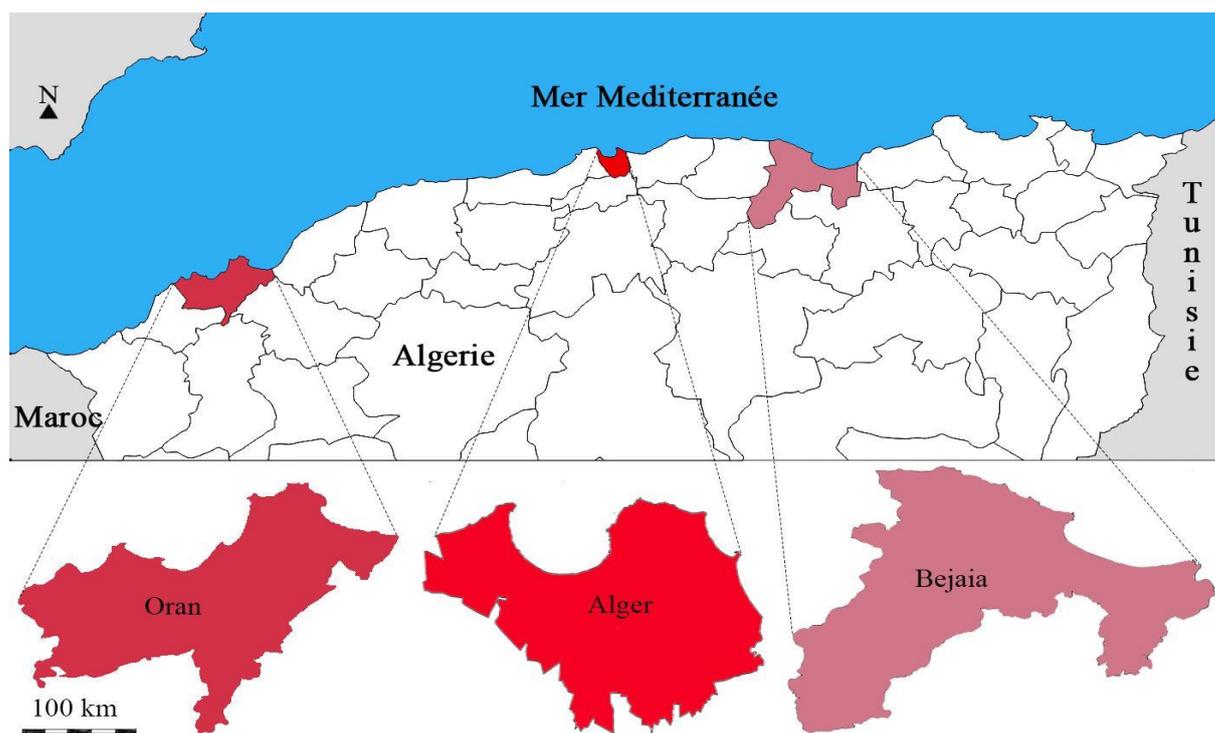


Figure 5.1: Localisation géographique des différentes zones d'étude (photo personnelle).

5.1.1.2. Méthode d'échantillonnage

A. Collecte des échantillons (procédure et mode de prélèvement)

La procédure d'échantillonnage a été effectuée conformément au règlement (UE) 2016/582 modifiant le règlement(CE) N° 333/2007 portant fixation des modes de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en plomb, en cadmium, en mercure, en étain inorganique, en 3-monochloropropane diol (3-MCPD) et en benzo(a)pyrène dans les denrées alimentaires[233].

Le nombre d'échantillons élémentaires qui constitue chaque aliquote varie en fonction du poids du lot: des échantillons élémentaires de 100 g en nombre de (3,5, 10) ont été utilisés si le poids du lot était <50 kg, 50 kg >poids <500 kg, > 500 kg, respectivement.

B. Fréquence des prélèvements

L'échantillonnage s'est étalé sur une durée de six mois, du mois d'Avril au mois de Septembre 2017. La fréquence des prélèvements n'est pas régulière, puisqu'elle dépendait de la disponibilité des poissons dans les pêcheries et sur les étals des marchés.

- Pour la sardine, un total de 301 individus de sardine fraîche (*Sardina pilchardus*) a été acheté dans les différentes pêcheries. Le protocole d'échantillonnage nous a permis d'obtenir 43 échantillons d'environ 300g à partir des individus prélevés.
- Pour l'espadon (*Xiphias gladius*) 44 échantillons de 500 g ont été achetés sur les étals de marché.
- Les échantillons pools de sardines et ceux de l'espadon sont répartis comme suit :
 - 15 échantillons de sardine pêchés et commercialisés à Alger
 - 12 échantillons de sardine pêchés et commercialisés à Bejaia
 - 15 échantillons de sardine pêchés et commercialisés à Oran
 - 20 échantillons d'espadon commercialisé à Alger
 - 13 échantillons d'espadon commercialisé à Bejaia
 - 11 échantillons d'espadon commercialisé à Oran

Les échantillons prélevés sont placés immédiatement dans des sacs en polyéthylène blanc exempts de tout métal lourd et propres et transportés rapidement dans une glacière isotherme au laboratoire pour la préparation et le traitement.

5.1.2. Matériel de laboratoire

Le dosage du Pb, Cd et As est effectué avec un Spectromètre de Masse par Plasma à Couplage Inductif (ICP-MS) type Perkin Elmer Sciex (figure 5. 2), Le Hg est dosé par l'analyseur direct de mercure type (AMA-254 Mercury Analyser) (figure 5.3) et le MeHg avec l'analyseur de méthylmercure type(AMA-1 Methylmercury analyser) (figure 5.4).



Figure 5.2 : Spectromètre de Masse par Plasma à Couplage Inductif (Perkin Elmer sciex).

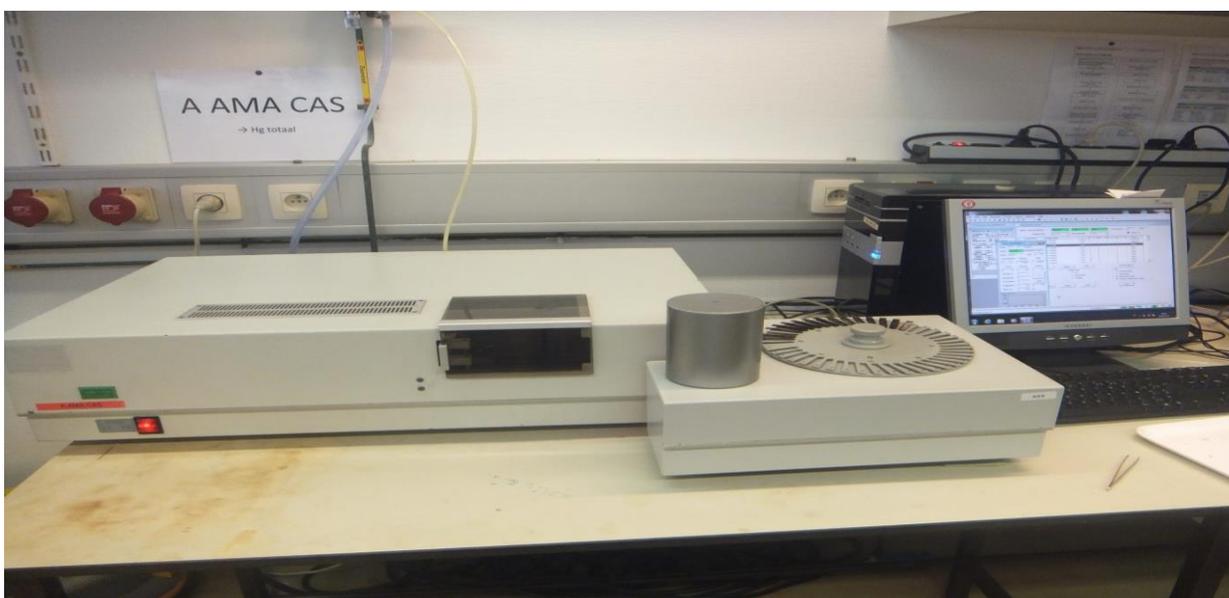


Figure 5.3 : Analyseur de mercure type (AMA-254 Mercury Analyzer)



Figure 5.4 : Analyseur de Methylmercure (AMA-1 Methylmercury analyzer).

5.1.3. Matériel de traitement

- Le matériel utilisé pour la minéralisation comprend :
 - Distillateur : MILLIPORE
 - Hotte aspirante : A TREKKAST 9
 - Micro-onde : MARS Xpress.
 - Serre couvercle : Mars X.
 - Agitateurs des tubes à micro-onde : IKA®VORTEX GENIUS 3.
- Le matériel utilisé pour l'extraction de méthyl mercure comprend :
 - Hotte aspirante : A TREKKAST 9
 - Agitateur : Stuart
 - Centrifugeuse : SIGMA®

5.1.4. Autres matériel

- Balances : Sartorius, METTLER TOLEDO, METTLER PJ 3000.
- Broyeur :RetschGrinMix 200
- Eau purifiée, eau de robinet

- Couteaux en inox
- Spatules
- Papier pour sécher les ustensiles
- Fine pipettes™ dipenser
- Micropipettes avec des embouts de 200 µl, 500 µl, 3 ml, 6 ml.
- Bêchers de 40 ml, 80 ml, 120 ml.
- Pissette
- Fioles jaugés de 100, 200 ml
- Tubes à essais en téflon (MARS Xpress) de 50 ml, 70 ml
- Compte-gouttes
- Portoirs
- Sachets en polyéthylène blanc
- Pincés
- Ciseaux
- Etiquettes
- Huile de poisson pour le nettoyage de l'analyseur de méthylmercure.
- Détergents.
- Equipements de sécurité : Gants en latex blancs et antiacide (bleu), lunettes, masques).

5.1.5. Réactifs

- Acide nitrique (HNO₃) (J.T. Baker®) pure à 69%.
- Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (J.T. Baker®) pure à 30%.
- Acide bromhydrique (HBr) (VWR Chemicals) pure à 47%.
- Toluène (C₇H₈) (CHROMASOLV™) pure à 69%.
- L-Cysteine hydrochloride monohydrate (H-Cys-OH.HCl.H₂O)(Merck).
- Sulfate de sodium anhydre (Na₂O₄S) (Supelco®).
- Acétate de sodium anhydre (C₂H₃NaO₂) (J.T. Baker®).
- Echantillon référence d'un tissu de moule lyophilisé : N° de référence ERM-CE278K.
- Echantillon référence d'un poisson lyophilisé : Torte2, N° de référence EU-RL-HM-15/IMP-115.

- Echantillon référence de semoule lyophilisé : BIPEA, N° de référence interne : 15350395.
- Echantillon référence d'un poisson frais : FAPAS, N° de référence interne : 12130869.
- Solutions standards multi-éléments, N° de référence : 2155684, VWR International GmbH, Darmstadt.
- Solution standard interne (SCP33MS) contenant le Rhodium (Rh), Lithium (Li), Scandium (Sc) avec une concentration de 1000 mg/l.
- Solution d'optimisation de l'ICP-MS à 10 ppb N° de référence 8125030.
- Gaz ionisant (Argon), pureté de 99,99%.

5.2. Méthodes

5.2.1. Préparation des échantillons

La préparation des échantillons pour l'analyse est effectuée selon les exigences de la norme Européenne NF EN 13804 (2013).

Les échantillons du (Nord- Centre, NC) (Alger) et (Nord- Est, NE) (Bejaia) sont préparés au niveau du laboratoire du Centre National de Toxicologie (CNT) d'Alger, alors que ceux du (Nord- Ouest, NO) sont préparés au laboratoire de l'Agence Fédérale de la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA) à Gentbrugge (Belgique).

5.2.1.1. Domaine d'application

La norme européenne susdite spécifie des critères de performance permettant de choisir des méthodes d'analyse des éléments chimiques dans les produits alimentaires. Elle contient les exigences et les caractéristiques de performance et les lignes directrices pour l'installation du laboratoire, la préparation des échantillons et l'établissement des rapports d'essai.

A. Sardine (*Sardina pilchardus*)

L'échantillon d'essai est rapidement préparé après l'arrivée du poisson au laboratoire. Les poissons sont rincés à l'eau potable avant de les couper pour éviter toute lixiviation des surfaces coupées, puis rincés avec de l'eau distillée. Les échantillons de sardines sont préparés de la même manière que pour être consommés. Toutes les parties non comestibles sont enlevées par éviscération, étêtage et élimination des arêtes. Seule la chair est utilisée pour les tests ultérieurs. La quantité de chair obtenue de chaque échantillon est de 100 g.

B. Espadon (*Xiphias gladius*)

Les échantillons d'espadon subissent juste un rinçage et un pelage. Environ 100 g de chair sont prélevés pour les tests ultérieurs.

Après avoir été préparés, les échantillons d'essai (figure 5.5) des deux espèces subissent une homogénéisation à l'aide d'un broyeur jusqu'à l'obtention d'une matrice homogène.

Les échantillons homogénéisés (figure 5.6) sont placés dans des petits sacs en plastique blancs fermés, identifiés et étiquetés (figure 5.7) puis stockés à -18°C.



Figure 5.5 : Matrice prête au broyage.



Figure 5.6 : Matrice broyée.



Figure 5.7 : Etiquetage et enregistrement des broyats de poisson.

5.2.2. Préparation du matériel pour l'analyse

Avant chaque utilisation le matériel est nettoyé. Ainsi toute la verrerie, les récipients et les ustensiles de laboratoire à utiliser sont nettoyés de façon à éliminer toute contamination antérieure.

Les modes opératoires de nettoyage obéissent aux exigences de la norme européenne 13804 (2013), et comprennent les étapes suivantes :

- Rincer avec l'eau de robinet.
- Traiter avec une solution détergente (ne contenant aucun élément présentant un intérêt).
- Rincer à nouveau à l'eau potable et laisser toute la nuit ou plus longtemps dans de l'acide nitrique dilué.
- Enfin rincer avec de l'eau distillée avant l'utilisation.

5.2.3. Dosage de l'As, Cd, Pb, Hg et MeHg

Le dosage de ces éléments métalliques est effectué au laboratoire de l'Agence Fédérale de la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA), département de chimie inorganique à Gentbrugge (Belgique).

5.2.3.1. Dosage de l'As, Cd et Pb

5.2.3.1.1. Traitement des échantillons (digestion)

La minéralisation (digestion) est réalisée selon les exigences de la norme européenne NF EN13805(2014).

5.2.3.1.2. Mode opératoire

Dans des tubes en téflon de 70 ml (figure 5.8), 1 g de matrice chair du poisson déjà broyée a été prélevée. 4ml d'acide nitrique et 2ml de peroxyde d'hydrogène ont été ajoutés, le mélange a été agité avec un agitateur et placé par la suite dans un conteneur sous pression (figure 5.9).

Les conteneurs ont été mis au micro-onde pendant 35 min à 120 C° puis pendant 45 min à 185C° (figure 5.10).



Figure 5.8 : Prise d'essai.



Figure 5.9 : Tubes en téflon.



Figure 5.10 : Digestion sous pression par microonde (MARS EXPES).

Après digestion il est impératif de passer par une étape de refroidissement afin de réduire la surpression. Le refroidissement des conteneurs sous pression encore scellés est réalisé à une température inférieure à 40 °C.

5.2.3.1.3. Dosage par ICP-MS

Le dosage de L'As, Cd et Pb est effectué par la méthode de Spectrométrie de Masse par Plasma à Couplage Inductif (ICP-MS), selon les recommandations de la norme européenne NF EN 15763(2010).

5.2.3.1.4. Principe

La solution d'essai, obtenue par la digestion sous pression est nébulisée et l'aérosol obtenu est transféré à une haute fréquence par plasma à argon à couplage inductif. La température élevée du plasma est utilisée pour sécher l'aérosol et pour atomiser et ioniser les éléments. Les ions sont extraits du plasma par un ensemble d'échantillonneur et d'écumeur et sont transférés dans un spectromètre de masse où les ions sont séparés par leur rapport masse / charge et déterminés par un détecteur de compteur d'impulsions et / ou analogique.

5.2.3.1.5. Préparation des solutions d'essai pour l'analyse

Les solutions d'essai ont été préparées afin de procéder à l'analyse par la dilution de 2 ml de solution de digestion (minéralisât) avec 8 ml d'eau purifiée et 0,1 ml de solution standard interne diluée.

5.2.3.1.6. Préparation des solutions d'étalonnage

A partir d'une solution d'étalonnage mère standard, plusieurs dilutions sont préparées : 2 $\mu\text{g l}^{-1}$, 5 $\mu\text{g l}^{-1}$, 10 $\mu\text{g l}^{-1}$, 20 $\mu\text{g l}^{-1}$, 100 $\mu\text{g l}^{-1}$.

5.2.3.1.7. Calcul des résultats

Le calcul des concentrations est effectué automatiquement par le logiciel (Hewlett Packard) associé à l'instrument ICP-MS et les résultats sont donnés par un ordinateur lié directement à l'appareil.

5.2.3.1.8. Contrôle de qualité de l'analyse

Afin de vérifier la fiabilité des résultats et la performance de l'analyse, des échantillons constitués de matériaux de référence (Céréales et dérivés : BIPEA) sont analysés en même temps que les échantillons pendant toutes les étapes du dosage à partir de la digestion. Ces matériaux de référence ont des concentrations déjà connues des éléments à doser (appendice C).

En outre, des digestions vierges sont effectuées en même temps et de la même manière que pour les échantillons à analyser, sauf que dans ce cas les tubes en téflon ne contiennent que des réactifs. La digestion vierge sert à vérifier les valeurs vides qui peuvent avoir été causées par les tubes et les acides ou par d'autres contaminations.

5.2.3.1.9. Limite de détection et de quantification

Dans le but d'éliminer les échantillons avec des concentrations inférieures aux limites de détection, nous avons effectué 25 mesures successives de matrices blanches (denrées alimentaires comme la viande, le poulet, le poisson, le lait et les produits laitiers avec les boissons), la limite de détection est numériquement égale à trois fois l'écart type de la moyenne des essais à blanc (matrices blanches), la limite de quantification est égale deux fois la limite de détection.

5.2.3.2. Dosage de Hg

5.2.3.2.1. Prise d'essai : la prise d'essai est réalisée comme suit :

50 à 100 mg de la matrice chair du poisson a été prélevée (figure 5.11), dans des nacelles nettoyées par l'appareil et rincées avec de l'eau distillée et ce afin d'éviter toute contamination des échantillons (figure 5.12).

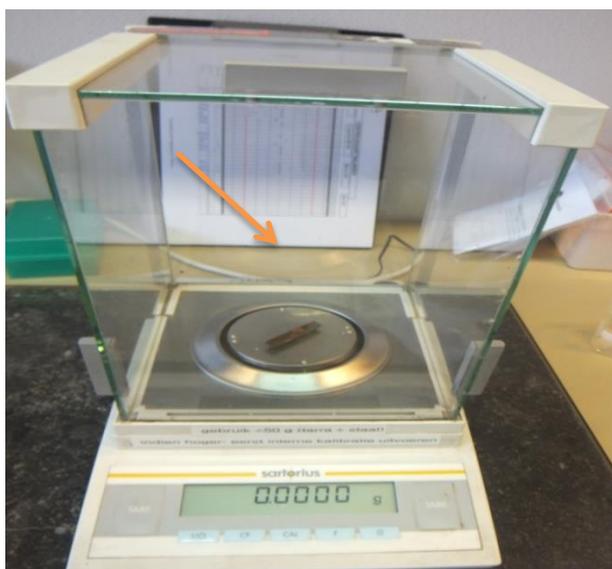


Figure 5.11 : Prise d'essai.



Figure 5.12 : Rincage des nacelles.

5.2.3.2.2. Dosage par l'analyseur direct du mercure (DMA)

Le dosage de mercure total (Hg) est effectué par l'analyseur direct de mercure AMA -254 (figure 5.3). Avant chaque analyse, une fiche d'analyse est préparée sur l'ordinateur qui est directement lié à l'appareil où nous enregistrons la date, le numéro de l'échantillon, le poids et la position des nacelles sur le carrousel (échantillonneur automatique) (figure 5.13 et figure 5.14).

Les échantillons subissent d'abord un séchage puis une décomposition thermique à une température de 750 C°. Pour déterminer la quantité de mercure qui s'est accumulée dans l'amalgameur, celui-ci est brièvement chauffé jusqu'à

900 °C, ce qui fait que le mercure s'échappe sous forme de nuage. Le nuage de Hg est ensuite transféré par le flux d'oxygène vers les cellules de mesure qui vont déterminer la quantité de Hg à 254 nm. Une fois terminé, le détecteur qui est relié à un ordinateur donne les concentrations en ppm. La durée de l'analyse pour chaque échantillon est de 10 min.

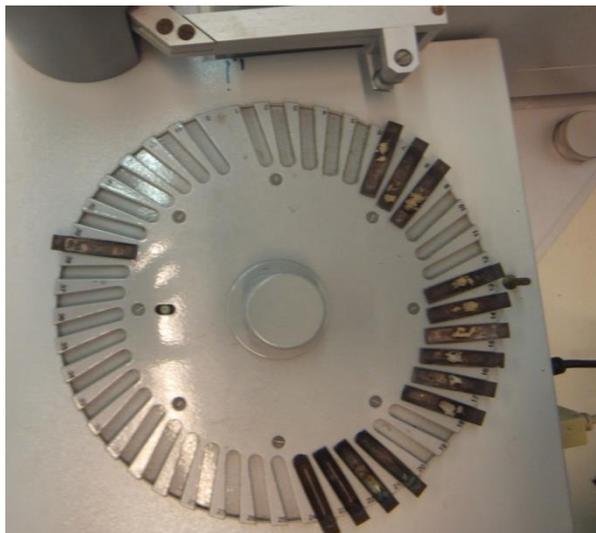


Figure 5.13 : Disposition des nacelles sur le carrousel.

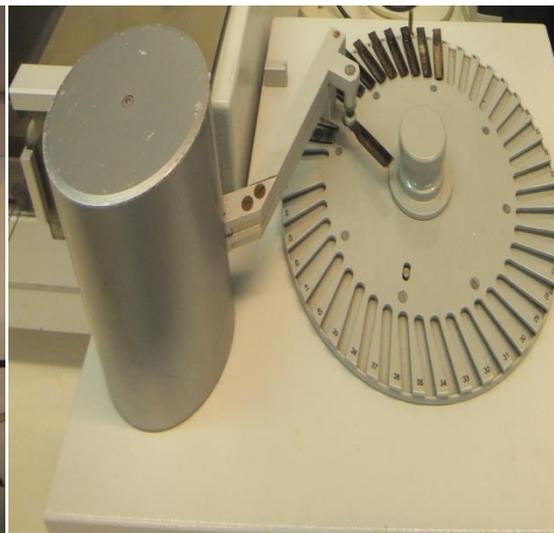


Figure 5.14: Prise de la nacelle par le bras du passeur automatique.

5.2.3.2.3. Contrôle qualité de l'analyse

Au début et à la fin de chaque analyse nous avons préparé un blanc (nacelle vierge) et une nacelle contenant l'échantillon référence (Fapas, ERM-CE278K) dont nous connaissons déjà la concentration en mercure afin de contrôler la performance et la fiabilité de l'analyse (appendice C).

5.2.3.2.4. Dosage de MeHg par l'analyseur de MeHg

Le dosage de MeHg est effectué selon les recommandations du document européen TC 275 WI0275321.

5.2.3.2.5. Domaine d'application

Le document suscité décrit une procédure pour déterminer les organomercures dans les produits de la mer / produits de la pêche et ce par analyse élémentaire de Hg. La limite de quantification est d'environ 0,010 mg / kg d'organomercure (par rapport au poids sec exprimé en Hg). Cette méthode n'a été validée que sur ces produits de la mer / de la pêche.

5.2.3.2.6. Extraction de la phase organique de Hg

L'extraction de la phase organique de Hg passe par les étapes suivantes :

- Peser avec précision 0,7 à 0,8 g de l'échantillon et 0,2 g de l'échantillon de référence lyophilisé dans un tube à centrifuger de 50 ml.
- Ajouter 10 ml d'acide bromhydrique et agiter manuellement pendant au moins 2 min.
- Ajouter 20 ml de toluène et agiter vigoureusement.
- Placer dans un agitateur vortex pendant 20min, puis centrifuger pendant 10 min à 2 300 g (unité de vitesse de rotation).
- Transférer environ 15 ml du surnageant organique dans un tube de 50 ml contenant déjà 6 ml de solution de L-cystéine.
- Ajouter 15 ml supplémentaires de toluène au tube de centrifugation initiale (contenant la phase acide bromhydrique) et répéter une deuxième extraction avec la phase organique. Après agitation et centrifugation, transférer le reste de la phase organique supérieure dans le tube de centrifugation de 50 ml avec la solution de L-cystéine. Secouer le vigoureusement pendant 20 minutes et centrifuger pendant 10 minutes à 2 300 g.
- Prenez une aliquote de 2 ml    3 ml de la phase inférieure avec la L-cystéine (et le mercure organique extrait) et le placer dans un flacon tout en s'assurant que l'échantillon à analyser est exempt de toluène.
- Les échantillons devraient être analysés dès que possible afin de minimiser les problèmes d'instabilité (figure 5.15).

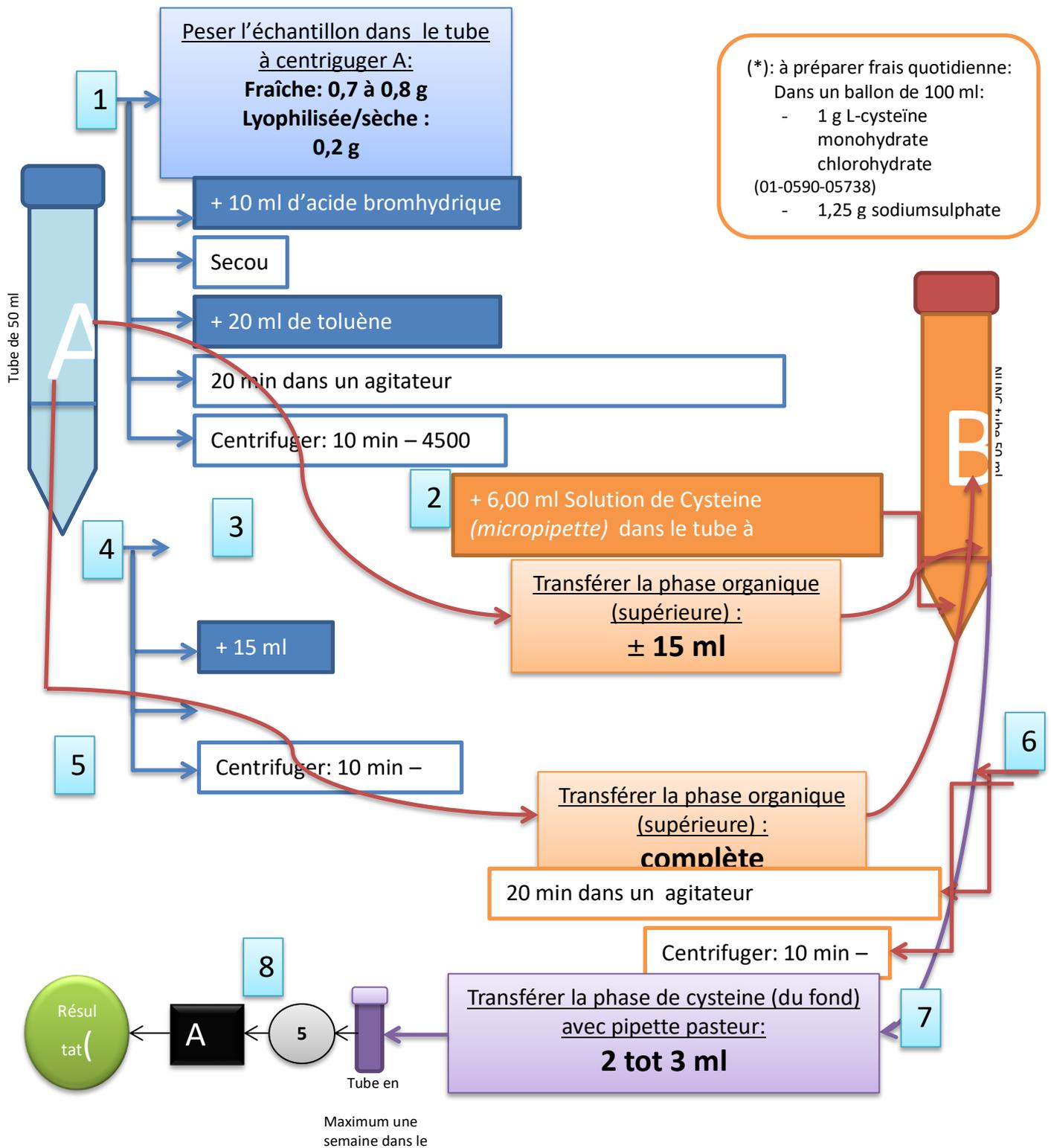


Figure 5.15 : Etapes de l'extraction de mercure organique (laboratoire AFSCA, 2017).

5.2.3.3. Analyse de MeHg

Le dosage du MeHg est réalisé avec l'analyseur direct de MeHg (figure 6.13) de la même manière que pour le Hg total. Les nacelles contiennent entre 200µl à 500µl d'extraits du mercure obtenu par l'étape précédente.

Le temps de séchage, de décomposition et d'attente sont respectivement de 350 s, 150s et 55s pour les échantillons et de 150s, 150s et 55s respectivement pour les matériaux de référence, de nettoyage et des blancs. La durée de l'analyse est de 10 à 15minutes.

Avant chaque analyse, des nacelles doivent être rincées avec de l'eau distillée puis nettoyées par l'appareil. À la fin de l'analyse l'appareil est nettoyé avec de l'huile de poisson qui a pour rôle de rincer les filtres.

5.2.3.4. Calcul des résultats

La concentration de MeHg a été calculée à l'aide de la formule suivante:

$$\text{MeHg (mg / kg, exprimé en Hg)} = C \times 6 \times D \times 1000 \times m$$

Où « 6 » est le volume de la solution de L-cystéine (6 ml); « C » est la concentration du Hg dans l'extrait exprimée en µg / l de Hg; « D » est le facteur de dilution nécessaire et « m » est la masse de la prise d'essai en g.

Les résultats ont été exprimés en mg/ kg.

5.2.3.5. Contrôle qualité de l'analyse

Afin de contrôler la qualité de l'analyse, un matériel de référence (certifié) Torte2 avec un contenu connu de méthylmercure est utilisé au début et à la fin de

l'analyse (Appendice C), des solutions à blanc vierges contenant uniquement les réactifs en absence de l'échantillon sont aussi utilisées au début et à fin de l'analyse. Les solutions à blanc et les échantillons de référence sont soumis à toutes les étapes depuis l'extraction jusqu'à l'analyse.

5.2.4. Analyse statistique

Le logiciel Excel (2007) est utilisé pour calculer les moyennes, l'écart –type, les valeurs minimales et maximales.

L'analyse statistique est effectuée par le logiciel **R** version 3.0.2, différents tests sont utilisés :

- Test de normalité de Shapiro-Wallik.
- Test non paramétrique de Mann-Whitney pour comparer les différences de teneur en métaux étudiés dans les deux espèces (sardine et espadon) (différence significative à un seuil de probabilité inférieur à 5%).
- Test de Kruskal-Wallis pour comparer les différences des teneurs en métaux lourds des deux espèces par rapport aux zones d'étude.

5.3. Résultats

5.3.1. Détermination des limites de détection et de quantification

Les tests de détermination des limites de détection et de quantification ont abouti aux résultats rapportés dans le tableau 5.1.

Tableau 5. 1 : Limite de détection et de quantification (mg/kg).

Métal	As	Cd	Pb	Hg	MeHg
Limite de détection (LOD)	0,010	0,005	0,010	0,005	0,010
Limite de quantification (LOQ)	0,020	0,010	0,020	0,010	0,020

Les résultats montrent que les limites de quantification pour l'As, Cd, Pb, Hg et MeHg sont deux fois égales aux limites de détection.

5.3.2. Résultats de la contamination de la sardine et de l'espadon par les métaux lourds

Les résultats globaux du dosage des différents métaux lourds dans la chair de la sardine et de l'espadon sont présentés dans le tableau 5. 2 et la figure 5. 16.

Tableau 5. 2 : Variations des concentrations des métaux lourds dosés dans les deux espèces de poissons (mg/kg de poids frais).

Métal Espèce	N		As	Cd	Pb	Hg	MeHg
Sardine <i>(Sardina pilchardus)</i>	43	Min	0,91	< 0,01	< 0,02	0,01	< 0,02
		Max	3,49	0,01	0,83	0,12	0,07
		Moyenne	1,82	0,01	0,10	0,04	0,04
		SE	0,81	0,08	0,12	0,03	0,02
Espadon <i>(Xphias gladius)</i>	44	Min	0,48	< 0,01	< 0,02	0,16	0,12
		Max	6,57	0,01	< 0,02	2,18	1,92
		Moyenne	1,10	0,01	< 0,02	0,61	0,57
		SE	0,92	0,001	-	0,47	0,45

N : nombre d'échantillons, SE : écart-type, Min : Dose Minimale, Max : Dose Maximale.

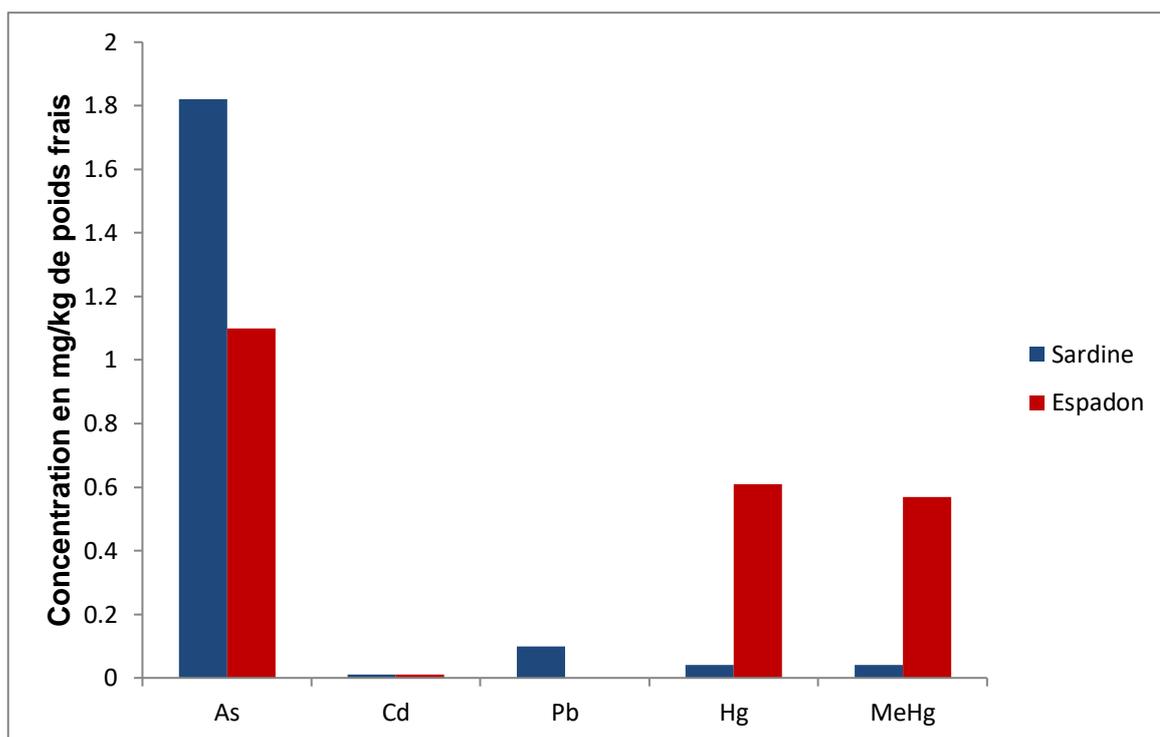


Figure 5.16 : Variations des concentrations des métaux lourds dosés dans les deux espèces de poissons (mg/kg de poids frais).

Les résultats (tableau 5.2 et la figure 5.16) montrent les teneurs maximales et minimales des concentrations des métaux lourds dosés, ainsi que leurs concentrations moyennes. L'utilisation du test non paramétrique de Mann-Whitney pour comparer les différences de teneurs en métaux étudiés entre les deux espèces a donné lieu à différentes interprétations selon le métal étudié.

* **As**

La concentration moyenne de l'arsenic obtenue dans la sardine ($1,82 \pm 0,81$ mg/kg de poids frais) est un peu plus élevée que celle trouvée dans l'espadon ($1,10 \pm 0,92$ mg/kg de poids frais). Le test de Mann-Whitney montre une différence significative entre les deux espèces ($P\text{-value} = 5,6 \times 10^{-9} < 0,05$).

* **Cd**

Ce métal montre des concentrations moyennes similaires chez les deux espèces, elles sont très faibles et inférieures à la limite de quantification

(0,01mg/kg de poids frais). Le test de Mann-Whitney ne montre aucune différence significative entre les deux espèces (P- value = 0,7837 > 0,05).

* **Pb**

La concentration moyenne dans la sardine a atteint $0,10 \pm 0,12$ mg/kg de poids frais, alors que dans l'espadon elle est inférieure à la limite de quantification ($< 0,02$ mg/kg de poids frais). Le test de Mann-Whitney montre une différence significative entre les deux espèces (P- value = $9,306 \times 10^{-5} < 0,05$).

* **Hg**

La concentration moyenne dans l'espadon ($0,61 \pm 0,47$ mg/kg de poids frais) est plus élevée que celle enregistrée dans la sardine ($0,04 \pm 0,03$ mg/kg de poids frais). Le test de Mann-Whitney montre une différence significative entre les deux espèces (P- value = $9,99 \times 10^{-16} < 0,05$).

* **MeHg**

La concentration moyenne de MeHg dans la sardine est très faible ($0,04 \pm 0,02$ m/kg de poids frais) et inférieure à celle trouvée dans l'espadon ($0,57 \pm 0,45$ mg/kg de poids frais). Le test de Mann-Whitney montre une différence significative (P- value = $7,536 \times 10^{-10} < 0,05$).

Nous notons que les concentrations de MeHg observées chez la sardine et l'espadon (0,04 ; 0,57mg/kg respectivement) représentent presque la totalité du mercure total.

5.3.3. Répartition de la contamination par les métaux lourds dans la sardine et l'espadon en fonction des zones d'étude

5.3.3.1. Résultats du dosage des métaux lourds dans la sardine en fonction des zones d'étude

Les concentrations moyennes en As, Pb, Cd, Hg et MeHg dans la sardine des trois zones d'étude sont répertoriées dans le tableau 5.3 et la figure 5.17.

Tableau 5.3 : Variations de concentrations des métaux lourds dosés dans la sardine en fonction des zones d'étude (mg/kg de poids frais).

Métal Zone	N		As	Cd	Pb	Hg	MeHg
Alger	15	Min	0,91	<0,01	<0,02	0,01	<0,02
		Max	2,17	0,01	0,02	0,06	0,04
		Moyenne	1,24 ^c	0,01 ^c	0,02 ^b	0,02 ^b	0,02 ^c
		SE	0,30	-	-	0,01	-
Bejaia	13	Min	2,60	<0,01	<0,02	0,07	0,04
		Max	3,49	<0,01	0,02	0,12	0,07
		Moyenne	2,98 ^a	<0,01 ^c	0,02 ^b	0,08 ^c	0,06 ^b
		SE	0,25	-	-	0,01	0,006
Oran	15	Min	1,11	<0,01	<0,02	0,01	<0,02
		Max	1,53	0,01	0,83	0,03	<0,02
		Moyenne	1,40 ^b	0,01 ^a	0,12 ^a	0,02 ^b	<0,02 ^c
		SE	0,13	0,001	0,26	0,04	-

N : nombre d'échantillons, SE : écart-type, Min : Minimale, Max : Maximale. ND : Concentration non détectable.

a,b,c : Ces lettres minuscules montrent la présence de différence de concentrations par zone d'étude (test Kruskal- Wallis).

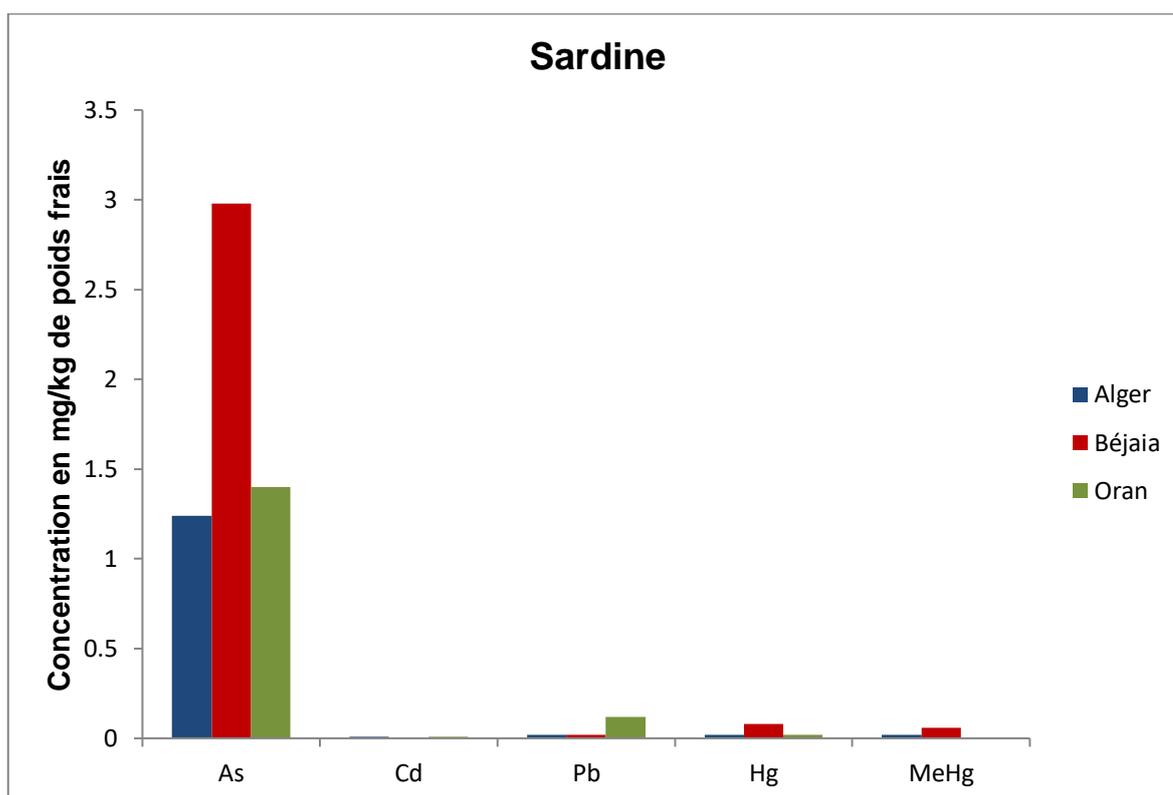


Figure 5.17 : Variations de concentrations des métaux lourds dosés dans la sardine en fonction des zones d'étude (mg/kg de poids frais).

Le Tableau 5.3 et la figure 5.17 montrent les variations des concentrations des différents métaux lourds que nous avons dosé. Ainsi :

* **As**

L'As est l'élément dont la teneur enregistrée est la plus élevée dans la sardine. La répartition par zone de pêche montre que la concentration la plus élevée est enregistrée dans la région NE ($2,98 \pm 0,25$) (2,60- 3,49 mg/Kg de poids frais), suivie par celle de NO ($1,40 \pm 0,13$) (1,11- 1,53 mg/kg de poids frais) et en dernier par celle de NC ($1,24 \pm 0,30$) (0,91- 2,17 mg/kg de poids frais). Le test statistique de Kruskal-Wallis montre des différences de concentration entre les trois zones d'étude.

* **Cd**

Le Cd est le métal qui présente les concentrations les plus faibles dans la sardine. Les concentrations enregistrées dans la sardine de NC et de NO sont similaires et égales à la valeur de limite de quantification (0,01mg/kg), alors que celle enregistrée dans NE est non détectable (< 0,01mg/kg). Le test Kruskal-Wallis montre une différence de concentration du Cd entre la zone NO avec la zone NE et la zone NC, mais pas de différence entre la zone NE et la zone NC.

* **Pb**

La concentration moyenne la plus élevée est enregistrée dans la sardine de (NO) (0,12 mg/kg de poids frais) puis viennent celles de NC et de NE avec des concentrations similaires, très faibles et égales à la limite de quantification (0,02 mg/kg de poids frais). Le test Kruskal-Wallis montre que la concentration de la zone NO diffère de celles la zone NE et de la zone NC, mais pas de différence entre les zones NE et NC.

* **Hg**

Les concentrations moyennes de Hg dans la sardine sont très faibles, la valeur la plus élevée est enregistrée dans la sardine pêchée au NE (0,08 mg/kg de poids frais) puis viennent celles enregistrées dans la zone NC et NO, elles sont similaires et correspondent à la valeur de la limite de quantification (0.02 mg/kg). Le test de Kruskal-Wallis montre une différence de concentration entre la zone NO et la zone NE ; entre la zone NC et la zone NE mais pas de différence entre la zone NO et NC.

* **MeHg**

La concentration moyenne la plus élevée de cette forme organique de Hg est aussi enregistrée dans la zone N), elle a atteint 0,06 mg/kg suivi par celle de la zone NC avec une concentration égale à la valeur de la limite de quantification (0.02 mg/kg) et en dernier celle de NO où elle s'avère inférieure à la limite de quantification (< 0,02). Le test de Kruskal-Wallis montre une différence de

concentration entre les zones NE, NO et NC mais pas de différence entre la zone NO et la zone NC.

Tous les résultats (tableau 6.3. et figure 6.17) montrent que l'ordre de concentration de ces éléments métalliques dans la sardine des trois zones d'étude est comme suit : $Cd < Pb < MeHg < Hg < As$.

5.3.3.2. Résultats du dosage des métaux lourds dans l'espadon en fonction des zones d'étude

Les concentrations moyennes en As, Pb, Cd, Hg et MeHg dans la chair de l'espadon des trois zones d'étude sont répertoriés dans le tableau 5.4 et la figure 5.18.

Tableau 5.4 : Variations de concentrations des métaux dosés dans l'espadon en fonction des zones d'étude (mg/kg de poids frais).

Zone \ Métal	N		As	Cd	Pb	Hg	MeHg
Alger	20	Min	0,48	<0,01	<0,02	0,25	0,18
		Max	1,25	0,015	<0,02	1,52	1,25
		Moyenne	0,95 ^a	0,011 ^b	<0,02 ^b	0,77 ^a	0,64 ^a
		SE	0,24	0,001	-	0,41	0,38
Bejaia	13	Min	0,69	<0,01	<0,02	0,16	0,12
		Max	6,57	0,01	<0,02	2,18	1,92
		Moyenne	1,63 ^c	0,01 ^c	<0,02 ^b	0,69 ^a	0,59 ^a
		SE	1,57	-	-	0,59	0,52
Oran	11	Min	0,63	<0,01	<0,02	0,19	0,13
		Max	0,84	<0,01	<0,02	0,27	0,23
		Moyenne	0,77 ^b	<0,01 ^c	<0,02 ^b	0,23 ^b	0,20 ^a
		SE	0,06	-	-	0,02	0,02

N: Nombre d'échantillons, SE : écart-type, Min : Minimale, Max : Maximale. ND : Concentration non détectable.

a,b,c : Ces lettres minuscules montrent la présence de différence de concentrations par zone d'étude (test Kruskal- Wallis).

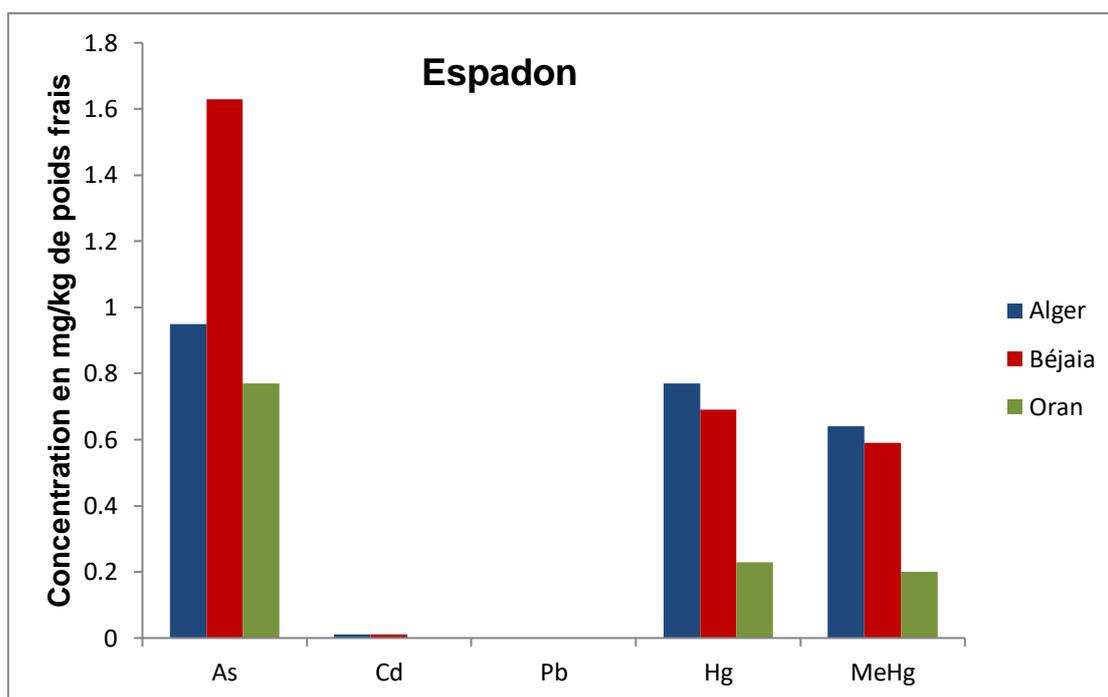


Figure 5.18 : Variations de concentrations des métaux dosés dans l'espadon en fonction des zones d'étude (mg/kg de poids frais).

Les résultats du tableau 5.4 et la figure 5.18 montrent que :

* **As**

L'As est l'élément qui présente les concentrations les plus élevées dans les trois zones d'étude, la valeur la plus élevée est enregistrée dans la zone NE (1,63 mg/kg de poids frais), suivi par celle de NC (0,95 mg/kg de poids frais) et en dernier celle de NO (0,77 mg/kg de poids frais). Le test de Kruskal-Wallis montre une différence de concentration de l'As entre les trois zones d'étude.

* **Cd**

Les concentrations de ce métal sont faibles. Des valeurs similaires sont enregistrées dans la zone NC et NE, elles sont égales à la valeur de limite de quantification (0,01mg/kg). Dans la zone NO, la valeur enregistrée est inférieure à

la limite de quantification. Le test de Kruskal-Wallis montre une différence entre la région NE et NC, entre la région NC et NO mais pas de différence entre la zone NO et NE.

* **Pb**

Le Pb est le métal qui présente les concentrations les plus faibles dans l'espadon et ce dans les trois zones. Toutes les valeurs enregistrées sont inférieures à la valeur de limite de quantification (0,02 mg/kg). Le test de Kruskal-Wallis ne montre aucune différence entre les trois zones d'étude.

* **Hg**

La concentration du Hg la plus élevée est enregistrée dans l'espadon provenant de la zone NC suivie par celle du NE et en dernier celle de la zone NO (0,77, 0,69, 0,23 mg/kg de poids frais respectivement). Le test de Kruskal-Wallis montre une différence de concentration entre la zone NC et NO et une différence entre la zone NE et NO mais aucune différence montrée entre la zone NE et NC.

* **MeHg**

Comme le Hg, le MeHg est plus élevé au NC suivi par la concentration obtenue au NE et en dernier au NO (0,64, 0,59, 0,20 mg/kg de poids frais respectivement). Le test de Kruskal-Wallis ne montre aucune différence de concentration entre ces trois zones.

Les résultats du tableau 6.4 et de la figure 6.18 montrent que l'ordre de concentration des éléments métalliques dans la chair de l'espadon dans les trois zones d'étude est comme suit : $Pb < Cd < MeHg < Hg < As$.

5.3.4. Comparaison des concentrations obtenues avec les seuils limites réglementaires

La comparaison réalisée est rapportée dans le tableau 5.5.

Tableau 5.5 : Tableau comparatif entre les moyennes enregistrées et les seuils limites réglementaires national et internationaux dans la chair de la sardine et de l'espadon (mg/kg de poids frais).

Métal	Zone de pêche	Sardine (<i>Sardina pilchardus</i>)		Espadon (<i>Xiphias gladius</i>)	
		Concentration	Seuil limite	Concentration	Seuil limite
As	Alger	1,24 mg/kg	2 mg/kg	0,95mg/kg	2 mg/kg
	Bejaia	2,98 mg/kg		1,63mg/kg	
	Oran	1,40 mg/kg		0,77mg/kg	
Cd	Alger	0,01mg/kg	0,1mg/kg	0,01	0,3mg/kg
	Bejaia	ND		0,01	
	Oran	0,01mg/kg		< LOQ	
Pb	Alger	0,02	0,3mg/kg	<LOQ	0,3mg/kg
	Bejaia	0,02		<LOQ	
	Oran	0,12		<LOQ	
Hg	Alger	0,02	0,5mg/kg	0,77	1mg/kg
	Bejaia	0,08		0,69	
	Oran	0,02		0,23	
MeHg	Alger	0,02	0,5mg/kg	0,64	1mg/kg
	Bejaia	0,06		0,59	
	Oran	<LOQ		0,20	

LOQ : limite de quantification, ND : concentration non détectable

Nous avons comparé les concentrations de Cd, Pb, Hg et MeHg obtenues dans la chair des deux espèces aux seuils limites réglementaires Algérien (arrêté du 05 janvier 2011) [146] et Européen (règlement (EU) N° 1881/2006) [147]. Comme il n'existe pas de seuil limite fixé par la réglementation algérienne ou européenne, les concentrations de l'As enregistrées sont comparées à la norme alimentaire de l'Australie et de la Nouvelle-Zélande [148].

Le tableau 6.5 laisse apparaître que les valeurs de Cd, Pb, Hg et MeHg obtenues dans la chair des deux espèces sont inférieures aux seuils limites national et internationaux. L'As dans la sardine de Bejaia (2,98 mg/kg de poids frais) dépasse le seuil fixé à 2 mg/kg par la norme Australienne et Néozélandaise [148].

5.4. Discussion

L'objectif de la première partie de cette étude est de déterminer les niveaux de contamination de la chair de la sardine (*Sardina pilchardus*) et celle de l'espadon (*Xiphias gladius*) pêchés et commercialisés dans trois zones de littoral Algérien, NC (Alger), NE (Bejaia) et NO (Oran) par des métaux toxiques ; l'arsenic, le cadmium, le plomb, le mercure total et sa forme organique le méthylmercure. Nous avons également comparé les concentrations obtenues aux seuils limites réglementaires nationale et internationale régissant la présence de ces contaminants dans les poissons et les produits de la pêche.

Les résultats de la détermination des limites de détection (tableau 5.1) sont de l'ordre de 0,005mg/kg pour le Cd et le Hg et de 0,01 pour l'As, Pb et MeHg. Ces valeurs montrent la performance du matériel de dosage utilisé. Dans des études antérieures, des valeurs variables sont rapportées, ainsi Hauser-Davisa *et al.* [234] ont noté des limites de détection de 0,25, 0,01mg/kg pour le Pb et le Cd, alors que Cano-Sancho *et al.* [235] ont enregistré des valeurs de 0.1mg/kg pour l'As et de 0,005 mg/kg pour le Hg et le MeHg. Ces variations seraient probablement dues aux conditions analytiques qui ne sont pas les mêmes (matrices différentes, méthode analytique et appareillage différents). Dans une étude que nous avons réalisé antérieurement [236], les valeurs que nous avons obtenus étaient 0,002, 0,001 mg/kg de poids frais pour le Pb et le Hg respectivement et 0,01 mg/kg pour le Cd.

5.4.1. Contamination de la sardine

Les concentrations moyennes obtenues sont de l'ordre de (1,82, 0,01, 0.1, 0,04, 0,04 mg/kg de poids frais) respectivement pour l'As, Cd, Pb, Hg et MeHg (tableau 5.2, figure 5.16).

- La concentration moyenne de l'As dans la sardine (1,82 mg/kg) est nettement supérieure à celle rapportée par Olmedo *et al.* [237] en

Espagne (0.561mg/kg) et à celle rapportée par Güngör et Kara [238] en mer Marmara en Turquie (0, 297 mg/kg et 3,16 mg/kg en Mars et Septembre respectivement). Zmozinski *et al.* [239] en Espagne et Kalantzi *et al.* [240] en Grèce avaient rapporté également des concentrations nettement plus élevées que celles que nous avons rapporté (6,88 et 11,8 mg/kg respectivement).

- La valeur de la concentration moyenne en Cd (0,01mg/kg) est supérieure à celles enregistrées par Okyere *et al.* [241] au Ghana (< 0,01mg/kg) et Olmedo *et al.* [237] en Espagne (0.002 mg/kg). Nous avons comparé la concentration de cadmium obtenue dans cette étude avec celle d'une étude réalisée antérieurement [236] et nous avons observé qu'elle était inférieure (0,55mg/kg), de même que pour la valeur rapporté par Chahid *et al.* [7] au Maroc (0.024mg/kg).
- Pour ce qui est du Pb la concentration moyenne obtenue (0,1mg/kg) est supérieure à celle rapportée par Chahid [242] dans les côtes marocaines (0,078 mg/kg à Agadir et à Laayoune ; 0,079 mg/kg à Essaouira et 0,024 mg/kg à Sidi Ifni), alors que celle rapporté à Dakhla est un peu plus élevée (0,123 mg/kg). Cette concentration est inférieure aussi à celle que nous avons rapporté dans notre étude antérieure [236] (2,13 mg/kg).
- La concentration moyenne en Hg enregistrée dans cette étude (0,04 mg/kg) est supérieure à celle rapportée par Yabanli [243] en Turquie (0,03mg/kg), alors que Chahid [242] au Maroc avait rapporté des concentrations plus élevées dans cinq zones : Agadir (0,081mg/kg); Essaouira (0,099 mg/kg); Dakhla (0,096mg/kg); Sidi Ifni (0,057 mg/kg); Laayoune (0,088 mg/kg). Cette concentration est aussi largement inférieure à celle que nous avons rapporté dans notre étude antérieure [236] (0,62 mg/kg).
- En ce qui concerne la valeur de la teneur en MeHg, nous avons enregistré (tableau 5.2 et figure 5.16) une concentration largement supérieure à celles rapportées en Espagne par Cano-Sancho *et al.* [235] (0,01mg/kg) et Carbonell *et al.* [244] (0,018m/kg).

Les niveaux de contamination de la sardine comme nous le montrent les études antérieures sont très variables d'une région à une autre et d'un auteur à un autre. Ces taux de contamination varient dépendamment de nombreux facteurs : Parmi ces facteurs, il y a ceux liés aux caractéristiques biologiques du poisson : au sein d'une même espèce, les concentrations des métaux lourds peuvent varier selon le tissu cible, la taille corporelle, l'âge, le sexe, le cycle de reproduction [245,246]. D'autres facteurs liés aussi aux poissons comme les modèles de natation, la position dans la chaîne trophique marine, l'alimentation et la localisation géographique rentrent en considération [107,247].

L'activité métabolique est également l'un des plus cruciaux facteurs de concentration de métaux lourds dans les tissus des poissons, l'accumulation chez les organismes jeunes est généralement supérieure à celle des organismes âgés, ceci à cause de leurs activités métaboliques très élevées [107]. Plus l'âge et la taille du poisson augmentent, plus l'activité métabolique diminue et par conséquent la concentration des métaux lourds diminue [248]. L'habitat constitue aussi un facteur qui peut fortement affecter le processus d'accumulation des métaux dans les poissons. Les organismes benthiques, qui occupent la couche inférieure de la colonne d'eau, ont tendance à accumuler des taux plus élevés de métaux lourds comparativement aux organismes pélagiques [249].

D'autres facteurs peuvent aussi influencer la variation des niveaux de contamination des poissons, à l'instar de la concentration et la biodisponibilité des métaux lourds dans l'eau de mer [250], la durée d'exposition des poissons aux contaminants dans l'eau, la chimie de l'eau, la manipulation et le traitement, la zone de capture, le transport et le stockage [251,252,253].

La saison de pêche est un facteur important de variation d'accumulation des métaux lourds, Rajeshkumar *et al.* [246] ont montré que l'accumulation saisonnière de métaux dans les muscles, les branchies, le foie, les reins et

l'intestin de l'espèce *Carassius carassius* augmente de façon significative en hiver et en été par rapport au printemps et à l'automne.

Les facteurs environnementaux tels que le pH, la température, la salinité, la dureté, les nutriments, la matière organique, le carbone organique et les conditions environnementales de l'écosystème marin influencent la biodisponibilité et le taux de bioaccumulation des métaux [254].

La bioaccumulation dépend aussi du type de métal (taille moléculaire, spéciation chimique, biodisponibilité, mobilité etc.). En effet, les métaux dont la cinétique d'absorption est supérieure à la cinétique d'élimination ont tendance à s'accumuler dans l'organisme. Une faible élimination des éléments-traces est en général due à leur séquestration par les métallothionéines [228, 247, 254].

5.4.2. Contamination de l'espadon

Les résultats globaux de la contamination de l'espadon par l'As, Cd, Pb, Hg et MeHg sont respectivement : 1,10, 0,01, < 0,02, 0,61, 0,57 mg/kg de poids frais (tableau 5.2 et figure 5.16).

- En ce qui concerne l'As, la teneur moyenne obtenue (1,10 mg/kg) est plus élevée que celle rapportée par Bodin *et al.* [255] dans l'océan indien occidental (0,939 mg/kg) et Iamiceli *et al.* [256] en mer Tyrrhénienne (0,483 mg/kg) alors que Storelli *et al.* [257] et Cano-Sancho *et al.* [235] en mer Méditerranée ont rapporté des concentrations largement élevées (3,68 et 1,47 mg/kg respectivement). En mer Ionienne, Iamiceli *et al.* [256] ont rapporté également une concentration nettement plus élevée de 4,30mg/kg.
- La concentration en Cd (0,01mg/kg) que nous avons enregistré s'est révélée élevée que celle notée par Iamiceli *et al.* [256] (< 0,01mg/kg).

Gobert *et al.* [258] et Zaza *et al.* [259] quant à eux ont rapporté des concentrations nettement élevées (0,033 mg/kg en mer Méditerranée et 0,113mg/kg en océan Atlantique respectivement).

- Dans notre étude, le Pb, a montré une concentration (<0,02 mg/kg) inférieure à celles rapportées par Gobert *et al.* [258] en mer Méditerranée (0,084 mg/kg) et par Zaza *et al.* [259] en océan Atlantique central (0,09 mg/kg), mais similaire à celle notée en océan Indien (0,01 mg/kg) par Bodin *et al.* [255]. Damiano *et al.* [231] quant à eux, avaient rapporté des concentrations plus élevées dans quatre régions de l'océan Atlantique et la mer Méditerranée (1,049 mg/kg en mer Ionienne ; 1,16 mg/kg en mer Tyrrhénienne sud ; 1,35 mg/kg en mer Tyrrhénienne centrale ; 1,078 mg/kg en Nord-Est atlantique et 0,968 mg/kg en Nord-Central Atlantique).
- Pour le Hg (0,61 mg/kg), Zaza *et al.* [259] avaient enregistré des valeurs inférieures (0,473 mg/kg) aux nôtres en océan Atlantique, alors que Liu *et al.* [260] aux États-Unis et Torres-Escribano *et al.* [261] en Espagne avaient rapporté des concentrations bien plus supérieures (1,27 mg/kg, 0,96 mg/kg respectivement).
- Le MeHg dans l'espadon (0,57 mg/kg), a montré une concentration supérieure à celle rapportée par Torres-Escribano *et al.* [261] en Espagne (0,49mg/kg).

Les variations des concentrations des métaux lourds retrouvées dans l'espadon auraient les mêmes origines et les mêmes facteurs d'influence que ceux cités pour la sardine. Par ailleurs l'espadon est un grand prédateur situé au sommet de la chaîne trophique marine avec un métabolisme élevé, par conséquent il accumule des concentrations très élevées de métaux lourds notamment le Hg (par bioaccumulation et bioamplification) [131, 249,262]. L'étude

de Hosseini *et al.* [249] montre que l'accumulation des métaux lourds par les poissons suit le classement suivant: poissons omnivores benthiques < poissons zooplanktivores < poissons phytoplanktivores < poissons piscivores tel que l'espadon.

5.4.3. Comparaison des teneurs des métaux étudiés entre la sardine et l'espadon

L'ordre d'accumulation des éléments - traces métalliques dans la chair de la sardine est comme suit : Cd < Hg = MeHg < Pb < AS et dans l'espadon : Pb < Cd < MeHg < Hg < As (tableau 5.2 et figure 5.16).

Chez les deux espèces l'As est l'élément le plus dominant. L'As, ainsi que le Pb ont montré les valeurs les plus élevées chez la sardine, le Hg et sa forme organique le MeHg quant à eux ont enregistré des valeurs élevées chez l'espadon. Le Cd a présenté les mêmes concentrations chez les deux espèces.

Les variations interspécifiques des teneurs en éléments- traces confirment que la bioaccumulation dépend de l'espèce considérée, de sa capacité physiologique d'assimilation et d'excrétion de l'élément trace ingéré et de son anatomie (taille, nature des téguments, surface de contact avec l'eau, etc...) [231].

La position trophique de l'espèce a aussi son influence sur la bioaccumulation des éléments métalliques considérés dans les poissons pélagiques [255]. La concentration du Hg dans les poissons présente des différences interspécifiques significatives reflétant le niveau trophique et la bioamplification [263]. Le Hg tend à bioaccumuler dans les organismes marins ayant une position trophique supérieure comme l'espadon. Les grands poissons prédateurs atteignent des concentrations très élevées au vu de leurs durées d'exposition plus longues aux polluants, et au sein de la même espèce ce sont généralement les plus gros individus qui accumulent le plus. Ceci pourrait

expliquer les concentrations élevées en Hg et en MeHg dans l'espadon par rapport à celle de la sardine dans cette présente étude.

Des valeurs de contamination des échantillons de muscle d'espadon prélevés des marchés de Madrid (Espagne) ont atteint des concentrations qui dépassaient la limite maximale pour le Hg, certains spécimens en particulier ont atteint des niveaux allant jusqu'à 1,9 mg/kg [263].

Pour un même métal, la forme chimique est un facteur important de concentration dans l'organisme des poissons. Les résultats que nous avons obtenu montrent que les concentrations du Hg et du MeHg sont similaires dans la sardine. Cela suggère que le Hg est entièrement sous sa forme organique alors que dans l'espadon le MeHg représente la majorité du mercure total. Cette haute concentration de MeHg pourrait être due au taux élevé de cette forme organique dans les eaux où les poissons ont été pêchés.

Les poissons ont tendance à accumuler la forme organique du mercure (MeHg), ceci est dû à l'affinité élevée que présente le MeHg aux groupes thiols des protéines des muscles des poissons, ce qui favorise plus sa bioaccumulation et sa bioamplification dans la chair [264, 265].

Les teneurs en As que nous avons observé lors de cette étude étaient plus élevées dans la sardine que dans l'espadon. Ce phénomène aurait pour origine le fait que l'arsenic soit un élément non concerné par la bioamplification. Plus le niveau trophique augmente, plus la teneur en As diminue, cette biodiminution de l'As a même été rapportée par un certain nombre de chercheurs qui ont observé que les poissons planctivores (gaspereau et killifish) montraient les concentrations d'As plus élevées (environ 0,07- 0,075 mg /kg) que les omnivores (marigane noire, crapet arlequin et perchaude; environ 0,03- 0,04 mg /kg) et les piscivores (achigan à grande bouche, environ 0,04 mg/ kg) [111].

La variation de concentration de l'As observée entre les deux espèces objets de notre étude pourrait aussi être liée aux différences de capacité de l'espèce à manipuler des éléments métalliques.

La manipulation de l'As enregistre des variations significatives entre les espèces de poissons, aussi, Amlund *et al.* [111] ont montré qu'il y avait des différences dans la distribution tissulaire et les modèles excrétoires entre les espèces de poissons avec de l'arsénobétaïne (forme organique de l'As la plus dominante) [266].

En outre des différentes raisons de variation des concentrations de l'As entre les deux espèces, les teneurs élevées pourraient avoir pour cause la forte contamination des eaux de pêche. La zone méditerranéenne a été classée par le Programme des Nations Unies pour le Développement (PNUD) comme l'une des cinq régions du monde où les problèmes environnementaux sont les plus graves, le littoral Algérien partie intégrante de la Méditerranée est concerné par la pollution notamment par les métaux lourds qui touchent surtout les zones industrielles et portuaires, comme Alger, Oran, Bejaia, Arzew, Annaba, et Skikda [267].

En ce qui concerne le cas particulier du Pb qui a montré une concentration plus élevée dans la sardine que celle obtenue dans l'espadon (position trophique supérieure) et du cadmium avec une concentration similaire dans les deux espèces, alors que dans la littérature, il est dit que les concentrations les plus élevées étaient rencontrées dans les grandes espèces. Nous pouvons penser que ces deux cas de figures seraient liés à la nature des tissus pris comme matrice de recherche. Il est connu que le tropisme des métaux lourds est supérieur pour les organes et viscères que pour le muscle (chair) [268]. Les travaux de recherche de Fathimath [266] dans différentes espèces de poissons aux Maldives et en Nouvelle-Zélande ont montré que les concentrations des éléments métalliques (Pb, Cd, Hg, As) étaient significativement plus faibles dans le tissu musculaire que dans le foie, les reins et les gonades. Les concentrations d'oligo-éléments sont plusieurs fois plus élevées dans le foie, les reins et les gonades par rapport au muscle car ces tissus sont métaboliquement actifs [266]. Nos résultats sont différents puisque nous avons travaillé sur la matrice chair et pas sur les organes.

La sardine est une espèce pélagique côtière, ce qui l'expose à une contamination élevée au Pb. La grave pollution côtière est un problème qui ne date pas d'aujourd'hui et qui est rencontré un peu partout dans le monde. Ce problème se manifeste surtout dans les pays hautement industrialisés (grands centres industriels le long des côtes) et à fortes concentrations de populations [269]. La forte concentration du Pb dans le milieu marin est à l'origine des peintures des bateaux, l'activité portuaire à travers sa large utilisation du Pb, le transport des produits pétroliers et la forte consommation en carburant par les barques à moteurs [270].

5.4.4. Variation des concentrations des métaux lourds chez la sardine et l'espadon en fonction des zones d'étude

✓ **Contamination par l'As**

Les concentrations de l'As dans la sardine et dans l'espadon de (NE) sont nettement supérieures à celles des deux autres zones de pêche (tableaux 5.3, 5.4, figures 5.17, 5.18). Ceci pourrait être dû à une pollution marine élevée dans cette zone.

✓ **Contamination par le Cd**

Les concentrations moyennes de Cd dans la sardine et dans l'espadon provenant des différentes zones de pêche de littoral Algérien sont $\leq 0,01\text{mg/kg}$ pour les deux espèces, ces résultats sont largement inférieurs à ceux que nous avons rapporté en 2016 dans les mêmes zones de pêche (0,48mg/kg à Alger ; 0,74 mg/kg à Bejaia et 0.38mg/kg à Oran pour la sardine et 0,57mg/kg pour l'espadon d'Alger) [236]. Sahbaoui [271] avait aussi rapporté une concentration moyenne supérieure à la nôtre (0,013mg/kg) dans la sardine de la baie de Ghazaouet à Telemcen (Ouest Algérien).

✓ **Contamination par le Pb**

Les concentrations moyennes enregistrées chez la sardine dans les trois zones de pêche sont comprises entre 0,02 et 0,12mg/kg alors que chez l'espadon elles restent inférieures à la limite de quantification (0,01mg/kg). Ces résultats sont inférieurs à ceux déjà rapportés dans une étude précédente (entre 0,51 et 2,81mg/k pour la sardine et 3,9mg/kg pour l'espadon) [233]. Dans nos deux études (antérieure et actuelle), la concentration de Pb dans la sardine la plus élevée est enregistrée à Oran. Sahbaoui [271] avait rapporté une concentration moyenne supérieure à la nôtre (0,074mg/kg) dans la sardine de la baie de Ghazaouet à Telemcen. Ces concentrations élevées de plomb seraient dues à la pollution marine. Sahnoun [272] avait conclu dans son étude que le littoral de la côte Oranaise était devenu vulnérable puisqu'il constituait le réceptacle privilégié des apports contaminants, provenant des fleuves, de l'atmosphère ou des émissions urbaines et industrielles notamment les rejets de la zone industrielle pétrochimique d'Arzew. Dans cette étude il a été montré que la forte pollution marine dépassait les limites admissibles (0,5mg/l), en saison hivernale, les concentrations obtenues variaient entre 1,2mg/l et 2,7mg/l et entre 0,29mg/l et 3,6mg/l) en saison estivale [272].

A Alger, Benguendouz *et al.* [272] avaient rapporté une concentration presque similaire à la nôtre dans la sardine (0,016mg/kg).

✓ **Contamination par le Hg**

Les concentrations moyennes que nous avons enregistré dans la sardine et dans l'espadon dans les trois zones de pêche sont inférieures à celles que nous avons rapporté en 2016 [236].

Ouldali *et al.* [274] avaient rapporté des concentrations plus élevées que celles nous avons enregistré dans cette étude ; 0,034 mg /Kg dans la sardine des ports d'Alger, Annaba et Boumerdes et 0, 128 mg /kg au port d'El Taref. Benguendouz *et al.* [273] à avaient rapporté aussi une concentration élevée de (0,091mg/kg) à Alger.

✓ **Contamination par le MeHg**

Les concentrations moyennes de la forme organique du Hg dans les trois zones de pêche sont globalement < 0,06 mg/kg chez la sardine et < 0,64 mg/kg chez l'espadon sachant que le MeHg représente 90% à 100% du Hg total. Il est à rappeler qu'en Algérie, aucune étude n'a été effectuée sur cette forme organique, pourtant c'est l'espèce chimique toxique la plus trouvée abondamment dans l'organisme des poissons en raison de son taux d'assimilation élevé et le taux d'élimination trop faible [275,276, 277].

Ces résultats montrent que la concentration des métaux lourds pour une même espèce varie en fonction de la zone de pêche.

5.4.5. Métaux lourds ; problème de santé publique

Notre étude a révélé des concentrations de métaux lourds généralement inférieures aux seuils limites réglementaires national et internationaux (tableau 5.5).

Pour le cas d'As dans la sardine provenant de la zone NE nous avons enregistré une concentration de 2,89 mg/kg. L'As n'est pas pris en considération dans la classification des métaux toxiques que ce soit à l'échelle nationale ou européenne mais si on le compare à la seule norme qui existe (Australienne et Néo-Zélandaise) [148]. Ce chiffre dépasse le seuil réglementaire fixé à 2 mg/kg par cette norme.

Les valeurs des concentrations des différents éléments- traces métalliques que nous avons obtenu dans cette étude nous incitent à faire une étude d'évaluation de risque d'exposition du consommateur algérien. Ces éléments s'accumulent à long terme à des concentrations minimales et finissent par provoquer des intoxications diverses.

L'évaluation de risque liée à la consommation de ces poissons fait l'objet de la deuxième partie de cette étude.

CHAPITRE 6

EVALUTATION DU RISQUE (PARTIE 2)

Même si les concentrations des métaux lourds analysés dans les échantillons des poissons testés n'ont pas dépassé les limites légales fixées par la réglementation Algérienne et internationales. Il est important de réaliser une évaluation du risque chimique lié à ces contaminants puisque la survenue d'un risque ne dépend pas seulement des concentrations des métaux lourds dans les poissons mais aussi de la quantité de poissons consommée par personne, du poids corporel du consommateur, de la fréquence et la durée d'exposition et de la dose orale de référence [278]. Cette étude porte sur la voie orale et concerne les expositions chroniques uniquement.

6.1. Matériels

6.1.1. Consommation annuelle de poisson par habitant en Algérie

La consommation annuelle de poisson par habitant en Algérie pour l'année 2016 a été estimée à 3,56 Kg pour une population de 40 millions [279]. Ce qui correspond à une consommation journalière de 9,7 g/jour/habitant.

6.1.2. Poids corporel

Le poids corporel moyen pris en considération dans cette étude, se référant aux données bibliographiques est de 60 Kg pour un adulte [247].

6.1.3. Concentration moyenne des métaux lourds

Les concentrations moyennes des métaux lourds (As, Cd, Pb, Hg et MeHg) pris en considération pour l'étude de risque sont celles obtenues dans la première partie de l'étude.

6.2. Méthode d'évaluation du risque d'exposition aux métaux lourds via la consommation de la sardine et de l'espadon

En l'absence de modèle d'évaluation du risque cancérigène et non cancérigène pour la santé humaine en Algérie, nous nous sommes inspirés du modèle soulevé par l'Agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (USEPA). Il est basé sur le calcul des paramètres suivants : l'estimation de la dose journalière d'exposition (DJE), le quotient de danger (THQ) et l'indice de danger (HI) [280].

6.2.1. Estimation de la dose Journalière d'exposition (DJE)

Afin de déterminer le risque pour la santé humaine à long terme via l'exposition aux métaux lourds (As, Cd, Pb, Hg et MeHg) en consommant la sardine et l'espadon pêchés dans le littoral algérien, la dose journalière d'exposition (DJE) ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$) de la population Algérienne a été évaluée comme suit [281]:

$$DJE = \frac{CM \times CQ}{PC}$$

Où :

- ✓ **DJE** : Dose journalière d'exposition en $\mu\text{g}/\text{kg}$ par jour
- ✓ **CM** : Concentration moyenne des métaux étudiés dans la chair du poisson ($\mu\text{g}/\text{g}$ de poids frais) ;
- ✓ **CQ** : la consommation journalière du poisson (g/jour) ;
- ✓ **PC** : Le poids corporel de la population en Kg ;

Cette dose journalière d'exposition estimée (DJE) dépend donc de la concentration en métal dans la chair du poisson, la consommation journalière du poisson et du poids corporel.

6.2.2. Détermination du Quotient de danger (THQ) (Caractérisation du risque)

Le quotient de danger (THQ) permet l'évaluation du potentiel des risques non cancérogènes associés à une exposition à long terme aux contaminants (ici les métaux lourds provenant des poissons). IL représente le rapport entre l'apport quotidien chronique des métaux (DJE) en ($\mu\text{g} / \text{kg}/\text{jour}$) et la dose de référence orale (RfD) exprimée également en ($\text{mg}/\text{kg}/ \text{jour}$) [282].Le THQ indique le niveau de risque associé à l'exposition aux polluants. Il est calculé selon l'équation suivante [283].

$$THQ = \frac{FE \times DE \times CO \times C}{RFD \times PC \times DEM} \times 10^{-3}$$

Où :

- ✓ **THQ** : Correspond au quotient de danger (Target hazard quotient) (sans unité) ;
- ✓ **FE** : Correspond à la fréquence d'exposition (365 jours / an) ;
- ✓ **DE** : Correspond à la durée d'exposition 70 ans (durée de vie moyenne) ;
- ✓ **CO** : Correspond à la consommation du poisson ($\text{kg}/\text{par personne}/\text{jour}$);
- ✓ **C** : Concentration des métaux lourds dans la chair du poisson (mg/kg) ;
- ✓ **RFD** : Correspond à la dose orale de référence ($\text{mg}/\text{kg}/\text{jour}$) (tableau N°7);
- ✓ **Pc** : Correspond au poids corporel moyen d'adulte (60 kg) ;
- ✓ **DEM** : Correspond au temps moyen d'exposition pour les substances non cancérogènes ($365 \text{ jours}/\text{an} \times \text{DE}$).

Interprétation : si la valeur du THQ est <1 , cela signifie qu'il n'y a pas d'effets indésirables pour la population exposée, si $\text{THQ} > 1$, il existe un risque potentiel [282].

Le tableau 6.1 ci-dessous montre les doses orales de référence pour les métaux étudiés fixées par l'Agence de protection de l'environnement des Etats Unis (US EPA).

Tableau 6. 1 : Doses orale de référence en mg/kg/jour [284].

Éléments métalliques	As	Cd	Pb	Hg	MeHg
Dose référence orale en mg/kg/jour	3×10^{-4}	1×10^{-3}	2×10^{-3}	3×10^{-4}	1×10^{-4}

6.2.3. Détermination de l'indice de danger (HI) (Hazard index) (Caractérisation du risque)

Le HI constitue la somme des différents quotients de danger des différentes substances qui affectent le même organe ou systèmes d'organes cibles. Il représente la somme des THQ individuels obtenus pour chaque métal [283] :

$$\text{HI} = \text{THQ (toxique}_1) + \text{THQ (toxique}_2) + \text{THQ (toxique}_3) + (\text{THQ(Toxique}_n)\dots$$

Dans notre étude HI est égal à :

$$\text{HI} = \text{THQAs} + \text{THQPb} + \text{THQCd} + \text{THQHg} + \text{THQMeHg}$$

Interprétation : si la valeur du HI est <1 , cela signifie qu'il n'y a pas d'effets néfastes non cancérogène pour la population exposée mais si $\text{HI} \geq 1$ ceci ne dit pas qu'il existe une probabilité d'effets indésirables non plus [284].

6.3. Résultats

Les résultats de l'évaluation de l'exposition à l'As, Cd, Pb, Hg et MeHg liés à l'ingestion de la sardine et de l'espadon ainsi que les quotients de danger (THQ) et les indices de danger (HI) correspondant chez une population Algérienne adulte sont reportés dans les tableaux 6.2, 6.3, 6.4, 6.5 ci-dessous.

6.3.1. Estimation des doses journalières/ hebdomadaires d'exposition et comparaison avec des valeurs réglementaires

6.3.1.1. Estimation des doses journalières/ hebdomadaires d'exposition dans le cas de la sardine et de l'espadon pour un adulte

Les résultats obtenus (tableau 6.2) sont comparés aux doses journalières et hebdomadaires tolérables provisoires (DJTP/ DHTP) fixées par l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) et du Comité mixte FAO-OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA) nous observons que les doses journalières/ hebdomadaires d'exposition (DJE /DHE) de tous les métaux analysés sont inférieures aux doses hebdomadaires tolérables provisoires DHTP.

Tableau 6. 2 : Estimation des doses journalières/ hebdomadaires pour un adulte Algérien(en µg/ kg de poids corporel).

Métaux étudiés		DJE Adulte (60kg)	DHE Adulte (60kg)	DHTP (Fixée par EFSA)	DHTP (Fixée par JECFA)
As	Sardine	0,29	2,03	-	15(As inorganic) [157]
	Espadon	0,18	1,26		
Cd	Sardine	0,0016	0,0112	2,5 [171]	7 [172]
	Espadon	0,0016	0,0112		
Pb	Sardine	0,016	0,112	-	25 [203]
	Espadon	-	-		
Hg	Sardine	0,0064	0,05	-	5[285]
	Espadon	0,098	0,7		
MeHg	Sardine	0,0064	0,05	1,3 [191]	1.6 [285]
	Espadon	0,092	0,64		

La DHE de l'arsenic est la plus élevée (2,03 ; 1,26 µg/Kg de poids corporel pour la sardine et l'espadon respectivement), suivie par celle du Hg et du MeHg (0,05 ; 0,7 µg/kg de poids corporel) pour l'espadon et (0,05 ; 0,64 µg/kg de poids corporel) pour la sardine respectivement, puis vient la DHE du plomb et en dernier celle du cadmium. Il est à noter que la DHE du plomb pour l'espadon est inestimable et que celle du cadmium est similaire pour les deux espèces de poissons (0,001µg/kg de poids corporel).

6.3.1.2. Estimation des doses journalières/hebdomadaires d'exposition liées à la sardine par région d'étude

Les résultats de doses journalières et hebdomadaires d'exposition estimées liées à la consommation de la sardine en fonction des régions d'étude sont montrés dans le tableau 6.3.

Tableau 6.3 : Doses journalières et hebdomadaires estimées liées à la sardine par région d'étude ($\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids corporel).

Métaux étudiés		DJE Adulte (60kg)	DHE Adulte (60kg)	DHTP (Fixée par EFSA)	DHTP (Fixée par JECFA)
As	Alger	0,20	1,4	-	15(As inorganic) [157]
	Bejaia	0,48	3,4		
	Oran	0,23	1,61		
Cd	Alger	0,0016	0,011	2,5 [171]	7[172]
	Bejaia	-	-		
	Oran	0,0016	0,011		
Pb	Alger	0,0032	0,0224	-	25[203]
	Bejaia	0,0032	0,0224		
	Oran	0,02	0,14		
Hg	Alger	0,0032	0,0224	-	5[285]
	Oran	0,0032	0,0224		
	Bejaia	0,013	0,91		
MeHg	Alger	0,0032	0,0224	1,3 [191]	1,6 [285]
	Oran	-	-		
	Bejaia	0,010	0,07		

D'après les résultats qui apparaissent dans le tableau 6.3, les DHE sont inférieures aux DHTP fixées par EFSA et JECFA pour tous les métaux et dans toutes les régions.

Les DHE enregistrées pour l'As et Hg sont similaires à Oran et à Alger et toujours inférieures à celle de Bejaia, exception faite pour le Cd où malgré la similarité entre les deux régions, les valeurs sont supérieures à celle de Bejaia où la DHE a été inestimable et pour le Hg où c'est à Oran que la DHE n'a pas pu être calculée.

6.3.1.3. Estimation des doses journalières/ hebdomadaires d'exposition liées à l'espadon par région d'étude

Les résultats de doses journalières et hebdomadaires d'exposition estimées liées à la consommation de l'espadon en fonction des régions d'étude sont montrés dans le tableau 6.4.

Tableau6.4: Doses journalières et hebdomadaires estimées à partir de l'espadon par région d'étude ($\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids corporel).

Métaux étudiés		DJE Adulte (60kg)	DHE Adulte (60kg)	DHTP (Fixée par EFSA)	DHTP (Fixée par JECFA)
As	Alger	0,153	1,07	-	15(As inorganic) [157]
	Bejaia	0,263	1,84		
	Oran	0,123	0,90		
Cd	Alger	0.0018	0,013	2,5 [171]	7[172]
	Bejaia	0,0016	0,011		
	Oran	-	-		
Pb	Alger	-	-	-	25[203]
	Bejaia	-	-		
	Oran	-	-		
Hg	Alger	0,124	0,90	-	5[285]
	Oran	0,037	0,26		
	Bejaia	0,111	0,78		
MeHg	Alger	0,103	0,721	1,3 [191]	1,6 [285]
	Oran	0,032	0,224		
	Bejaia	0,095	0,67		

Le tableau 6.4 a permis de constater que :

Les DHE sont inférieures aux DHTP estimées par l'EFSA et le JECFA pour tous les métaux dans les trois régions.

La DHE de l'As est plus élevée à Bejaia (1,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids corporel), celle du mercure et du méthylmercure à Alger (0,90 ; 0,72 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids corporel) respectivement. Le Cd a enregistré une valeur de DHE similaire à Bejaia et Alger (0,01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids corporel). Alors qu'à Oran, elle a été inestimable. Quant au plomb, la DHE a été inestimable dans les trois régions.

Nous pouvons conclure d'après les résultats des tableaux 6.3 et 6.4, que les doses journalières/ hebdomadaires d'exposition estimées pour chaque métal sont différentes d'une région à une autre pour la même espèce de poisson et aussi d'une espèce à une autre.

6.3.2. Estimation du quotient de danger (THQ) et de l'indice de danger (HI)

Nous avons estimé le THQ pour chaque métal pour les deux espèces de poissons, les résultats du tableau 6.5 ont montré que le THQ et le HI sont inférieurs à 1 pour tous les métaux.

Tableau 6.5 : Quotient de danger (THQ) et indice de danger (HI) pour un adulte Algérien.

	THQ (As)	THQ (Pb)	THQ (Cd)	THQ (Hg)	THQ (MeHg)	HI
Sardine	$9,8 \times 10^{-4}$	$8,08 \times 10^{-6}$	$1,61 \times 10^{-6}$	$2,15 \times 10^{-5}$	$6,46 \times 10^{-5}$	$1,07 \times 10^{-3}$
Espadon	$5,92 \times 10^{-4}$		$1,61 \times 10^{-6}$	$3,28 \times 10^{-4}$	$9,21 \times 10^{-4}$	$1,84 \times 10^{-3}$

Les quotients de dangers pour chaque métal sont répartie selon l'ordre suivant: $THQ_{PB} < THQ_{Cd} < THQ_{Hg} < THQ_{MeHg} < THQ_{As}$. Le quotient de danger de l'arsenic s'est avéré le plus élevé pour la population qui consomme la sardine et l'espadon.

Bien que les valeurs de THQ et de HI enregistrées n'aient pas dépassé le 1, nous pouvons penser que les populations qui consomment l'espadon pourraient être les plus exposées aux dangers des métaux étudiés vu que les valeurs de THQ et de HI, les plus élevées ont été observées dans cette espèce.

6.4. Discussion

6.4.1. Evaluation du risque liée à la consommation de la sardine et de l'espadon

6.4.1.1. Estimation des doses journalières/hebdomadaires d'exposition liées à la consommation de la sardine pour un adulte Algérien

- **As**

En comparant nos résultats (tableau 6.2) aux études antérieures, la DHE que nous avons déterminé (2,03 μ g/kg de poids corporel) et qui correspond à une DJE de 0,29 μ g /kg de poids corporel pour un adulte de 60kg a été plus élevée que la DJE estimée par GÜngör et Kara [238] en Turquie (0,0003 μ g/kg de poids corporel). Vieira *et al.* [286] quant à eux, avaient rapporté une DHE supérieure à la nôtre (3 μ g/kg de poids corporel) à partir de la sardine du Portugal. Falcoã *et al.* [287] en Espagne avaient également rapporté une DJE plus élevée (14 et 11 μ g/kg de poids corporel pour un homme et une femme adultes respectivement).

- **Cd**

La DHE pour le Cd de notre étude (0,0112 μ g/kg de poids corporel) est inférieure à celle rapportée par Vieira *et al.* [286] au Portugal (0,017 μ g/kg de poids corporel) et à celles rapportées par Falcoã *et al.* [287] en Espagne (0,03 et 0,02 μ g/kg de poids corporel pour un homme et une femme adultes respectivement). Chahid [242] au Maroc avait aussi rapporté une DHE plus élevée (0,20 μ g/kg de poids corporel).

- **Pb**

La dose hebdomadaire estimée pour le Pb que nous avons enregistré est similaire à celle rapportée par Vieira *et al.* [286] au Portugal et par Falcoã *et al.* [287] en Espagne (0,11µg/kg de poids corporel). Par ailleurs Chahid [242] au Maroc avait rapporté une DHE plus élevée (0,39 µg/kg de poids corporel).

- **Hg**

La DHE du Hg que nous avons estimé (0,05µg/kg de poids corporel) s'est avérée similaire à celle rapportée par Vieira *et al.* [286] au Portugal. Alors que Falcoã *et al.* [287] en Espagne avait rapporté une DJE plus élevée (0,31, 0,25 µg/kg de poids corporel pour un homme et une femme adultes respectivement). Chahid [269] avait aussi rapporté une DHE plus élevée (0,32 µg/kg de poids corporel).

- **MeHg**

La DHE pour le MeHg que nous avons rapporté (0,05µg/kg de poids corporel) est supérieure à celle rapportée par Cantoral *et al.* [288] au Mexique (0,002µg/kg de poids corporel).

6.4.1.2. Estimation des doses journalières/hebdomadaires d'exposition liées à la consommation de l'espadon pour un adulte Algérien

- **As**

La DHE que nous avons estimé pour l'As (tableau 6.2) (1,26µg/kg de poids corporel), est supérieure à celles de Falcoã *et al.* [287] et Cano-Sancho *et al.* [235] en Espagne qui avaient rapporté des DJE de 0,12 et de 0,000174µg/kg de poids corporel respectivement. Par ailleurs, Aranda *et al.* [289] toujours en Espagne avaient rapporté une DJE plus élevée (3,38µg/kg de poids corporel).

- **Cd**

La DHE que nous avons calculé (0,0112µg/kg de poids corporel) qui correspond à une DJE (0,0016µg/kg de poids corporel) s'est avérée inférieure à celles rapportées par Gorbet *et al.* [258] et Aranda *et al.* [289] (0,203 et 0,11µg/kg de poids corporel adulte respectivement).

- **Pb**

La DHE du Pb dans notre étude était inestimable. Gorbet *et al.* [258] avaient estimé une dose hebdomadaire assez importante de 0,511µg/kg de poids corporel.

- **Hg**

La DJE relative au Hg que nous avons estimé est inférieure à celles rapportées par Falcoä *et al.* [287] et Aranda *et al.* [289] en Espagne (0,11et 0,17µg/kg de poids corporel respectivement) mais elle reste supérieure à celle qu'ont enregistré Cano-Sancho *et al.* [235] en Espagne (0,000171µg/Kg de poids corporel).

- **MeHg**

La DHE que nous avons déterminé (0,64µg/kg de poids corporel) est inférieure à celle rapportée par Velez *et al.* [290] en Espagne (48 µg/kg pour un adulte) alors que Cano-Sancho *et al.* [235] dans le même pays avaient rapporté une DHE très petite (0,000123 µg/Kg de poids corporel).

Les résultats obtenus nous permettent de constater que pour les deux espèces de poissons les doses journalières et hebdomadaires estimées sont inférieures aux doses journalières hebdomadaires tolérables fixées par le Comité d'experts FAO/OMS sur les additifs alimentaires (JECFA) et l'autorité européenne

de sécurité des aliments (EFSA), ce qui signifie que la population Algérienne consommatrice de sardine et d'espadon ne court pas de risque d'intoxication par les métaux étudiés.

Cette absence de risque serait liée doublement à la faible concentration de ces éléments métalliques dans la chair des poissons et à la faible consommation de ces derniers par la population algérienne (la consommation annuelle par habitant a été estimée à 3,56kg en 2016) [279].

Contrairement à d'autres pays où la consommation par habitant du poisson et des produits de la mer est trop élevée à l'instar de la France, le Portugal et l'Espagne [291]. Le Portugal a affiché la consommation par habitant la plus élevée de l'Union Européenne, en 2015, la consommation a avoisiné les 56 kg, soit plus du double de la moyenne européenne (25,1 kg), 24 % de plus qu'en Espagne et 65 % de plus qu'en France [291]. En Espagne, la consommation par habitant était de 45,2 kg, soit 80 % de plus que la moyenne européenne et 33 % de plus que la France où la consommation était de 34kg, soit 35 % de plus que la moyenne de l'Union Européenne [291]. Le Maroc, d'après Chahid [242] a enregistré une consommation de 9,85 kg / personne pour l'an 2011.

Sachant que La consommation constitue un facteur important dans l'apparition du risque, les grands consommateurs de poissons seraient les plus exposés.

Les doses journalières d'exposition changent dans le temps, puisque les teneurs en métaux dans les eaux et dans les poissons varient aussi dans le temps. Güngör et Kara [238] avaient estimé des doses différentes dans le cas de la sardine entre le mois de Mars et le mois de Septembre.

La répartition des doses journalières et hebdomadaires estimées par zone d'étude (tableau 7.3 et 7.4) a montré une variation des valeurs d'une région à une autre. Ceci est lié aux différentes concentrations moyennes de métaux lourds obtenues dans chacune des zones d'étude.

Malgré ces variations, les doses journalières et hebdomadaires d'exposition estimées sont toujours inférieures aux doses journalières et hebdomadaires tolérables fixées par EFSA et JECFA. Ceci suggère que le risque n'existe pas pour le consommateur algérien dans les trois régions (Alger, Bejaia et Oran).

6.4.1.3. Quotient de danger (THQ) et indice de danger (HI)

En plus des doses journalières et hebdomadaires estimées qui se sont révélées inférieures aux doses tolérables, les résultats du calcul du quotient de danger et de l'indice de danger ont montré des valeurs largement inférieures à 1, cela indique que la consommation de la sardine et de l'espadon ne présente aucun risque non cancérigène pour la population Algérienne.

L'évaluation du risque réalisée dans cette étude corrobore avec celle de Chahid [242] qui avait aussi démontré que la consommation de la sardine au Maroc ne présentait aucun risque pour la population puisque les THQ calculés pour le Cd et le Hg et le HI étaient inférieures à 1. Par ailleurs, Vieira et al. [286] avaient conclu que la consommation de la sardine par la population portugaise présentait un risque puisque le THQ de l'As était supérieur à 1 (1,37) et le HI égal à 1,40.

CONCLUSION & RECOMMANDATIONS

La première partie de l'étude que nous avons entreprise dans la réalisation de la présente recherche a permis le dosage de l'arsenic, du cadmium, du plomb, du mercure et de sa forme organique le méthylmercure dans la chair de la sardine et de l'espadon provenant de trois zones du littoral Algérien. Les méthodes utilisées sont ; la spectrométrie de masse par plasma à couplage inductif (ICP-MS) et l'analyse directe sur DMA.

Les concentrations moyennes générales obtenues dans les deux espèces de poissons se situent entre le non-déTECTABLE pour le plomb dans l'espadon et (1,82 mg/kg de poids frais) pour l'arsenic dans la sardine. Ces concentrations moyennes ne dépassent pas les seuils limites réglementaires fixés à l'échelle nationale et internationale à l'exception de celle de l'arsenic (2,98 mg/kg de poids frais) enregistrée dans la sardine provenant de la zone Nord-Est (Bejaia) qui a dépassé le seuil (2 mg/kg de poids frais) fixé par les autorités sanitaires Australiennes et Néozélandaises. Les résultats obtenus nous ont permis de confirmer que l'espèce et la zone de pêche sont deux facteurs importants de variation de la bioaccumulation de métaux lourds dans la chair du poisson.

La deuxième partie de l'étude a été réalisée dans le but d'évaluer le risque d'exposition du consommateur algérien à ces métaux toxiques via la consommation de ces deux espèces de poissons. Le modèle d'évaluation du risque utilisé est celui proposé par l'agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (USEPA) et qui repose sur l'estimation des doses journalières et hebdomadaires d'exposition et le calcul du quotient de danger (THQ) et de l'indice de danger (HI).

Les doses journalières et hebdomadaires d'exposition estimées ne dépassent pas les doses tolérables provisoires (DJTP/ DHTP) fixées par l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) et du Comité mixte FAO-OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA). Les valeurs calculées du quotient de danger (THQ) et de l'indice de danger (HI) sont inférieures à 1.

A la lumière de cette étude qui est une première en Algérie, nous pouvons conclure d'une part que les résultats obtenus sont intéressants et originaux, ils apportent des données récentes quant à la contamination de la sardine et de l'espadon par les métaux toxiques et d'autre part, l'assurance que le consommateur algérien n'est pas exposé au risque des métaux lourds toxiques en consommant ces deux espèces de poissons.

Même si les concentrations des métaux lourds obtenues ne dépassent pas les seuils limites et même si le consommateur n'encourt pas de risque, nous pouvons proposer quelques recommandations qui contribueraient à éviter que le danger toxique ne survienne. Elles sont décrites ci-dessous :

- Surveiller de manière exhaustive et périodique les concentrations des métaux lourds dans les poissons et les autres produits de la pêche.
- Analyser les métaux lourds dans l'eau de mer et surtout surveiller leurs concentrations dans les zones où la pollution est plus élevée.
- Consommer le poisson au moins deux fois par semaine et ne pas abuser du poisson grand prédateur comme le thon, l'espadon en particulier pour les femmes enceintes.
- Réaliser des études d'évaluation du risque régulières pour tous les produits de la pêche en touchant tout le territoire national et toutes

les catégories d'âge (adultes et enfants) afin de protéger la santé du consommateur.

PERSPECTIVES

Notre recherche nous a permis de déterminer les niveaux de contamination de la sardine et de l'espadon par les métaux lourds les plus toxiques et nous a permis aussi de constater après l'étude d'évaluation du risque que le consommateur algérien adulte n'est pas exposé à ces toxiques. Néanmoins, une étude plus approfondie est à envisager.

Cette étude s'intéresserait à d'autres produits de la pêche notamment les mollusques et bivalves comme les moules qui sont d'excellents filtres de métaux lourds. Aussi, à analyser les métaux lourds dans d'autres denrées alimentaires d'origine animale notamment les abats des bovins et ovins qui constituent des mets de choix chez la population locale, comme le foie et les reins qui sont connus pour être les organes où s'effectue le métabolisme de ces toxiques.

Il sera intéressant aussi de mener des études sur d'autres contaminants chimiques de l'environnement tels que les polychlorobiphényles(PCBs), les dioxines et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs).

APPENDICE A

LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADP : Adénosine diphosphate

ALA: Acide delta-aminolévulinique

ALA-D: Acide delta-aminolévulinique déshydratase

AMA : Analyseur Direct du Mercure

ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

As: Arsenic

As (V): Arséniate

As (III): Arsénite

ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry

ATP: Adénosine triphosphate

ATPase: Adénosine triphosphatase

BAL: Dimercaptopropanol

Ca-DTPA: Calcium trisodium diéthylène triamine pentaacétate

Cd: Cadmium

CdCO₃ : Otavite

CdCl₂ : Chlorure de cadmium

CdS : Greenockite

CE: Commission Européenne

CH₃ : Méthyle

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer

Co: Cobalt

COOH: Acide carboxylique

Cr: Chrome

CRM: Matériau de Référence Certifié

Cu: Cuivre

DPA : Degrés de Protection Approprié

DDTC : Diéthylthiocarbamate

DGAL : Direction Générale de l'Alimentation

DHA : Acide docosahexaénoïque

DHE : Dose Hebdomadaire Estimée

DHTP : Dose Hebdomadaire Tolérable Provisoire

DJ E : Dose Journalière Estimée

DJTP : Dose Journalière Tolérable Provisoire

DMA : Acide diméthylarsinique

DMA : Direct Mercury Analyzer

DMTP : Dose Mensuelle Tolérable Provisoire

DMSA : l'acide 2,3-dimercaptosuccinique

DMPS: 2,3-dimercapto-1-propane sulfonate

DPCN : D-pénicillamine

EDTA : Acide éthylène-diamine-tétra-acétique

EFSA: European Food Safety Authority

EPA: Acide eicosapentaénoïque

ERO: Espèce Réactive de l'Oxygène

EtHg: Ethylmercure

ETM: Elément Trace Métallique

EUMOFA: European Market Observatory of Fisheries and Aquaculture Products

FAO: Food and Agriculture Organization

FDA: Food and Drug Administration

FDC: Factur De Bioconcentration

Fe: Fer

GR: Glutathion réductase

GSH: Glutathion

GST: Glutathion-S-transférases

Hg: Mercure

Hg₂Cl₂: Chlorure de mercure(Calomel)

HgS: Sulfure de mercure (Cinabre)

Hi : Hazard Index

ICP-AES: Inductively Coupled Plasma- Atomic Emission Spectrometry

ICP-OES: Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry

ICP-MS: Spectrométrie de Masse par Plasma à Couplage Inductif

Ifremer : Institut français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer

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

INRS : Institut National de Recherche et de Sécurité

JECFA: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

JMPR: Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues

JORDP: Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire

Li: Lithium

MATE : Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement

3-MCPD : 3-MonoChloroPropane Diol

MeHg : Méthylmercure

MMA : Acide monométhylarsonique

Mn : Manganèse

Mo : Molybdène

MPRH : Ministère de la Pêche et des Ressources Halieutiques

MRC : Matériau de référence certifié

MT : Métallotionéine

Na : Sodium

NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NAG : N-acétyl- B-D-glucosaminidase

NAPA : N-acétyl-d-pénicillamine

NH₂: Amine

Ni : Nickel

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PC: Poids Corporel

Pb: Plomb

PNUD: Programme des Nations Unies pour le Développement

PVC: Polychlorure de vinyle

RC : Risque Cancérogène

RfC: Reference Concentrations

RfD: Reference Doses

Rh: Rhodium

RF : Radio-fréquence

Sb: Antimoine

Sc : Scandium

Se : Sélénium

SDQA : Sous- Direction de la Qualité Alimentaires

SDSSA : Sous- Direction de la Sécurité Sanitaire des Aliments

SH : Groupe sulfhydryle

THQ : Target Hazard Quotient

Ti : Titane

UE : Union Européenne

UV: Ultra Violet

US EPA: United States Environmental Protection Agency

V: Vanadium

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

VTR: Valeur Toxicologique de Reference

WHO: World Health Organization

Zn: Zinc

ZnS: Sphalérite

Unités de mesure

g : Vitesse de rotation

K : Kelvin

ma : milliampère

MHz : Mégahertz

mol : Mole

ng : nanogramme

nm : nanomètre

Pa : Pascal

ppb : Partie par billion

t : Tonne

tpm : tour par minute

W : Watt

APPENDICE B

Tableau : Les seuils limites réglementaires de plomb, cadmium et mercure (Arrêté de 05 janvier 2011) [146].

Produits	Teneurs maximales (mg/kg de poids frais)
<p>1 - Plomb (Pb) :</p> <p>1.1 - Chair musculaire de poisson ⁽¹⁾ ⁽²⁾.</p> <p>1.2 - Crustacés, à l'exception de la chair brune de crabe et à l'exception de la tête et de la chair du thorax du homard et des crustacés de grande taille semblables (nephropidae et palinuridae).</p> <p>1.3 - Céphalopodes (sans viscères).</p> <p>1.4 - Mollusques bivalves vivants.</p>	<p>0,3</p> <p>0,5</p> <p>1,0</p> <p>1,5</p>
<p>2 - Cadmium (Cd) :</p> <p>2.1 - Chair musculaire de poissons ⁽¹⁾ ⁽²⁾.</p> <p>2.2 - Chair musculaire des poissons suivants ⁽¹⁾ ⁽²⁾ :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Bonite (<i>Sarda sarda</i>) - Sar à tête noire (<i>Diplodus vulgaris</i>) - Anguille (<i>Anguilla anguilla</i>) - Mulet lippu (<i>Mugil labrosus labrosus</i>) - Chinchard (<i>Trachurus species</i>) - Louvereau (<i>Luvarus imperialis</i>) - Sardine (<i>Sardina pilchardus</i>) - Sardinops (<i>Sardinops species</i>) - Thon (<i>Thunnus species</i>, <i>Euthynnus species</i>, <i>Katsuwonus pelamis</i>) - Céteau ou langue d'avocat (<i>Dicologlossa cuneata</i>) - Maquereau (<i>Scomber species</i>) 	<p>0,05</p> <p>0,10</p> <p>0,2</p>

2.3 - Bonitou (<i>Auxis species</i>)	0,3
2.4 - Chair musculaire d'espadon (<i>Xiphias gladius</i>)	0,3
2.5 - Chair musculaire d'anchois (<i>Engraulis species</i>)	0,5
2.6 - Crustacés, à l'exception de la chair brune de crabe et à l'exception de la tête et de la chair du thorax du homard et des crustacés de grande taille semblables (nephropidae et palinuridae). .	1,0 1,0
2.7 - Céphalopodes (sans viscères)	
2.8 - Mollusques bivalves vivants (à l'exception des huîtres et des coquilles Saint-Jaques)	
3 - Mercure :	
3.1 - Chair musculaire de poissons ⁽¹⁾ ⁽²⁾ .	0,5
3.2 - Crustacés, à l'exception de la chair brune de crabe et à l'exception de la tête et de la chair du thorax du homard et des crustacés de grande taille semblables (nephropidae et palinuridae).	0,5
3.3 - Chair musculaire des poissons suivants ⁽¹⁾ ⁽²⁾ :	
- Baudroies (<i>Lophius species</i>) ;	1,0
- Loup (<i>Anarhichas lupus</i>) ;	
- Bonite (<i>Sarda sarda</i>) ;	
- Anguille (<i>Anguilla species</i>) ;	
Empereur, hoplostète orange ou hoplostète de Méditerranée (<i>Hoplostethus species</i>) ;	
- Grenadier de roche (<i>Coryphaenoides rupestris</i>)	
- Flétan (<i>Hippoglossus hippo-glossus</i>) ;	
- Abadèche du cap (<i>Genypterus capensis</i>) ;	
- Marlin (<i>Makaira species</i>) ;	
- Cardine (<i>Lepidorhombus species</i>) ;	
- Mulet (<i>Mullus species</i>) ;	
- Rose (<i>Genypterus blacodes</i>) ;	
- Brochet (<i>Esox lucius</i>) ;	
- Palomète (<i>Orcynopsis unicolor</i>) ;	
- Capelan de Méditerranée (<i>Tricopterus minutus</i>) ;	

<p>Pailona commun (<i>Centroscymnes Coelolepis</i>) ;</p> <ul style="list-style-type: none"> - Raies (<i>Raja species</i>) ; - Grande sébaste (<i>Sebastes marinus, S. mentella, S viviparus</i>) ; ; - Voilier (<i>Istiophorus platypterus</i>) ; - Sabre (<i>Lepidopus caudatus aphanopus carbo</i>) ; - Dorade, pageot (<i>Pagellus species</i>) ; - Requins (toutes espèces) ; - Escolier noir ou stromaté (<i>Lepidocybium flavobrunneum</i>) ; - Rouget (<i>Ruvettus pretiosus</i>) ; - Escolier serpent (<i>Gempylus serpens</i>) ; - Esturgeon (<i>Acipenser species</i>) ; - Espadon (<i>Xiphias gladius</i>) <p>Thon (<i>Thunnus species, Euthynnus species, Katsuwonus pelamis</i>).</p>	
<p>4 - Méthylmercure (3) :</p> <p>4.1 -poissons frais à l'exception des poissons prédateurs cités au niveau du point 4-2.</p> <p>4.2 - poissons prédateurs tels que le requin, l'espadon, le thon, le brochet et autres.</p>	<p style="text-align: right;">0,5</p> <p style="text-align: right;">1,0</p>

NB : ⁽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.

⁽³⁾ Les limites maximales concernant les méthylmercures dans les poissons frais, transformés et dans les produits à base de ces poissons.

- Les mêmes seuils sont adoptés par le règlement (UE) N° 1881/2006 de la commission du 19 décembre 2006.

APPENDICE C

Tableau : Concentration des métaux étudiés dans les échantillons références (tableau personnel).

		Concentration en mg/kg				
Echantillon référence	Numéro de référence	Mercure	Méthylmercure	Plomb	Cadmium	Arsenic
Tissu du Moule lyophilisé	ERM-CE278k	0.071 (0.053-0.089)				
Poisson lyophilisé	TORT-2 EU-RL-HM-15/IMP-115		0.152 (0.114-0.190)			
Céréales et dérivés	BIPEA 15350395			0.851 (0.553-1.149)	0.406 (0.305-0.508)	0.332 (0.256-0.408)
Poisson en boite	FAPAS 12130869	0.539 (0.338-0.673)				

APPENDICE D

GLOSSAIRE

- **Aliquote** : c'est la portion d'un échantillon ou d'un sous échantillon utilisée pour l'analyse physico-chimique [292].
- **Prélèvement aléatoire** : Prélever du lot n individus de manière telle que tout individu ait la même probabilité d'être choisi [293].
- **Un lot** : un lot prélevé correspondra à des individus d'une même espèce provenant d'une même zone de pêche, de tailles comparables, pêchés dans la mesure du possible le même jour par un même pêcheur, débarqués le même jour sur le même site de débarquement. De manière optimale, les lots prélevés en criée pourront correspondre à un ou plusieurs lots de vente correspondant à ces critères [294].
- **Limite de détection** : est la concentration de l'élément à doser conduisant à un signal mesuré significativement plus grand que celui qu'on obtient quand la concentration est nulle [295].
- **Limite de quantification** : est la concentration la plus basse de l'élément qui peut être mesurée avec une fiabilité et précision satisfaisantes [295].
- **Dose orale de référence** : correspond au taux d'absorption orale quotidien d'une substance que selon les estimations, ne présente pas de risque appréciable d'effets nocifs sur la santé, même aux populations sensibles, sur une durée de vie de 70 ans [296].

- **Dose hebdomadaire tolérable provisoire (DHTP):** est la quantité d'une substance donnée pouvant être consommée par semaine tout au long d'une vie humaine sans avoir d'effets observables sur la santé des consommateurs [161].

REFERENCES

1. Issac, A., Srivastava, A., Srivastava, A., Dutta, M.K. (2019). An automated computer vision based preliminary study for the identification of a heavy metal (Hg) exposed fish-*channa punctatus*, *Computers in Biology and Medicine*. 111: 103326.
2. Milenkovic, B., Stajic, J.M., Stojic, N., Pucarevic, M., Strbac, S. (2019). Evaluation of heavy metals and radionuclides in fish and seafood products. *Chemosphere*, 229: 324 -331.
3. Mwakalapa, E.B., Simukoko, C.K., Mmochi, A.J., Mdegela, R.H., Berg, V., Bjorge Müller, M.H., Lyche, J.L., Polder, A. (2019). Heavy metals in farmed and wild milkfish (*Chanos chanos*) and wild mullet (*Mugil cephalus*) along the coasts of Tanzania and associated health risk for humans and fish. *Chemosphere*, 224: 176-186.
4. Korkmaz, C., Ay, Ö., Ersoysal, Y., Köroğlu, M.A., Erdem, C. (2019). Heavy metal levels in muscle tissues of some fish species caught from northeast Mediterranean: Evaluation of their effects on human health. *Journal of Food Composition and Analysis*, 81: 1- 9.
5. EFSA. (2014 b). European Food Safety Authority (EFSA) (2012) Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal* 2012; 10 (12): 2985 <https://efsa.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2012.2985> (lien consulté le 10 Février 2018).

6. Micheline, G., Rachida, C., Céline, M., Gaby, K., Amara Rachid, A., Petru, J. (2019). Levels of Pb, Cd, Hg and As in Fishery Products from the Eastern Mediterranean and Human Health Risk Assessment due to their Consumption. *International Journal of Environmental Research*, 13(3): 443–455.
7. Chahid, A., Hilali, M., Benlhachimi, A., Bouzid, T. (2013). Contents of cadmium, mercury and lead in fish from the Atlantic sea (Morocco) determined by atomic absorption spectrometry, *Food Chemistry*, 147: 357-360.
8. Ooi, M.S.M., Townsend, K.A., Bennett, M.B., Richardson, A.J., Fernando, D., Villa, C.A., Gaus, C.(2015). Levels of arsenic, cadmium, lead and mercury in the branchial plate and muscle tissue of mobulid rays. *Marine Pollution Bulletin*, 94(1-2): 251-9.
9. Ezemonye, L.I., Adebayo, P.O., Alex A. Enuneku, A.A., Tongo, I., Ogbomida, E. (2019). Potential health risk consequences of heavy metal concentrations in surface water, shrimp (*Macrobrachium macrobrachion*) and fish (*Brycinus longipinnis*) from Benin River, Nigeria. *Toxicology Reports*, 6: 1–9.
10. Okogwu, O.I., Nwonumara, G.N., Okoh, F.A. (2019). Evaluating Heavy Metals Pollution and Exposure Risk Through the Consumption of Four Commercially Important Fish Species and Water from Cross River Ecosystem, Nigeria. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 102(6): 867–872.
11. Varol, M., Kaya, G.K., Alp, A. (2017). Heavy metal and arsenic concentrations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farmed in a dam reservoir on the Firat (Euphrates) River: risk-based consumption advisories. *Science of the Total Environment*, 599:1288–1296.

12. Al-Saleh, I., Abduljabbar, M. (2019). Heavy metals (lead, cadmium, methylmercury, arsenic) in commonly imported rice grains (*Oryza sativa*) sold in Saudi Arabia and their potential health risk. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 220 (7):1168-1178.
13. Griboff J, Wunderlin DA, Monferran MV. (2017). Metals, As and Se determination by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in edible fish collected from three eutrophic reservoirs. Their consumption represents a risk for human health? *Microchemical Journal*, 130:236–244.
14. Temmar, A. (2016). Synthèse d'un support polypyrrole intercalé dans la bentonite. Applications à l'élimination des métaux lourds (Cr⁶⁺, Pb²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺). Thèse de doctorat. Université Mohamed Bougara, Boumerdes. 146 p.
15. Hazrat, A., Khan, E., Ilahi, I. (2019). Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation. *Journal of Chemistry*, 14 p, Article ID: 6730305.
16. Bicochi, S. (2009). Les polluants et les techniques d'épuration des fumés, Cas des unités de traitement et de valorisation des déchets. Lavoisier, 2^{ème} Edition, Paris, France. 412 p.
17. Trachte, S. (2012). Matériau, Matière d'architecture soutenable. Choix soutenable des matériaux de construction pour une conception durable. Thèse de doctorat. Université catholique de Louvain, Belgique. 538 p.
18. Miquel G., 2001. Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport Office Parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques (Dir.). Rapport Sénat n°261: 360. <http://www.senat.fr/rap/100-261/100-2611.pdf>. Site consulté le 08/10/2017 à 13h 51.

19. Lachassagne, D. (2014). Devenir de micropolluants présents dans les boues d'épuration, du traitement à l'épandage agricole : application aux micropolluants métalliques (Cd, Cu) et organiques (médicaments) issus du traitement biologique conventionnel d'effluents urbains ou hospitaliers. Thèse de doctorat. Université de Limoges. 268p.
20. Aksas, H. (2013). Etudes cinétiques et thermodynamique de l'adsorption des métaux lourds par l'utilisation des adsorbants naturels. Thèse de doctorat. Université M'HAMEHD BOUGARA-Boumerdes. 161pages.
21. Uzoekwe, S.A., Aigberua, A.O. (2019). Heavy Metal Distribution and Assessment of Ecological Risk in Surface Waters and Sediment within the Flow stations in Kolo Creek, Nigeria. *Journal of Chemical Society of Nigeria*, 44(5): 809 -824.
22. Brackx, G. (2017). Approche multidisciplinaire pour la détection de métaux lourds en environnements aquatiques. Thèse de doctorat. Université Sorbonne Paris, France, 233 p.
23. Khan, M.I, Khisroon, M., Khan, A., Gulfam, N., Siraj, M., Zaidi, F., Ahmadullah, Abidullah, Fatima, S.H., Noreen, S., Hamidullah, Ali Shah, Z. and Qadir, F. (2018). Bioaccumulation of Heavy Metals in Water, Sediments, and Tissues and Their Histopathological Effects on *Anodonta cygnea* (Linea, 1876) in Kabul River, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan, *BioMed Research International*, Article ID 1910274. 10 p.
24. Morkunas, I., Woźniak, A., Mai, V.C., Rucińska-Sobkowiak, R., Jeandet, P. (2018). The Role of Heavy Metals in Plant Response to Biotic Stress. *Molecules*, 23(9): 2320.
25. Jia, Z., Siyue Li, S., Li Wang, L. (2018). Assessment of soil heavy metals for eco-environment and human health in a rapidly urbanization area of the upper Yangtze Basin. *Scientific Report*, 8:3256.

26. Huynh, D.T.M. (2009). Impacts des métaux lourds sur l'interaction plante/ver de terre/ microflore tellurique. Thèse de doctorat. Université de Paris, Ecole doctorale science de la vie et de la santé, France. 151 p.
27. Akoto, O., Bortey-Sam, N., Ikenaka, Y., Nakayama, S.M.M., Baidoo, E., Yohannes, Y.B., Ishizuka, M. (2017). Contamination Levels and Sources of Heavy Metals and a Metalloid in Surface Soils in the Kumasi Metropolis, Ghana. *Journal of Health & Pollution*, 15(7): 28–39.
28. Sodango, T. H., Li, X., Jinming Sha, J., Bao, Z. (2018). Review of the Spatial Distribution, Source and Extent of Heavy Metal Pollution of Soil in China: Impacts and Mitigation Approaches. *Journal of Health & Pollution*, 8 (17): 53-70.
29. Bradl, H.B. (2005). Heavy Metals in the Environment, chapter 1: Sources and origins of heavy metals. Elsevier, 1er edition. 15 p.
30. Boulkrah, H. (2008). Etude comparative de l'adsorption des ions plomb sur différents adsorbants. Mémoire de Magister. Université du 20 août 1955 de SKIKDA. 139 p.
31. Aksu, A. (2015). Sources of metal pollution in the urban atmosphere (A case study: Tuzla, Istanbul). *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 13:79.
32. Liu, H.L., Zhoua, J., Min Lia, M., Hua, Y., Liud, X. and Zhoua, J. (2019). Study of the bioavailability of heavy metals from atmospheric deposition on the soil-pakchoi (*Brassica chinensis L.*) system. *Journal of Hazardous Materials*, 362: 9–16.
33. Rahman, M. S., Hossain, S. M., Ahmed, M.K., Akther, S., Jolly, Y.N., Akhter, S., Kabir, M. J., Choudhury, T.R. (2018). Assessment of heavy metals contamination in selected tropical marine fish species in Bangladesh and their impact on human health. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 11: 100210.

34. Ashraf, A., Saion, E., Gharibshahi, E., Yap, C. K., Kamari, H. M., Elias, M.S., Rahman, S.A. (2017). Distribution of Heavy Metals in Core Marine Sediments of Coastal East Malaysia by Instrumental Neutron Activation Analysis and Inductively Coupled Plasma Spectroscopy. *Applied Radiation and Isotopes*, 132: 222-231.
35. Saher, N.U., Siddiqui, A.S. (2019). Occurrence of Heavy Metals in Sediment and their Bioaccumulation in Sentinel Crab (*Macrophthalmus depressus*) from Highly Impacted Coastal Zone. *Chemosphere*, 221: 89-98.
36. Bastami, K. D., Bagheri, H., Kheirabadi, V., Zaferani, G.G., Teymori, M.B., Hamzehpoor, A., Soltani, F., Haghparast, S., Harami, S. R.M., Ghorghani, N.F., Ganji, S. (2014). Distribution and ecological risk assessment of heavy metals in surface sediments along southeast coast of the Caspian Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 81(1): 262–267.
37. Hossain, M.B., Shanta, T. B Ahmed, A.S.S., Hossain, M. K., Semme, S.A. (2019). Baseline study of heavy metal contamination in the Sangu River estuary, Chattogram, Bangladesh. *Marine Pollution Bulletin*, 140: 255–261.
38. Varol, M., Şen, B. (2012). Assessment of nutrient and heavy metal contamination in surface water and sediments of the upper Tigris River, Turkey. *Catena*, 92: 1–10.
39. Aranguren, M.M.S. (2008). Contamination en métaux lourds des eaux de surface et des sédiments du Val de Milluni (*Andes Boliviennes*) par des déchets miniers. Approches géochimique, minéralogique et hydrochimique. Thèse de doctorat. Université de Toulouse III, – PAUL SABATIER, France. 86 p.
40. Bentahar, Y. (2016). Caractérisation physico-chimique des argiles marocaines : application à l'adsorption de l'arsenic et des colorants cationiques en solution aqueuse. Autre. Thèse de doctorat. Université Côte d'Azur, France. 268 p.

41. Campredon, B. (2013). Mécanismes et transferts de l'arsenic dans une confluence du Var et étude d'une méthode de remédiation dans les eaux potables. Thèse de doctorat. Université de Nice Sophia Antipolis, France. 209 p.
42. Gao, S., Mostofa, M. G., Quamruzzaman, Q., Rahman, M., Sua, L., Hsueh, Y., Weisskopf, M., Coull, B., Christiani, D. (2019). Gene-environment interaction and maternal arsenic methylation efficiency during pregnancy. *Environment International*, 125: 43–50.
43. Özcan, S., Bakırdere, S., Ataman, O.Y. (2016). Speciation of Arsenic in Fish by High-Performance Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. *Analytical Letters*, 4 (15): 2501-2512.
44. Ahoulé, D.G.M. (2016). Performances comparatives des techniques de nanofiltration et d'osmose inverse pour le traitement d'eau de consommation contaminée à l'arsenic au Burkina Faso. Thèse de doctorat en génie des procédés. Institut international d'ingénierie de l'eau et de l'environnement ; Université de Montpellier, France. 136 p.
45. Saley, T. C. (2017). Introducing the arsr regulated arsenic stimulon. Master of sciences, Land Resources and Environmental Science. Montana state university, Bozeman, Montana, United States. 80 p.
46. Kalia, K., Khambholja, D. B. (2015). Arsenic Contents and Its Biotransformation in the Marine Environment. *Handbook of Arsenic Toxicology*, 675–700.
47. Kumari, B., Kumar, V., Sinha, A.K., Ahsan, J., A. K. Ghosh, Wang, H., De Boeck, G. (2017). Toxicology of arsenic in fish and aquatic systems. *Environmental Chemistry Letters*, 5(1): 43–64.
48. Tran, L. (2017). Arsenic removal using Manganese Oxide for Arsenic Oxidation Process. Thesis. South-Eastern Finland University of Applied Sciences – Xamk, Finland. 47p.

49. Mcintyre DO, Linton TK. 2011. Arsenic. Homeostasis and toxicology of non-essential metals. Copyright first edition. New York (NY): Elsevier; p. 297–349.
50. Ben Aakame, R. (2015). Caractérisation hydro-chimique, toxicologique et évaluation des risques sanitaires des eaux souterraines de la région de Sidi-Kacem (Maroc). Thèse de doctorat. Université Mohammed V, faculté des sciences, Rabat, Maroc. 223 p.
51. Kalia, K., Khambholja, D.B. (2015). Arsenic contents and its biotransformation in the marine environment. In: Flora SJS (ed.) Handbook of Arsenic Toxicology. Elsevier, London, 675-700.
52. Shakoor, M.B., Niazi, N.K., Irshad Bibi, I., Rahman, M.M., Naidu, R., Dong, Z., Shahid, M., Arshad, M. (2015). Unraveling Health Risk and Speciation of Arsenic from Groundwater in Rural Areas of Punjab, Pakistan. International Journal of Environmental Research and Public Health, 12(10): 12371-12390.
53. Lee, C.P. and Wen, L.S. (2019). Physical and chemical characterization of dissolved arsenic in the South China Sea. Marine Chemistry, 209: 128-138.
54. Leufroy, A. (2012). Spéciation de l'arsenic dans les produits de la pêche par couplage HPLC/ICP-MS. Estimation de sa bioaccessibilité en ligne et applications à d'autres éléments traces métalliques d'intérêt. Médecine humaine et pathologie. Thèse de doctorat, Université AgroParisTech. Paris, France. 176p.
55. Mahan. (1987) cité par Aranguren, M.M. S. (2008). Contamination en métaux lourds des eaux de surface et des sédiments du Val de Milluni (Andes Boliviennes) par des déchets miniers. Thèse de doctorat. Université de Toulouse, France. 379 p.
56. Andujar, P., Bensefa-Colas, L., Descatha, A. (2010). Intoxication aiguë et chronique au cadmium, La Revue de Médecine Interne, 31(2) : 107–115.

57. Nakib, L. (2010). Mise au point d'une technique d'extraction des éléments traces métalliques dans les produits de la mer et leurs dosages par spectrophotométrie d'absorption atomique. Mémoire de Magister. Université Mentouri de Constantine - faculté des sciences, département des sciences vétérinaires. 118 p.
58. Fréry, N., Fillol, C., Garnier, R., Falq, G., Bidondo, M-L., Guldner, L., Zeghnoun, A. (2017). Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement - Étude ENNS 2006- 2007. Toxicologie Analytique & Clinique, 29(4) : 441-482.
59. INRS. (2013). Fiche toxicologique : Cadmium et composés minéraux. Institut national de recherche et de sécurité. www.inrs.fr/dms/inrs/FicheToxicologique/TI-FT-60/ft60.pdf (lien consulté le 28/02/2015 à 14h 58).
60. Coudon, T. (2018). Développement et application de méthodologies d'évaluation des expositions atmosphériques chroniques aux dioxines et au cadmium dans le cadre d'études épidémiologiques. Thèse de doctorat. Université de Claude Bernard, Lyon 1, France. 220 p.
61. Baise, D., 1997. Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols(France). Edition Quae, 408 pages.
62. Mc -Laughlin, M. J., Singh, B. R. (1999). Cadmium in the soil and plants. Springer science and business media. 271 p.
63. Boisset, M., Narbonne, J. M. (1995). Cadmium in food. French edition .Council of Europe. 29 p.
64. Cheremisinoff, N.P. (2001). Hand book of pollution prevention practices. CRC press New yourk, États-Unis. 440 p.

65. Gebraël, Ch. (2015). Effets du cadmium sur les voies de signalisation ERK et AHR dans les cellules CACO-2 en fonction de l'état de différenciation entérocytaire. Mémoire de maîtrise. Université de Montréal, Canada. 75 p.
66. Pavlaki, M. (2016). Bottom-up contamination in marine systems – Model trophic levels to predict cadmium flow in marine organisms. Thesis. University of Aveiro, Department of Biology, Portugal. 181 p.
67. Fiaz, H. (2011). Etude par spectroscopie RMN du carbone 13 de la toxicité métabolique du cadmium dans les tubules rénaux proximaux murins et humains. Thèse de doctorat. Université Claude Bernard Lyon 1, France. 92 p.
68. Damy, P.C. (2011). Synthèse des connaissances sur l'origine et la disponibilité du cadmium dans les eaux continentales. L'Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques (Onema) et l'Office International de l'Eau (OIEau). <http://documentation.oieau.org/notice/Synth%C3%A8sedocumentaireSynth%C3%A8se-des-connaissances-sur-l%E2%80%99origine-et-la-disponibilit%C3%A9-dcadmium> (lien consulté le 07/10/2015 à 23 h19).
69. Benadda, B., 2002, Etat de l'art concernant la mesure des émissions et le traitement des métaux dans les fumées. Cas du cadmium, du mercure et du plomb. [http:// www. record- net.org/ storage/ etudes/ 00-0220-1A/rapport/Rapport_record00-0220_1A.pdf](http://www.record-net.org/storage/etudes/00-0220-1A/rapport/Rapport_record00-0220_1A.pdf) (lien consulté le 23/09/2018 à 22h).
70. Jing, W., Lang, L., Lin, Z., Liu, N., Wang, L. (2019). Cadmium bioaccumulation and elimination in tissues of the freshwater mussel *Anodonta woodiana*. *Chemosphere*, 219: 321-327.
71. Maruszczak, N. (2011). Etude du transfert du mercure et du méthylmercure dans les écosystèmes lacustres alpins. Thèse de doctorat. Université de Grenoble, France. 202 p.

72. INRS. (2014). Fiche toxicologique Mercure et composés minéraux. Institut national de recherche et de sécurité. http://lmfa.ec-lyon.fr/lmfa/lmfa.007/lmfa.007.002/19_Mercure.pdf. (lien consulté le 24/03/2015 à 14h58).
73. Elizalde, M. R. (2017). Sources et devenir du méthylmercure dans l'Océan Austral: utilisation des oiseaux marins modèles et des isotopes stables du mercure. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, France. 253 p.
74. Remy, P.P. (2015). Rôle de différents compartiments microbiens (biofilms, matières en suspension, sédiments de surface) et de leurs constituants (bactéries, polymères extracellulaires et biominéraux) sur la méthylation et la réduction de Hg II. Thèse de doctorat. Université de Lorraine, France, 290 p.
75. Dutra Maia, P. (2008). Le rôle des échanges entre le fleuve Amazone et la plaine d'inondation dans les processus de transport, de spéciation et de piégeage du mercure. Thèse de doctorat. Université de Toulouse, France. 234 p.
76. Cyr, A., López, J.A., Rea, L., Wooller, M.J., Loomis, T., Mcdermott, S., O'Hara, T.M. (2019). Mercury concentrations in marine species from the Aleutian Islands: Spatial and biological determinants. *Science of the Total Environment*, 664:761–770.
77. Xu, J., Bravo, A. G., Lagerkvist, A., Bertilsson, S., Sjöblom, R., Kumpiene J. (2015). Sources and remediation techniques for mercury contaminated soil. *Environment International*, 74: 42–53.
78. Assad, M. (2017). Transfert des éléments traces métalliques vers les végétaux : mécanismes et évaluation des risques dans des environnements exposés à des activités anthropiques. Thèse de doctorat. Université Bourgogne, France. 217p.

79. Larose, C., Dommergue, A., Paquet, S., Beaulne, J.S., Maury-Brachet, R., Lucotte, M., Nedjai, R., Christophe, P., Ferrari, C.P. (2011). Mercury and methylmercury concentrations in high altitude lakes and fish (*Arctic charr*) from the French Alps related to watershed characteristics. *Science of the Total Environment*, 409(10): 1909–1915.
80. Fishman, D., Donzé, N., Tschudi-Monn, F., Augsburger, M. (2014). Intoxication au mercure .[https:// web 2. hopitalvs. ch/ fr/ ichv/ Documentation Doc/ 2014-01 Mercure_F.pdf](https://web2.hopitalvs.ch/fr/ichv/Documentation%20Doc/2014-01%20Mercure_F.pdf)(lien consulté le 24-03-2015 à 10h 02 min).
81. Angot, H. (2016). Cycle atmosphérique du mercure dans des zones reculées de l’Hémisphère Sud : cas de la couche limite marine subantarctique et du continent Antarctique. *Océan, Atmosphère*. Thèse de doctorat. Université Grenoble Alpes, France. 317 p.
82. Kim, K-H., Kabir, E., Jahan, S.A. (2016). A review on the distribution of Hg in the environment and its human health impacts. *Journal of Hazardous Materials*, 306: 376–385.
83. Cambier, S. (2009). Impact d’une contamination au méthylmercure par voie alimentaire sur l’expression génétique, la bioénergétique, et la reproduction chez le poisson zèbre *Danio rerio*. Thèse de doctorat. Université de BORDREAU 1, France. 178 p.
84. Celso, V., Lean, D.R.S., Scott, S.L. (2006). Abiotic methylation of mercury in the aquatic environment. *Science of the Total Environment*, 368(1): 126–137.
85. Si, Y., Zou, Y., Liu, X., Si, X., Mao, J. D. (2015). Mercury methylation coupled to iron reduction by dissimilatory iron-reducing bacteria. *Chemosphere*, 122 : 206–212.

86. Amirad, J.C. (2011). Les risques chimiques et environnementaux, méthodes d'évaluation et impacts sur les organismes. Lavoisier, Paris, France. 831 p.
87. Testud, F. (1993). Pathologie toxique professionnelle et environnementale. Chapitre 34 Mercure. ESKA, Paris, France. 672 p.
88. Le Faucheur, S. (2015). L'impact du mercure sur les écosystèmes aquatiques. Du poisson pour la vie aquatique, Ecoscope. <https://www.researchgate.net/publication/296905994> (lien consulté le 14/03/2019 à 16 h09min).
89. The Diagram Group. (2009). The Facts on File Chemistry Handbook. New Yourk: Revised Edition. 273 p.
90. Garnier, R. (2005). Toxicité du plomb et de ses dérivés. EMC-Toxicologie Pathologie, 2(2) : 67–88.
91. Fachehoun, R. C. (2015). Estimation de l'exposition au plomb reliée à l'ingestion de viande de gros gibiers chez les chasseurs de cervidés du Québec. Mémoire de maitrise, Université de Laval, Canada. 94 p.
92. Walker, J.A. (2013). Le plomb. Ministère de l'Énergie et des Mines du Nouveau Brunswick, Division des minéraux et du pétrole, Profil des minéraux commercialisables, N°1,6p. http://www2.gnb.ca/content/dam/gnb/Departments/en/pdf/Minerals-Minerales/MCP_10-f.pdf (lien consulté le 08/10/2015 à 16h45).
93. INRS. (2006). plomb et composés minéraux. Institut national de recherche et de sécurité. [http://www.inrs.fr/dms/inrs/Fiche Toxicologique/ TI-FT-59/ft59.pdf](http://www.inrs.fr/dms/inrs/Fiche%20Toxicologique/TI-FT-59/ft59.pdf). (lien consulté le 24/09/2015 à 20h10).
94. Ben Kacem, I. (2017). Du cristal au plomb jusqu'aux déchets domestiques : rôle du plomb dans les verres et les vitrocéramiques : étude des systèmes PbO-SiO₂, PbO-CaO-SiO₂ et PbO-Al₂O₃-SiO₂. Matériaux. Thèse de doctorat. Université Paris-Est, France. 214 p.

95. Dasgupta, A. (2011). Effects of herbal supplements on clinical laboratory test results, Walter de Gruyter. United States. 122 p.
96. Fillion, M., Blais J.M., Yumvihoze, E., Nakajima, M., Workman, P., Osborne, G., Chan, H. M. (2014). Identification of environmental sources of lead exposure in Nunavut (Canada) using stable isotope analyses. *Environment International*, 71: 63–73.
97. Desrochers-Couture, M. (2017). Impacts d'une exposition prénatale et postnatale au plomb sur le quotient intellectuel de jeunes enfants canadiens. Mémoire de maîtrise. Université de Québec, Canada. 96 p.
98. Chaouali, N., Nouioui, A., Aouard, M., Smaoui, O., Amira, D., Hedhili, A. (2017). Mise au point et validation d'une méthode de dosage du plomb dans les matrices végétales par spectrométrie d'absorption atomique. *Toxicologie Analytique & Clinique*, 30(1) : 35-42.
99. Cilliers, L., Retief, F. (2014). Lead Poisoning and the Downfall of Rome: Reality or Myth?. *History of Toxicology and Environmental Health*, 1: 118–126.
100. Casas, S. (2005). Modélisation de la bioaccumulation des métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule, *MYTHYLUS GALLOPROVINCIALIS*, en milieu méditerranéen. Thèse de doctorat. Université de Sud TOULON VAR, France. 314 p.
101. Bosch, A. C., O'Neill, B., Sigge, G.O., Sven E Kerwath, S.E., Hoffman, L.C. (2015). Heavy metals in marine fish meat and consumer health: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(1): 32–48.
102. Aharchaou, I. (2017). Écotoxicité et bioaccumulation du Cr(III) et du Cr(VI) : spéciation, biodisponibilité et effets biologiques. Thèse de doctorat en écotoxicologie, biodiversité, écosystèmes. Université de Lorraine, France. 294 p.

103. Durant, A. (2017). Diversité et caractérisation fonctionnelle des communautés microbiennes inféodées au peuplier et issues d'une friche industrielle enrichie en mercure. Thèse de doctorat. Université de Bourgogne, France. 250 p.
104. Pouil, S. (2018). Rôles de différents facteurs écologiques sur le transfert trophique des éléments traces chez des téléostéens marins. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, France. 315 p.
105. Ramade, F. (1992). Précis d'écotoxicologie, Masson, France.
106. Perrin J-B. (2007). Les plans de surveillance et de contrôle dans l'analyse du risque alimentaire lié aux métaux lourds en France. Thèse de doctorat. Ecole nationale vétérinaire de Lyon, France. 148 p.
107. Kim, J.H., Kang, J. C. (2015). The lead accumulation and hematological findings in juvenile rock fish *Sebastes schlegelii* exposed to the dietary lead (II) concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 115: 33–39.
108. Khan, M.I., Khisroon, M., Khan, A., Gulfam, N., Siraj, M., Zaidi, F., Ahmadullah, Abidullah, Fatima, S.H., Noreen, S., Hamidullah, Ali Shah, Z. and Qadir, F. (2018). Bioaccumulation of Heavy Metals in Water, Sediments, and Tissues and Their Histopathological Effects on *Anodonta cygnea* (Linea, 1876) in Kabul River, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan, *BioMed Research International*, Article ID 1910274. 10 p.
109. Yilmaz, A. B., Yanar, A., Alkan, E.N. (2018). Review of Heavy Metal Accumulation in Aquatic Environment of Northern East Mediterranean Sea Part II: Some Non-Essential Metals. *Pollution*, 4(1): 143-181.
110. Jabeen, G.H., Javed, M. (2011). Evaluation of Arsenic Toxicity to Biota in River Ravi (Pakistan) Aquatic Ecosystem. *International Journal of Agriculture and Biology*, 13(6): 929–934.

111. Amlund, H., Ingebrigtsen, K., Hylland, K., Ruus, A., Eriksen, D. Ø., Berntssen, M.H.G. (2006). Disposition of arsenobetaine in two marine fish species following administration of a single oral dose of [14C] arsenobetaine. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143(2): 171–178.
112. Hong, S., Khim, J.S., Park, J., Son, H., Sung-Deuk Choi, S.D., Choi, K., Ryu, J., Kim, C.Y., Chang, G.S., Giesy, J.P. (2014). Species- and tissue-specific bioaccumulation of arsenicals in various aquatic organisms from a highly industrialized area in the Pohang City, Korea. *Environmental Pollution*, 192: 27-35.
113. Ferreira, N. S., Oliveira, L. H. B., Agrelli, V., de Oliveira, A. F., Nogueira, A. R. A., Oliveira, A., & Gonzalez, M. H. (2019). Bioaccumulation and Acute Toxicity of As (III) and As (V) in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Chemosphere*, 217: 349-354.
114. Kim, J., Lee, C.H., Lee, S.M., Unsiama, L., Jung, J. (2018). Chemical and toxicological assessment of arsenic sorption onto Fe-sericite composite powder and beads. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147: 80–85.
115. Ventura-Lima, J., Fattorini, D., Regoli, F., Monserrat, J.M. (2009). Effects of different inorganic arsenic species in *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) tissues after short-time exposure: Bioaccumulation, biotransformation and biological responses. *Environmental Pollution*, 157 (12): 3479–3484.
116. Ifremer. (1993). L'arsenic en milieu marin biogéochimie et écotoxicologie. Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer. [http:// archimer.ifremer.fr/doc/ 1993 / rapport-1448.pdf](http://archimer.ifremer.fr/doc/1993/rapport-1448.pdf) (lien consulté le 20/05/2018 à 11h 26).
117. Kovarova, J., Svobodova, Z. (2009). Can thiol compounds be used as biomarkers of aquatic ecosystem contamination by cadmium?. *Interdisciplinary toxicology*, 2(3): 177–183.

118. Verge G. (2006). Evaluation et gestion du risque lié à l'ingestion de produits de la mer contaminés par le cadmium. Thèse de doctorat. Université de Toulouse, France. 95 p.
119. Ferain, A., De Saeyer, N., Larondelle, Y., Rees, J.-F., Debier, C., & De Schamphelaere, K. A. C. (2018). Body lipid composition modulates acute cadmium toxicity in *Daphnia magna* adults and juveniles. *Chemosphere*, 205 : 328–338.
120. Allan Bremner, H., 2002. Safety and quality tissues in fish processing, Wood head. Publishing in Food Science Technology. CRC Press. ISBN 1855735520. 520 pages.
121. Benamar, N., Mouadhi, N., Bouderbala, M., Boutiba, Z. (2012). Évaluation de la contamination chimique par les métaux traces (cadmium, plomb et zinc) d'un poisson pélagique de la région oranaise : *Sardinella aurita*. Vème Rencontres de l'ichtyologie en France. Communication orale Session V. <http://sfi.mnhn.fr/sfi/4.rif/RIF2012/AbstractBook2012> (lien consulté le 24/09/2018 à 16h15).
122. Le Croizier, G., Lacroix, C., Artigaud, S., Le Floch, S., Munaron, J.M., Raffray, J. Penicaud, V., Rouget, M.L., Lae, R., De Morais, L.T. (2019). Metal subcellular partitioning determines excretion pathways and sensitivity to cadmium toxicity in two marine fish species. *Chemosphere*, 217:754-762.
123. Maunder, J. R., Buckley, J., Adalberto, L., Val, A. L., Sloman, K. A. (2011). Accumulation of dietary and aqueous cadmium into the epidermal mucus of the discus fish *Symphysodon* sp. *Aquatic Toxicology*, 103(3-4): 205–212.
124. Safari, R. (2015). Toxic effects of Cadmium on antioxidant defense systems and lipid peroxidation in *Acipenser persicus* (Borodin, 1897). *International journal aquatic biology*, 3(6): 425-432.

125. Olsvik, P.A., Søfteland, L., Hevrøy, E. M., Rasinger, J.D., Waagbø, R. (2016). Fish pre-acclimation temperature only modestly affects cadmium toxicity in Atlantic salmon hepatocytes. *Journal of Thermal Biology*, 57:21–34.
126. Malarvizhi, C.A., Nahar, R., Manzoor, S.R. (2018). The Strategic Performance of Bangladeshi Private Commercial Banks on Post Implementation Relationship Marketing. *International Journal of Emerging Trends in Social Sciences*, 2(1): 28-33.
127. Li, J., Xie, X. (2018). Inconsistent responses of liver mitochondria metabolism and standard metabolism in *Silurus meridionalis* when exposed to waterborne cadmium. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 214:17–22.
128. Mc Geer, J. C., Niyogi, S., Smith D. S. (2011). Homeostasis and Toxicology of Non Essential Metals, Cadmium, *Fish Physiology*, first edition, United states. 507p.
129. Girard, C. (2017). Le mercure en Arctique, de l'environnement à la santé humaine : photodéméthylation aquatique, bioaccessibilité alimentaire et interactions avec le microbiome intestinal humain. Thèse de doctorat. Université de Montréal, Canada. 229 p.
130. Tschirhart, C. (2010). Ressources, flux et territoires: une géographie insoupçonnée du mercure le long du Rio Beni (Bolivie). Thèse de doctorat. Université de Strasbourg, faculté de géographie et d'aménagement. 320 p.
131. Esposito, M., De Roma, A., La Nucara, R., Picazio, G., Gallo, P. (2018). Total mercury content in commercial swordfish (*Xiphias gladius*) from different FAO fishing areas. *Chemosphere*, 197: 14-19.
132. Bridges, C.C., Zalups, R.K. (2017). The aging kidney and the nephrotoxic effects of mercury. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 20(2): 55-80.

133. Dominique, y. (2006). Contamination par les différentes formes chimiques du mercure de la composante biologique du barrage hydroélectrique de Petit-Saut et des zones amont/aval du fleuve Sinnamary, en Guyane française (études in situ et approches expérimentale). Thèse de doctorat. Université Bordeaux 1, France. 355p.
134. Cruz-Acevedo, E., Betancourt-Lozano, M., Arizmendi-Rodríguez, D.I., Aguirre-Villaseñor, H., Aguilera-Márquez, D., García-Hernández, J. (2019). Mercury bioaccumulation patterns in deep-sea fishes as indicators of pollution scenarios in the northern Pacific of Mexico, *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 144: 52-62.
135. Morcillo, P., Esteban, M.A., Cuesta, A. (2017). Mercury and its toxic effects on fish. *Environmental Science*, 4(3): 386-402.
136. Meyer, A., Deiana, J., Bernard A. (2004). Cours de microbiologie générale: avec problèmes et exercices corrigés. Paris: Edition DOIN. 430 p.
137. Taylor, M., Maher, W. A. (2012). Exposure–dose–response of *Anadara trapezia* to metal contaminated estuarine sediments. 2. Lead spiked sediments. *Aquatic Toxicology*, 116–117: 79–89.
138. Olsvik, P.A., Lindgren, M., Maage, A. (2013). Mercury contamination in deep-water fish: Transcriptional responses in tusk (*Brosme brosme*) from a fjord gradient. *Aquatic Toxicology*, 144– 145: 172– 185.
139. Bibi, S., Ahmed. M.S. (2010). Uptake and bioaccumulation of water borne lead (pb) in the fingerlings of a freshwater cyprinid, CATLA CATLAL. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 20(3): 201-207.
140. Macirella, R., Sesti, S., Bernabo, I., Tripepi, M., Godbert, N. and Brunelli, E. (2019). Lead toxicity in seawater teleosts: A morphofunctional and ultrastructural study on the gills of the Ornate wrasse (*Thalassoma pavo* L.). *Aquatic toxicology*, 211:193-201.

141. Casas, J. S., Sordo, J. (2011). Lead: Chemistry, analytic aspects, environmental impact and health effects. Edition Elsevier. 366p.
142. Rainio, M. J., Eeva, T., Lilley, T., Stauffer, J., Ruuskanen S. (2015). Effects of early-life lead exposure on oxidative status and phagocytosis activity in great tits (*Parus major*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 167, 24–34.
143. Lee, J-W., Choi, H., Hwang, U-K., Kang, J-C., Kang, Y.J. Kim, K. I., Kim, J-H. (2018). Toxic effects of lead exposure on bioaccumulation, oxidative stress, neurotoxicity, and immune responses in fish: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 68:101-108.
144. Company, R., Serafima, A., Lopesa, B., Cravoia, A., Kalmanc, J., Ribac, I., DelVallsc, T.A., Blascob, J., Delgadod, J., SarmientocA,.M.,d, Nietod, J. M., Shepherde, T.J., Nowelle, G.et Bebiannoa M.J. (2011). Source and impact of lead contamination on δ -aminolevulinic acid dehydratase activity in several marine bivalve species along the Gulf of Cadiz. *Aquatic Toxicology*, 101(1) : 146–154.
145. Amadob, E.A., Freire, C. A., Grassic, M. T., Souzaa, M.M. (2012). Lead hampers gill cell volume regulation in marine crabs: Stronger effect in a weak osmoregulator than in an osmoconformer. *Aquatic Toxicology*, 106– 107: 95–103.
146. Arrêté interministériel du 30 Moharram 1432 correspondant au 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. *Journal officiel de la république Algérienne* N° 25/2011.
147. UE. (2006). Règlement N° 1881/2006 de la commission du 19 décembre 2006 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires. *Journal officiel de l'union Européenne*. L 364/5.

148. ANZFS. (2011). Australian and New Zealand Food Standards Code, Standard 1.4.1- Contaminants and Natural Toxicants (F2011C00542). <[http:// www. comlaw. gov. au/ Details/F2011C00542](http://www.comlaw.gov.au/Details/F2011C00542)> (lien consulté le 28.11.2017 à 14h 29).
149. EFSA. (2014 a). Dietary exposure to inorganic arsenic in the European population, European Food Safety Authority. [http:// e- lactancia. org/ media/ papers/ Chlorella Spirulina Arsenico-EFSA 2014.pdf](http://e-lactancia.org/media/papers/Chlorella_Spirulina_Arsenico-EFSA_2014.pdf) (lien consulté le 01/06/2018 à 12h 37).
150. Manzurul, H. M. (2018). Arsenic in groundwater: poisoning and risk assessment, Edition: Taylor & Francis; 1er edition, New Yourk, 349 p.
151. OMS. (2018). Arsenic. Organisation Mondiale de la Santé. [http:// www. who. int/fr/news-room/fact-sheets/detail/arsenic](http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/arsenic) (lien consulté le 20/07/2018 à 17h 19).
152. Forstner, U., Wittmann, G.TW. (1983). Metal Pollution in the Aquatic Environment. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York Tokyo. Chapter B ; Toxic Metals. 25p.
153. Baillargeon, M., Patry, L. (2017). L'arsenic, roi des poisons et poison des rois. <https://uttam.quebec/chronique-MT/arsenic.php> (lien consulté le 03/06/2018 à 16h 15).
154. Jain, N., Chandramani, S. (2018). Arsenic poisoning- An overview. Indian Journal of Medical Specialities, 9 (3): 143- 145.
155. Testud, F. (2005). Pathologie Toxique Professionnelle et Environnementale. Eska: 3ème edition, Paris, France. 672 p.
156. Charles, P.D. (2018). Arsenic poisoning. [https:// www. Medicinenet.com/ arsenic_poisoning/ article.htm](https://www.Medicinenet.com/arsenic_poisoning/article.htm) (lien consulté le 29/07/2018 à 8h 32).

157. JECFA. (2011a). Safety evaluation of certain contaminants in food, arsenic, Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). 72ND_2011_Arsenic.pdf (lien consulté le 09/02/2018 à 18h58min).
158. Satarug, S., Vesey, D.A., Gobe, G.C. (2017). Health Risk Assessment of Dietary Cadmium Intake: Do Current Guidelines Indicate How Much is Safe?. *Environmental Health Perspectives*, 152(3).
159. WHO. (2011). Cadmium in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/cadmium.pdf. (lien consulté le 08/07/2019 à 19h 13).
160. VKM. (2015). Risk assessment of dietary cadmium exposure in the Norwegian population. Opinion of the Panel on Contaminants of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety (VKM), VKM Report. www.vkm.no (lien consulté le 19/05/2019 à 12h 31).
161. EFSA. (2009). Le cadmium dans l'alimentation. Avis du groupe scientifique sur les contaminants de la chaîne alimentaire (Question n° EFSA-Q-2007-138). *The EFSA Journal* (2009) 980, 3-3.
162. INERIS. (2014). Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, Méthodologie. Institut national de l'environnement industriel et des risques. https://substances.ineris.fr/uploads/content/DRC-14-142371-007734_A_Methodologie.pdf (lien consulté le 24/02/2018 à 13h59).
163. Goullé, J.-P., Sausseureau, E., Lacroix, C., Guerbet, M. (2012). *Traité De Toxicologie Médico-judiciaire*. Chapitre 24, les métaux. 2ème édition, Elsevier & Masson. 733-767p.
164. Rafati Rahimzadeh, M., Kazemi, S. and Moghadamnia, A. (2017). Cadmium toxicity and treatment: An update. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 8(3):135-145.

165. Jarno, N. (2011). Caractérisation du protéome vacuolaire de la plante modèle *Arabidopsis thaliana* et étude de son rôle dans la détoxification du cadmium. Thèse de doctorat. Université de Grenoble, France. 334 p.
166. Strungaru, S.A., Plavan, G., Nicoara, M. (2016). A short overview about cadmium and its toxicity focused on humans, bioindicators and model organisms. *Journal of Survey in Fisheries Sciences*, 2(2): 1-15.
167. ATSDR. (2012). Toxicological Profiles for mercury. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA: U.S department of Health and Human Services, Public Health Services. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK158838/pdf/TOC.pdf> (lien consulté le 27-02-2018 à 15h 39min).
168. INERIS, 2014. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques : Cadmium et ses dérivés. Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques. www.ineris.fr/substances/fr/substance/getDocument/2725 (lien consulté 28/02/2015 à 15 h 07).
169. Husain, S.S. (2015). Hemotoxic Effects of Cadmium in Normal and Protein Malnourished Rats. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 7(2): 129-135.
170. Rana, M.N., Tangpong, J., Rahman, M.M. (2018b). Toxicodynamics of Lead, Cadmium, Mercury and Arsenic- induced kidney toxicity and treatment strategy: A mini review. *Toxicology Reports*, 5: 704–713.
171. EFSA. (2011). Statement on tolerable weekly intake for cadmium, European Food Safety Authority (EFSA), 19p. Parma, Italy. <http://online.library.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2011.1975/epdf> (lien consulté le 10.02.2018 à 15 h 30min).

172. JECFA. (2011b). Safety evaluation of certain food additives and contaminants, Cadmium. Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). 73rd_2011_cadmium.pdf (lien consulté le 10/02/2018 à 14h 22).
173. Vazquez, M. Devesa, V., Vélez D. (2015). Characterization of the intestinal absorption of inorganic mercury in Caco-2 cells. *Toxicology in Vitro*, 29(1): 93–102.
174. Cherkani-Hassani, A., Ghanname, I., Mouane, N. (2019). Total, organic, and inorganic mercury in human breast milk: levels and maternal factors of exposure, systematic literature review, 1976–2017. *Critical Reviews in Toxicology*, 19: 1-12.
175. Poupon, J. (2007). L'exposition au mercure en 2007 toxicité et prise en charge. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2007 (390): 51-56.
176. Colas, L. B., Andujar, P., Descatha, A. (2011). Intoxication par le mercure. *La Revue de Médecine Interne*, 32(7) : 416–424.
177. Viala, A. et Botta, A. (2007). Toxicologie. Lavoisier, 2ème édition. Paris, France. 1122p.
178. Bridges, C.C., Zalups, R.K. (2017). The aging kidney and the nephrotoxic effects of mercury. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 20(2): 55-80.
179. Rees M. (2010). Le chat, animal sentinelle en toxicologie ; Etude de deux intoxications majeures : méthylmercure et ciguatera. Thèse de doctorat. Ecole nationale vétérinaire de Lyon, France. 150 p.
180. Hong, Y. S., Kim, Y.M., Lee K. E. (2012). Methylmercury Exposure and Health Effects. *Journal of Preventive Medicine & Public Health*, 45, 353-363.

181. Aaseth, J., Ajsuvakova, O.P., Skalny, A.V., Skalnaya, M.G., Tinkov, A.A. (2018). Chelator combination as therapeutic strategy in mercury and lead poisonings. *Coordination Chemistry Reviews*, 358: 1–12.
182. Sakamoto, M., Tatsuta, N., Izumo, K., Phan, P.T., Vu, L.D., Yamamoto, Y., Nakamura, M., Nakai, K., Murata, K. (2018). Health Impacts and Biomarkers of Prenatal Exposure to Methylmercury: Lessons from Minamata, Japan. *Toxics*, 6(3): 45.
183. Abdelouahab, N. (2010). Etude des effets neurotoxiques de l'exposition simultanée au mercure et aux organochlorés chez des consommateurs de poissons. Thèse de doctorat en science biologique. Université du Québec à Montréal, Canada. 210 p.
184. Li, P., Feng, X., Qiu G. (2010). Methylmercury Exposure and Health Effects from Rice and Fish Consumption. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 6(7): 2666-2691.
185. Budnik, L.T., Casteleyn, L. (2019). Mercury pollution in modern times and its socio-medical consequences. *Science of the Total Environment*, 654: 720–734.
186. Li, X., Yin, D., Yin, J., Chen, Q., Wang R. (2014). Dietary selenium protect against redox-mediated immune suppression induced by methylmercury exposure. *Food and Chemical Toxicology*, 72: 169–177.
187. Nyland, J.F., Wanga, S.B., Shirley, D.L., Santos, E.O., Ventura, A.M., De Souza, J.M., Silbergeld, E.K. (2011). Fetal and maternal immune responses to methyl mercury exposure: A cross-sectional study. *Environmental Research*, 111(4): 584–589.
188. O'Reilly, S.B., MD, MPH, McCarty, K.M., Steckling, N., Lettmeie, B., PhD. (2010). Mercury Exposure and Children's Health. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*, 40(8): 186–215.

189. Syversena, T., Kaurb, P. (2012). The toxicology of mercury and its compounds. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 26(4): 215–226.
190. Ye, B-J., Kim, B-G., Jeon, M-J., Kim, S-Y., Kim, H-C., Jang, T-W., Hong-Jae Chae, H-J., Choi, W-J., Ha, M-N., Young-Seoub Hong, Y-S. (2016). Evaluation of mercury exposure level, clinical diagnosis and treatment for mercury intoxication. *Annals of Occupational and Environmental Medicine*, 28:5.
191. EFSA. (2012). Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food¹ EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. (<http://online.library.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2012.2985/pdf> (lien consulté le 10/02/2018 à 15 h 25 min)).
192. WHO. (2010). Exposure to lead: A major public health concern. <http://www.who.int/ipcs/features/lead.pdf>. (lien consulté le 12/03/2015 à 16h52).
193. Pan, L., Wang, Z., Peng, Z., Liu, G., Zhang, H., Zhang, J., Jiang, J., Pathiraja, N., Xiao, Y., Jiao, R., Huang, W. (2016). Dietary exposure to lead of adults in Shenzhen city of China. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 33(7): 1200-1206.
194. Flora, G., Gupta, D., Tiwari A. (2012). Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdisciplinary Toxicology*, 5(2): 47–58.
195. Carocci, A., Catalano, A., Lauria, G., Sinicropi, M.S., Genchi, G. (2016). Lead Toxicity, Antioxidant Defense and Environment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 238:45-67.

- 196.OMS. (2017). Questions-réponses : Campagne de sensibilisation dans le cadre de la semaine d'action internationale pour la prévention de l'intoxication au plomb 22-28 octobre 2017.Organisation Mondiale de Santé, [http:// origin. who. int/ ipcs/ lead_campaign/ QandAs_2017_fr.pdf](http://origin.who.int/ipcs/lead_campaign/QandAs_2017_fr.pdf). (lien consulté le 29/05/2019 à 11h 54min).
- 197.Njati, S.Y., Maguta, M.M. (2019). Lead-based paints and children's PVC toys are potential sources of domestic lead poisoning – A review. *Environmental Pollution*, 249 : 1091-1105.
- 198.Chen, X., Wang, K., Wang, Z., Gan, C., He, P., Liang, Y., Jin, T., Zhu, G. (2014). Effects of lead and cadmium co-exposure on bone mineral density in a Chinese population. *Bone*, 63: 76–80.
- 199.Elgawish, R. A.R., Abdelrazek, H.M.A. (2014). Effects of lead acetate on testicular function and caspase-3expression with respect to the protective effect of cinnamonin albino rats. *Toxicology Reports*, 1: 795–801.
- 200.Sriram, A. (2017). Lead exposure in an urban population of free-ranging kaka (*Nestor meridionalis septentrionalis*). Master of Veterinary Science. Massey University, Palmerston North, Manawatu, New Zealand. 90 p.
- 201.Kayaalt, Z., Aliyev, V., Söylemezoglu T. (2010).The potential effect of metallothionein 2A –5 A/G single nucleotide polymorphism on blood cadmium, lead, zinc and copper levels. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 256 (1): 1–7.
- 202.Samoyault, C.M. (2017). Évaluation du risque de saturnisme chez les patients ayant du plomb intracorporel et mise en place d'un suivi. Médecine humaine et pathologie. Thèse de doctorat.Université de Bordeaux, France.108 p.
- 203.JECFA. (2011c). Safety evaluation of certain food additives and contaminants, Lead. Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). 73rd_2011_Lead.pdf (lien consulté le 10/02/2018 à 14h 50min).

204. EFSA. (2010). Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on Lead in Food. EFSA Journal 2010; 8(4):1570. [151 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2010.1570 (lien consulté le 10.02.2018 à 15 h30min).
205. Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A. (2003). Principes d'analyse instrumentale, De Boeck, Chapitre 11 : Spectrométrie de masse atomique. 956 p.
206. Skoog, D.A., West, D.M. (2015). Chimie analytique, 3ème édition ; De Boeck, Chapitre 29. 808 p.
207. Bogaerts, A., Aghaei, M. (2017). Inductively coupled plasma-mass spectrometry: insights through computer modeling Journal of analytical atomic spectrometry. <http://hdl.handle.net/10067/1400740151162165141> (lien consulté le 13/08/2018 à 22h).
208. El Hami, A., Delaux, D., Grzeskowiak, H. (2018). Fiabilité des systèmes mécatroniques de forte puissance 2: Application automobile et aéronautique enjeux, essais et analyses, ISTE Editions. 326 p.
209. Mariet, C., Geertsen, V. (2018). Analyse par spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (ICP-MS). http://iramis.cea.fr/Phoce/Vie_des_labos/Ast/ast_sstechnique.php?id_ast=348 (lien consulté le 12/08/2018 à 17h55min).
210. Goossens, E. (2018). Size detection limits of spICP-MS for analysis of nanoparticles in environmental media. Thèse de doctorat. Université suédoise, Faculté des ressources naturelles et des sciences agricoles, Département du sol et de l'environnement. 52 p.
211. Gervais, E. (2017). Design et optimisation d'une interface fonctionnalisée par des nanoparticules métalliques et des couches organiques électroformées pour la détection de métaux lourds à l'état de traces dans les eaux, Thèse de doctorat. Université de Toulouse, France. 204 p.

212. Beuvier, L. (2015). Développement d'une méthode de séparation chromatographique couplée aux spectrométries de masse à source d'ionisation électrospray (ESI-MS) et à source plasma à couplage inductif (ICP-MS) : application à l'analyse de spéciation des lanthanides. Thèse de doctorat en chimie-physique. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, France 243 p.
213. Golitko, M., Dussubieux, L. (2017). Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICPMS) and Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICP-MS). DOI:10.1093/oxfordhb/9780199681532.013.23., <http://www.Oxfordhandbooks.com/view/10.1093/oxfordhb/9780199681532.001.0001/oxfordhb-9780199681532-e-23> (lien consulté 17/08/2018 à 22h27min).
214. Phan, N. (2015). Mass spectrometry based analysis of drugs, neurotransmitters and lipids in invertebrate model systems, Thesis, University of Gothenburg, Department of Chemistry and Molecular Biology, Gothenburg, Sweden. 61 p.
215. Whitty-Léveillé, L. (2016). Développement d'une méthode d'analyse des éléments de terres rares (ETR) par ICP-MS/MS. Mémoire de maîtrise. Université de Québec, Canada. 67 p.
216. Zarco-Fernández, S., Montalvo-Quirós, S., Mancheño, M.J., Cámara, C., Muñoz-Olivas, R. (2016). Development of a thiourea derivative polymer combined to a Direct Mercury Analyser for screening and pre-concentration of mercury species. *Talanta*, 162: 612-617.
217. CEAEQ. (2007). Centre D'Expertise en Analyse Environnementale Du Québec, Détermination du mercure dans les tissus biologiques et les sédiments par décomposition thermique : dosage par photométrie UV, MA. 207 – Hg 2.0, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec. <http://collections.banq.qc.ca/ark:/52327/bs59352> (lien consulté le 28/06/2019 à 20h).

218. Ball, P.R. (2019). Development of a dart-mass spectral database for 3D-printed firearm polymers, and airborne mercury at three lakes in north Mississippi. Thesis, University of Mississippi, Oxford, Royaume-Uni. 31 p.
219. De La Rosa, K. (2018). Mercury Speciation via Direct Mercury Analyzer. Student summer internship technical report. Florida International University, États-Unis. 21 p.
220. Haynes, S., Gragg, R.D., Johnson, E., Robinson, L., Orazio, C.E. (2006). An Evaluation of a Reagent less Method for the Determination of Total Mercury in Aquatic Life. *Water, Air, and Soil Pollution*, 172(1–4): 359–374.
221. Rezende, P.S., Silva, N.C., Moura, W.D., Windmöller, C.C. (2018). Quantification and speciation of mercury in streams and rivers sediment samples from Paracatu, MG, Brazil, using a direct mercury analyzer®. *Microchemical Journal*, 140:199–206.
222. Cossa, D. (2002). Dosage du mercure total et du monométhylmercure dans les organismes et les sédiments marins. Editions Quae, France. 27 p.
223. Koffi, M.K., Ake Assi, Y., Saki, J.S. et Henri Marius G. A. Biego, H.M.G.A., (2014). Evaluation de l'exposition de la population aux métaux traces (cadmium, mercure, plomb) à travers la consommation des viandes et abats de boeuf et de porc importés. *International journal of biological and chemical sciences* 8(4), 1594-1603.
224. Counil E. (2005). Approches épidémiologiques de l'évaluation du risque sanitaire lié à l'exposition alimentaire à l'ochratoxine A, thèse de doctorat, Institut national agronomique paris- Grignon, 206 p.
225. FAO/WHO. (2009). Environmental Health Criteria 240 Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food. [https:// apps. who. int/iris/bitstream/handle/10665/44065/WHO_EHC_240_eng.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44065/WHO_EHC_240_eng.pdf) (lien consulté le 18/03/2017 à 11:47).

226. USEPA.(2017a). Human Health Risk Assessment. United States Environmental Protection Agency. <https://www.epa.gov/risk/human-health-risk-assessment> (lien consulté le 02/03/2018 à 13h 29).
227. FAO. (2007). Analyse des risques relatifs à la sécurité sanitaire des aliments : guide à l'usage des autorités nationales responsables de la sécurité sanitaire des aliments. Alimentation et nutrition. 69-72.
228. Ouro-Sama K., Solitoke H. D., Gnandi K., Afiademanyo K.M., Bowessidjaou E. J.(2014). Assessment and health risks of bioaccumulation of heavy metals in fish species of the Togolese lagoon system. *Vertigo. The electronic journal in the environmental sciences*, 14 (2).
229. Dib, A. L., Boukerrou, A., Kabouiar, A., Bouaziz, O. Koutchoukali, H., Salem, S., Espigares Garcia, M. (2014). Évaluation épidémiologique de la contamination microbienne des produits de la mer dans les côtes est Algériennes. *Bulletin de la Société zoologique de France*, 139(1-4): 61-70.
230. M.P.R.H. (2019). Données statistiques de la production nationale de la sardine en Algérie. Ministère de la Pêche et des Ressources Halieutiques.
231. Damiano, S., Papetti, P., Menesatti, P. (2011). Accumulation of heavy metals to assess the health status of swordfish in a comparative analysis of Mediterranean and Atlantic areas. *Marine Pollution Bulletin*, 62(8): 1920–1925.
232. Yahi N., ABdelguerfi A. (2016). Rapport sur l'Etat de l'Environnement (RNE, 2011). Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement (Algérie). 43 p.

233. UE. (2016). Règlement (UE) N° 582/ 2016 de la Commission du 15 avril 2016 modifiant le Règlement (CE) no 333/2007 en ce qui concerne l'analyse de l'arsenic inorganique, du plomb et des hydrocarbures aromatiques polycycliques ainsi que certains critères de performance relatifs à l'analyse Règlement (UE) No 582/2016 de la commission du 16 avril 2016, Journal officiel de l'Union européenne.
234. Hauser-Davisa, R.A., Bordon, I.C.A.C., Oliveira, T.F. Ziolli, R.L. (2016). Metal bioaccumulation in edible target tissues of mullet (*Mugil liza*) from a tropical bay in Southeastern Brazil. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 36 : 38–43.
235. Cano-Sancho, G. Perell, G., Ana Luísa Maulvault, A.L., Ant_onio Marques, A.O., Martí Nadal, M., Domingo, J.L. (2015). Oral bioaccessibility of arsenic, mercury and methylmercury in marine species commercialized in Catalonia (Spain) and health risks for the consumers. *Food and Chemical Toxicology*. (86): 34-40.
236. Mehouel, F., Bouayad, L., Hammoudi, A.H., Ayadi, O., Regad F. (2019). Evaluation of the heavy metals (mercury, lead, and cadmium) contamination of sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) fished in three Algerian coasts, *Veterinary World*, 12(1): 7-11.
237. Olmedo, P., A. Pla, A., Hernández, A.F., Barbier, F., Ayouni, L., Gil, F. (2013). Determination of toxic elements (mercury, cadmium, lead, tin and arsenic) in fish and shellfish samples. Risk assessment for the consumers. *Environment International*, 59: 63–72.
238. Güngör, A., Kara, D. (2017). Toxicities and risk assessment of heavy metals of the six most consumed fish from the Marmara Sea. *Environmental Science and Pollution Research*. 25(3): 2672–2682.
239. Zmozinski, A.V., Llorente-Mirandes, T., López-Sánchez, J.F., Márcia M., Da Silva, M.M. (2015). Establishment of a method for determination of arsenic species in seafood by LC-ICP-MS. *Food Chemistry*, 173: 1073–1082.

240. Kalantzi, I., Mylona, K., Sofoulaki, K., Tsapakis, M., Pergantis, S.A. (2017). Arsenic speciation in fish from Greek coastal areas. *Journal of environmental sciences*, 56: 300- 312.
241. Okyere, H., Voegborlo, R.B., Agorku, S.E. (2015). Human exposure to mercury, lead and cadmium through consumption of canned mackerel, tuna, pilchard and sardine, *Food Chemistry*, 179: 331-335.
242. Chahid, A. (2016). Quantification des éléments traces métalliques (cadmium, plomb et mercure total) de certains produits de la pêche débarqués dans la zone Essaouira-Dakhla : Evaluation des risques sanitaires. Thèse de doctorat. Université IBN ZOHR, faculté des sciences, Maroc. 172 p.
243. Yabanli, M. (2013). Assessment of the Heavy Metal Contents of *Sardina pilchardus* Sold in Izmir, Turkey. *Ekoloji*, 22 (87): 10-15.
244. Carbonell, G., Bravo, J.C., Ferna'ndez, C., Tarazona, J.V. (2009). A New Method for Total Mercury and Methyl Mercury Analysis in Muscle of Seawater Fish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 83 (2): 210–213.
245. Islam, M.S., Ahmed, M.K., Al-Mamuna, M.H. (2015). Determination of Heavy Metals in Fish and Vegetables in Bangladesh and Health Implications. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 21(4).
246. Rajeshkumar, S., Liu, Y., Zhang, X., Ravikumar, B., Bai, G., Li, X. (2018). Studies on seasonal pollution of heavy metals in water, sediment, fish and oyster from the Meiliang Bay of Taihu Lake in China. *Chemosphere*, 191: 626-638.

247. Luczyński, J., Paszczyk, B., Luczyński, M.J. (2018). Fish as a bioindicator of heavy metals pollution in aquatic ecosystem of Pluszne Lake, Poland, and risk assessment for consumer's health. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 153, 60–67.
248. Liu, J-L., Xu, X-R., Ding, Z-H., Peng, J-X., Jin, M-H., Wang, Y-S., Hong, Y-G., Yue, W-Z. (2015). Heavy metals in wild marine fish from South China Sea: levels, tissue- and species-specific accumulation and potential risk to humans. *Ecotoxicology*, 24(7-8):1583-92.
249. Hosseini, M., Nabavi, S.M.B., Nabavi, S.N., Pour, N.A. (2015). Heavy metals (Cd, Co, Cu, Ni, Pb, Fe, and Hg) content in four fish commonly consumed in Iran: risk assessment for the consumers. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(5):237.
250. Bonsignore, M., Manta, D.S., Mirto, S., Quinci, E.M., Ape, F., Montalto, V., Gristina, M., Traina, A., Sprovieri, M. (2018). Bioaccumulation of heavy metals in fish, crustaceans, molluscs and echinoderms from the Tuscany coast. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 162:554–562.
251. Kagi, J.H., Schaffer, A. (1998). Biochemistry of metallothionein. *Biochemistry*, 27(23): 8509–8515.
252. Mendil, D., Demirci, Z., Tuzen, M., Soylak, M. (2009). Seasonal investigation of trace element contents in commercially valuable fish species from the Black Sea, Turkey. *Food Chemistry Toxicology*, 48(3): 865–870.
253. Boadi, N.O., Twumasi, S.K., Badu, M., Osei, I. (2011). Heavy metal contamination in canned fish marketed in Ghana. *American Journal of Scientific and Industrial Research*, 2(6): 877–882.
254. Batvari, B.P.D., Sivakumar S., K Shanthi, K., Kui-Jae Lee, K-J., Oh, B-T., Krishnamoorthy, R.R. and Kamala-Kannan, S. (2016). Heavy metals accumulation in crab and shrimps from Pulicat lake, north Chennai coastal region, southeast coast of India. *Toxicology and Industrial Health*, 1–6.

255. Bodin, N., Lesperance, D., Albert, R., Hollanda, S., Michaud, Ph., Degroote, M., Churlaud, C., Bustamante, P. (2017). Trace elements in oceanic pelagic communities in the western Indian Ocean. *Chemosphere*, 174: 354-362.
256. Iamiceli, A.L., Ubaldi, A., Lucchetti, D., Brambilla, G., Abate, V., De Felip, E., Stefania P. De Filippis, S.P.D, Dellatte, E., Luca, S.D., Ferri, F., Fochi, I., Fulgenzi, A., Iacovella, N., Moret, I., Piazza, R., Roncarati, A., Melotti, P., Fanelli, R., Fattore, E., di Domenico, A., Miniero, R. (2015). Metals in Mediterranean aquatic species. *Marine Pollution Bulletin*, 94 (1- 2): 278–283.
257. Storelli, M.M., Giacomini-Stuffler, R., Storelli, A., Marcotrigiano, G.O. (2005). Accumulation of mercury, cadmium, lead and arsenic in swordfish and blue fin tuna from the Mediterranean Sea: A comparative study. *Marine Pollution Bulletin*, 50(9): 993–1018.
258. Gobert, S., Pasqualini, V., Dijoux, J., Lejeune, P., Durieux, E.D. H., Marengo, M. (2017). Trace element concentrations in the apex predator swordfish (*Xiphias gladius*) from a Mediterranean fishery and risk assessment for consumers. *Marine Pollution Bulletin*, 120(1-2): 364- 369.
259. Zaza, S., de Balogh, K., Palmery, P., Pastorelli, A. A., Stacchini, P. (2015). Human exposure in Italy to lead, cadmium and mercury through fish and seafood product consumption from Eastern Central Atlantic Fishing Area. *Journal of Food Composition and Analysis*, 40: 148–153.
260. Liu, Y., Buchanan, S., Anderson, H.A., Xiao, Z., Perskya, V., Turyka, M.E. (2018). Association of methylmercury intake from seafood consumption and blood mercury level among the Asian and Non-Asian populations in the United States. *Environmental Research*, 160: 212–222.
261. Torres-Escribano, S., Vélez, D., R. Montoro, R. (2010). Mercury and methylmercury bioaccessibility in swordfish, *Food Additives & Contaminants: Part A*, 27(3): 327-337.

262. Araújo, C.V.M., Cedeño-Macias, L.A. (2016). Heavy metals in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and common dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) landed on the Ecuadorian coast. *Science of the Total Environment*, 541: 149–154.
263. Casadevall, M., Rodríguez-Prieto¹, C., Torres, J. (2017). The importance of the age when evaluating mercury pollution in fishes: the case of *Diplodus sargus* (Pisces, Sparidae) in the NW Mediterranean. *Environmental Science*, 4(1):17-26.
264. Azevedo, L.S., Almeida, M.G., Bastos, W.R., Suzuki, M.S., Recktenvald, M.C.N.N., Bastos, M.T.S., Vergílio, C.S., Souza, C.M.M. (2017). Organotropism of methylmercury in fish of the southeastern of Brazil. *Chemosphere*, 185:746-753.
265. Sontag, P.T., Steinberg, D.K., John R. Reinfelder, J.R.(2019). Patterns of total mercury and methylmercury bioaccumulation in Antarctic krill (*Euphausia superba*) along the West Antarctic Peninsula. *Science of the Total Environment*, 688: 174–183.
266. Fathimath, M. (2015). Accumulation of trace elements in aquatic food chains due to sea-fill activities. Thesis, Department of Chemistry College of Science University of Canterbury Christchurch, New Zealand. 285p.
267. Guendouzi, Y. (2015). Etude de la qualité de l'eau de mer de la région littorale de Mostaganem à travers deux bioindicateurs *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) et *Paracentrotus lividus* (Lmk). Magister en sciences de la mer. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. 115 p.
268. Kojadinovic, J., Potier, M., Lecorre M., Cossou, R.P. (2007). Bioaccumulation of trace elements in pelagic fish from the western Indian ocean, *Environmental Pollution*, 146 (2): 548- 566.

269. Waldichuk, M., 1977. Pollution marine mondiale : Aperçu général. Commission océanographique intergouvernementale série technique, Canada. <http://unesdoc.unesco.org/images/0013/001352/135229fo.pdf> (lien consulté le 08/04/2018 à 20h 18 min).
270. Mouhoubi ,Z., Sahi, L. (2018). Contribution au suivi de l'impact des résidus industriels et urbains sur les zones côtières de la commune de Bejaia. Mémoire de master. Université Abderrahmane MIRA-Bejaia. 114p.
271. Sahbaoui, F. (2015). Contribution à l'étude de la contamination par quelques métaux lourds chez le poisson *Sardina pilchardus* au niveau de littoral de Ghazaouet (Wilaya de Tlemcen). Mémoire de master en Ecologie et Environnement. Université de Tlemcen, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers. 50 p.
272. Sahnoun, F. (2010). Contrôle et surveillance de la pollution par la qualité des eaux du littoral - cas de la zone industrielle d'Arzew. Mémoire de Magister. Université d'Oran, Faculté des sciences département de chimie industrielle, université d'Oran. 71 p.
273. Benguendouz, A., Boudroua, K., Bouterfa, A., Belabes, M., Bekada, A., Sioriki E., Zabetakis I. (2016). Fatty acid profile and assessment of heavy metals content of *Sardina pilchardus* captured in the Algerian coast. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 16(3) : 1021-1029.
274. Ouldali, O., Chikh-salah H., Hadjadj. (2012). Evaluation du taux de mercure dans la sardine « *Sardina pilchardus* » des côtes algériennes. Colloque International sur la Biosurveillance des Ecosystèmes. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie & Laboratoire d'Agro-Biotechnologie et de la Nutrition en Zone Semi-aride. Université Ibn Khaldoun de Tiaret, Algérie. 11 et 12 Mars 2012. 57 p.

275. Azevedo, L.S., Pestana, I.A., Rocha, A.R.M., Meneguelli-Souza, A.C., Lima, C.A.I., Almeida, M.G., Bastos, W.R., Souza, C.M.M. (2018). Drought promotes increases in total mercury and methylmercury concentrations in fish from the lower Paraíba do Sul river, southeastern Brazil. *Chemosphere*, 202 : 483-490.
276. Zhang, W., Zhang, X., Tian, Y., Zhu, Y., Tong, Y., Li, Y., Wang, X. (2018). Risk assessment of total mercury and methylmercury in aquatic products from offshore farms in China. *Journal of Hazardous Materials*, 354:198-205.
277. Li, W., Wang, W-X. (2019). Inter-species differences of total mercury and methylmercury in farmed fish in Southern China: Does feed matter?. *Science of the Total Environment*, 651: 1857–1866.
278. Javed, M., Usmani, N. (2016). Accumulation of heavy metals and human health risk assessment via the consumption of freshwater fish *Mastacembelus armatus* inhabiting, thermal power plant effluent loaded canal. *Springer Plus*, 5 (1): 776.
279. M.P.R.H. (2018). Données statistiques de la consommation annuelle de poisson en Algérie pour l'année 2016. Ministère de la Pêche et des Ressources Halieutiques.
280. Zhelyazkov, G., Yankovska Stefanova, T., Mineva, E., Stratev, D., Vashin, I., Dospatliev, L., Valkova, E., Popova, T. (2018). Risk assessment of some heavy metals in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and veined rapa whelks (*Rapana venosa*) for human health. *Marine Pollution Bulletin*, 128: 197–201.
281. Ju, Y-R., Chen, C-W., Chen, C-F., Chuang, X-Y., Dong, C-D. (2017). Assessment of heavy metals in aquaculture fishes collected from southwest coast of Taiwan and human consumption risk. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 124: 314-325.

282. Al-Mahaqeri, S. A., Ahmad, A. K. (2015). Human Health Risk Assessment of Heavy Metals in Fish Species Collected from Catchments of Former Tin Mining. *International Journal of Research Studies in Science, Engineering and Technology*, 2(4): 9-21.
283. Núñez, R., M. García, M.A., Alonso, J., Melgar, M.J. (2018). Arsenic, cadmium and lead in fresh and processed tuna marketed in Galicia (NW Spain): Risk assessment of dietary exposure. *Science of the Total Environment*, 627: 322–331.
284. USEPA.(2017b).National Air Toxics Assessment. United States Environmental Protection Agency.<https://www.epa.gov/national-air-toxics-assessment/nata-glossary-terms> (lien consulté le 26/02/2018).
285. JECFA. (2010). Summary report of the seventy-second meeting of JECFA. Joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). http://www.who.int/foodsafety/chem/summary72_rev.pdf (lien consulté le 09/02/2018 à 19h12min).
286. Vieira, C., Morais, S., Ramos, S., Delerue-Matos, C., Oliveira, M.B.P.P. (2011). Mercury, cadmium, lead and arsenic levels in three pelagic fish species from the Atlantic Ocean: Intra- and inter-specific variability and human health risks for consumption. *Food and Chemical Toxicology*, 49 (4): 923–932.
287. Falcoä, G., Lobet, J.M. L., Bocio, A., Domingo, J.L. (2006). Daily Intake of Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead by Consumption of Edible Marine Species. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 54(16): 6106-6112.
288. Cantoral, A., Batis, C., Basu, N. (2017). National estimation of seafood consumption in Mexico: Implications for exposure to methylmercury and polyunsaturated fatty acids. *Chemosphere*, 174: 289- 296.

289. Aranda, N., Valls, R.M., Romeuc, M., Sánchez-Martos, V., Albaladejo, R., Fernández-Castillejob, S., Nogués, R., Catalán, U., Pedret, A., Espinel, A., Delgado, M.A., Arija, V., Solab, R., Giralt, M. (2017). Consumption of seafood and its estimated heavy metals are associated with lipid profile and oxidative lipid damage on healthy adults from a Spanish Mediterranean area: A cross-sectional study. *Environmental Research*, 156: 644–651.
290. Velez, D., Torres-Escribano, S., Montoro, R. (2010). Mercury and methylmercury bioaccessibility in swordfish. *Food Additives and Contaminants*, 27(3): 327-337.
291. EUMOFA. (2018). Faits saillants du Mois. European Market Observatory of Fisheries and Aquaculture Products. <http://www.eumofa.eu/documents/20178/111091/Faits+saillants+du+mois+-+N.1-2018.pdf#page=19> (lien consulté le 24.02. 2018 à 09h41).
292. Salghi, R. (2019). Cours d'analyses physico-chimique des denrées alimentaires, GPEE, 1ère année. [http://dhaouadiramzi.emonsite.com/medias/files/analyse physico-chimie.pdf](http://dhaouadiramzi.emonsite.com/medias/files/analyse%20physico-chimie.pdf) (lien consulté le 02/02/2020 à 18h05).
293. CODEX STAN 150-1985. Norme codex pour le sel de qualité alimentaire. *Codex alimentarius*. 4p.
294. DGAL/SDSSA/SDQA/N2010-8303.(2011). Plan de surveillance des contaminants chimiques du milieu aquatique dans les produits de la pêche. 6p.
295. Kanan, R. (2012). Développements méthodologiques pour l'extraction et l'analyse des polluants organiques d'intérêt pour l'environnement marin: Application aux hydrocarbures aromatiques polycycliques, thèse de doctorat. Université Bordeaux 1. 262 p.

296. USEPA. (2005). Human Health Risk Assessment Protocol Chapter 7: Characterizing Risk and Hazard, [https://www. weblakes. com/ products/ iraph/ resources /hhrap/ chp_7.pdf](https://www.weblakes.com/products/iraph/resources/hhrap/chp_7.pdf) (lien consulté le 26/02/2018 à 19h).

Evaluation of the heavy metals (mercury, lead, and cadmium) contamination of sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) fished in three Algerian coasts

Fetta Mehouel¹, Leila Bouayad¹, Abdel Hamid Hammoudi², Ouarda Ayadi³ and Fifi Regad⁴

1. Laboratory of Food Hygiene and Quality Insurance System, High National Veterinary School, Algiers, Algeria; 2. Laboratory of Microbiology, Institute of Veterinary Sciences, Tiaret, Algeria; 3. Laboratory of Parasitology, Institute of Veterinary Sciences El Khroub, University of Frères Mentouri, Constantine 1, Algeria; 4. Laboratory of the Water and Sanitation Society, Algiers, Algeria.

Corresponding author: Fetta Mehouel, e-mail: fetta_mehouel@yahoo.com

Co-authors: LB: leila_bouayad@hotmail.com, AHH: hammoudiabdelhamid@yahoo.fr, OA: ayadioird@yahoo.com, FR: fifi.regad@seaal.dz

Received: 09-08-2018, **Accepted:** 19-11-2018, **Published online:** 02-01-2019

doi: 10.14202/vetworld.2019.7-11 **How to cite this article:** Mehouel F, Bouayad L, Hammoudi AH, Ayadi O, Regad F (2019) Evaluation of the heavy metals (mercury, lead, and cadmium) contamination of sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) fished in three Algerian coasts, *Veterinary World*, 12(1): 7-11.

Abstract

Aim: This study aimed to evaluate mercury (Hg), cadmium (Cd), and lead (Pb) levels in 70 samples of sardine (*Sardina pilchardus*) and 30 samples of swordfish (*Xiphias gladius*) fished in the Algerian coasts.

Materials and Methods: After the mineralization of the fish samples through the pressure digestion, the analyses were carried out by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy.

Results: Mean concentrations of Hg, Cd, and Pb in sardine were 0.62, 0.55, and 2.13 mg/kg wet weight, respectively, while in swordfish, the concentrations were 0.56, 0.57, and 3.9 mg/kg wet weight, respectively. These results exceeded the Algerian and European legislation threshold values, whereas Hg's concentration in swordfish remained close to and did not exceed the recommended thresholds (0.56 mg/kg wet weight).

Conclusion: This fish may represent a hazard for consumers in Algeria. Systematic and periodic controls of heavy metals in fish are recommended, and risk assessment is needed to protect the consumer.

Keywords: atomic emission spectroscopy, fish, hazard, heavy metal, sardine, swordfish.

Introduction

Fish have been acknowledged as an integral component of a well-balanced diet, providing a healthy source of energy, high-quality proteins, vitamins, and a wide range of other important nutrients [1]. Moreover, fish are a significant source of omega-3 polyunsaturated fatty acids whose benefits in lowering the risk of coronary heart disease and on normal neurodevelopment in children have been widely documented [1]. Heavy metals discharged into the aquatic environment from different natural and human activities sources, including industrial or domestic wastewater, application of pesticides and inorganic fertilizers, leaching from landfills, shipping and harbor activities, atmospheric deposits, and geological weathering of the earth crust [2], can damage fish species diversity as well as ecosystems, due to their long persistence, ability to bioaccumulation, and toxicity [3].

Fish accumulate heavy metals from food, water, and sediments. The content of toxic heavy

metals in fish can impair their beneficial nutritional attributes [4]. Among a wide range of toxic substances that contaminate fish and seafood, three heavy metals; cadmium (Cd), lead (Pb), and mercury (Hg) are the only heavy metals included in the European Union regulations for hazardous metals [5]. Heavy metals can interfere with biological systems and have inappropriate interactions with different intracellular structures. They are highly toxic to marine organisms and human, even at very low concentrations due to bioaccumulation. Hence, their presence even at a trace level in fish might constitute a serious threat to the health of consumers. Chronic exposure to Hg and Hg compounds is harmful to human health, especially to the fetuses and children at early stages of development [6]. This metal can cause most damage and dysfunction of the central nervous system (CNS). Chronic exposure to Pb is deleterious for the hematological system, the CNS, and the renal system. Cd long-term exposure impairs kidney's normal functioning [7]. The pollution of marine ecosystems is a worldwide problem, and the situation is aggravated by the ability of these ecosystems to concentrate and accumulate some metals within the food chains [7]. Fish can concentrate very high levels of these contaminants, sometimes exceeding authorized limits. This bioaccumulation is closely related to the place of some fish species at the top of the aquatic food chain [6]. For this reason, determination of the

Copyright: Mehouel, et al. Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

chemical quality of aquatic organisms, particularly their heavy metals contents, is important for human health [8]. In Algeria, sardine (*Sardina pilchardus*) is a commercially important species, because it is the most consumed fish [9].

In this study, we evaluated heavy metals contamination levels (Hg, Pb, and Cd) in sardine (*S. pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) fished in Algerian (Centre and east and west Algerian) coasts, and then, we appreciate the distribution of the concentrations of these contaminants in the three studied areas.

Materials and Methods

Ethical approval

Ethical approval is not applicable to this study as fish samples used for the analysis of heavy metals were collected from fisheries and market stalls in Algeria.

Sampling and sample preparation

A total number of 100 fish samples were collected between May and December 2015. It consists of 30 samples of swordfish (*X. gladius*) bought from the fish markets stalls of Algiers, and a total number of 70 sardine's samples (*S. pilchardus*) which were collected from the port fisheries of three Algerian coast major ports (Figure-1); 30 from the coast of Algiers (North Centre), 25 from the coast of Bejaia (North-East), and 15 from the coast of Oran (North-West). These coasts are exposed to heavy marine pollution due to their proximity to big cities [10]. Sampling was performed according to the European Regulation [5]. Flesh samples (300 mg) were taken from each fish sample to obtain 200 g of the recommended flesh matrix after the removal of inedible parts [11]. The samples were packed in polyethylene bags blanks and transported to the laboratory in ice containers.

Sample preparation was performed to reduce the risk of any exogenous contamination; samples were quickly prepared after their arrival in the laboratory in compliance with two European standards: EN 13804 (2013) and EN 13805 (2002). Fishes were rinsed with tap water then distilled water.



Figure-1: Geographical location of the Algerian area where the fish's samples were collected.

Before each set of analyses, a blank test was carried out to confirm the absence of any contaminant in the apparatus and to determine the limits of detection and quantification of the measuring apparatus. The test blank was conducted in the absence of matrix (fish flesh) with the same quantities of reagents and subjected to mineralization at the same time as the samples. 10 successive measurements of the blank were performed to eliminate the samples whose concentrations are lower than the detection limits. The detection limits are equal to 3 times the standard deviation of the blanks.

Mineralization of samples

Samples mineralization was done according to European Standard EN 13805 (2002). Briefly, 2 g of each tested sample was put in Teflon bombs, 3 mL of nitric acid and 0.5 mL of hydrogen peroxide were added to avoid the deposition of the sample on the walls of the vessel and to obtain a homogeneous mixture with the acid. The digestion vessel put into a pressure container was placed in a heat source (muffle furnace) for 3 h at 170°C. After cooling, the digestion solution was placed in an ultrasound bath for 10 min at 25°C to degas the solution. The latter was then transferred into 10 mL test tubes and supplemented with distilled water before storage at 4°C.

Analysis and calibration

Before each series of measurements, commercialized calibration solutions were prepared (6 for Pb and Cd and 5 for Hg); then, calibration curves were established. For Pb and Cd, a standard (PerkinElmer Pure reference N9300281) was used at a concentration of 100 mg/L for Hg; a standard (AccuStandard reference AA34N-5) was used at a concentration of 1000 mg/L.

The determination of heavy metals concentration was performed using inductively coupled plasma atomic emission spectrometer PerkinElmer-Optima 800. The calibration of the device was performed by the embodiment of 10 blank measurements.

Quality control of the analysis

Analytical performances were verified by processing Certified Reference Materials:

For Pb, As, and Cd, we used the cereals and derivatives BIPEA with internal reference number (15350395) and a known concentrations of these metals (As=0.332 mg/kg w.w), (Cd=0.406 mg/kg w.w), and (Pb=0.851 mg/kg w.w). The results were in good agreement with the certified values located in these intervals: 0.5552-0.4085 for As, 0.3046-0.5075 for Cd, and 0.6128-0.10892 for Pb.

For Hg, we used the canned fish (Fapas) with an internal reference number (12130869) and the tissue of lyophilized mussels ERM-CE278k with known concentrations of Hg (0.359 and 0.071mg/kg w.w), respectively. The results were in good agreement with the certified values 0.404-0.674 mg/kg w.w and 0.053-0.089 mg/kg w.w for both reference materials, respectively.

Statistical analysis

The descriptive statistics (mean, standard deviation, minimum values, and maximum values) were estimated using Microsoft Excel® (2007) software.

R version 3.0.2. was used for the analysis of the variance to compare the concentrations according to the fishing zones of sardine. In case of significant differences, the Newman-Keuls test was used to establish the homogeneous groups. The non-parametric Mann-Whitney test was used to compare the differences in the metal content in the two fish species. The threshold value for all the statistical tests was 5%.

Results

The detection limits of Cd, Pb, and Hg were 1.03×10^{-2} , 4.4×10^{-3} , and 1.8×10^{-3} mg/kg, respectively (Table-1). The determination of the different heavy metals concentrations in the flesh of the two species showed a dominant Pb contamination compared to the two other metals with a higher concentration in swordfish than in the sardine (3.90 ± 2.79 and 2.13 ± 1.12), respectively (Table-2). Cd concentration is also higher in swordfish (Table-2). The Mann-Whitney test showed a significant difference in the concentrations of these metals between the two species, with $p < 5\%$. Hg recorded almost similar concentrations between the two species, the Mann-Whitney test showed no significant difference, with $p > 5\%$.

The Newman-Keuls test showed homogeneity between the mean Cd concentrations for sardine fished in center and west, for Hg concentration in west and east, whereas for Pb, this test showed no homogeneity for the three fishing areas (Figure-2).

Discussion

The detection limits of Cd, Pb, and Hg were higher than those reported by Olmedo *et al.* [1] and Zaza *et al.* [12]. These variations are explained by differences in analytical conditions that include different

matrices, analytical methodology, and equipment. Heavy metals bioconcentrations vary between fish species, sardines bioconcentrate low quantities of Pb, Cd, and Hg while swordfish has an intermediate concentration of Pb and Cd, but a low concentration of Hg [1], this concord with our results.

In sardine, Hg contamination level was slightly higher than in swordfish in our study, this can be explained by the fact that sardine is a species that lives near the coasts where marine pollution is very high [13]. In sardine (*S. pilchardus*), the Cd contamination average in our study was higher than four regions of the Atlantic coast of Morocco [14] but lower than reported in Saudi Arabia [15]. The Pb contamination average recorded in our study was higher than those reported by different authors, El Morhit *et al.* [16] (0.05 mg/kg), Olmedo *et al.* [1] (0.004 mg/kg), and Yabanli [17] (0.14 mg/kg). It remains much lower than the results reported by Amani *et al.* [15] (49 mg/kg). In the Atlantic Ocean (Morocco) and Turkey, the Hg contamination average registered on an average was higher than those reported by Chahid *et al.* [6] and Yabanli [17].

In swordfish (*Xiphias gladius*), the Cd concentration registered was higher than those reported by Zaza *et al.* [12], Jinadasa *et al.* [18] and, Kagi and Schaffer [19]. However, the Pb concentration recorded in our study in swordfish was higher than those documented by Zaza *et al.* [12] and by Jinadasa *et al.* [18]. Moualek [20] reported the following concentrations in western Algeria: 0.028, 0.038, 4.86, 3.20, and 6 mg/kg of fish weighing 13, 24, 32, 52, and 70 kg, respectively.

The Hg contamination average recorded in our study in the swordfish was lower than the concentration reported by Chikouche *et al.* [21] (0.96 mg/kg) and Jinadasa *et al.* [18] (1.24 and 0.9 mg/kg) in 2010 and 2013, respectively.

Several factors may be involved in explaining the differences between our results and those reported by other authors: Intrinsic factors: Fish size, age, sex, reproductive cycle, diet, and metabolic activity. The latter is proportional to heavy metals' accumulation [22] and extrinsic factors: The environment where fish live, which significantly affects the rate of contaminant accumulation by different organisms, as well as the concentrations of contaminants in the water column of fishing areas, handling, and processing fish during transportation and storage. The fishing season is also an important factor to consider as well as temperature, salinity, pH, and the presence of ligands in the marine environment [22]. Bioaccumulation also depends on the physical and chemical characteristics of the trace element concerned.

The Mediterranean Sea is shallow and almost completely closed; its full renewal takes more than a century by the Strait of Gibraltar (deep only 300 m). This is a real sea outfall of all types of waste and contaminant, as >500 million tons of sewage is discharged

Table-1: Limits of detection and quantification of mercury, cadmium, and lead (mg/kg).

Heavy metals	Cadmium	Lead	Mercury
Limit of detection (3×standard deviation)	0.0103	0.0044	0.0018
Limit of quantification (3×limit of detection)	0.0309	0.0378	0.0054

Table-2: Variations in cadmium, lead, and mercury concentrations in sardine and swordfish flesh (mg/kg fresh weight).

Fish species	n	Mean±SE (Max-Min)		
		Cadmium	Lead	Mercury
Sardine	70	0.55±0.44 (UD-2.11)	2.13±1.12 (0.51-7.53)	0.62±0.16 (0.15-0.89)
Swordfish	30	0.57±1.34 (0.018-7.52)	3.90±2.79 (0.02-11.40)	0.56±0.15 (0.27-0.88)

n=Number of samples, SE=Standard deviation, Min=Minimum, Max=Maximum, UD=Concentration under the limit of detection

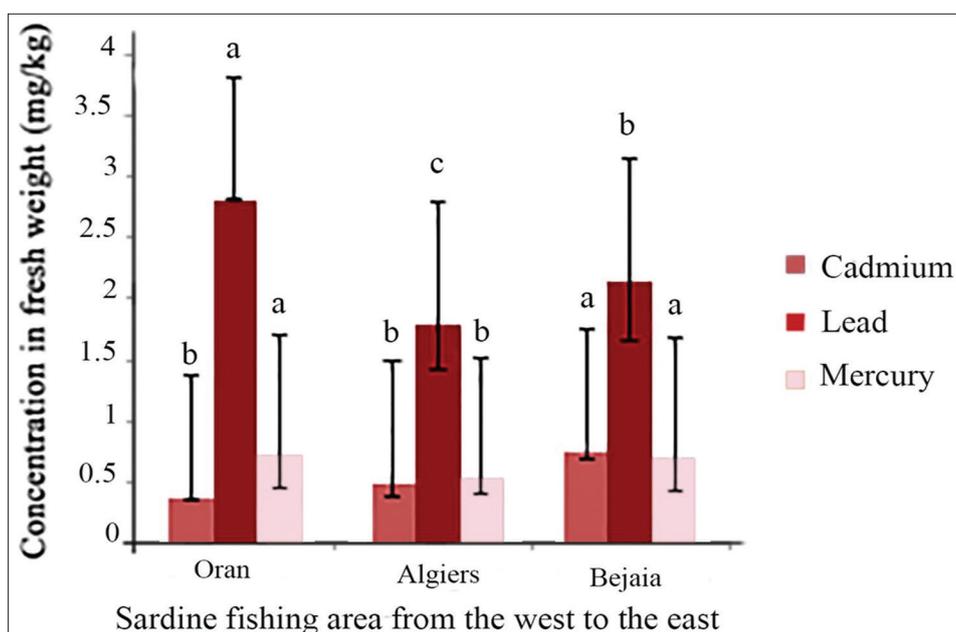


Figure-2: Variations of cadmium, lead, and mercury concentrations in sardine flesh according to the fishing area (mg/kg fresh weight). (a, b, c) Homogeneity between fishing areas for each metal is designed by the same letter.

into every year, of which 120,000 tons of mineral oil, 6000 tons of Pb, and 3600 tons of phosphates [23].

Previous studies carried out on crustaceans and gastropods, considered as indicators of marine pollution, have shown that, on the Algerian east coast, Pb dominates with higher rates [24], while on the west coast, Cd reached 1.89 mg/kg [23].

These results indicate the levels of heavy metal pollution in these two fishing zones, which corroborate our results. In the sardine caught at El Tarf in the east, Ouldali *et al.* [25] reported a Hg concentration of 0.128 mg/kg.

The average concentrations of the three heavy metals in our study were quite high. Anthropogenic sources are numerous in the eastern region, as well as in central and west of the Algerian coast. These three selected fishing areas are the main coastal cities of the Mediterranean basin, but they lack effective purification systems. Where most of the industrial waste ends up, release detergents and other household and industrial chemicals into the sea; making the sea highly polluted. The city of Oran is the fourth polluting city on the Algerian west coast, discharging 140,000 m³/day of wastewater, 90% of them reach the sea directly [24]. The port areas of these three regions have a very important maritime activity related to the oil activity (Algiers, Oran) and commercial and fishing. Marine traffic releases very large quantities of pollutants, in particular, Pb (gasoline from ships, transport of petroleum products, paint from boats etc) and thus contributes to the sea water contamination [24]. The overall contamination averages and those reported by fishing regions reported in sardine exceed by far the thresholds set at 0.3, 0.1, and 0.5 mg/kg, respectively, for Pb, Cd, and Hg by both the Algerian [26] and European regulations [5].

Contamination of swordfish with Cd and Pb

exceeded the thresholds set by the Algerian and European regulations, which is 0.3 mg/kg fresh weight for both metals. Hg's concentrations (0.56 mg/kg), however, remained below the regulatory thresholds set at 1 mg/kg fresh weight.

These high values indicate the serious dangers to which the consumers are exposed, but this is a risk if the probability of exposure and the generalized risk factors for the population are calculated. Since toxicity is linked to the process of bioaccumulation, provisional tolerable weekly doses (PTWI) have been estimated for each metal by the European health authorities.

Conclusion

Sardine and swordfish are contaminated with toxic heavy metals at very high levels which are exceeding the thresholds established by the Algerian and the European health authorities.

The sardine samples collected in different fishing areas show the variation of the contamination, related to the numerous sources of contamination whether natural or especially anthropic. Sardine is the most consumed fish in Algeria due to its low market price and availability, the average contamination, we reported the serious potential danger it poses to the consumer. A subsequent study of the probability of exposure will strengthen the estimate of the health risk incurred. The exhaustive and periodic control of heavy metals in fish caught locally is not mandatory, the Algerian health authorities, in terms of public health, must be concern about the toxic dangers of heavy metals in sardine and swordfish, and the risks consumer is exposed to.

Authors' Contributions

FM planned the study and drafted the manuscript

under supervision of LB. FM and LB designed the experimental protocol. FM collected and analyzed the samples. FR participated in the analysis of the samples. FM did the statistical analysis. FM, LB, OA, and AHH corrected the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgments

The authors are grateful to all the staff of toxicology service of the Army Stewardship Bureau (Algiers, Algeria) and to the staff of the National Center of Toxicology, who allowed us to perform the toxicological analysis. We also express our gratitude to the staff of the Ministry of Fisheries, without forgetting, Dr. Ali Ahmed Samira and Dr. Berdrani Larbi. This study did not receive any funding.

Competing Interests

The authors declare that they have no competing interests.

Publisher's Note

Veterinary World remains neutral with regard to jurisdictional claims in published map and institutional affiliation.

References

1. Olmedo, P., Pla, A., Hernández, A.F., Barbier, F., Ayouni, L. and Gil, F. (2013) Determination of toxic elements (mercury, cadmium, lead, tin and arsenic) in fish and shellfish samples. Risk assessment for the consumers. *Environ. Int.*, 59: 63-72.
2. Elhussien, M.E. and Adwok, B.A. (2018) Determination of heavy metals in fish and water of White Nile during watery diarrhea outbreak from June to July, 2017, Gezira Aba-Sudan. *Sci. J. Anal. Chem.*, 6(1): 1-6.
3. Genc, T.O. and Yilmaz, F. (2018) Heavy metals content in water, sediment, and fish (*Mugil cephalus*) from Koycegiz lagoon system in Turkey: Approaches for assessing environmental and health risk. *J. Agric. Sci. Technol.*, 20(1): 71-82.
4. El-Moselhy, K.M., Othman, A.I., Abd El-Azem, H. and El-Metwally, M.E.A. (2014) Bioaccumulation of heavy metals in some tissues of fish in the Red Sea, Egypt. *Egypt. J. Basic Appl. Sci.*, 1(2): 97-105.
5. Canli, M., Kalay, M. and Ay, O. (2001) Metal (Cd, Pb, Cu, Zn, Fe, Cr, Ni) concentrations in tissues of a fish *Sardina pilchardus* and prawn *Penaeus japonicus* from three stations on the Mediterranean Sea. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 67(1): 75-82.
6. Chahid, A., Hilali, M., Benlhachimi, A. and Bouzid, T. (2014) Contents of cadmium, mercury and lead in fish from the Atlantic sea (Morocco) determined by atomic absorption spectrometry. *Food Chem.*, 147: 357-360.
7. Jinadasa, B.K.K., Rameesha, L.R.S., Edirisinghe, E.M.R. and Rathnayake, R.M.U. (2010) Mercury, cadmium and lead levels in three commercially important marine fish species of in Sri Lanka. *Sri Lanka J. Aquat. Sci.*, 15: 39-43.
8. Tuzen, M. (2009) Toxic and essential trace elemental contents in fish species from the black sea, Turkey. *Food Chem. Toxicol.*, 47(8): 1785-1790.
9. Ministry of Fisheries and Fishery Resources. (2014) Statistical Data of the National Production of Sardine in Algeria. Ministry of Fisheries and Fishery Resources.
10. Ministry of Spatial Planning and Environment. (2003) State

- of the Environment Report. Ministry of Spatial Planning and Environment.
11. GDF/SDFS/SDFQ/N2010-8303. (2011) Chemical Contaminants Monitoring Plan of the Aquatic Environment in the Products of the Fishing Program. p2-6.
12. Zaza, S., De Balogh, K., Palmery, P., Pastorelli, A.A. and Stacchini, P. (2015) Human exposure in Italy to lead, cadmium and mercury through fish and seafood product consumption from Eastern central Atlantic fishing area. *J. Food Compos. Anal.*, 40: 148-153.
13. Waldichuk, M. (1977) Global Marine Pollution: Overview. Inter-Governmental Oceanographic Commission Technical Series, Canada. p104.
14. El Morhit, M., Fekhaoui, M., El abidi, A. and Yahyaoui, A. (2012) Metallic contamination of the muscles of five species of fish in the lower Loukkos estuary (Moroccan Atlantic coast). *Sci. Lib.*, 4: 2111-4706.
15. Amani, S., Lamia, A. and Albedair, L.A. (2012) Evaluation of some heavy metals in certain fish, meat and meat products in Saudi Arabian markets. *Egypt. J. Aquat. Res.*, 38(1): 45-49.
16. El Morhit, M., Fekhaoui, M., El Morhit, A., Élie, P. and Yahyaoui, A. (2013) Hydrochemical characteristics and metallic quality in fish in the Loukkos river estuary of Morocco. *J. Mater. Environ. Sci.*, 4(6): 893-904.
17. Yabanli, M. (2013) Assessment of the heavy metal contents of *Sardina pilchardus* sold in Izmir, Turkey. *Ekoloji*, 22(87): 10-15.
18. Jinadasa, B.K.K., Edirisinghe, E.M.R. and Wickramasinghe, I. (2013) Total mercury content, weight and length relationship in swordfish (*Xiphias gladius*) in Sri Lanka. *Food Addit. Contam.*, 6(4): 244-248.
19. Kagi, J.H. and Schaffer, A. (1998) Biochemistry of metallothione. *Biochemistry*, 27(23): 8509-8515.
20. Moualek, M. (1992) The Bioaccumulation Approach in Swordfish (*Xiphias gladius*) Fished in Ghazaout by the Determination of Certain Heavy Metals (Fe, Zn, Pb, Cu, Hg and Cd). End-of-Study Dissertation. Higher National School of Marine Sciences and Coastal Planning (ENSSMAL) Algiers. p117.
21. Chikouche, A., Benbouabdellah, S.S., Djerroud, D.D., Lamara, N., Abtroun, R. and Alamir, B. (2014) Estimation of Mercury Contamination Level of the Fish from Algiers Shores. International Congress. Global Environmental Contamination: Challenges for the Well-Being of the Human Brain, Luxembourg, France.
22. Kim, J.H. and Kang, J.C. (2015) The lead accumulation and haematological findings in juvenile rock fish (*Sebastes schlegelii*) exposed to the dietary lead(II) concentrations. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 115: 33-39.
23. Laaz, I. and Makhloufi, M. (2011) Assessment of Marine Pollution at the Bay of Oran. Final Dissertation. University of Science and Technology of Oran-Mohamed BOUDIAF. Option: Waste Management and Ecosystem Pollution. p65.
24. Ghorab, I. and Khebbeb, M.H. (2012) Assessment of heavy metal concentrations (lead, cadmium and zinc) in three crustacean species fished for in two regions of Eastern Algeria. *Ann. Biol. Res.*, 3(6): 2838-2842.
25. Ouldali, O., Chikh-Salah, H. and Hadjadj, S. (2012) Evaluation of the Mercury Content in Sardines (*Sardina pilchardus*) of the Algerian coasts. International Symposium on Biosafety of Ecosystems. Faculty of Sciences of Nature and Life and Laboratory of Agro-Biotechnology and Nutrition in Semi-Arid Zone. Ibn Khaldoun University of Tiaret, Algeria. p57.
26. Official Journal of the Algerian Republic Inter-ministerial Order of 30 Moharram 1432 Corresponding (2011) Fixing the presence of threshold levels of chemical contaminants.



Analysis and risk assessment of arsenic, cadmium and lead in two fish species (*Sardina pilchardus* and *Xiphias gladius*) from Algerian coastal water

Fetta Mehouel, Leila Bouayad, Ali Berber, Inge Van Hauteghem & Mieke Van de Wiele

To cite this article: Fetta Mehouel, Leila Bouayad, Ali Berber, Inge Van Hauteghem & Mieke Van de Wiele (2019): Analysis and risk assessment of arsenic, cadmium and lead in two fish species (*Sardina pilchardus* and *Xiphias gladius*) from Algerian coastal water, Food Additives & Contaminants: Part A, DOI: [10.1080/19440049.2019.1634840](https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1634840)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1634840>

 View supplementary material [↗](#)

 Published online: 18 Jul 2019.

 Submit your article to this journal [↗](#)

 View Crossmark data [↗](#)



Analysis and risk assessment of arsenic, cadmium and lead in two fish species (*Sardina pilchardus* and *Xiphias gladius*) from Algerian coastal water

Fetta Mehoul ^{a,b}, Leila Bouayad^a, Ali Berber^b, Inge Van Hauteghem^c and Mieke Van de Wiele^c

^aLaboratory of Food Hygiene and Quality Insurance System (HASAQ), High National Veterinary School, Algiers, Algeria; ^bBiotechnology Laboratory of Animal Reproduction, Institute of Veterinary Sciences of Blida 1, Blida, Algeria; ^cFederal Laboratory for the Safety of the Food Chain Gentbrugge (FLSFC-G) of the Federal Agency for the Safety of the Food Chain (FASFC), Gentbrugge, Belgium

ABSTRACT

In this study, the levels of arsenic (As), cadmium (Cd) and lead (Pb) have been determined in the flesh of two species of fish, sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) fished in the Algerian coast. Quantification of As, Cd and Pb was carried out using an ICP-MS method and the results were compared with the thresholds set by national and international regulatory bodies. In a further step, the risk to consumers was assessed using estimated daily intake (EDI), target hazard quotient (THQ) and hazard index (HI). The average concentration of As and Pb was higher in sardine (1.82; 0.10 mg kg⁻¹ w.w., respectively), than in swordfish (1.10 mg kg⁻¹ w.w.; not determined), whereas the concentration recorded for Cd was the same for both species (0.01 mg kg⁻¹ w.w.). These concentrations are below maximum limits set in regulations. The THQs and HI were widely below 1. The consumption of these fish does not pose risk to the consumers.

ARTICLE HISTORY

Received 10 February 2019
Accepted 16 June 2019

KEYWORDS

Sardine; swordfish; heavy metals; target hazard quotient; hazard index; risk

Introduction

Fish consumption has increased in the recent years (Galimberti et al. 2016) as it is recognized as an important part of a balanced human diet containing high levels of many important nutrients that are not commonly found in other foods. Fish is an excellent source of proteins, omega-3 fatty acids, vitamins, selenium and calcium, the two essential omega-3 fatty acids known as DHA (docosahexaenoic acid) and EPA (eicosapentaenoic acid) which may prevent blood clots, improve blood pressure, stabilize heart rhythms and reduce the risk of a heart attack. Despite the demonstrated positive health effects of fish, it can also contain contaminants and undesirable substances such as heavy metals, PCBs, pesticides, dioxins and PAHs, which may have harmful effects on human health (Varol et al. 2017). Heavy metals are one of the most important contaminants in the aquatic ecosystems due to their toxicity, long persistence, bioaccumulation and biomagnification in the food chain (Varol et al. 2017). Lead, cadmium and arsenic are non-essential elements occupying top positions in all lists of toxicants (Storelli et al. 2005). Accumulating in

fish they can lead to serious adverse health effects in humans, such as liver and kidney damage, nervous system disorders, cardiovascular diseases, haematological effects, developmental anomalies, reproductive effects and cancer when consumed in amounts exceeding safe consumption levels (Varol et al. 2017). For this reason, analysis of contaminants in fishery products is one of the most important activities to take into consideration when controlling their safety. One of the major pathways of human exposure to metal/loids is the fish consumption, reaching >90% compared to other routes of exposure. Therefore, risk assessment of metal/loids via dietary intake is an important issue. The United States Environmental Protection Agency (USEPA) has proposed several methods for the assessment of potential human health risk; such as estimate the target hazard quotient (THQ), hazard index (HI) and the carcinogenic risk (CR) (Griboff et al. 2017). The objective of the present study was to measure As, Cd and Pb concentrations in the muscle tissue of sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) and to conduct a risk assessment due to consumption of those fish.

CONTACT Fetta Mehoul  fetta_mehoul@yahoo.com  Institute of Veterinary Sciences of Blida 1, Blida, Algeria, laboratory of Food Hygiene and Quality Insurance System (HASAQ), High National Veterinary School, Algiers, Algeria

 Supplemental data for this article can be accessed on the [publisher's website](#).

© 2019 Taylor & Francis Group, LLC

Materials and methods

Sample collection

A total of 87 samples of sardine (*Sardina pilchardus*) ($n = 43$) and swordfish (*Xiphias gladius*) ($n = 44$) were collected from April to September 2017 from three major fishing ports in Algeria, 15 samples of sardine and 20 samples of swordfish were collected from the coast of Algiers (North Centre, NC), 12 and 13 from the coast of Bejaia (North East, NE), 15 and 11 from the coast of Oran (North West, NW). The sampling procedure was carried out according to the (EU 2016) regulation. The number of elemental samples that make up each aliquot varies according to the weight of the lot: elemental samples of 100 g in a number of 3, 5 and 10 were used if the weight of the lot was <50 kg, 50 kg $<$ weight <500 kg or >500 kg, respectively. The samples were placed immediately in bags and transported to the laboratory in ice box for preparation.

Sample preparation

The preparation of the samples for the analysis was carried out according to the requirements of the European standard EN 13804 (2013), in the laboratory of the National Center for Toxicology (CNT) in Algiers for the samples of the NC and NE and at the Federal Laboratory for the Safety of Food Chain Gentbrugge (FLSFC-G) of the Federal Agency for the Safety of the Food Chain (FASFC) in Gentbrugge (Belgium) for those of the NW. Test samples were quickly prepared after the arrival of the fish in the laboratory. The fish were rinsed with potable water before cutting to prevent leaching of the cut surfaces, then rinsed with distilled water. In the sardine samples, all inedible parts were removed. Swordfish samples were rinsed and peeled. Only the flesh was used for subsequent analysis. From each sample, 100 g of matrix obtained was homogenized using a grinder (Retsch Grindomix 200, Germany), labelled and placed in small closed black plastic bags and stored at -18°C .

Sample treatment (Digestion)

Digestion was carried out according to the requirements of the European standard EN

13805 (2014). Homogenized fish matrix (1 g) was weighted in 70 mL blank Teflon vessels (MARS Xpress, USA), 4 mL of nitric acid supra-pur 69–70% (J.T. Baker, USA) and 2 mL of hydrogen peroxide 30% (J.T. Baker, USA) (to avoid depositing the sample on the walls of the container and to obtain a homogeneous mixture with the acid) were added for digestion, and the digestion vessel was hermetically closed. The tubes were shaken with an agitator (IKA^R VORTEX GENIUS 3, USA) then were placed in the microwave destruction apparatus (MAR SX press, USA) for 35 min at 120°C followed by 45 min at 185°C . To reduce the overpressure, the pressure vessel was cooled still sealed to a temperature below 40°C . Subsequently, distilled water was added to the digestion solutions.

Analysis and calibration

The determination of Cd, Pb and As was performed using the inductively coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS) (Perkin Elmer Sciex, USA), according to the method European Standard EN 15763 (2010). Test sample (2 mL) was pipetted into a sample container, 8 mL of water and 0.1 mL of the diluted internal standard solution (SCP33MS, Belgium) (1000 mg/L) were added and the tube was shaken in order to mix the reagents.

The calibration solutions were obtained from a standard multi-element stock solution (SCP, Germany): $2\ \mu\text{g L}^{-1}$, $5\ \mu\text{g L}^{-1}$, $10\ \mu\text{g L}^{-1}$, $20\ \mu\text{g L}^{-1}$, $100\ \mu\text{g L}^{-1}$ for calibration. The concentration calculation was performed automatically by the ICP-MS (Perkin Elmer Sciex, USA) instrument software, and the results were shown on the computer (Hewlett Packard, USA) attached to the instrument, expressed as mg kg^{-1} dry weight of fish.

The limit of detection was estimated as the precision (three times the standard deviation) at or near zero concentration (mass fraction) determined under reproducibility conditions; the limit of quantification, or lowest concentration (mass fraction) with satisfactory measurement uncertainty is twice the limit of detection. The results are shown in Table 1.

Table 1. Limits of detection and quantification of As, Cd and Pb (mg/kg).

	As	Cd	Pb
Limit of detection	0.010	0.005	0.010
Limit of quantification	0.020	0.010	0.020

Quality control of the analysis

Analytical performance was verified by analysing Certified Reference Materials; Cereals and derivatives (BIPEA, Belgium) with Internal reference number (15350395) with known concentrations of the metals (As = 0.332 mg kg⁻¹ w.w.) (Cd = 0.406 mg kg⁻¹ w.w.) (Pb = 0.851 mg kg⁻¹ w.w.). These Certified Reference Materials were analyzed during all stages of the method, from the digestion on and simultaneously with the samples. The results were in good agreement with the certified values located in these intervals (0.255–0.408) for As; (0.305–0.508) for Cd and (0.553–1.149) for Pb.

Statistical analysis

Microsoft Excel[®] (2007) software was used for calculating averages, standard deviation, minimum and maximum values. Statistical analyses were carried out using the software R version (3.0.2). The Chapiro-Wallik normality test was used. The non-parametric Mann-Whitney test was used to compare the differences in the metal content studied in the two species (sardine and swordfish) (significant difference at a probability threshold of less than 5%). The Kruskal-Wallis test was conducted to compare the difference in the heavy metal content of both species in the study areas.

Risk assessment for sardine and swordfish consumption

The risk assessment was prepared using estimated dietary intakes (EDI/EWI), target hazard quotient (THQ) and hazard index (HI).

Determination of the estimated daily intake (EDI) for As, Cd and Pb

The average concentrations of the metals analyzed were used to determinate the estimated daily intake (EDI) (µg/kg/day) for an Algerian adult weighing in an average of 60 kg and consuming

9.7 g per day (MFFR 2018). The EDI was calculated using the following equation (Ju et al. 2017):

$$EDI = \frac{C \times DC}{BW} \quad (1)$$

where C: the mean concentration of heavy metals in fish flesh (µg/g), DC: the daily fish consumption (g/day), BW: the mean body weight of population (kg).

Determination of the target hazard quotient (THQ)

The target hazard quotient (THQ) is a complex parameter introduced by the United States Environmental Protection Agency and is commonly used to assess the potential of non-carcinogenic risks associated with long-term exposure to contaminants, such as heavy metals from foods such as fish and water. THQ represents the ratio of chronic daily intake of metals studied (EDI) in (mg/kg/day) to the oral reference dose (RfD) also expressed in (mg/kg/day). In addition, THQ parameter does not estimate the risk; it only indicates a level of risk associated with exposure to pollutants, if the value of THQ is <1, it means that there are no adverse effects for the exposed population, when THQ > 1, there is a potential risk related to the metal studied in the exposed population (Ahmad and Sarah 2015). The THQ was calculated using the following equation (Orosun et al. 2016):

$$THQ = \frac{EFr \times ED_{tot} \times FIR \times C}{RfDo \times BW \times ATn} \times 10^{-3} \quad (2)$$

where EFr stands for the frequency of exposure (365 days/year), ED_{tot} the period of exposure (adults: 70-year-olds), FIR the food-intake rate (g/day), C the mean As, Cd or Pb concentrations in sardine and swordfish muscular tissue (mg kg⁻¹), RfDo the oral reference dose of As, Cd or Pb fixed by US EPA are: 3 × 10⁻⁴; 1 × 10⁻³; 2 × 10⁻³ mg/kg/day, respectively (US EPA 2017). BW is the average body weight (60 kg of body weight refers to adult people) and AT_n the period of average exposure for non-carcinogens (365 days/year × number of exposure years, 70 years).

Determination of the hazard index (HI)

This is the sum of the hazard quotients for substances that affect the same organ or target organ systems. Ideally, hazard quotients should be

combined for pollutants that cause adverse effects through the same toxic mechanism. As with the hazard quotient, overall exposures below 1 calculated using hazard quotients are unlikely to result in any non-carcinogenic adverse health effects during a lifetime of exposure and would normally be considered as acceptable (USEPA 2017).

The hazard index (HI) from THQs is expressed as the sum of the hazard quotients, using the following equation (Núñez et al. 2018):

$$HI = THQ(As) + THQ(Cd) + THQ(Pb) \quad (3)$$

Results

Heavy metals concentrations

Limits of the detection and limits of quantification

The detection limits of As, Cd and Pb were 0.010; 0.005 and 0.010 mg/kg, respectively as shown in Table 1.

Heavy metals concentrations in the flesh of sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*)

Total concentrations of As, Cd and Pb in the flesh of sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) are shown in Table 2. The results show that As is the metal with the highest concentration in both species with a higher concentration in sardine than in swordfish (1.82 ± 0.81 ; 1.10 ± 0.92 mg/kg w.w) respectively; a non-parametric Mann–Whitney test showed a significant difference (P -value = $5.6 \times 10^{-9} < 0.05$). Pb was also higher in sardine (0.10 ± 0.12 mg/kg w.w) but was not detected in the swordfish; the non-parametric Mann–Whitney test showed no significant difference (p -value = $0.7837 > 0.05$). Cd was the metal with the lowest concentration, with the average concentrations the same in both species; a non-

Table 2. Concentration of As, Cd and Pb in the flesh of sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) (mg/kg w.w).

	Sardine (<i>Sardina pilchardus</i>) (n = 43)		Swordfish (<i>Xiphias gladius</i>) (n = 44)	
	Mean \pm SD	Min.-Max.value	Mean \pm SD	Min.-Max.value
As	1.82 ± 0.81	0.91–3.49	1.10 ± 0.92	0.48–6.57
Cd	0.01 ± 0.08	ND- 0.01	0.01 ± 0.001	ND- 0.01
Pb	0.10 ± 0.12	ND- 0.08		

n: number of samples; SE: standard deviation; Min: minimum; Max: maximum, ND: concentration no detection.

parametric Mann–Whitney test showed a significant difference (p -value = $9.306 \times 10^{-5} < 0.05$).

We compared heavy metals concentrations for the two studied species between the three fishing regions by use of the Kruskal–Wallis test. This test showed that differences were small and not correlated to sources of contamination (Supplementary data Tables S1 and S2).

Risk assessment for the consumer

Estimated dietary intake ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{body weight}/\text{day}/\text{week}$) for the intake of As, Cd and Pb in sardine and swordfish

The estimated weekly intakes (EWI) of arsenic were the highest (2.03; 1.26 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{bw}/\text{week}$) for sardine and swordfish, respectively, followed by the EWI of Pb in the case of sardine (0.112 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{bw}/\text{week}$), that of swordfish could not be estimated, and last cadmium with a EWI (0.0112 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{bw}/\text{week}$) for the sardine and swordfish (Table 3).

Target hazard quotient (THQ) and hazard index (HI)

The results shown in Table 4 indicate that THQ and HI are less than 1.

Discussion

Heavy metal concentrations in the flesh of sardine and swordfish

The fish flesh was examined in this study because it is the most consumed part of the fish. The detection limit of Cd (Table 1) was lower than that obtained in our previous study in 2016 (Mehouel et al. 2019), whereas the Pb limit was higher in this study than in the previous study (Mehouel et al. 2019), and (Núñez et al. 2018) reported a higher value for the detection limit for As. These

Table 3. Estimated Dietary Intake ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{bw}/\text{day}/\text{week}$) for the intake of As, Cd and Pb in sardine and swordfish.

Heavy metals	EDI	EWI	Established PTWI	Established PTWI
			by EFSA	by JECFA
As	Sardine 0.29	2.03	-	15(As inorganic)
	Swordfish 0.18	1.26		(JECFA 2011a)
Cd	Sardine 0.0016	0.0112	2.5	7
	Swordfish 0.0016	0.0112	(EFSA 2011)	(JECFA 2011b)
Pb	Sardine 0.016	0.112	-	25
	Swordfish -	-		(JECFA 2011c)

Table 4. Estimated of target hazard quotient (THQ) and hazard index (HI).

	THQ (As)	THQ (Pb)	THQ (Cd)	HI
Sardine	9.8×10^{-4}	8.08×10^{-6}	1.61×10^{-6}	9.89×10^{-4}
Swordfish	5.92×10^{-4}	-	1.61×10^{-6}	5.93×10^{-4}

variations are explained by differences in analytical conditions that include different matrices, analytical methodology and equipment.

The average concentration of As in the flesh of sardine (*Sardina pilchardus*) in the present study (Table 2), caught in Algerian coasts was higher than that reported by Olmedo et al. (2013) in Andalusia, Spain (Mediterranean coast) and by GÜngör and Kara (2018) in Turkey (Marmara Sea) in March. The concentrations were lower than that reported by Zmozinski et al. (2015) in Spain, Kalantzi et al. (2017) in Greece and GÜngör and Kara (2018) in Turkey (Marmara Sea) in September. The Cd concentration average recorded in our study was higher than reported by Okyere et al. (2015) in Ghana and Olmedo et al. (2013) in Andalusia, Spain (Mediterranean Coast), while it was lower than we reported in our previous study in 2016 (Mehouel et al. 2019) and that reported by Chahid et al. (2014) in the Atlantic Sea (Morocco). For Pb, the average concentration we recorded was higher than reported by (Chahid 2016) on the Moroccan coast (Agadir, Laayoune, Essaouira, Sidi Ifni) while that reported in Dakhla was slightly higher. This concentration was also lower than we reported in our previous study in 2016 (Mehouel et al. 2019).

In swordfish, the average concentration of As obtained (Table 2) was greater than reported by Bodin et al. (2017) in the western Indian Ocean, while Storelli et al. (2005) in the Ionian Sea (Mediterranean) and Cano-Sancho et al. (2015) in Spain reported significantly elevated concentrations. The Cd concentration was higher than reported by Iamiceli et al. (2015) in the Tyrrhenian and Ionian Sea (Mediterranean Sea) and Bodin et al. (2017) in the western Indian Ocean, but was lower than reported by others authors such as Gobert et al. (2017) (Mediterranean Sea) and Zaza et al. (2015) in the central Atlantic. The average concentration of Pb in the flesh of swordfish was lower than recorded by Gobert et al. (2017) in the Mediterranean sea; Zaza et al. (2015) in the central Atlantic Ocean.

Bodin et al. (2017) reported similar concentration in the Western Indian Ocean to the levels we recorded.

The results of the As, Cd and Pb contamination of sardine are respectively 1.82; 0.01; 0.1 mg/kg and those of swordfish are: 1.10; 0.01; <LOD mg/kg (Table 2). The interspecific variations in trace element levels confirm that bioaccumulation depended on the species considered, therefore, on its physiological capacity for assimilation and excretion of the ingested trace element and its anatomy (size, nature of the integuments, surface of contact with water, etc.) (Ouro-Sama et al. 2014). In the two species, the As was the metal dominant and the highest concentration was registered in the flesh of sardine. Bio-magnification did not occur with arsenic, concentrations decreased as the trophic level increased (Mcintyre and Linton 2011) which corroborate our results. This difference could also be related to differences in tissue distribution and excretory patterns between fish species with arsenobetaine (Fathimath 2015). In the case of Pb, where the concentration is higher in sardine flesh than swordfish, and the similar concentration in cadmium, this could be explained by the tropism of heavy metals that accumulate more in the viscera only in the muscle (flesh) (Kojadinovic et al. 2007). The high Pb concentration in sardine flesh may also be related to its highest environmental Pb exposure to swordfish who is a migratory fish.

The concentrations of heavy metals studied (As, Cd and Pb) in the flesh of sardine and swordfish caught in three zones of the Algerian littoral they are below the thresholds set by the Algerian and European regulations (EU 2011; OJPDRA 2011) except for As in the sardine of the north-east (2.98 mg/kg w.w) which exceeded the limit set by the food standards of Australia and New Zealand (ANZFSC 2011) (2 mg/kg w.w) (Table 2).

Risk assessment

The values of estimated dietary intake were lower than the provisional tolerable weekly intake (PTWI) established by the European Food Safety Authority (EFSA) and Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) (Table 3) which means that there was no significant risk for the Algerian population consuming sardine and swordfish.

The results in Table 4 show that the target hazard quotient (THQ) and the calculated hazard index (HI) are much lower than 1, in addition to the daily and weekly doses we estimated which were below tolerable doses, indicating that the consumption of sardine and swordfish does not present any non-carcinogenic risk to the Algerian population eating these two fish.

Conclusions

The average concentrations of As, Cd and Pb obtained in the flesh of these two species studied are within the normal anticipated range. The species and the fishing area are two important factors that influence the bioaccumulation of these metals. The risk assessment carried out in this study by estimating the dietary intake (EDI/EWI), the target hazard quotient (THQ) and the hazard index (HI) shows that these values were lower than the values set by EFSA and JECFA, as well as the THQ and HI were less than 1. For this reason, it was concluded that the consumption of these two fish species do not pose risk non-carcinogenic and were safe for the Algerian consumer.

Acknowledgments

The authors would like to extend their thanks to the Federal Laboratory for the Safety of the Food Chain Gentbrugge (FLSFC-G) of the Federal Agency for the Safety of the Food Chain (FASFC) (Belgium) and the laboratory of the National Center for Toxicology (CNT) in Algiers (Algeria) for their technical assistance and support. Special thanks go to Dr. Kamilou Ouro-sama and Dr. Michel Marengo for their support. This study did not receive any funding.

Declaration of interest statement

The authors declare no conflict of interest.

ORCID

Fetta Mehoul  <http://orcid.org/0000-0001-9771-2183>

References

Ahmad A, Sarah A. 2015. Human health risk assessment of heavy metals in fish species collected from catchments of former tin mining. *Int J Res Stud Sci Eng Tech.* 2:9–21.

- [ANZFSC] Australia New Zealand Food Standards Code. 2011. Standard 1.4.1- Contaminants and Natural Toxicants (F2011C00542); [accessed 2017 Nov 28]. <http://www.comLaw.gov.au/Details/F2011C00542/>.
- Bodin N, Lesperance D, Albert R, Hollanda S, Michaud P, Degroote M, Churlaud C, Bustamante P. 2017. Trace elements in oceanic pelagic communities in the western Indian Ocean. *Chemosphere.* 174:354–362.
- Cano-Sancho G, Perelló G, Maulvault AL, Marques A, Nadal M, Domingo JL. 2015. Oral bioaccessibility of arsenic, mercury and methylmercury in marine species commercialized in Catalonia (Spain) and health risks for the consumers. *Food Chem Toxicol.* 86:34–40.
- Chahid A. 2016. Quantification des éléments traces métalliques (cadmium, plomb et mercure total) de certains produits de la pêche débarqués dans la zone Essaouira-Dakhla: Evaluation des risques sanitaires [Thèse de doctorat]. université Ibn Zohr-Agadir Maroc.
- Chahid A, Hilali M, Benlhachimi A, Bouzid T. 2014. Contents of cadmium, mercury and lead in fish from the Atlantic sea (Morocco) determined by atomic absorption spectrometry. *Food Chem.* 147:357–360.
- [EFSA] European Food Safety Authority. 2011. Statement on tolerable weekly intake for cadmium. [accessed 2018 Feb 10]. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2011.1975epdf/>.
- [EU] European Union. 2011. Amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, Commission Regulation No 420/2011 of 29 April 2011, Official Journal of the European Union L 111/3.
- [EU] European Union. 2016. Amending Regulation (EC) No 333/2007 as regards the analysis of inorganic arsenic, lead and polycyclic aromatic hydrocarbons and certain performance criteria for analysis, Commission Regulation No 582/2016 of 16 April 2016, Official Journal of the European Union L 101/3.
- Fathimath M. 2015. Accumulation of trace elements in aquatic food chains due to sea-fill activities [D. Phil thesis]. University of Canterbury, Christchurch (New Zealand). [accessed 2019 Jun]. https://ir.canterbury.ac.nz/bitstream/handle/10092/11125/thesis_fulltext.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- Galimberti C, Corti I, Cressoni M, Moretti VM, Menotta S, Galli U, Cambiaghi D. 2016. Evaluation of mercury, cadmium and lead levels in fish and fishery products imported by air in North Italy from extra-European Union Countries. *Food Control.* 60:329–337.
- Gobert S, Pasqualini V, Dijoux J, Lejeune P, Durieux ED, Marengo M. 2017. Trace element concentrations in the apex predator swordfish (*Xiphias gladius*) from a Mediterranean fishery and risk assessment for consumers. *Mar Pollut Bull.* 120:364–369.
- Griboff J, Wunderlin DA, Monferran MV. 2017. Metals, As and Se determination by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in edible fish collected from three eutrophic reservoirs. Their consumption represents a risk for human health? *Microchem J.* 130:236–244.

- Güngör A, Kara D. 2018. Toxicities and risk assessment of heavy metals of the six most consumed fish from the Marmara Sea. *Environ Sci Pollut Res.* 25:2672–2682.
- Iamiceli A, Ubaldi A, Lucchetti D, Brambilla G, Abate V, De Felip E, De Filippis SP, Dellatte E, De Luca S, Ferri F, et al. 2015. Metals in Mediterranean aquatic species. *Mar Pollut Bull.* 94:278–283.
- [JECFA] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 2011a. Safety evaluation of certain food additives and contaminants, Arsenic; [accessed 2018 Feb 10]. [72ND_2011_Arsenic.pdf](#).
- [JECFA] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 2011b. Safety evaluation of certain food additives and contaminants, Cadmium; [accessed 2018 Feb 10]. [73rd_2011_cadmium.pdf/](#).
- [JECFA] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 2011c. Safety evaluation of certain food additives and contaminants, Lead; [accessed 2018 Feb 10]. [73rd_2011_Lead.pdf/](#).
- [OJPDR] Official Journal of the People's Democratic Republic of Algeria. 2011. Inter-ministerial Order of 30 Moharram 1432 corresponding to 5 January 2011. Fixing the presence of threshold levels of chemical contaminants, microbiological and toxicological in fishery products and aquaculture.
- Ju Y-R, Chen C-W, Chen C-F, Chuang X-Y, Dong C-D. 2017. Assessment of heavy metals in aquaculture fishes collected from southwest coast of Taiwan and human consumption risk. *Int Biodeterior Biodegradation.* 124:314–325.
- Kalantzi I, Mylona K, Sofoulaki K, Tsapakis M, Pergantis SA. 2017. Arsenic speciation in fish from Greek coastal areas. *J Environ Sci.* 56:300–312.
- Kojadinovic J, Potier M, Le Corre M, Cosson RP, Bustamante P. 2007. Bioaccumulation of trace elements in pelagic fish from the Western Indian Ocean. *Environ Pollut.* 146:548–566.
- Mcintyre DO, Linton TK. 2011. Arsenic. Homeostasis and toxicology of non-essential metals. Copyright 1st ed. New York (NY): Elsevier; p. 297–349.
- Mehouel F, Bouayad L, Hammoudi AH, Ayadi O, Regad F. 2019. Evaluation of the heavy metals (mercury, lead, and cadmium) contamination of sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) fished in three Algerian coasts. *Vet World.* 12:7–11.
- [MFFR] Ministry of Fisheries and Fishery Resources. 2018. Statistical Data of the consumption of fish in Algeria.
- Núñez R, García MÁ, Alonso J, Melgar MJ. 2018. Arsenic, cadmium and lead in fresh and processed tuna marketed in Galicia (NW Spain): risk assessment of dietary exposure. *Sci Total Environ.* 627:322–331.
- Okyere H, Voegborlo R, Agorku S. 2015. Human exposure to mercury, lead and cadmium through consumption of canned mackerel, tuna, pilchard and sardine. *Food Chem.* 179:331–335.
- Olmedo P, Pla A, Hernández A, Barbier F, Ayouni L, Gil F. 2013. Determination of toxic elements (mercury, cadmium, lead, tin and arsenic) in fish and shellfish samples. Risk Assessment for the Consumers. *Environ Int.* 59:63–72.
- Orosun M, Tchokossa P, Orosun R, Akinyose F, Ige S, Oduh V. 2016. Determination of selected heavy metals and human health risk assessment in fishes from Kiri Dam and River Gongola, Northeastern Nigeria. *J Phys Chem Biophys.* 6:1–6.
- Ouro-Sama K, Solitoke H, Gnandi K, Afiademanyo K, Bowessidjaou E. 2014. Évaluation et risques sanitaires de la bioaccumulation de métaux lourds chez des espèces halieutiques du système lagunaire togolais. [Vertigo] *La Revue Électronique en Sciences de l'environnement*, 14 (2).
- Storelli MM, Giacomini-Stuffler GR, Storelli A, Marcotrigiano GO. 2005. Accumulation of mercury, cadmium, lead and arsenic in swordfish and bluefin tuna from the Mediterranean Sea: a comparative study. *Mar Pollut Bull.* 50:1004–1007.
- [US EPA] United States Environmental Protection Agency. 2017. Human health risk assessment; [accessed 2018 Mar 2]. <https://www.epa.gov/risk/human-health-risk-assessment>.
- Varol M, Kaya GK, Alp A. 2017. Heavy metal and arsenic concentrations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farmed in a dam reservoir on the Firat (Euphrates) River: risk-based consumption advisories. *Sci Total Environ.* 599:1288–1296.
- Zaza S, de Balogh K, Palmery M, Pastorelli AA, Stacchini P. 2015. Human exposure in Italy to lead, cadmium and mercury through fish and seafood product consumption from Eastern Central Atlantic Fishing Area. *J Food Compos Anal.* 40:148–153.
- Zmozinski AV, Llorente-Mirandes T, López-Sánchez JF, Da Silva MM. 2015. Establishment of a method for determination of arsenic species in seafood by LC-ICP-MS. *Food Chem.* 173:1073–1082.

Risk assessment of mercury and methyl mercury intake via sardine and swordfish consumption in Algeria

F. Mehoul ^{*1,2}, L. Bouayad¹, A. Berber², I. Van Hautehem³, M. Van de Wiele³

¹Laboratory of Food Hygiene and Quality Insurance System (HASAQ), High National Veterinary School, Algiers, Algeria

² Biotechnology Laboratory of Animal Reproduction, Institute of Veterinary Sciences of Blida 1, Blida, Algeria

³Federal Laboratory for the Safety of the Food Chain Gentbrugge (FLSFC-G) of the Federal Agency for the Safety of the Food Chain (FASFC), Gentbrugge, Belgium

ABSTRACT. Total mercury (Hg) and methylmercury (MeHg) concentrations in the flesh of sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) fished in three Algerian coasts were determined by a direct mercury analyzer (DMA). We also assessed the risk to which the consumer was exposed to by calculating the estimated daily intakes (EDIs), target hazard quotient (THQ) and hazard index (HI). The average concentrations of Hg and MeHg in the flesh of sardine were similar (0.04 mg/kg wet weight) and in swordfish were 0.61 mg/kg wet weight; 0.57 mg/kg wet weight, respectively. These concentrations have not surpassed the thresholds set by the Algerian and European regulations. The estimated daily intakes for Hg and MeHg were similar in sardine (0.0064 µg/kg/day) and were 0.098 µg/kg/day and 0.092 µg/kg/day for Hg and MeHg, respectively, in swordfish. These values did not exceed the provisional tolerable weekly intake (PTWI) established by the European Food Safety Authority (EFSA) and by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). The target hazard quotient (THQ) and the hazard index (HI) calculated were < 1. Consequently, consumption of these fishes does not pose any risk for the adult groups of the Algerian population regarding mercury, and methylmercury studied.

Keywords: Mercury, Methylmercury, Sardine, Swordfish, Risk assessment.

Corresponding Author:

Fetta Mehoul, Laboratory of Food Hygiene and Quality Insurance System (HASAQ), High National Veterinary School, Algiers, Institute of Veterinary Sciences of Blida 1, Blida, Algeria
E-mail address: fetta_mehoul@yahoo.com

Date of initial submission: 05-12-2018
Date of revised submission: 23-06-2019
Date of acceptance: 25-06-2019

INTRODUCTION

Seafood is a source of energy and protein with high biological value, and contributes to the intake of essential nutrients, such as iodine, selenium, calcium, and vitamins A and D, with well-established health benefits. Seafood also provides n-3 (also called omega-3) long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) and is a component of dietary patterns associated with good health. Most European Food-Based Dietary Guidelines recommend a minimum of two servings of fish per week for older children, adolescents, and adults to ensure the provision of key nutrients (EFSA, 2014). However, there has been heightened concern about the presence of toxic metals such as mercury (Ricketts et al., 2016), which is released in the environment from both natural sources and human activities. It exists mainly in different forms of elemental mercury (HgO), inorganic mercury (Hg^+ , Hg^{2+}) and organic mercury (MeHg^+ , EtHg^+ , PhHg^+ , etc.) (Zhu et al., 2017). Mercury, an element also known as quick-silver, causes different toxic effects on the nervous, digestive and immune systems, as well as the lungs, kidneys, skin, and eyes. Exposure to it can result in severe illness and death (WHO, 2018). Consumption of fish is the main path for human exposure to mercury especially for coastal populations (Ricketts et al., 2016). Inorganic mercury is converted into the organic form (methylmercury) through methylation and the enzymatic process performed by bacteria and other aquatic microorganisms (Manavia et al., 2018). It is the predominant chemical form since the majority of total mercury that accumulates in the muscle tissue of fish is in this form methylmercury (95%-99%) (Carroll and Warwick, 2017) and has the ability to biomagnify through the aquatic food chain (Henry et al., 2017). It is the most toxic organic form of mercury which is considered by the International Agency for Research on Cancer (IARC) to be possibly carcinogenic to humans (Group 2B) (Torres-Escribano et al., 2010; Ricketts et al., 2016). Methylmercury is at the origin of neurologic damage such as mental retardation, seizures, vision and hearing loss, delayed development, language disorders, and memory loss or renal damage and has a long biological half-life. It can also cross the blood-brain and placental barriers (Torres-Escribano et al., 2010; Kral et al., 2017; Guérin et al., 2018). The first and most serious case illustrating the potential hazard of chemical contamination of food was encountered in Japan in the 1950s following industrial releases of mercury salts in a closed bay (Minamata Bay) producing fish for the consumer af-

ter concentration through the food chain and methylation, a mysterious neurological disease that reached alarming epidemic proportions (more than two thousand cases of poisoning and almost a hundred deaths were observed between 1953 and 1960, known as "Minamata Disease" (Roger and Guéry, 1991). Since then, the competent authorities have become aware of the hazard that these substances may represent and put in place standards to protect the health of consumers (JECFA, 1972). For this reason, it is necessary to monitor mercury and methylmercury levels in fishes and assess the risk they pose to the consumer. This study aimed to determine the levels of total mercury and methylmercury in the flesh of sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) collected in three Algerian coasts (Béjaia, Algiers, and Oran) and also assessed the risk related to consumption of these fishes for adult consumer.

MATERIALS AND METHODS

Sampling

A total of 87 samples of sardine (*Sardina pilchardus*) (n = 43) and swordfish (*Xiphias gladius*) (n = 44) were collected from April to September 2017 from three fishing major ports of Algeria, 15 samples of sardine and 20 samples of swordfish were collected from the coast of Algiers (North centre, NC), 12 and 13 from the coast of Bejaia (North East, NE), 15 and 11 from coast of Oran (North West, NW). The sampling procedure was carried out according to the EU (2016/582) regulation. The number of elemental samples that make up each aliquot varies according to the weight of the lot: elemental samples of 100 g in a number of 3, 5 and 10 were used if the weight of the lot was < 50 kg, 50 kg < weight < 500 kg or > 500 kg, respectively. The samples were placed immediately in blank polyethylene bags and transported to the laboratory in icebox for preparation.

Sample preparation

The preparation of the samples for the analysis was carried out, according to the requirements of the European standard EN 13804 (2013), in the laboratory of the National Center for Toxicology (CNT) in Algiers for the samples of the center (Algiers) and east (Bejaia) and at Federal Laboratory for the Safety of Food Chain Gentbrugge (FLSFC-G) of the Federal Agency for the Safety of the Food Chain (FASFC) in Gentbrugge (Belgium) for those of the west (Oran). The test samples were quickly prepared after the arrival of the fishes in the laboratory. The fishes were rinsed with potable wa-

ter before cutting to prevent leaching of the cut surfaces, then rinsed with distilled water. In the sardine samples, all inedible parts are removed. Swordfish samples were rinsed and peeled. Only the flesh was used for subsequent tests. From each sample, 100 g of matrix obtained was homogenized using a grinder (Retsch Grindomix 200), identified and placed in small closed black plastic bags and stored at -18°C .

Analysis of total mercury

The analysis was performed using a direct mercury analyzer (AMA-254), without any prior chemical treatment or digestion. A total of 50 to 100 mg of homogenate flesh was directly weighted in nickel boats. The nickel boats were rinsed with distilled water and cleaned by a thermal program by the apparatus to avoid contamination. Before the commencement of the analysis, a list was prepared in advance on the computer that was directly linked to the device where the date, the number of the samples, the weight and the position of nickel boats on the carousel are recorded. The nickel sample boats were automatically inserted into the combustion/ catalyst tube by the autoloader. The samples were firstly dried and then thermally degraded at 750°C . To determine the amount of mercury that was caught on the amalgamator, the amalgamator was briefly heated up to 900°C where by the mercury was released in the form of a cloud. The mercury cloud was transferred by the oxygen flow to the measurement cells. The amount of mercury was measured in each cell at 254 nm. Once finished, the detector was linked to a computer that gives the concentrations in ppm. The duration of the analysis for each sample was about 10min. The limit of detection and the limit of quantification of Hg and MeHg were 0.005 and 0.010mg/kg w.w.

Quality control of the analysis

Reference materials were used to control the quality of the analysis; canned fish (Fapas) with an internal reference number (12130869) and the tissue of lyophilized mussels ERM-CE278k with a known concentrations of Hg (0.359; 0.071mg/kg w.w, respectively). The results were in good agreement with the certified values located in this interval (0.404-0.674 mg/kg w.w; 0.053-0.089 mg/kg w.w) for both reference materials, respectively.

Methylmercury analysis

Analysis of MeHg was carried out according to the European document TC 275 WI0275321 (2017).

Extraction of the organic phase of mercury

Homogenate samples of 0.7 g to 0.8 g were weighed accurately (or 0.2 g in the case of lyophilised reference material) in a 50 ml centrifuge tube. 10 ml of hydrobromic acid was added and shaken manually for at least 2 min. Then, 20 ml of toluene was added and shaken vigorously for at least 20 min using an agitator (Stuart), centrifuged using a centrifuge (SIGMA^R) for 10 min at 2300 g according to the TC 275 WI0275321 (2017). 15 ml of the organic supernatant was transferred into a 50 ml centrifuge tube containing already 6 ml of L-cysteine solution. 15 ml of toluene was added to the initial centrifuge tube (containing the hydrobromic acid phase) and repeated the second extraction with the organic phase. After centrifugation, the remaining upper organic phase was transferred into the 50 ml centrifuge tube with the L-cysteine solution. It was then shaken vigorously using an agitator (Stuart) for at least 20 min and centrifuged in a centrifuge (SIGMA^R) for 10 min at 2300 g. An aliquot of 2 ml to 3 ml from the lower phase with the L-cysteine (and the extracted organic mercury) was taken. Ensured that the sample to be analysed is toluene free. Test samples were analysed as soon as possible to minimize instability issues.

Determination of concentration

The analysis was performed using direct mercury analyzer (AMA-254), where 500 μl to 200 μl of extract was put in a nickel boat cleaned by the apparatus and introduced in the DMA. Drying time, decomposition and waiting time were 350 s, 150s, and 55s respectively for samples and were 150s, 150s and 55s respectively for reference materials, cleaning, and blanks. The results were given after a few minutes in $\mu\text{g/l}$ Hg in the extract. The MeHg concentration was calculated using the formula:

$$\text{MeHg (mg/kg, expressed as Hg)} = C \times 6 \times D \div 1000 \times m$$

where δ is the volume of L-cysteine solution (6 ml); C is the concentration in the extract expressed in $\mu\text{g/l}$ Hg; D is the dilution factor if needed; m is the mass of the test portion, in g.

Results of MeHg expressed in mg/kg.

The limits of detection and the limit of quantification of MeHg were 0.010 and 0.020mg/k w.w.

Quality control

To ensure the trueness of the method a (certified) reference material (RM) with a known content of

MeHg was used. Fish lyophilized TORT-2 with internal reference number (EU-RL-HM-15/IMP-115) and a known concentration (0.152 mg/kg w.w), the results were in agreement with the certified values located in this interval (0.0914-0.2126 mg/kg w.w).

Statistical analysis

Microsoft Excel® (2007) software was used for calculating averages, standard deviation, minimum and maximum values. Statistical analyses were carried out using software R version (3.0.2). The Shapiro-Wallik normality test was used. The nonparametric Mann-Whitney test was used to compare the differences in the metal content studied in the two species (sardine and swordfish) (significant difference at a probability threshold of less than 5%). The Kruskal-Wallis test was conducted to compare the difference in the Hg and MeHg content of both species in the study areas.

Risk assessment for sardine and swordfish consumption

The risk assessment was performed using estimated dietary intakes (EDI/EWI), target hazard quotient (THQ) and hazard index (HI).

Determination of the estimated daily intake (EDI) for Hg and MeHg

The average concentrations of the metals analyzed were used to determinate the estimated daily intake (EDI; $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$) for an Algerian adult weighting an average of 60 kg and consuming 9.7 g per day (MFRR, 2018). The EDI was calculated using the following equation (Ju et al., 2017):

$$\text{EDI} = C \times DC \div BW$$

Where C: the mean concentration of heavy metals in fish flesh ($\mu\text{g}/\text{g}$), DC: the daily fish consumption (g/day), BW: the mean body weight of population (kg).

Determination of the target hazard quotient (THQ)

The target hazard quotient (THQ) is a complex parameter introduced by the United States Environmental Protection Agency and is commonly used to assess the potential of non-carcinogenic risks associated with long-term exposure to contaminants, such as heavy metals from foods such as fish and water. THQ represents the ratio of chronic daily intake of metals studied (EDI) in mg/kg/day to the oral reference dose (RfD) also expressed in mg/kg/day. In addition, THQ parameter does not estimate the risk; it only indicates

a level of risk associated with exposure to pollutants; if the value of THQ is < 1 , it means that there are no adverse effects for the exposed population; when $\text{THQ} > 1$, there is a potential risk related to the metal studied in the exposed population (Al-Mahaqeri and Ahmad, 2015). The THQ can be calculated using the formula (Orosun et al., 2016):

$$\text{THQ} = (\text{EFr} \times \text{EDtot} \times \text{FIR} \times \text{C}) \div (\text{RfDo} \times \text{BW} \times \text{ATn}) \times (10^{-3})$$

where EFr is the exposure frequency (365 days/year), EDtot the exposure duration (70 years, average lifetime), FIR the food-intake rate (g/day), C the mean of Hg and MeHg concentrations in sardine and swordfish muscular tissue (mg kg^{-1}), RfDo the oral reference dose of Hg and MeHg fixed by US EPA are 3×10^{-4} and 1×10^{-4} mg/kg/day, respectively (USEPA, 2017). BW is the average body weight (60 kg of body weight refers to adult people) and ATn the period of average exposure for non-carcinogens (365 days/year \times number of exposure years, 70 years).

Determination of the hazard index (HI)

This is the sum of the hazard quotients for substances that affect the same organ or target organ systems. Ideally, hazard quotients should be combined for pollutants that cause adverse effects through the same toxic mechanism (USEPA, 2017). As with the hazard quotient, overall exposures below 1 calculated using hazard quotients are unlikely to result in any chronic systemic risk adverse health effects during a lifetime of exposure and would normally be considered as acceptable. The hazard index (HI) from THQs is expressed as the sum of the target hazard quotients (Núñez et al., 2018):

$$\text{HI} = \text{THQ (Hg)} + \text{THQ (MeHg)}$$

RESULTS

Concentrations of Hg and MeHg

Concentrations of Hg and MeHg in the flesh of sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*)

The results in (Table 1) showed that the concentrations of Hg and MeHg were higher in swordfish (0.61 ± 0.47 ; 0.57 ± 0.45 mg/kg w.w, respectively) than in the sardine (0.04 ± 0.03 ; 0.04 ± 0.028 mg/kg w.w, respectively).

The nonparametric Mann-Whitney test showed a significant difference for both Hg and MeHg concen-

trations between the two species (sardine p-value = $9.99 \times 10^{-16} < 0.05$; swordfish p-value = $7.536 \times 10^{-10} < 0.05$).

Hg and MeHg concentrations in the three study areas for both species

The results in (Table 2) showed that the concentrations of Hg and MeHg were higher in the swordfish flesh than in sardine in all study areas. The highest concentrations of Hg and MeHg were found in the swordfish of NC (0.77 ± 0.41 mg/kg w.w; 0.64 ± 0.38 mg/kg w.w, respectively). The Kruskal-Wallis test showed no difference between the three study areas for MeHg concentrations, while a difference was recorded for the Hg concentrations between the NW area and the others.

In sardine, the statistical test showed a difference between NE and other areas for Hg and between NC and NE for MeHg.

The lower case letters showed the presence of difference or not according to the Kruskal-Wallis test.

The average concentrations of Hg and MeHg obtained in the flesh of sardine and swordfish in the three study areas were compared with the national and European regulatory thresholds (JORDPN°25/2011; EU

N° 1881/2006). The results showed that the average concentrations of this metal and its organic form are lower than the set thresholds (0.5 mg/kg w.w in sardine and 1 mg/kg w.w in swordfish). The difference in threshold between these two species is due to the different concentrations of metals in fish flesh. Swordfish is a predatory fish found at the top of the marine food chain, which allows it to accumulate more mercury, particularly the organic form methylmercury than the sardine.

Risk assessment

Estimated dietary Intake ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{body weight}/\text{day}/\text{week}$) to Hg and MeHg in sardine and swordfish

The estimated weekly intakes (EWI) of Hg and MeHg due to swordfish consumption (0.7 ; $0.64 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{bw}/\text{week}$, respectively) were higher than the EWI's recorded for consumption of sardine ($0.5/\text{kg bw}/\text{week}$) for both Hg and MeHg. These values were lower than the provisional tolerable weekly intake (PTWI) established by the European Food Safety Authority (EFSA) and the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) (Table 3).

Table 1. Concentrations of Hg and MeHg in the flesh of sardine (*Sardina pilchardus*) and swordfish (*Xiphias gladius*) (mg/kg w.w). n: number of samples; SE: standard deviation; Min: Minimum; Max: Maximum, ND: No detected concentration

	Sardine(<i>Sardina pilchardus</i>) (n= 43)		Swordfish (<i>Xiphias gladius</i>) (n= 44)	
	Mean \pm SD	Min.-Max. Value	Mean \pm SD	Min.-Max. Value
Hg	0.04 \pm 0.03	0.01-0.12	0.61 \pm 0.47	0.16-2.18
MeHg	0.04 \pm 0.02	ND-0.07	0.57 \pm 0.45	0.12-1.92

Table 2. Variations in concentrations of Hg and MeHg in sardine and swordfish flesh depending on the study areas

Species	Study areas	N	Mean \pm SE (Max-Min)	
			Hg	MeHg
Sardine (<i>Sardina pilchardus</i>)	Algiers	15	0.02 ^d \pm 0.01(0.01-0.06)	0.02 ^c \pm - (ND-0.04)
	Bejaia	13	0.08 ^c \pm 0.01(0.07-0.12)	0.06 ^b \pm 0.006 (0.04-0.07)
	Oran	15	0.02 ^d \pm 0.04(0.01-0.03)	ND
Swordfish (<i>Xiphias gladius</i>)	Algiers	20	0.77 ^a \pm 0.41(0.25-1.25)	0.64 ^a \pm 0.38 (0.12-1.92)
	Bejaia	13	0.69 ^a \pm 0.59 (0.16-2.18)	0.59 ^a \pm 0.52 (ND-0.01)
	Oran	11	0.23 ^b \pm 0.02 (0.19-0.27)	0.20 ^a \pm 0.02 (0.13-0.23)

Table 3. Estimated Dietary Intake ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{body weight}/\text{day}/\text{week}$) for the intake of Hg and MeHg in sardine and swordfish.

Heavy Metals		EDI	EWI	Established PTWI by EFSA	Established PTWI by JECFA
Hg	Sardine	0.0064	0.05	-	5 (JECFA, 2010)
	Swordfish	0.098	0.7		
MeHg	Sardine	0.0064	0.05	1.3	1.6
	Swordfish	0.092	0.64	(EFSA, 2012)	(JECFA, 2010)

Table 4. Estimated Dietary Intake ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{body weight}/\text{day}/\text{week}$) for the intake of Hg and MeHg in sardine and swordfish by region of study.

Heavy metals	Species	EDI	EWI	Established PTWI by EFSA	Established PTWI by JECFA	
Hg	Algiers	Sardine	0.0032	0.0224		
		Swordfish	0.124	0.90		
	Bejaia	Sardine	0.013	0.91		5
		Swordfish	0.111	0.78	-	(JECFA, 2010)
	Oran	Sardine	0.0032	0.0224		
		Swordfish	0.037	0.26		
MeHg	Algiers	Sardine	0.0032	0.0224		
		Swordfish	0.103	0.721		
	Bejaia	Sardine	0.010	0.07	1.3	1.6
		Swordfish	0.095	0.67	(EFSA, 2012)	(JECFA, 2010)
	Oran	Sardine	-	-		
		Swordfish	0.032	0.224		

Estimated dietary Intake ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{body weight}/\text{day}/\text{week}$) to Hg and MeHg by region of study

These results (Table 4) showed that the values of estimated daily/weekly intakes (EDI's/EWI's) were different among the studied regions for the same species. The estimated EDI's/EWI's of Hg and MeHg in the swordfish of NC gave the highest values (0.124; 0.103 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{bw}/\text{day}$; 0.90; 0.721 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{bw}/\text{week}$, respectively). All the estimated values in the three studied regions were lower than the fixed values (PTWI's) of EFSA and JECFA.

Target hazard quotient (THQ) and hazard index (HI)

We have estimated the THQ for Hg and MeHg and the HI due to the consumption of the two fish species. All the registered values have been < 1 (Table 5).

Table 5. Estimated of target hazard quotient (THQ) and hazard index (HI)

	THQ (Hg)	THQ (MeHg)	HI
Sardine	2.15×10^{-5}	6.46×10^{-5}	8.61×10^{-5}
Swordfish	3.28×10^{-4}	9.21×10^{-4}	1.24×10^{-3}

DISCUSSION

Hg and MeHg concentrations in the flesh of sardine and swordfish

The recorded average concentration of Hg in sardine flesh in the three studied regions (Table 1) was higher than that reported by Yabanli (2013) in Izmir (Turkey). However, it was much lower than reported in our previous study (2016) than that reported by

Chahid (2016) in five areas (Agadir, Essaouira, Dakhla, Sidi Ifni and Laayoune) of Morocco.

The MeHg concentration recorded (Table 1) was higher than that reported by Cano-Sancho et al. (2015) and Carbonell et al. (2009) in Spain.

In swordfish, the Hg recorded average concentration (Table 1) was higher than that reported by Zaza et al. (2015) in the central Atlantic Ocean. While it was lower than that recorded in our previous study in Algiers (2016) and that reported by Liu et al. (2018) in the United States and Torres-Escribano et al. (2010) in Spain. It was observed that the values reported in our study in 2016 are different from those reported in the current study, which can be attributed to the changes of heavy metals concentrations with time, and also as a result of the different assay methods.

The average concentration of MeHg reported was higher than that reported by Cano-Sancho et al. (2015) in Spain.

Many studies on Hg and MeHg concentrations in sardine and swordfish have shown different results with a high or low concentration. This difference could be due to variations in the study area, the size, age, sex and the physiological status of the fish (Manavia and Mazumder, 2018). Other factors should be considered such as fishing seasons, microbial activity and mercury content in sediment, water chemistry characteristics (dissolved organic content, salinity, pH, and redox potential) (Ramos, 2012; Rajeshkumar and Li, 2018).

The concentrations of metals differ from one fish species to another; the highest concentrations of Hg

and MeHg were recorded in swordfish, which could be attributed to its high marine trophic position. This trophic position has variable effects on the bioaccumulation of metallic elements in pelagic fish depending on the element considered (Bodin et al., 2017). Hg levels in fish showed significant interspecific differences reflecting the trophic level and biomagnifications. Hg tends to bioaccumulate in organisms with higher trophic levels. Large predatory fish reaches high concentrations of Hg; usually larger individuals have higher concentrations than the smaller ones, due to age, diet and the time of exposure to pollutants. Casadevall et al. (2017) studied the contamination of swordfish muscle samples from Madrid markets and showed that approximatively 35% of the samples exceeded the maximum limit of Hg, some specimens reached levels up to 1900 ng/g, which agree with our results.

The lowest concentrations of total Hg and MeHg found in the sardine could be a result of their diet, which consists mainly of water plants and plankton (Vieira et al., 2011).

The literature on heavy metal concentrations in fish shows that the fishing areas are an important factor of variation of metal accumulations, which was observed in this study (Table 2).

The main results obtained in this study confirm what several researchers have reported previously. The majority of accumulated total mercury is in its organic form (methylmercury), due to its high lipophilicity and low solubility in water compared to other forms (Ramos, 2012; Carroll and Warwick, 2017).

Risk assessment

The risk assessment conducted for adult Algerian consuming sardine showed that the EWI for Hg in sardine (Table 3) was similar to that reported by Vieira et al. (2011) in Portugal but lower than that reported by Falcoã et al. (2006) in Spain in adults and Chahid (2016) for a Moroccan adult of 60 kg. The MeHg EWI (0.05 ug/kg/body weight/week) was higher than that reported by Cantoral et al. (2017) in Mexico.

In the swordfish, the Hg EDI and EWI (Table 3) were lower than that reported by Falcoã et al. (2006), Cano-Sancho et al. (2015) and Aranda et al. (2017) in Spain for adult men and women.

The values of estimated dietary intakes for both sardine and swordfish we recorded did not exceed

the provisional tolerable weekly intake (PTWI) established by the European Food Safety Authority (EFSA) and Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) (Table 3, 4).

From the results of this study, the consumption of sardine and swordfish, wherever they are caught, does not expose the consumer to toxic risk.

Since all calculated target hazard quotient and risk index are below 1 (Table 5), sardine and swordfish do not pose chronic systemic risk to the Algerian population.

CONCLUSIONS

The average concentrations of Hg and MeHg in swordfish were higher than those obtained in sardine fished in the three Algerian coasts; these values were lower than the national and European regulatory thresholds (OJPDRAN°25/2011; EU N°1881/2006).

The species and the fishing area are two important factors that influence the bioaccumulation of Hg and MeHg.

In the risk assessment performed, estimated dietary intake (EDI) was lower than the provisional tolerable weekly intake (PTWI) established by the European Food Safety Authority (EFSA) and Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), the target hazard quotient (THQ) and the index hazard (IH) were below 1. As a result, the consumption of sardine and swordfish do not pose any risk to the adult Algerian population.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to extend their thanks to the Federal Laboratory for the Safety of the Food Chain Gentbrugge (FLSFC-G) of the Federal Agency for the Safety of the Food Chain (FASFC) (Belgium) and the laboratory of the National Center for Toxicology (CNT) in Algiers (Algeria) for their technical assistance and support. Special thanks go to Dr. Kamilou Ouro-sama and Dr. Michel Marengo for their support.

CONFLICT OF INTEREST

None declared by the authors.

REFERENCES

- Al-Mahaqerl SA., AHMAD AK (2015) Human Health Risk Assessment of Heavy Metals in Fish Species Collected from Catchments of Former Tin Mining. *Int J Res Stud Sci Eng Technol* 2: 9-21.
- Aranda N, Valls RM, ROMEU M, Sánchez Martos V, Albaladejo R, Fernández CAsillejo S, Nogués R, Catalán U, Pedret A, Espinel A, Delgado MA, Arijaa V Solab R, Giral M,(2017) Consumption of seafood and its estimated heavy metals are associated with lipid profile and oxidative lipid damage on healthy adults from a Spanish Mediterranean area: A cross-sectional study. *Environ Res*, 156: 644–651.
- Bodin, N. Lesperance D, Albert, R, Hollanda, S, Michaud PH, Degroote M., Churlaud, C. Bustamante P,(2017) Trace elements in oceanic pelagic communities in the western Indian Ocean. *Chemosphere* 174: 354-362.
- Cano-Sancho G, Perell G, Analuisa maulvault AL, Ant Oniomarques A O, Martínadal M, Domingo JL (2015) Oral bioaccessibility of arsenic, mercury and methylmercury in marine species commercialized in Catalonia (Spain) and health risks for the consumers. *Food Chem Toxicol* 86: 34-40.
- Cantoral A, Batis C, Basu N (2017) National estimation of seafood consumption in Mexico: Implications for exposure to methylmercury and polyunsaturated fatty acids. *Chemosphere* 174: 01, 109.
- Carbonell G, Bravo JC, Fernández C, Tarazona JV (2009) A New Method for Total Mercury and Methyl Mercury Analysis in Muscle of Seawater Fish. *Bull Environ Contam Toxicol* 83: 210–213.
- Carrolla R W H, Warwick, J J (2017) The importance of dynamic mercury water column concentrations on body burdens in a planktivorous fish: A bioenergetic and mercury mass balance perspective. *Ecol Modell* 364: 66–76.
- Casadevall M, Rodríguez-prieto C, Torres J (2017) The importance of the age when evaluating mercury pollution in fishes: the case of *Diplodus sargus* (Pisces, Sparidae) in the NW Mediterranean. *Environ Sci*, 4: 17-26.
- Chahid A (2016) Quantification of metallic trace elements (cadmium, lead, and total mercury) of certain fishery products landed in the Ess-aouira-Dakhla zone: Health risk assessment, PhD thesis, IBN ZOHR University, Faculty of Sciences (Morocco), 172 p.
- Commission Regulation (EU) (2006) amending Regulation (EC) N° 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, Commission Regulation N° 1881/2006 of 19 December 2006, Official Journal of the European Union L 111/3.
- Commission Regulation (EU) (2016) Amending Regulation (EC) No 333/2007 as regards the analysis of inorganic arsenic, lead and polycyclic aromatic hydrocarbons and certain performance criteria for analysis, Commission Regulation N° 582/2016 of 16 April 2016, Official Journal of the European Union L 101/3.
- European Food Safety Authority (EFSA) (2012) Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal* 2012; 10(12): 2985 <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2012.2985> [accessed 10 February 2018].
- European Food Safety Authority (EFSA) (2014) Scientific Opinion on health benefits of seafood (fish and shellfish) consumption in relation to health risks associated with exposure to methylmercury. EFSA Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). *EFSA Journal* 2012; 10(12): 2988 <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2014.3761> [accessed 10 February 2018].
- Falcoá G, Lobet J M L, Bocio A, Domingo J L (2006) Daily Intake of Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead by Consumption of Edible Marine Species. *J Agric Food Chem* 54: 6106-6112.
- FREDRIKH (2015) Mercury in boreal freshwater fish – factors and processes governing increasing concentrations, PhD Thesis, Faculty of Mathematics and Natural Science University of Oslo (Norvège), 83p.
- Guérin T, Chekri R, Chafey C, Testu C, Hulin M, Noël L (2018) Mercury in foods from the first French total diet study on infants and Toddlers. *Food Chem* 239: 920–925.
- Henry F, Mahfouz C, Delegrange A, Courcot L (2017) Total mercury in marine species from the French coast of the Eastern English Channel. *Chem Ecol* 33: 271-280.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) (1972) Evaluation of certain food additives and mercury, lead and cadmium contaminants, Switzerland. http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_505_fre.pdf [accessed 10 February 2018].
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) (2010) Summary report of the seventy second meeting of JECFA. 16p. http://www.who.int/foodsafety/chem/summary72_rev.pdf [accessed 10 February 2018].
- Ju YR, Chen CW, CHEN C F, Chuang X Y, Dong CD (2017) Assessment of heavy metals in aquaculture fishes collected from the southwest coast of Taiwan and human consumption risk. *Int Biodeterior Biodegradation* 124: 314-325.
- Kral T, Blahova J, Sedlackova L, Kalina J, Svobodova Z (2017) Mercury in canned fish from local markets in the Czech Republic. *Food Addit Contam Part B Surveill* 10: 149-154.
- Liu Y, Buchanan S, Anderson H A, Xiao Z, Persky V, Turyka M E (2018) Association of methylmercury intake from seafood consumption and blood mercury level among the Asian and Non-Asian populations in the United States. *Environ Res* 160: 212–222.
- Manavia P N, Mazumder A (2018) Potential risk of mercury to human health in three species of fish from the southern Caspian Sea. *Mar Pollut Bull*, 130: 1–5.
- Ministry of Fisheries and Fishery Resources (MFFR) (2018) statistical data of consumption of fish in Algeria. Ministry of Fisheries and Fishery Resources.
- Núñez R, García, M A, Alonso J, Melgar M J (2018) Arsenic, cadmium and lead in fresh and processed tuna marketed in Galicia (NW Spain): Risk assessment of dietary exposure. *Sci Total Environ*, 627: 322–331.
- Official Journal of the People's Democratic Republic of Algeria. Inter-ministerial Order of 30 Moharram 1432 corresponding to 5 January 2011. Fixing the presence of threshold levels of chemical contaminants, microbiological and toxicological in fishery products and aquaculture.
- Orosun M M, Tchokossa P, Orosun RO, Akinyose FC, Ige SO Oduh VO (2016) Determination of Selected Heavy Metals and Human Health Risk Assessment in Fishes from Kiri Dam and River Gongola, Northeastern Nigeria. *J Phys Chem Biophys*, 6: 5.
- Rajeshkumar S, Li, X (2018) Bioaccumulation of heavy metals in fish species from the Meiliang Bay, Taihu Lake, China. *Toxicol Rep* 5: 288–295.
- Ramos AL (2012) Risk assessment of methylmercury from fish consumption in OAHU, HAWAII using hair as a biomarker of exposure, PhD thesis, Faculty of San Diego State University, 83 p.
- Ricketts P, Basu N, Fletcher H, Voutchkov M, Bassaw B (2016) Assessment of fish consumption and mercury exposure among pregnant women in Jamaica and Trinidad & Tobago. *Chemosphere* 164: 462-468.
- Roger A, Guéry F (1991) Masters and protectors of nature. *Champ Vallon*, 329 p.
- Torres-Escribano S, VÉLEZ D, Montoro D (2010) Mercury and methylmercury bioaccessibility in swordfish. *Food Addit Contam Part A* 27: 327-337.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (2017) Human Health Risk Assessment. <https://www.epa.gov/risk/human-health-risk-assessment> [accessed 02 March 2018].
- Vieira C, Morais S, Ramos S, Delerue-Matos C, Oliveira M B P P (2011) Mercury, cadmium, lead and arsenic levels in three pelagic fish species from the Atlantic Ocean: Intra- and inter-specific variability and human health risks for consumption. *Food Chem Toxicol* 49: 923–932.
- Yabanli M (2013) Assessment of the Heavy Metal Contents of *Sardina pilchardus* Sold in Izmir, Turkey. *Ekoloji* 22: 10-15.
- ZAZA S, De Balogh K, PALMERY P, PASTORELLI A.A, STACCHINI P (2015) Human exposure in Italy to lead, cadmium and mercury through fish and seafood product consumption from Eastern Central Atlantic Fishing Area. *J Food Compos. Anal.* 40: 148–153.
- Zhu S, Chen B, He M, Huang T, Hu B (2017) Speciation of mercury in water and fish samples by HPLC-ICP-MS after magnetic solid phase extraction, *Talanta* 171: 213-219.