



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

## DEPARTEMENT DES SCIENCES VÉTÉRINAIRES

N° d'ordre : ...

Série : .....

### Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme  
de Magister en médecine vétérinaire

Option : hygiène alimentaire

Spécialité : surveillance de la chaîne alimentaire de la filière viande

### THEME

**ETUDE COMPARATIVE DES TECHNIQUES  
D'EXTRACTION DES ÉLÉMENTS TRACES  
MÉTALLIQUES DANS LE FOIE, LE REIN ET LE LAIT  
ET LEUR DÉTERMINATION PAR  
SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION  
ATOMIQUE (FLAMME ET FOUR GRAPHITE)**

Par : Mr. **BOUMEHRES ALI**

Jury de soutenance

Président : EL HADEF OKKI S	professeur	Université de Constantine
Rapporteur : MEHENNAOUI S	professeur	Université de Batna
Examineur : ALLOUI N	professeur	Université de Batna
Examineur : MEKROUD A	professeur	Université de Constantine

**ANNEE UNIVERSITAIRE : 2009/2010**

## **Liste des abréviations**

ADEME: Agence pour le développement durable et la maîtrise de l'énergie

Jecfa: Joint FAO/ WHO expert committee on food additives and contaminants

Inserm : Institut national de la santé et de la recherche médicale

Ineris : Institut national de l'environnement industriel et des risques

FAO : Food and Agricultural Organization

OMS : Organisation mondiale de la santé

DHT(P) : Dose hebdomadaire tolérable ( provisoire)

DJA : Dose journalière acceptable

CSHPPF : Conseil supérieur d'hygiène public de France

CIRC : Centre international de recherche sur le cancer

ATSDR : Agency for toxic substances and disease registry

CREDOC : Centre de Recherche pour l'Etude et l'Observation des Conditions de vie

US-EPA : United states- Environmental protection agency

WHO : World health organisation

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Flux et stock des ETM vers le sol (Rapport ADEME, 2003).....	15
<b>Figure 2</b> : Spectrophotomètre d'absorption atomique bifaisceau.....	40
<b>Figure 3</b> : Lampe à cathode creuse.....	42
<b>Figure 4</b> : Ensemble nébuliseur- brûleur .....	44
<b>Figure 5</b> : Schéma du four graphite .....	45
<b>Figure 6</b> : Evolution de l'absorbance dans un four en graphite au cours d'un cycle.....	47
<b>Figure 7</b> : Programme de température du four à moufle .....	57
<b>Figure 8</b> : Courbe d'étalonnage du cadmium.....	64
<b>Figure 9</b> : Courbe d'étalonnage du cuivre .....	64
<b>Figure 10</b> : Courbe d'étalonnage du zinc .....	65
<b>Figure 11</b> : Courbe d'étalonnage du manganèse .....	65
<b>Figure 12</b> : Courbe d'étalonnage du fer .....	66
<b>Figure 13</b> : Résultats du dosage du cadmium dans le foie de référence par SAA four graphite, extrait par trois techniques d'extraction .....	69
<b>Figure 14</b> : Résultats du dosage du cuivre dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction .....	70
<b>Figure 15</b> : Résultats du dosage du zinc dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction .....	71
<b>Figure 16</b> : Résultats du dosage du manganèse dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction.....	72
<b>Figure 17</b> : Résultats du dosage du fer dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction.....	73
<b>Figure 18</b> : Courbe d'étalonnage du cadmium (ajouts dosés) .....	79
<b>Figure 19</b> : Cadmium ajout dosé.....	80
<b>Figure 20</b> : Courbe d'étalonnage du cadmium (lait).....	81
<b>Figure 21</b> : Courbe d'étalonnage du zinc (lait).....	82
<b>Figure 22</b> : Courbe d'étalonnage du fer (lait).....	84

## LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : Une lampe à cathode creuse .....	43
Photo 2 : Une tourelle de huit lampes .....	43
Photo 3 : Brûleur.....	44
Photo 4 : Atomisation par flamme .....	44
Photo 5 : Four graphite en phase d'atomisation .....	46
Photo 6 : Un spectromètre d'absorption atomique de marque Shimadzu AA 6800 ....	50
Photo 7 : Micro-ondes speedwave MWS-2 .....	51
Photo 8 : Four à moufle utilisé pour la calcination .....	51
Photo 9 : Chauffage à reflux .....	52
Photo 10 : Une étuve pour séchage .....	52
Photo 11 : Un distillateur .....	52
Photo 12 : Une balance analytique .....	53
Photo 13 : Un dessiccateur .....	53
Photo 14 : Des micropipettes .....	53
Photo 15 : Embout jetable et un godet .....	53
Photo 16 : Foie certifié de bovin .....	56
Photo 17 : Bombe à téflon .....	58
Photo 18 : Filtration des contenu des bombes à téflon dans des fioles de 20 ml .....	59

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Source de l'apport alimentaire hebdomadaire moyen par semaine en plomb.....	20
Tableau II : Aliments d'origine animale, sources d'ETM pour l'homme.....	20
Tableau III : Consommation théorique maximale de plomb dans l'ensemble de la population française.....	30
Tableau IV : Teneurs maximales pour le cadmium dans les denrées alimentaires.....	38
Tableau V : Gamme d'étalonnage du cadmium.....	62
Tableau VI : Caractéristiques du programme thermique pour le dosage du cadmium.....	63
Tableau VII : Limites de détection et de quantification pour le cadmium dosé par SAA four graphite.....	68
Tableau VIII : Résultats du dosage du cadmium dans le foie de référence par SAA four graphite, extrait par trois techniques d'extraction .....	69
Tableau IX : Résultats du dosage du cuivre dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction .....	70
Tableau X : Résultats du dosage du zinc dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction .....	71
Tableau XI : résultats du dosage du manganèse dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction.....	72
Tableau XII : Résultats du dosage du fer dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction .....	73
Tableau XIII : Tableau récapitulatif des taux de récupération par les trois techniques d'extraction des ETM (Cd, Cu, Zn, Mn et Fe) dans le foie de référence.....	74
Tableau XIV : Le Tableau indique les valeurs moyennes, les écarts-type pour les cinq ETM dans le foie et le rein (rapportées au poids frais et sec).....	75
Tableau XV : Matrice de corrélation (foie de bovin 4).....	77
Tableau XVI : Matrice de corrélation (rein de bovin 4).....	78
Tableau XVII : Valeurs des ajouts dosés (Cd) par SAA à flamme.....	80

INTRODUCTION.....	10
<b><u>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</u></b>	
<b><u>CHAPITRE I : LES ELEMENTS TRACES METALLIQUES DANS LE SYSTEME TERRESTRE</u></b>	
1. Caractéristiques.....	13
1.1. Les métaux lourds.....	13
1.2. Les sels métalliques.....	14
2. Origines naturelles et humaines des métaux lourds dans l'environnement.....	15
2.1. Devenir, rémanence et transfert aux plantes puis aux animaux.....	15
2.1.1. Les éléments traces métalliques dans le sol .....	15
2.1.2. Les éléments traces métalliques dans les plantes .....	16
2.1.3. Les éléments traces métalliques dans l'air .....	18
2.1.4. Les éléments traces métalliques dans l'eau .....	18
2.1.5. Transfert des éléments traces métalliques aux animaux.....	19
3. Exposition de l'homme aux éléments traces métalliques.....	19
3.1. Contamination par voie digestive.....	20
3.2. Contamination par voie respiratoire.....	21
3.3. Contamination par contact avec la peau.....	21
<b><u>CHAPITRE II : LE PLOMB</u></b>	
1. Propriétés physico-chimiques.....	23
2. Les sources de contamination par le plomb.....	24
2.1. Contamination des bovins par le plomb.....	24
2.2. Contamination de l'homme par le plomb.....	25
3. Devenir du plomb dans l'organisme.....	25
3.1. Absorption.....	25

3.2. La distribution.....	26
3.3. L'élimination du plomb.....	27
3.3.1. Excrétion du plomb par le lait.....	27
4. Toxicité du plomb.....	28
4.1. Mécanismes de l'action toxique.....	28
4.1.1. Des perturbations enzymatiques.....	28
4.1.2. Une compétition avec le calcium.....	29
5. Les valeurs de référence.....	30

### CHAPITRE III : LE CADMIUM

1. Propriétés physico-chimiques.....	31
1.1. Propriétés physiques .....	31
1.2 Propriétés chimiques .....	32
2. Le cadmium dans la chaîne alimentaire.....	32
3. Métabolisme.....	33
3.1. Absorption.....	33
3.1.1. Inhalation .....	33
3.1.2. Absorption gastro-intestinale.....	34
3.2. Transport et distribution tissulaire.....	34
3.3. Elimination.....	35
4. Biomarqueurs de l'exposition au cadmium.....	35
4.1. Cadmium dans les cheveux.....	35
4.2. Cadmiémie.....	36
4.3. Cadmiurie .....	36
5. La toxicité du cadmium.....	36
5.1. Effets aigus.....	36
5.2. Effets chroniques.....	37
5.3. Les valeurs de référence.....	37

## CHAPITRE IV : LA SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE

1. Domaine d'application .....	39
2. Principe de fonctionnement .....	39
3. Eléments constitutifs des spectrophotomètres d'absorption atomique.....	39
3.1. Source de lumière .....	41
3.2. Modulation du rayonnement émis par la source.....	43
3.1. Système de production de vapeur atomique.....	43
3.1.1. Nébuliseur et brûleur.....	43
3.1.2. Four en graphite .....	45
3.3. Le monochromateur.....	47
3.4. Le détecteur.....	47
4. Grandeurs caractéristiques.....	48
4.1. La sensibilité .....	48
4.2. Les limites de détection et de quantification.....	48

## PARTIE EXPERIMENTALE

### MATERIEL ET METHODES

1. Matériels .....	50
1.1. Appareillage .....	50
1.2. Matériels pour extraction .....	51
1.2.1. Système de dissolution sous pression à micro-ondes speedwave MWS-2 .....	51
1.2.2. Four à moufle de marque Heraeus .....	51
1.2.3. Chauffage à reflux de PHYWE.....	52
1.2.4. Autres matériels .....	52
1.3. Réactifs .....	54
1.3.1. Préparation des solutions .....	54
2. Méthodes .....	56
2.1. Extraction des ETM dans les abats (foie et rein) .....	56
2.1.1. Techniques d'extraction des ETM dans le foie de référence .....	56
2.1.1.1. Minéralisation par calcination sèche .....	57
2.1.1.2. Digestion humide par chauffage à reflux .....	57
2.1.1.3. Digestion humide par micro-ondes (speedwave MWS-2).....	58

2.1.2. Application de la technique au micro-ondes sur un échantillon de bovin 4.....	60
2.1.3. Méthodes des ajouts dosés.....	61
2.2. Extraction et dosage des ETM dans le lait .....	62
2.2.1. Dosage direct .....	62
2.2.2. Digestion acide du lait par micro-ondes .....	62
2.3. Dosage des ETM par spectrométrie d'absorption atomique .....	63
2.3.1. Dosage du cadmium .....	63
2.3.2. Dosage du cuivre, zinc, manganèse et fer.....	63

## RESULTATS ET DISCUSSION

1. Détermination de la limite de détection et la limite de quantification.....	68
2. Dosage des ETM dans le foie de référence .....	69
2.1. Résultats relatif au dosage du cadmium .....	69
2.2. Résultats relatif au dosage du cuivre.....	70
2.3. Résultats relatif au dosage du zinc.....	71
2.4. Résultats relatif au dosage du manganèse .....	72
2.5. Résultats relatif au dosage du fer .....	73
3. Application de la minéralisation au micro-ondes pour le dosage des ETM dans le foie et le rein de bovins.....	75
3.1. Le cadmium dans le foie et le rein.....	76
3.2. Le cuivre dans le foie et le rein.....	76
3.3. Le zinc dans le foie et le rein.....	76
3.4. Le manganèse dans le foie et le rein.....	76
3.5. Le fer dans le foie et le rein.....	77
4. Dosage du cadmium par SAA à flamme : méthodes des ajouts dosés.....	79
5. Dosage du cadmium, zinc et fer dans le lait partiellement écrémé .....	81
5.1. Dosage du cadmium.....	81
5.2. Dosage du zinc.....	82
5.2. Dosage du fer.....	83

CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	85
---------------------------------	----

## BIBLIOGRAPHIE

## INTRODUCTION

La contamination par les éléments traces métalliques est considérée comme un problème sérieux compte tenu de leur toxicité et de leur pouvoir cumulatif dans la chaîne trophique. La charge en éléments traces métalliques de l'organisme humain augmente progressivement d'où l'intérêt de la connaissance du transfert sol- plante- organismes terrestres. Ce transfert est influencé par la nature du sol, le pH, la spéciation chimique de l'élément considéré et l'espèce végétale (entre autre la partie comestible). Ainsi l'évaluation du niveau de contamination métallique dans les organismes terrestres permet de rendre compte de la qualité chimique du milieu. Les ruminants organismes bioaccumulateurs des éléments traces métalliques sont souvent utilisés comme espèces sentinelles de la contamination métallique. Parmi ces ruminants, les bovins et ovins sont largement appréciés par les consommateurs qui se trouvent ainsi exposés. Les abats (foie et reins) représentent les organes cibles de bioaccumulation des éléments traces métalliques, et sont de ce fait une source non négligeable d'apport exogène d'origine alimentaire. L'élimination des éléments traces métalliques par le lait constitue une source à prendre en considération.

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

La présente étude a pour objectifs :

- De comparer entre trois techniques d'extraction des éléments traces métalliques dans le foie de bovin de référence afin d'adopter une technique d'extraction avec un taux de récupération satisfaisant.
- De doser six éléments traces métalliques (Cadmium, Plomb, Cuivre, Zinc, Fer et Manganèse) par Spectrophotométrie d'Absorption Atomique à flamme et/ au four graphite.
- D'appliquer la technique d'extraction au micro-ondes sur un échantillon de foie et rein de bovin.
- De doser les éléments traces métalliques dans un lait partiellement écrémé acheté du commerce.

La validité de la méthode analytique est vérifiée par un contrôle interne :

- A l'aide d'un échantillon de référence (un foie de bovin 1577b provenant de la communauté de Bruxelles).
- A l'aide de la méthode des ajouts dosés.

Dans cette présente étude, nous allons rendre compte du protocole expérimental mis en œuvre, des résultats obtenus et de leurs discussions. Auparavant seront exposés une synthèse bibliographique relative aux éléments traces métalliques dans le système terrestre dont principalement le plomb et le cadmium ainsi que la méthode de dosage par Spectrophotométrie d'Absorption Atomique à flamme et four graphite.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

# 1. CARACTERISTIQUES

## 1.1. LES METAUX LOURDS

Un métal est une matière, issue le plus souvent d'un minerai, doté d'un éclat particulier, bon conducteur de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité, se combinant ainsi aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisables dans l'industrie, l'orfèvrerie...

On appelle en général métaux lourds les éléments métalliques naturels, métaux ou dans certains cas métalloïdes caractérisés par une masse volumique élevée, supérieure à 5 gramme par  $\text{cm}^3$ . ([www.wikipedia.org/.../Élément-trace\\_métallique](http://www.wikipedia.org/.../Élément-trace_métallique)).

Cependant leur concentration étant généralement inférieure à 1‰ (1  $\text{g.kg}^{-1}$ ) en matière sèche dans la croûte terrestre, et à 0,1‰ (100  $\text{mg.kg}^{-1}$ ) dans la matière sèche des organismes, Un rapport d'information au Sénat français « Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé », indiquait : « L'appellation métaux lourds est cependant une appellation courante qui n'a ni fondement scientifique, ni application juridique ».

La classification en métaux lourds est d'ailleurs souvent discutée car certains métaux toxiques ne sont pas particulièrement "lourds" (le zinc), tandis que certains éléments toxiques ne sont pas tous des métaux (l'arsenic par exemple est un métalloïde). Pour ces différentes raisons, la plupart des scientifiques préfèrent à l'appellation métaux lourds, l'appellation "éléments en traces métalliques" ou "éléments traces" (Miquel, 2001).

Les métaux lourds, mercure, plomb et cadmium sont ainsi dénommés à cause de leur fort poids moléculaire et aussi au fait que leurs sels étaient jadis utilisés par les chimistes pour identifier les molécules soufrées (Miquel, 2001).

Dans les sciences environnementales, les métaux lourds associés aux notions de pollution et de toxicité sont généralement : l'arsenic (As), le cadmium (Cd), le chrome (Cr), le cuivre (Cu), le mercure (Hg), le manganèse (Mn), le nickel (Ni), le plomb (Pb), l'étain (Sn), le zinc (Zn) (Di Benedetto, 1997).

*Un métalloïde est un élément qui combine certaines caractéristiques du métal et d'autres caractéristiques opposées, l'absence de conductivité électrique par exemple. L'arsenic est un métalloïde.*

## **1.2. LES SELS METALLIQUES**

Les métaux sont utilisés sous forme solide (métallique) en alliage, lorsqu'ils se combinent avec un autre métal, ou en sels, lorsque le métal est combiné avec certains éléments non métalliques. Leur formation découle d'une attaque oxydante : le métal est oxydé en ion positif (cation) et se combine alors avec un ion négatif (anion) pour donner un sel (Miquel, 2001).

A titre d'exemple, on peut citer ;

- l'attaque du fer métallique par l'oxygène en présence d'eau acidifiée donne un sel de fer. Si l'acide est l'acide chlorhydrique (HCl), le sel de fer que l'on pourra déposer par évaporation est du chlorure ferrique,

De nouveaux sels peuvent être formés par des réactions d'échange chimique entre un sel et un autre sel ou un acide ; par exemple, du chlorure de plomb mis en solution avec de l'acide sulfurique donnera naissance à du sulfate de plomb.

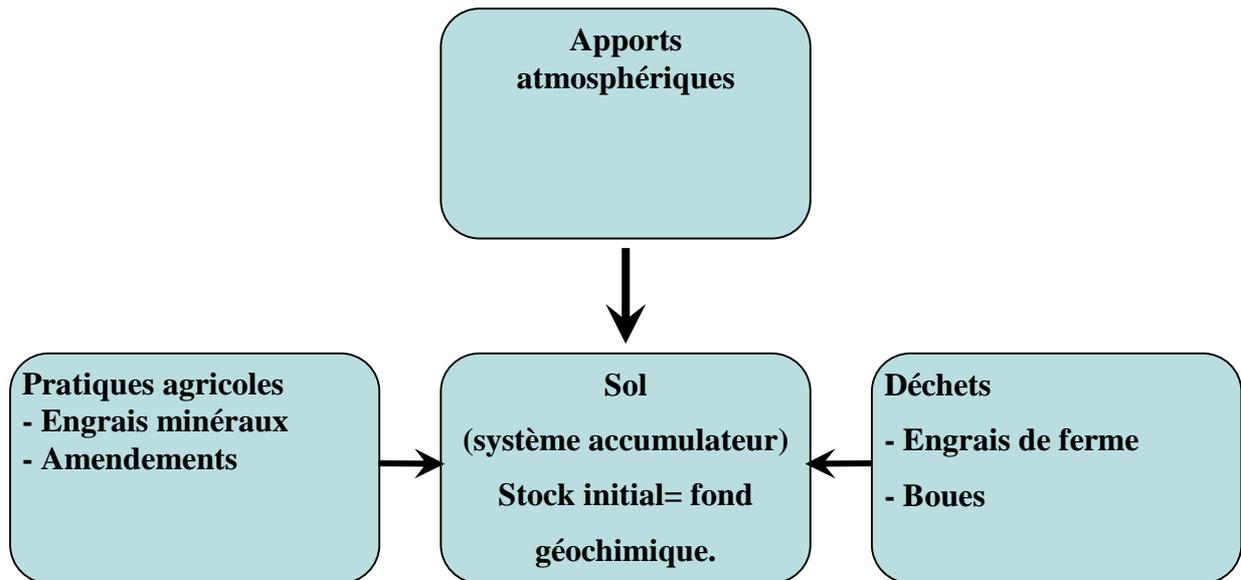
La plupart des sels sont solubles, et c'est sous cette forme que les métaux contaminent l'environnement et en particulier l'alimentation. Quand le métal est associé au sulfure, il forme un sel insoluble, et c'est sous cette forme qu'il se trouve dans les gisements. Il peut alors être exploité. L'extraction dégage cependant du dioxyde de soufre (SO<sub>2</sub>), responsable de pollutions acides (Miquel, 2001).

## **2. ORIGINES NATURELLES ET HUMAINES DES METAUX LOURDS DANS L'ENVIRONNEMENT**

Une quantité importante de métaux lourds est introduite dans l'environnement par l'intermédiaire de sources naturelles et humaines. Il s'agit principalement des éléments suivants : arsenic, cadmium, chrome, cuivre, mercure, nickel, plomb, sélénium et zinc.

Ils proviennent des rejets domestiques, des eaux pluviales et de ruissellement, des rejets industriels et artisanaux ainsi que des retombées atmosphériques. Ils sont nécessaires au bon développement des plantes. Mais s'ils sont présents en quantités trop importantes, ils présenteront un risque à estimer (Rapport ADEME, 2003 cité par Petit, 2007).

Rappelons que l'analyse des Eléments Traces Métalliques (ETM) d'un sol reflète la nature de la roche mère et les contaminations d'activités humaines: dépôts atmosphériques (plomb, zinc), fertilisation phosphatée (source principale d'apport de cadmium), apports de lisiers et de boues (accompagnés d'apports conséquents en zinc et cuivre). La figure 1 présente les flux et stock en éléments traces métalliques vers le sol (Petit, 2007).



**Figure 1 :** Flux et stock des ETM vers le sol (Rapport ADEME, 2003 cité par Petit, 2007).

## 2.1. DEVENIR, REMANANCE ET TRANSFERT AUX PLANTES PUIS AUX ANIMAUX

Une attention particulière a été portée au plomb (Pb), au cadmium (Cd) et au mercure (Hg) qui peuvent présenter un risque pour le consommateur en raison de leur caractère ubiquitaire et de leur toxicité à faible dose lors d'exposition prolongée en relation avec leur rémanence. Ces toxiques sont dits cumulatifs et caractérisés par une demi-vie biologique très longue (Petit, 2007).

### 2.1.1. Les éléments traces métalliques dans le sol

Un certain nombre de paramètres influent sur le caractère soluble des éléments traces métalliques, leur permettant une dissémination plus ou moins importante :

- Le composé et sa forme chimique, à titre d'exemple, Le plomb et le cadmium dans les sols présentent deux particularités. D'une part, contrairement aux autres métaux, leur présence n'est pas liée à la teneur du sol en fer. D'autre part, ils sont surtout abondants dans les horizons de surface (0 à 20 cm de profondeur) en raison de leur affinité avec les matières organiques (Miquel, 2001).
- Le pH joue un rôle très important dans la mobilité des métaux. En effet, Un pH acide entraîne la mise en solution des sels métalliques, donc La solubilité diminue lorsque le pH augmente, passe par un minimum, puis augmente quand l'élément se retrouve sous forme anionique (Deschamps *et al.*, 2006).

- Certains métaux sont plus ou moins mobiles selon leur état d'oxydo-réduction. Par exemple, le chrome est considéré comme toxique et mobile sous sa forme Cr (VI), mais pas sous sa forme Cr (III) (Deschamps *et al.*, 2006). Les conditions d'oxydo-réduction peuvent influencer la mobilité d'un élément de trois manières différentes (Blanchard, 2000 cité par Deschamps *et al.*, 2006) :
  - Changement du degré d'oxydation de l'élément lui-même,
  - Changement du degré d'oxydation d'éléments se liant avec l'élément lui-même pour former un complexe.
  - Formation ou dissolution de phases porteuses de l'élément trace (ex : hydroxyde).
- L'aération des sols. Un tassement des sols (lié au passage d'engins...) accroît la mobilité et la diffusion dans les eaux souterraines. Un sol aéré permet d'activer les composés de fer et de manganèse présents dans le sol. Ces composés, peu solubles, maintiennent et immobilisent les métaux (Miquel, 2001).
- La température : Entre 10 et 30°C, la température n'a qu'un effet direct négligeable sur la mobilité des métaux (Serpaud *et al.*, 1994 cités par Deschamps *et al.*, 2006). Mais, en présence de matière organique, elle peut avoir un rôle indirect, par exemple en augmentant sa dégradation, ce qui peut produire des substances acides et complexantes (Lions, 2004 cité par Deschamps *et al.*, 2006). Elle peut aussi jouer sur l'activité bactérienne. L'action des micro-organismes peut aller dans le sens de la solubilisation (production d'acide et de composés complexants etc.) ou de l'insolubilisation (formation de sulfures métalliques insolubles, bioaccumulation et biosorption par les micro-organismes) des métaux lourds (Deschamps *et al.*, 2006).
- L'apport de matières fertilisantes, notamment de boues, est l'un des éléments de contrôle de la mobilité. La boue chaulée, avec apport de calcaire diminue la mobilité (sauf exception pour l'arsenic) (Miquel, 2001).
- Le type de végétaux et d'animaux.

### **2.1.2. Les éléments traces métalliques dans les plantes**

La teneur d'un sol en éléments traces métalliques est une donnée relativement accessoire si ce n'est pour déterminer le danger global (concentration maximale mobilisable). L'important est de déterminer la fraction biodisponible, c'est-à-dire la partie accessible au végétal ou à la mobilisation vers les ressources en eau. La biodisponibilité est l'aptitude d'un élément trace à être transférée à la plante (Miquel, 2001).

L'exposition des végétaux aux ETM a une double origine. Par voie aérienne, les ETM sont présents ou déposés à la surface des organes (feuilles, tiges) et ils pénètrent dans les stomates sous forme de particules, de composés gazeux (Hg, As, Se, Sn, etc.), ou dissous dans les eaux de pluie ou d'irrigation. Seule une partie de ces dépôts est enlevée par lavage. Les ETM peuvent aussi être absorbés par les racines dans la solution du sol (Mench *et al.*, 2004). L'importance relative de ces deux voies d'exposition dépend des ETM, des plantes et de la proximité d'une source de contamination (émissions industrielles ou urbaines, routes, etc.). Souvent voie majoritaire, l'exposition des racines est inféodée à la nature du sol et à son fonctionnement mais également au type de contamination. La contamination des sols augmente la probabilité d'exposition *via* la solution du sol et aussi celle par ingestion directe. (Mench *et al.*, 2004).

Les plantes, comme les invertébrés, réagissent de façon différente selon les variétés. Certaines sont peu ou pas tolérantes et meurent au contact des métaux lourds. D'autres ont des réactions de défense, et freinent l'absorption en sécrétant des acides qui vont augmenter le pH et par conséquent réduire la mobilité des éléments traces. D'autres enfin, sont tolérantes aux métaux, et même les accumulent, les concentrent. Ces plantes sont dites « hyperaccumulatrices » et métallophiles (Miquel, 2001).

La plupart des végétaux semblent retenir les ETM dans les racines et ce, quel que soit l'élément. C'est seulement lorsque la concentration en ETM du sol devient plus élevée que quelques éléments passent dans les parties aériennes (Cu, Cd, Ni, Zn) (Anonyme 1).

Selon plusieurs références, les ETM les plus transférés à la plante sont le cuivre, le cadmium et le zinc (Cu, Cd et Zn) (Anonyme 1).

Selon Mench *et al.* (1992), les ETM transférés à la plante se répartissent de cette manière : Ni, Cr et Pb se retrouvent au niveau des racines, Zn et Mn au niveau des feuilles et des tiges, alors que Cd, Cu et Fe sont répartis uniformément dans la plante.

Les concentrations en ETM dans les plantes varient énormément :

- Selon la plante (type de plante, espèce, variété, et même au sein des organes d'une même plante) (Anonyme 1). Par exemple, les plantes à croissance rapide accumulent les métaux, notamment le cadmium, le zinc et le cuivre. Les plantes accumulent très peu du plomb par les sols et les traces de plomb que l'on retrouve sur les plantes émanent en général d'une source atmosphérique (Miquel, 2001).
- Selon le type de boue ou encore selon le sol utilisé, il est couramment admis que le pH du sol constitue le principal facteur qui détermine la biodisponibilité des ETM. En

effet, une acidification du sol va accroître leur absorption, exception faite du cadmium, qui est plus disponible dans les sols à pH élevé (Anonyme 1).

### **2.1.3. Les éléments traces métalliques dans l'air**

Les principales sources des ETM dans l'air sont des sources fixes. De nombreux éléments se trouvent à l'état de traces dans des particules atmosphériques provenant de combustions à haute température, de fusions métallurgiques, des incinérateurs municipaux, des véhicules, etc. (Di Benedetto, 1997).

Les effets biologiques, physiques et chimiques de ces particules sont fonction, de la taille, de leur concentration et de leur composition. Le paramètre le plus effectif sur l'environnement étant la taille de ces particules. Dans l'air ambiant, on trouve de nombreux éléments, comme le plomb, le cadmium, le zinc, le cuivre, etc. Il est à noter que la concentration soit d'autant plus élevée que les particules soient fines (Di Benedetto, 1997).

### **2.1.4. Les éléments traces métalliques dans l'eau**

Il est assez difficile de prévoir l'évolution des éléments traces métalliques dans l'environnement, car ils peuvent subir un grand nombre de transformations (oxydation, réduction, complexation, etc.), et car cette évolution dépend fortement du milieu. Selon Di Benedetto (1997), de nombreux paramètres peuvent influencer la migration des métaux lourds vers la nappe phréatique et qui sont ;

- La forme chimique initiale du métal.
- La perméabilité du sol et du sous-sol.
- La porosité du sol.
- Le pH : dans un milieu acide, les métaux risquent de se solubiliser, alors que dans un milieu alcalin, ils peuvent former des hydroxydes métalliques.
- L'activité biologique : certains micro-organismes ont la capacité d'ingérer des métaux, alors que d'autres les solubilisent par acidogénèse.
- Le potentiel redox du sol.
- La composition minéralogique du sol.
- La teneur en matières organiques du sol :(complexation des métaux par les substances humiques).

### **2.1.5. Transfert des éléments traces métalliques aux animaux**

Le transfert éventuel des éléments traces métalliques aux animaux se fera lors de consommation d'eau contaminée, de productions végétales contaminées (fourrage, céréales), ou lors d'ingestion de terre contaminée (lorsque les animaux sont au pâturage). On estime que la consommation de terre correspond en moyenne à 6 % de la ration des bovins et peut aller jusqu'à 14 % de cette même ration (Ducrot et Meffre, 1996 cités par Petit, 2007).

Dans le cas d'une exposition forte et à court terme des animaux à un ETM, les manifestations d'intoxication finissent par apparaître. Mais dans le cas d'exposition basse et donc d'intoxication chronique, les signes d'intoxication sont variés et peu spécifiques (effets sur la reproduction ou sur la cancérogenèse) (Petit, 2007).

Les effets toxiques seront observés au-delà d'une charge corporelle et/ou d'une concentration « critique » dans les organes cibles (ex : rein pour le cadmium).

Chez les animaux, la rémanence varie selon l'élément et l'espèce animale. Pour le plomb et le cadmium, l'accumulation a lieu préférentiellement dans le foie et le rein alors que la concentration dans les muscles est le plus souvent inférieure à 0,1 mg/kg. Le cheval est fortement accumulateur de cadmium, la contamination des abats dépendant de l'âge. La faible biodisponibilité des métaux après ingestion chez les animaux constitue un facteur de protection pour le consommateur, l'animal jouant un rôle de « filtre » pour les micropolluants du sol, via les végétaux (Petit, 2007).

## **3. EXPOSITION DE L'HOMME AUX ELEMENTS TRACES METALLIQUES**

Les conséquences de cette omniprésence seraient moindres si elle n'était pas associée à un risque direct de contamination pour l'homme. L'homme peut se trouver à tous les échelons du cycle de répartition des éléments traces métalliques dans l'environnement, il va en absorber par différentes voies et devenir lui-même réservoir de ces éléments traces avec des conséquences probables sur sa santé (Di Benedetto, 1997). Nous allons voir dans ce qui suit, comment s'effectue le passage des éléments traces métalliques de l'état de polluants du sol, de l'air et des eaux à celui d'éléments toxiques absorbés en quantité suffisante pour nuire notre santé.

### 3.1. CONTAMINATION PAR VOIE DIGESTIVE

La contamination éventuelle de l'homme aura lieu principalement par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés (fruits, céréales, lait et produits laitiers, viandes et abats d'animaux ayant été préalablement contaminés).

L'estimation de l'exposition à un contaminant va tenir compte du niveau de contamination des aliments et de leur niveau de consommation par la population étudiée. A titre d'exemple, le tableau I, présente les données concernant le plomb. Ainsi, pour cet élément, la source principale de contamination se fera par les boissons (33 %), mais aussi avec les fruits et légumes, laits et produits laitiers, les céréales, les viandes et les abats (Petit, 2007).

**Tableau I :** source de l'apport alimentaire hebdomadaire moyen par semaine en plomb (Source : Montcharmont 1999 cité par Petit, 2007).

Aliments	Pourcentage de l'apport alimentaire en plomb
Boissons	33.2 %
Légumes et fruits	21.7 %
Laits et produits laitiers	14 %
Céréales	13.8 %
Viandes	4.6 %
Abats	0.3 %

Le niveau de contamination d'un individu sera bien sûr fonction de ses propres habitudes alimentaires et de son mode de vie. Mais on a pu déterminer quels étaient les aliments d'origine animale sources d'ETM pour l'homme, elles sont présentées dans le tableau II.

**Tableau II :** aliments d'origine animale, sources d'ETM pour l'homme (Source : Miquel (2001).

Eléments traces métalliques	Type de produit
Arsenic et chrome	viande
Cadmium et mercure	Abats : foie et reins
Plomb et arsenic	Lait et graisses.

Par ailleurs, les experts estiment que le risque est plus élevé chez le jeune enfant. En effet, dans les premières années de vie, l'enfant porte très facilement objets et doigts à la bouche. « On estime qu'un jeune enfant peut absorber jusqu'à 5 gramme de terre par jour » (CSHPPF, 1997). C'est d'autant préoccupant qu'entre 5 et 6 ans, l'enfant a un coefficient de pénétration intestinale (50 %) très supérieur à celui de l'adulte (5 à 10 %) dans le cas des métaux lourds (cadmium, plomb, mercure).

D'autres voies possibles de contamination méritent d'être prises en compte :

### **3.2. CONTAMINATION PAR VOIE RESPIRATOIRE**

Ce mode d'exposition concerne les égoutiers et les personnels de station d'épuration, les manipulateurs lors des opérations d'épandage ou les agriculteurs. Il s'agit d'une exposition « professionnelle » lors d'inhalation de particules. En effet, beaucoup de métaux lourds se trouvent dans l'air sous une forme inhalable par l'homme et peuvent être à l'origine d'une contamination par la voie respiratoire. Plus encore que dans les sols, l'eau ou les aliments, cette présence des métaux lourds dans l'air est difficile à mettre en évidence et à éviter (Petit, 2007).

Les métaux lourds dans l'air peuvent se trouver principalement sous deux formes : (gaz ou fines particules), ils peuvent pénétrer dans les voies aériennes supérieures lors d'une inhalation normale et, si la taille des particules le permet, atteindre les alvéoles pulmonaires, véritables échangeurs air/sang d'où ils diffusent (gradient de concentration) dans le torrent circulatoire et sont solubilisés dans le sang de la personne exposée. Présents dans la circulation sanguine, les métaux peuvent alors atteindre tous les organes, ce qui fait de la voie respiratoire une voie de contamination très efficace.

### **3.3. CONTAMINATION PAR CONTACT AVEC LA PEAU**

La pénétration cutanée du toxique dépendra de quatre paramètres principaux (CSHPPF, 1997) : Taux de pollution du sol, quantité de polluant déposé sur la peau, temps de contact avec l'épiderme et liposolubilité du polluant.

Dans le cas des ETM, qui se trouvent rarement sous forme organique plus liposoluble, le passage par cette voie reste négligeable (Petit, 2007).

Dans cette étude bibliographique, deux métaux, seront étudiés en particulier: le plomb et le cadmium. Pourquoi distinguer ces deux métaux ? Il y a d'une part une raison historique. Les premiers biochimistes ont distingué ces deux métaux, en plus, du mercure, en raison de leur affinité avec le soufre qui permettait d'identifier les protéines « qui précipitent lourdement » ou donnent facilement des sels (sels de mercure, sels de plomb, etc.). De plus, ils se transportent et changent de forme chimique, ils ont une conductivité électrique élevée qui explique leur utilisation dans de nombreuses industries (Miquel, 2001).

Enfin, Le plomb et le cadmium sont des métaux lourds de toxicité élevée qui s'accumulent dans le corps humain durant la vie (Nordberg, 2004), entraînant notamment des lésions neurologiques et rénales plus ou moins graves (Miquel, 2001).

Le plomb est un métal lourd largement utilisé dans les activités métallurgiques dès l'Antiquité et redécouvert au moment de la révolution industrielle. Les intoxications massives aiguës et chroniques par le plomb ont été bien documentées en milieu professionnel. Mais le plomb est également un polluant environnemental, surtout dans les sols et l'atmosphère au voisinage de sites industriels (fonderies, usines de fabrication et de recyclage de batteries...) et dans les zones de fort trafic automobile, en particulier avant l'entrée en vigueur de la législation sur l'essence plombée. Les poussières et les peintures des habitats anciens et dégradés, mais aussi l'eau de boisson et, à un degré moindre, l'alimentation, sont des sources rémanentes, souvent insidieuses, d'exposition des populations au plomb (INSERM, 1999). Le plomb est un métal si répandu et si utilisé que les occasions d'intoxications sont innombrables, que se soit chez l'homme ou chez les animaux. On trouve encore des cas d'intoxication au plomb chez les espèces domestiques, parce qu'il a été largement employé à des fins commerciales ces dernières années et qu'il demeure très longtemps dans l'environnement (Pelletier *et al.*, 1997).

## 1. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES

Les propriétés physico-chimiques du plomb méritent un bref rappel. C'est un métal lourd, gris bleuté qui se ternit à l'air. Il est mou, malléable, flexible, facile à laminier et à tréfiler, de symbole Pb et de numéro atomique 82. Il fait partie du groupe 14(ou IVa) du tableau périodique. Le plomb fond à environ 328 degrés, bout à 1740 et à une densité de 11,34, sa masse atomique est égale à 207,20. Ce métal est lentement dissous par l'acide chlorhydrique, beaucoup plus rapidement par l'acide nitrique. Les acides organiques, acétique, citrique ou tartrique, souvent présents dans l'alimentation, l'attaquent facilement pour donner des sels solubles. (INSERM, 1999).

Le plomb peut se présenter sous de nombreuses espèces chimiques, soit minérales comme le plomb élémentaire ( $Pb^0$ ) soit sous forme ionisée cationique, l'espèce la plus courante étant le cation divalent ( $Pb^{++}$ ). D'autres états d'oxydation moins fréquents peuvent se rencontrer dans divers composés, en particulier le cation trivalent ( $Pb^{+++}$ ) et le cation tétravalent ( $Pb^{++++}$ ). Beaucoup de composés organométalliques du plomb dérivent du cation tétravalent comme le plomb tétraméthyle et le plomb tétraéthyle, utilisés autrefois comme antidétonants dans l'essence automobile (Picot, 2003).

Les propriétés physico-chimiques du plomb sont très importantes pour la compréhension des mécanismes de biodisponibilité et d'action de ce métal.

L'oxydation du sulfure en sulfate dans les particules des émissions industrielles augmente l'hydrosolubilité et donc la biodisponibilité du plomb. Les variations de pH au niveau des sols comme au niveau des liquides biologiques peuvent expliquer les différences de biodisponibilité: ainsi, il y a solubilisation dans l'acide chlorhydrique de l'estomac et précipitation au-delà de l'estomac. Le plomb possède aussi une densité de charge, c'est à dire un rayon ionique et une charge de valence, identique à celle du calcium. Cette analogie structurale est à l'origine des interactions avec cet élément (INSERM, 1999).

De même, l'affinité du plomb pour le soufre peut expliquer sa fixation sur certaines enzymes ou sur les groupements thiols de molécules comme le glutathion réduit, à l'origine de quelques mécanismes d'action. Son affinité pour le sélénium explique aussi les déficits en sélénium observés dans les populations exposées. L'affinité du plomb pour les dérivés dicarboxyliques permet de comprendre son transport par l'ostéocalcine et autorise l'utilisation de complexants comme l'EDTA (*ethylene diamine tetraacetic acid*) dans le traitement des intoxications (INSERM, 1999).

## **2. LES SOURCES DE CONTAMINATION PAR LE PLOMB**

### **2.1. CONTAMINATION DES BOVINS PAR LE PLOMB**

Le saturnisme est l'une des intoxications les plus communément rencontrées chez les ruminants ; particulièrement les bovins qui, à cause de leurs habitudes alimentaires, sont les plus fréquemment atteints (Benleulmi, 1987).

Chez ces animaux, deux causes principales peuvent être à l'origine d'une intoxication :

**a) L'ingestion accidentelle de produits** (peintures, huiles, graisses de vidange...) contenant du plomb est la cause la plus fréquente. L'intoxication se manifeste sous la forme aigue, les doses absorbées étant le plus souvent élevées. Les bovins en sont largement victimes en raison de leur tendance à ingérer ou lécher tous les objets à leur portée, aggravée d'erreurs ou d'insouciance de leur propriétaire.

Il a été observé que la fréquence d'apparition de l'intoxication augmentait avec l'intensité d'activité de la ferme. Le pic se situe en été, ce qui correspond à la période où les bovins ont le plus accès aux produits à base de plomb (Blakeley, 1984 cité par Benleulmi, 1987).

**b) la consommation répétée des végétaux contaminés** ; en effet, à côté de l'absorption directe, les plantes s'enrichissent aussi de métaux lourds par la poussière qui se dépose sur les feuilles. La fumée et les cendres volantes des incinérateurs sont riches en Pb ou Cd. Les

aliments végétaux destinés à l'homme sont généralement lavés ; l'alimentation du bétail ne bénéficie pas de ce traitement (Verloo, 2003).

Cela peut avoir pour effet d'augmenter la concentration dans le lait et les abats (le foie et les reins) (Verloo, 2003).

## **2.2. CONTAMINATION DE L'HOMME PAR LE PLOMB**

Selon Dr. Gonzalez (2000), il existe plusieurs sources non professionnelles ;

### **a) Le saturnisme d'origine hydrique**

L'eau douce peu riche en calcaire, n'entraîne pas la production de carbonate de plomb insoluble dans les tuyaux en plomb. De ce fait, il existe des risques de contamination surtout si l'eau stagne dans ces canalisations.

**b) Ingestion d'aliment ou de boissons** contenus dans des récipients en céramique contenant du plomb. L'action de boissons acides ou de vinaigre sur ces récipients peut favoriser le dégagement de plomb.

### **c) Les intoxications saturnines de l'enfant**

Elles sont d'actualité, elles peuvent être très graves car l'enfant est plus sensible à la toxicité du plomb que l'adulte.

Les enfants se contaminent en grattant des murs recouverts de vieilles peintures à base de plomb puis en portant les doigts à la bouche.

### **d) La pollution atmosphérique**

- Le plomb est un polluant atmosphérique retrouvé autour des entreprises utilisant le plomb, il peut contaminer la terre et les cultures (jardins, légumes,...)
- Dans les centres urbains, la pollution atmosphérique est surtout liée aux gaz d'échappement des automobiles. Une automobile utilisant de l'essence tétraéthylée (1,5 g/l) libérerait, selon certaines études, jusqu'à 2,5 kg de plomb par an dans l'atmosphère.

### **3. DEVENIR DU PLOMB DANS L'ORGANISME**

#### **3.1. ABSORPTION**

Chez les bovins, L'ingestion de plomb est la principale voie d'intoxication. Le plomb est absorbé dans le duodénum, au niveau duquel il entre dans les cellules épithéliales de la muqueuse (Conrad et Barton, 1978 cités par Delphine, 2002). Il est admis que le plomb est faiblement absorbé. Ceci dépend en fait de la forme chimique sous laquelle se trouve le plomb, de la taille des particules ingérées, de l'espèce, de l'âge et du régime alimentaire. Si on a affaire à un composé soluble dans l'eau ou un composé qui peut se dissoudre dans un milieu acide, il sera plus absorbé qu'un composé insoluble (Joly *et al.*, 1987 cités par Delphine, 2002). Chez les ovins, l'absorption intestinale est faible et elle est inférieure à 2% (Mehennaoui, 1997).

L'absorption digestive des dérivés du plomb est plus importante chez l'enfant que chez l'adulte : A exposition égale, l'organisme de l'enfant absorbe 50 % du plomb ingéré, tandis que la proportion chez l'adulte est seulement de 5 à 7 % (Miquel., 2001).

De nombreux facteurs peuvent favoriser l'absorption du plomb:

Le facteur le plus important est le mécanisme de compétition avec le calcium. Toute carence ou tout besoin supplémentaires en  $Ca^{2+}$  favorise l'absorption du plomb (INSERM, 1999).

Hamir, (1986) cité par Delphine (2002), a montré que le zinc peut réduire de manière significative la proportion de plomb absorbée.

Selon Ito *et al.* (1987) cités par INSERM (1999), les carences en vitamines B1 et en fibres végétales, peuvent favoriser l'absorption du plomb.

La vitamine D, augmente l'absorption du plomb dans le tractus digestif car elle augmente l'absorption du calcium qui est en compétition avec le plomb au niveau des récepteurs (Hamir, 1986 cité par Delphine, 2002).

#### **3.2. LA DISTRIBUTION**

Une fois absorbée, la quasi- totalité du plomb est fixée aux globules rouges, 90 à 95 % chez les primates, d'après O'Flaherty *et al.* (1996) cités par INSERM (1999).

La distribution du plomb chez la brebis en lactation est rapide. En effet, le temps de demi-vie de distribution est court (2.34+/- 0.88 jours) (Mehennaoui, 1995). Ce temps est plus faible que les temps de demi-vie de distribution calculés chez les bovins (entre 5 et 9 jours) (Mehennaoui *et al.*, 1988 ; Oskarsson *et al.*, 1992). De même, que ceux calculés chez l'homme (35 jours) (Nilson *et al.*, 1991).

Elle est aussi large, avec un rapport  $V_{ss} / V_c$  ( $V_{ss}$ = le volume de distribution à l'état d'équilibre et  $V_c$  = le volume du compartiment central) de  $16 \pm 8$  (Mehennaoui, 1995). La quantité de plomb contenu dans le compartiment central ne représente que le  $1/16^{\text{ème}}$  de la quantité de plomb contenu dans l'organisme. Les quantités fixées dans les tissus, en particulier l'os illustrent cette large distribution.

Le plomb se fixe par ordre décroissant dans l'os, le foie et le rein des brebis (Mehennaoui, 1995). Ces mêmes tendances de fixation ont été constatées par Sharma *et al.* (1982) chez les bovins.

### 3.3. L'ELIMINATION DU PLOMB

Elle se fait par les principaux émonctoires naturels; les matières fécales en excrètent une quantité considérable, directement ou par voie biliaire, elle représente chez l'homme 15 à 20 % (La perche *et al.*, 2004).

La desquamation cutanée, les cheveux, les ongles peuvent également servir à l'élimination d'une petite quantité; la voie salivaire présente une importance diagnostique. (I.U.M.T Rennes, 1999). La voie d'élimination la plus intéressante demeure l'excrétion urinaire qui dépend directement de la fonction rénale ; chez l'homme, elle représente 75 % (La perche *et al.*, 2004).

Chez la brebis, l'élimination du plomb est lente, en effet, le temps de demi-vie d'élimination est grand ( $252 \pm 213$  jours) (Mehennaoui, 1995). Mais ces temps sont plus faibles que ceux calculés chez les bovins (entre 95 et 760 jours) (Mehennaoui *et al.*, 1988) et surtout chez l'homme, 10 à 18 ans selon Nilson *et al.* (1991) et Rabinowitz (1991).

D'après Mehennaoui (1995), cette différence peut s'expliquer par le fait que les bovins et les ovins ont une capacité supérieure à l'homme pour mobiliser les éléments minéraux à partir de l'os, au sein duquel a lieu une ostéolyse, surtout de l'os profond, libérant conjointement plomb et calcium dans le sang, en particulier en période de lactation.

L'excrétion du plomb semble répondre à un mécanisme physiologique semblable à celui du calcium, ce qui explique que l'excrétion soit sensible à toute réduction de la fonction rénale. Une lésion rénale, même minime, tendra à favoriser une accumulation tissulaire du toxique alors même que la plomburie reste normale ou sub-normale (I.U.M.T Rennes, 1999).

### **3.3.1. Excrétion du plomb par le lait**

L'excrétion du plomb par le lait est plus importante chez la brebis que chez la vache (Mehennaoui, 1995).

Chez la brebis en lactation, les teneurs en plomb dans le lait sont élevées, avec un rapport moyen des concentrations en plomb dans le lait sur le sang légèrement supérieur à 1 (Mehennaoui, 1995). Tandis que, chez la vache, ce rapport avoisinait 0.1 d'après Milhaud et Enriquez, (1981) cités par Mehennaoui, (1995).

Des observations analogues ont été effectuées par Johnson *et al.* (1988) qui indiquent des coefficients de transfert des radionucléides dans le lait 10 fois plus élevés chez la brebis que chez la vache.

Le cadmium semble augmenter l'excrétion du plomb par le lait (Mehennaoui, 1995).

L'ingestion par une brebis d'une dose quotidienne de 2.3 mg/kg/j donne une concentration en plomb dans le lait de l'ordre 135+/- 56 ug/l (Mehennaoui, 1995). Cette concentration dépasse largement la LMR proposée par le centre de recherche pour l'étude et l'observation des conditions de vie (CREDOC, 1998) qui est de **50 µg/l**. (voir tableau III ci-dessous).

**Le lait doit être retiré de la consommation.**

## **4. TOXICITE DU PLOMB**

Il ne semble pas que le plomb soit nécessaire ou utile à une quelconque fonction métabolique à l'inverse de nombreux oligo-éléments. Cependant, à l'état normal, le milieu biologique de l'homme contient une quantité faible mais non négligeable de cet élément. Cette présence inévitable provient des conditions d'environnement et de l'ubiquité de ce métal.

Le saturnisme désigne l'ensemble des manifestations de l'intoxication par le plomb. Les coliques de plomb sont les effets toxiques les plus connus du métal mais ses principaux organes cibles sont : le système nerveux, les reins et le sang (Miquel, 2001).

### **4.1. MECANISME DE L'ACTION TOXIQUE**

Les principaux mécanismes par lesquels le plomb contaminant un organisme entraîne des effets néfastes sont :

#### **4.1.1. Des perturbations enzymatiques**

Le plomb libre ionisé modifie les propriétés de nombreuses protéines cytosoliques et membranaires, en se liant de façon réversible avec les groupements thiols. Il inhibe ainsi

l'activité de nombreuses enzymes. Un point d'impact majeur se situe au niveau des enzymes de la biosynthèse de l'hème (INSERM, 1999).

L'hème est synthétisé à partir de succinyl-CoA et de glycine au terme de huit réactions enzymatiques. Les précurseurs des porphyrines,  $\delta$ -aminolévulinate (ALA) et porphobilinogène (PBG) sont d'abord formés, puis les porphyrinogènes et porphyrines et, enfin, l'hème par incorporation de fer ( $\text{Fe}^{2+}$ ) dans la protoporphyrine IX (INSERM, 1999).

- L'enzyme la plus sensible au plomb est l'acide  $\delta$ -aminolévulinique déshydratase (ALAD) qui catalyse la condensation de deux molécules d'ALA pour donner le PBG.

Pour son activité, cette enzyme requiert du zinc ( $\text{Zn}^{2+}$ ) qui empêcherait l'auto-oxydation des groupements thiols du site actif. En prenant la place du  $\text{Zn}^{2+}$ , le  $\text{Pb}^{2+}$  permettrait cette oxydation, empêchant ainsi la condensation des deux molécules d'ALA (Goering, 1993 cité par INSERM, 1999).

- La deuxième enzyme inhibée par le plomb est la ferrochélatase. Cette enzyme est capable de former différentes métalloporphyrines en utilisant comme substrat  $\text{Fe}^{2+}$  (hème),  $\text{Co}^{2+}$  (Coprotoporphyrine IX) et  $\text{Zn}^{2+}$  (Zn-protoporphyrine IX). L'inhibition de l'enzyme par  $\text{Pb}^{2+}$  et la non disponibilité de  $\text{Fe}^{2+}$  aboutissent à l'accumulation de zinc-protoporphyrine IX (ZPP), caractéristique de l'intoxication chronique (INSERM, 1999).

#### **4.1.2. Une compétition avec le calcium**

Le plomb altère l'homéostasie calcique et interfère sur les processus cellulaires et moléculaires médiés par le calcium aux niveaux membranaire et cytoplasmique.

Au niveau de la membrane cellulaire, le plomb entre en compétition avec le calcium au niveau des systèmes de transports membranaires comme les canaux calciques voltage dépendants, (Busselberg *et al.* 1994 cités par INSERM, 1999) et les  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPases membranaires (Bettaiya *et al.* 1996 cités par INSERM, 1999) qui sont des éléments importants dans le maintien de l'homéostasie calcique.

Au niveau intracytoplasmique, le calcium ionisé joue un rôle majeur de messenger intracellulaire en se liant sur divers récepteurs et effecteurs. Le plomb interfère avec ces processus dépendants du calcium en prenant sa place sur des sites spécifiques au niveau de protéines liant spécifiquement le calcium (Simons, 1986 cité par INSERM, 1999).

Le groupe d'experts réunis par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a conclu que le plomb et ses dérivés inorganiques étaient potentiellement cancérigènes pour l'homme (groupe 2B) (IARC, 1980 cité par INSERM, 1999).

## 5. LES VALEURS DE REFERENCE

Le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (Jecfa) a proposé une série de limites maximales de résidus pour un certain nombre de denrées alimentaires, ainsi qu'une dose admissible. Cette dose, appelée dose hebdomadaire théorique provisoire (DHTP), est de 25 µg / kg de poids corporel, soit 1500 µg / semaine pour une personne de 60 kg (INSERM, 1999). Les limites maximales de plomb (en ppb) dans les produits alimentaires primaires d'origine animale sont représentées dans le tableau III.

**Tableau III :** Consommation théorique maximale de plomb dans l'ensemble de la population française, (CREDOC, 1998 cité par INSERM, 1999).

Nomenclature Codex	Consommation moyenne* (kg/pers/sem)	% dans la consommation totale	Limite maximale (in ppb)	Quantité de plomb ingérée µg/pers/sem	% de la quantité totale de plomb
<b>Produits alimentaires primaires d'origine animale</b>					
<b>Produits mammifères</b>	1,38	9,4		189,45	11,1
Viande (toute espèce)	0,44	3,0	250	116,80	7,6
Foie	0,01	0,09	500	5,29	0,4
Rein	< 0,001	0,03	1 000	3,98	0,3
Lait	0,86	5,9	50	43,37	2,8
<b>Volailles</b>	0,35	2,4	—	—	—
<b>Produits de la mer</b>	0,23	1,5	—	163,64	10,7
Poissons	0,18	1,2	500	87,92	5,7
Crustacés	0,02	0,1	1 000	19,28	1,3
Mollusques	0,03	0,2	2 000	56,45	3,7

Utilisé dans les matières plastiques, dans l'industrie nucléaire (ralentisseur de neutrons) et la galvanoplastie. Ce métal peut être solubilisé à partir de poteries vernissées, de boîtes de conserves et d'outils ou ustensiles galvanisés ; il est également présent dans les engrais et les boues de stations d'épuration (Quevauviller, 2006).

C'est un métal qui est associé à un syndrome toxique dénommé **Itai-Itai !!** Ouille ouille ! Tel pourrait être la traduction française de cette maladie propre à une intoxication au cadmium. C'est au Japon, à Toyama Préfecture, qu'a eu lieu à ce jour la plus importante des intoxications : le cadmium relâché par les mines avoisinantes avait contaminé l'eau et les rizières (Peyret, 2002).

Cette pathologie, surtout rapportée chez les femmes ménopausées, se solde par des douleurs très violentes du bassin et des membres inférieurs. Elle serait due à un ramollissement généralisé des os avec fissure osseuse (principalement au niveau du col du fémur). Des anémies sont également mentionnées. L'ingestion estimée de cadmium dans la région était de 600 µg par jour, ce qui représente plus de 10 fois les niveaux normaux d'ingestion (Peyret, 2002).

## **1. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES**

Le cadmium est un élément relativement rare et n'existe pas naturellement à l'état natif. Il est présent dans la croûte terrestre à des concentrations d'environ 1 à 2 ppm, où il est souvent associé au zinc et au plomb. Il est également obtenu comme sous-produit de raffinage du plomb et du cuivre (Pichard, 2005).

### **1.1. PROPRIETS PHYSIQUES**

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

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

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

## 1.2. PROPRIETES CHIMIQUES

Les propriétés chimiques du cadmium sont semblables à celles du zinc. L'ion cadmium est déplacé par le zinc métallique en solution : il est donc plus noble que le zinc.

Il s'oxyde très peu à la température ambiante et brûle dans l'air en donnant de l'oxyde anhydre CdO, insoluble dans un excès d'hydroxyde de sodium.

Il réagit avec les acides et les bases. Le cadmium est soluble dans l'acide nitrique dilué et dans les acides chlorhydrique et sulfurique concentrés et chauds.

La masse molaire atomique du cadmium est de 112.4 g/mol (Pichard, 2005).

Du fait de ses propriétés, le cadmium métallique est utilisé comme anticorrosif pour le fer et comme alliage dans l'industrie automobile. Ses dérivés sont utilisés comme pigments (surtout sulfure de Cd), comme stabilisants pour les plastiques, dans la fabrication de batteries alcalines, de fongicides, d'accumulateurs Ni-Cd et de photopiles pour réacteurs nucléaires.

Cette utilisation diversifiante a amené à une contamination de plantes comestibles, par lesquelles le Cd parvient dans la chaîne alimentaire.

## 2. LE CADMIUM DANS LA CHAINE ALIMENTAIRE

Le cadmium est considéré comme le métal le plus apte à s'accumuler dans les chaînes alimentaires (Milhaud *et al.*, 1998).

Dans le biotope terrestre il existe une corrélation positive entre la teneur du sol en Cd et celle des végétaux, influencée par la nature du sol, son pH, l'espèce végétale ou la partie de la plante considérée (Burgat Sacaze *et al.*, 1996).

Selon le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF, 1996) cité par (Milhaud *et al.*, 1998), les principaux vecteurs alimentaires du cadmium sont par ordre d'importance décroissante, les légumes et les fruits (environ 30 %), les fromages et les produits laitiers (18.5 %), les produits à base de céréales (16 %) ; viennent ensuite les boissons (11.6 %), les abats (5.5 %), la charcuterie (2.7 %) et les poissons (2.6 %).

Chez les animaux de rente, la teneur des abats en Cd reflète parfaitement le Cd que l'animal trouve dans son alimentation et son environnement ; ainsi l'influence des amendements par des boues résiduelles est à prendre en compte (Burgat Sacaze *et al.*, 1996).

### **3. METABOLISME**

#### **3.1. ABSORPTION**

L'épithélium intestinal et pulmonaire représentent respectivement les premières barrières biologiques devant être franchies par le métal ingéré ou inhalé avant son entrée dans la circulation systémique. (Jumarie, 2005)

##### **3.1.1. Inhalation**

L'inhalation du cadmium est associée la plupart du temps à des expositions professionnelles (ouvrier des fonderies et industries de l'électroplacage, mineurs...) (Foulkes, 1986 cité par Craste, 1995). Cependant, les populations humaines et animales vivant à proximité des sources industrielles de cadmium peuvent subir une exposition pulmonaire, comme Buchet et ses associés (1980) l'ont mis en évidence chez des enfants vivant à proximité d'une fonderie (Craste, 1995).

Comme pour tous les aérosols, les particules de cadmium se déposent plus ou moins dans le tractus respiratoire (Friberg *et al.*, 1974 cités par Lavoix, 1978). Les particules déposées sont en partie éliminées en moins de huit heures par l'activité ciliaire de la muqueuse trachéobronchique, si elle est en bon état. Ce transfert muco-ciliaire peut ensuite entraîner une absorption intestinale.

L'absorption varie en fonction de la taille des particules inhalées, seules les particules qui ont un diamètre aérodynamique inférieur ou égal à 5 µm peuvent pénétrer dans le compartiment pulmonaire (OMS, 1980).

Le tabagisme est une source supplémentaire de cadmium dans les poumons, une seule cigarette peut contenir environ 0.9 - 2.3 µg de cadmium et l'on estime que quelque 10% de cette quantité sont inhalés (OMS, 1980).

L'absorption varie aussi en fonction de la solubilité et de diverses propriétés physicochimiques (ainsi l'oxyde de cadmium est plus absorbé que le sulfure). Elle dépend également de l'état fonctionnel du tractus respiratoire (Friberg *et al.*, 1974 cités par Lavoix, 1978).

En fonction de ces deux facteurs (taille des particules et solubilité du composé inhalé), le taux d'absorption par voie respiratoire varie de 10 à 40% (Friberg, *et al.*, 1986 cités par Craste, L. 1995).

### **3.1.2. Absorption gastro-intestinale**

Elle a lieu principalement dans le duodénum. Le coefficient d'absorption est estimé à 6% en moyenne chez l'homme (4-10 %) (Lavoix, 1978). Il est généralement inférieur à 10% (OMS, 1980). Le taux d'absorption du cadmium est directement lié à la forme chimique. Ce taux d'absorption peut être augmenté lors de carences alimentaires en calcium, en fer, en zinc, en cuivre ou en protéines (Pichard, 2005).

Cette absorption dépend aussi de la solubilité des sels de cadmium aux valeurs du pH à ce niveau. L'absorption percutanée du cadmium, est considérée comme négligeable (OMS, 1980).

### **3.2. TRANSPORT ET DISTRIBUTION TISSULAIRE**

Catherine Jumarie et son groupe. (2005) ont montré qu'en présence de ligands organiques, acides aminés ou peptides, le cadmium peut former des complexes organiques possiblement absorbés, par mimétisme moléculaire, c'est-à-dire en empruntant la voie de transport normalement destiné au ligand.

L'efficacité de ce transport à travers les cellules ainsi que sa vitesse varie en fonction de la spéciation du métal (Jumarie, 2005).

Les concentrations plasmatiques maximales sont atteintes immédiatement lors d'injections intraveineuses, après quelques minutes lors d'injection intra péritonéale, dix minutes à une heure après injection sous cutanée. Assez rapidement, la concentration plasmatique diminue, ce qui correspond à la fixation du cadmium par les tissus et les érythrocytes (Lavoix, 1978).

Le cadmium est transporté dans le sang fixé à l'hémoglobine ou aux métallothionéines (Pichard, 2005). Ainsi plus de 70 % du cadmium présent dans la circulation sanguine se trouve dans les globules rouges (OMS, 1980).

Le cadmium plasmatique est constitué de deux fractions : l'une liée aux albumines et constitué du cadmium récemment absorbé, l'autre lié à la métallothionéine et constitué du cadmium lentement relargué par le foie (et pour une moindre part, par les autres organes) (Craze, 1995).

Le cadmium se concentre principalement dans le foie et les reins (entre 50 % et 70 % de la charge totale) (Pichard, 2005). Il est également retrouvé dans le pancréas, la glande thyroïde, les testicules et les glandes salivaires (Pichard, 2005).

Dans les différents tissus, le cadmium se fixe sélectivement sur les métallothionéines. Celles-ci sont des protéines dont la synthèse est directement stimulée par l'exposition au cadmium (Pichard, 2005). Cependant, les capacités de synthèse ne semblent pas être les mêmes en

fonction des types de cellules considérées. Ainsi, les cellules rénales produisent deux fois moins d'ARN messager codant pour les métallothionéines que les cellules hépatiques, ce qui pourrait expliquer l'existence d'une néphrotoxicité plutôt qu'une hépatotoxicité suite à une exposition excessive au cadmium (OMS, 1992 cité par Craste, 1995).

La distribution du cadmium se fait en deux phases. Dans une première phase, le cadmium sanguin est distribué essentiellement vers le foie, mais aussi d'autres organes (rate, pancréas...); puis secondairement, ce cadmium est lentement relargué dans le sang, fixé à la métallothionéine, et capté par le rein où il se concentre (OMS, 1992 cité par Craste, 1995).

### **3.3. ELIMINATION**

L'élimination du cadmium se fait principalement par la voie fécale via la bile et par la voie urinaire. Mais cette élimination ne représente que 0.01 à 0.03 % de la charge corporelle totale (Friberg *et al.*, 1986 cités par Craste, 1995). Ces taux très faibles d'élimination expliquent la demi-vie biologique très longue du cadmium de l'ordre de 20 à 30 ans dans le rein et de 30 jours dans le sang (Pichard, 2005), et le fait qu'il soit bioaccumulable (OMS, 1992 cité par Craste, 1995). En l'absence de lésions rénales, l'excrétion urinaire du cadmium est proportionnelle à la charge corporelle aux niveaux rénal et hépatique (Pichard, 2005). Le cadmium peut être aussi éliminé dans les cheveux et le lait, mais ces voies sont insignifiantes d'un point de vue quantitatif (Combs *et al.*, 1982 ; OMS, 1992 cités par Craste, 1995).

## **4. BIOMARQUEURS DE L'EXPOSITION AU CADMIUM**

Le cadmium peut être dosé chez l'homme dans les cheveux, le sang et les urines. Les effets toxiques du cadmium sur les reins peuvent être détectés par la présence dans les urines de différentes protéines de bas poids moléculaire (Heyman *et al.*, 2008).

### **4.1. CADMIUM DANS LES CHEVEUX**

Les cheveux retiennent le cadmium pendant leur croissance en raison de leur forte teneur en kératine comprenant des ponts soufrés. La concentration capillaire de cadmium constitue un bon indicateur de l'exposition passée au cadmium en l'absence de contamination externe des cheveux (Heyman *et al.*, 2008).

## **4.2. CADMIEMIE**

En cas d'exposition modérée au cadmium, la concentration sanguine reflète principalement l'exposition des derniers mois. Quand l'exposition est faible, le cadmium sanguin est un indicateur de la charge corporelle mais il est influencé de façon importante par le tabagisme. Plusieurs mois après la fin de l'exposition et lorsque la durée cumulée est faible, la cadmiémie peut être un indicateur adéquat de la dose interne avec les réserves habituelles concernant le tabagisme (Heyman *et al.*, 2008).

## **4.3. CADMIURIE**

En cas d'exposition modérée ou faible au cadmium, la cadmiurie est un bon indicateur de la charge corporelle. En cas de contamination massive, l'excrétion urinaire de cadmium est également influencée par l'exposition actuelle. La mesure du cadmium urinaire est généralement utilisée comme premier indicateur biologique de l'exposition au cadmium. Lorsque la fonction rénale est normale, c'est un bon indicateur de l'exposition passée mais aussi récente. Chez les individus non exposés, l'excrétion urinaire est plus élevée chez les fumeurs mais elle est toujours inférieure à 2µg/g de créatinine. En l'absence de données suffisantes relatives à la toxicocinétique chez l'enfant, on utilise les valeurs de référence retenues chez l'adulte, soit 2µg/g de créatinine (Heyman *et al.*, 2008). Lorsque les concentrations rénales atteignent un certain seuil, des dysfonctionnements apparaissent : diminution de la réabsorption et excrétion dans l'urine de protéines ( $\beta_2$ -microglobuline, et rétinol-binding protéine RBP), d'acides aminés, de glucose, d'ions calcium (Milhaud *et al.*, 1998).

# **5. LA TOXICITE DU CADMIUM**

Seul le cadmium libre est à l'origine des effets toxiques observés (Pichard, 2005). Le cadmium lié à la métallothionéine est biologiquement inerte (Foulkes, 1986 cité par Craste, 1995).

## **5.1. EFFETS AIGUS**

Les symptômes de toxicité du cadmium à la suite d'une exposition aiguë incluent une gastro-entérite avec crampes épigastriques, des vomissements, des diarrhées et des myalgies. L'effet émétique du cadmium est un facteur pouvant expliquer la faible mortalité par cette

voie (Pichard, 2005). La dose orale aiguë estimée de cadmium pour les humains est de l'ordre de 5 à 500 mg/kg de masse corporelle (USEPA, 1988).

Chez les animaux, l'administration de fortes doses de cadmium (essentiellement par voie parentérale) peut provoquer des effets toxiques au niveau de nombreux organes : les reins, le foie, les testicules, les ovaires, le système nerveux, le pancréas, l'appareil cardio-vasculaire et le placenta. On observe aussi des sarcomes aux points d'injection et des effets tératogènes (OMS, 1980).

## **5.2. EFFETS CHRONIQUES**

Chez l'homme, les principaux effets toxiques lors d'une exposition prolongée au cadmium sont une dysfonction rénale et une atteinte pulmonaire. Parmi les autres altérations toxiques signalées, on peut citer des altérations osseuses, une légère anémie et une anosmie. L'administration parentérale de cadmium peut provoquer chez le rat un cancer au point d'injection et l'apparition de tumeurs des cellules interstitielles des testicules (OMS, 1980). Selon un article publié dans l'UQAM (Université de Québec à Montréal) daté en 2005, Catherine Jumarie, a mentionné qu'à l'heure actuelle, on reconnaît que le cadmium ingéré cause des problèmes d'insuffisance rénale et de fragilité osseuse. Le cadmium inhalé, lui, corrèle avec des maladies comme l'emphysème et le cancer du poumon. Effectivement, l'intoxication au cadmium provoque des accumulations de liquide alvéolaire dans les poumons, ce qui diminue l'efficacité des échanges respiratoires.

## **5.3. LES VALEURS DE REFERENCE**

L'OMS préconise une valeur, établie par le Jecfa, qui estime que l'apport total de cadmium ne devrait pas excéder 1µg/kg de poids corporel/jour pour que la concentration de cadmium dans le cortex rénal ne dépasse pas 50 mg/kg (Heyman *et al.*, 2008). La Dose hebdomadaire tolérable provisoire (DHTP), qui correspond à l'apport alimentaire à ne pas dépasser, est estimée à 7µg/kg de poids corporel/semaine (OMS, 2004 cité par Pichard, 2005), ce qui correspond à une Dose journalière admissible (DJA) de 60 µg/jour pour un adulte de 60kg et 25µg/jour pour un enfant de 7 à 8ans (25kg). Cette valeur est cohérente avec celle proposée par l'US EPA, (1994) cité par Pichard, (2005), de l'ordre de 1 µg/kg/j.

Quelques teneurs maximales pour le cadmium dans les denrées alimentaires sont représentées dans le tableau IV ci-dessous

**Tableau IV** : Teneurs maximales pour le cadmium dans les denrées alimentaires (article 1 du règlement CE n° 446/2001).

Viande bovine, viande de mouton	0.05 mg/kg de poids à l'état frais
Viande de cheval	0.2 mg/kg de poids à l'état frais
Foie de bovin, de mouton	0.5 mg/kg de poids à l'état frais
Rognon de bovin, de mouton	01 mg/kg de poids à l'état frais

Source : tableau inspiré du rapport d'étude n° INERIS-DRC-06-75999/DESP-R1b, 06/2006

## **1. DOMAINES D'APPLICATION DE LA SPECTROMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE**

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

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

## **2. PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT**

La spectrophotométrie d'absorption atomique consiste à porter les éléments à doser à leur état atomique sur le trajet d'un rayonnement UV- visible et à mesurer l'absorbance de la vapeur à une longueur d'onde spécifique (PERE, 1999).

## **3. ELEMENTS CONSTITUTIFS DES SPECTROPHOTOMETRES D'ABSORPTION ATOMIQUE**

Tout instrument d'absorption atomique contient les mêmes éléments de base (figure 2 ci-dessus):

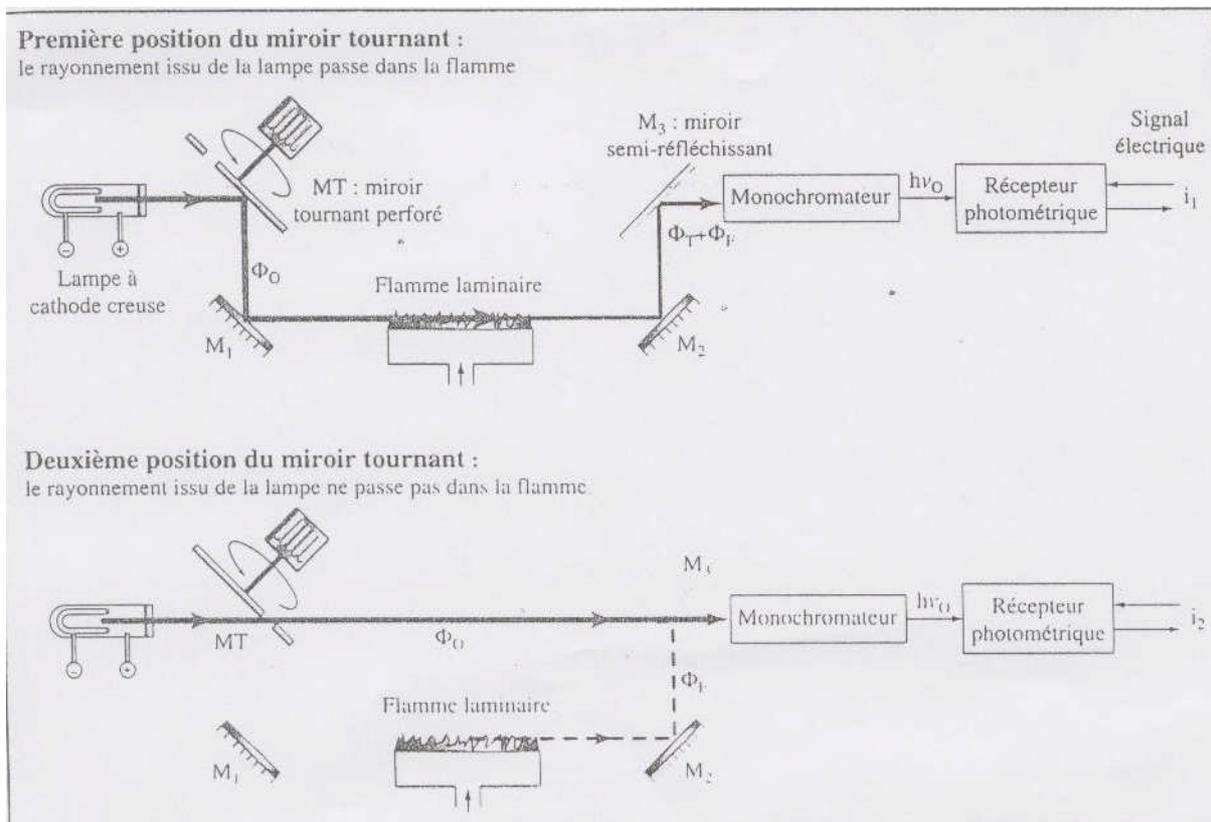
- Une source de lumière qui produit une radiation caractéristique de l'élément à doser à la longueur d'onde spécifique.
- Un système pour moduler le rayonnement provenant de la source.
- Un atomiseur dont le rôle est de produire un nuage d'atomes à l'état fondamental.
- Un monochromateur à réseau isole ensuite la raie de résonance à partir du rayonnement en général complexe qui lui parvient de la vapeur atomique.

- Un récepteur photométrique transforme le flux non absorbé par la vapeur atomique en un signal électrique traité électriquement afin d'afficher l'absorbance.

Nous retiendrons dans cette description le schéma d'un spectrophotomètre d'absorption atomique bifaisceau, car l'appareil **Shimadzu AA 6800** utilisé pour le dosage de nos minéralisats est un model bifaisceau.

Avec l'appareil bifaisceau, le réglage du zéro d'absorbance est beaucoup plus stable et les mesures plus reproductibles. Ainsi ce type d'appareil bifaisceau est idéal pour travailler sur des grandes séries (PERE, 1999).

L'appareil est schématisé ci-dessous :



**Figure 2 :** Spectrophotomètre d'absorption atomique bifaisceau  
Source : (PERE, 1999).

## **Description :**

Selon PERE, (1999), sur la figure 2, deux faisceaux sont successivement fournis par le modulateur MT qui est un miroir tournant perforé.  $M_3$  est un miroir semi-argenté.

Dans la première position (figure 2), le faisceau de flux  $\emptyset_0$  est dirigé par MT vers la vapeur atomique et le récepteur photométrique reçoit un faisceau de mesure qui peut se décomposer en deux,  $\emptyset_T$  ET  $\emptyset_F$  :

- $\emptyset_T$  représente la partie du faisceau de flux  $\emptyset_0$  et de fréquence  $V_0$  que la vapeur atomique transmet.
- $\emptyset_F$  représente le flux du rayonnement non modulé mais continu émis par et dans la flamme qui parvient à sortir du monochromateur.

Dans la deuxième position (figure 2), le faisceau de flux  $\emptyset_0$  va directement sur le récepteur photométrique en formant un faisceau de référence. Il y a toujours le faisceau de flux  $\emptyset_F$  qui se dirige vers le récepteur photométrique.

Les faisceaux de flux  $\emptyset_0$  et  $\emptyset_T$  sont modulés par MT alors que le faisceau de flux  $\emptyset_F$  est continu. En accordant, fréquence et en phase, amplificateur et modulateur, la composante modulée des signaux électriques est amplifiée, tandis que leur composante continue est éliminée. L'électronique est ensuite capable de séparer et d'utiliser ces signaux amplifiés qui correspondent donc à  $\emptyset_0$  et  $\emptyset_T$ .

## **Mesures des transmittances et calculs d'absorbances**

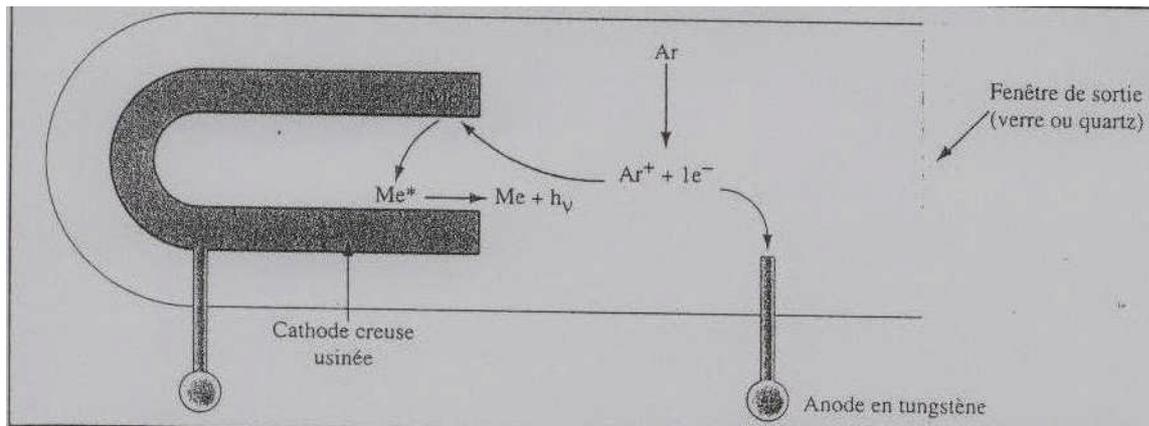
L'absorption atomique d'un échantillon affaiblit  $\emptyset_0$  qui devient  $\emptyset_T$ . Les signaux électriques successifs retrouvés après l'amplificateur sont, l'un proportionnel à  $\emptyset_T$  ( $I_T$ ) et l'autre proportionnel à  $\emptyset_0$  ( $I_0$ ).

Le rapport  $I_0/ I_T$  mesuré par l'appareil lui permet d'afficher des transmittances. Le calcul de  $\log I_0/ I_T$  conduit aux absorbances (PERE, 1999).

### **3.1. SOURCE DE LUMIERE**

Son rôle est de produire une radiation lumineuse à la longueur d'onde caractéristique de l'élément à doser.

Les plus répandues de ces sources sont représentées par les lampes à cathode creuse (photo 1). Celles-ci fournissent des raies très fines de la longueur d'onde des raies d'émission des atomes qui la constituent. Et sont formées de :



**Figure 3 :** Lampe à cathode creuse.  
Source : (PERE, 1999).

- d'un tube en verre rempli d'un gaz rare sous faible pression et muni de deux électrodes (Figure 3). L'anode est un simple fil de tungstène alors que la cathode est un petit cylindre creux réalisé dans (ou recouvert par) le même élément que celui qu'on cherche à doser dans l'échantillon. Les métaux durs sont usinés directement en forme de cathode creuse (fer, cuivre...) : sinon une cathode creuse en aluminium tapissée intérieurement par une feuille du métal à exciter. Une lampe sert en général au dosage d'un seul élément (PERE, 1999). Lorsqu'une tension électrique est appliquée entre l'anode et la cathode (300 à 400 V), il se produit une ionisation du gaz rare (l'argon sur la figure 3). Les cations ( $\text{Ar}^+$ ) ainsi formés bombardent la cathode creuse et les atomes métalliques qui la composent sont arrachés et excités ( $\text{M}^*$ ). Leur désexcitation se fait par émission de photons spécifiques formant le spectre de raies de l'élément excité ces photons pourront être absorbés par des atomes du même élément, à l'état fondamental, dans la vapeur atomique.

La fenêtre de sortie est en quartz surtout pour les raies de résonance inférieures à 320 nm environ

L'intensité de l'émission de ces lampes dépend de la tension appliquée entre anode et cathode, il faudra la stabiliser pour avoir une émission constante (PERE, 1999). L'appareil permet souvent de préchauffer plusieurs lampes, de 2 à 8 lampes (photo 2) par exemple, afin de pouvoir doser sans perte de temps plusieurs éléments successivement.

Le positionnement sur l'axe optique est manuel ou automatique.



**Photo 2 :** Une tourelle de huit lampes

Source : ESPA



**Photo 1 :** Une lampe à cathode creuse

Source : ESPA

### **3.2. MODULATION DU RAYONNEMENT EMIS PAR LA SOURCE**

Une modulation mécanique peut être par exemple obtenue par un disque perforé tournant qui hache avec une grande régularité le rayonnement émis entre la source et la vapeur atomique.

Une modulation électrique est obtenue par une alimentation électrique intermittente de la source qui entraîne donc une émission discontinue. On parle de source pulsée (PERE, 1999).

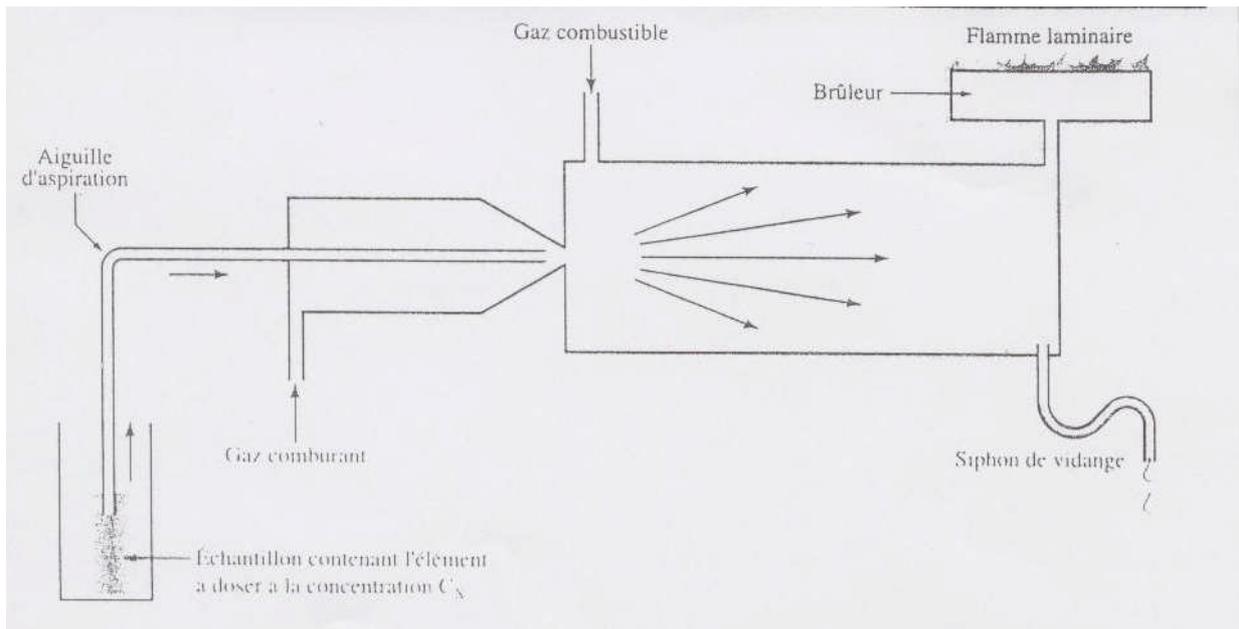
### **3.3. SYSTEME DE PRODUCTION DE VAPEUR ATOMIQUE**

Pour casser les liaisons (ioniques ou covalentes) engagées en solution par l'élément à doser, il faut les hautes températures d'une flamme ou d'un four. Exceptionnellement, certains éléments peuvent exister à l'état atomique sous forme de vapeur froide : c'est le cas du mercure (PERE, 1999).

Le rôle de l'atomiseur est de produire des atomes, mais ceux-ci doivent se trouver à l'état fondamental pour pouvoir absorber les photons provenant de la source. On distingue essentiellement deux types d'atomiseurs ; la flamme et le four en graphite (électrothermique).

#### **3.3.1. Nébuliseur et brûleur**

Le nébuliseur assure la nébulisation de la solution contenant l'élément à doser, sous l'action de gaz comburant : air, oxygène ou diazote oxyde ( $N_2O$ ). Il doit fournir un nébulisat fin, homogène et régulier. Les plus fines gouttelettes restent en suspension et sont mélangées au gaz combustible avant d'atteindre le brûleur (figure 4).



**Figure 4 :** Ensemble nébuleur- brûleur (proportion non respectée)

Source : (PERE, 1999).

Le brûleur est très allongé de 10 à 15 cm (photo 3) et assez étroit. Cette flamme laminaire permet d'augmenter la longueur du trajet du rayonnement issu de la source dans la vapeur atomique.



**Photo 3 :** brûleur  
Source : ESPA



**photo 4 :** Atomisation par flamme  
Source : ESPA

En absorption atomique à flamme, c'est généralement l'acétylène qu'est utilisé comme combustible. Le gaz comburant est soit l'air (2300 K), soit l'oxygène (3200 K) soit le diazote (3200 K également)

Dans la flamme se produit l'évaporation du solvant (avec éventuellement combustion), la fusion puis l'évaporation des composés métalliques, et en fin une dissociation moléculaire libérant les atomes qui peuvent alors absorber (PERE, 1999).

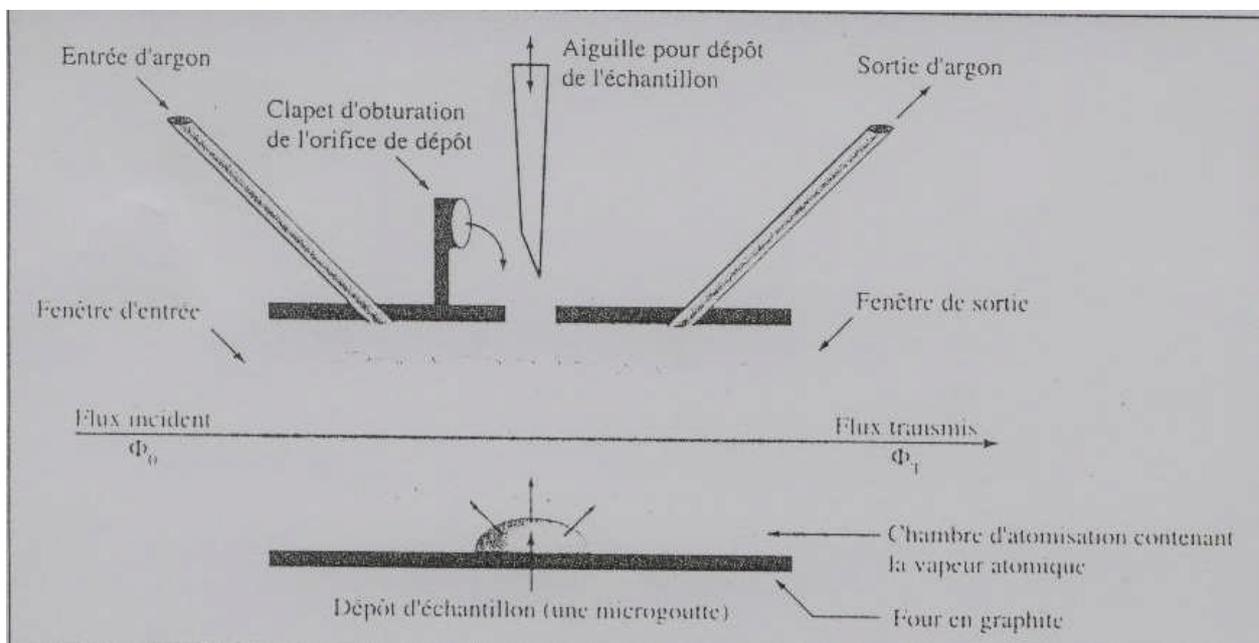
### Remarque importante

Lorsque la flamme est allumée (photo 4), il est absolument nécessaire qu'un liquide soit aspiré par le nébuliseur – eau distillée ou solution échantillon – sous peine d'endommager la tête du brûleur. De même, avant d'éteindre la flamme, il faut nettoyer le brûleur en aspirant de l'eau distillée pendant quelques minutes (Galez, 2008).

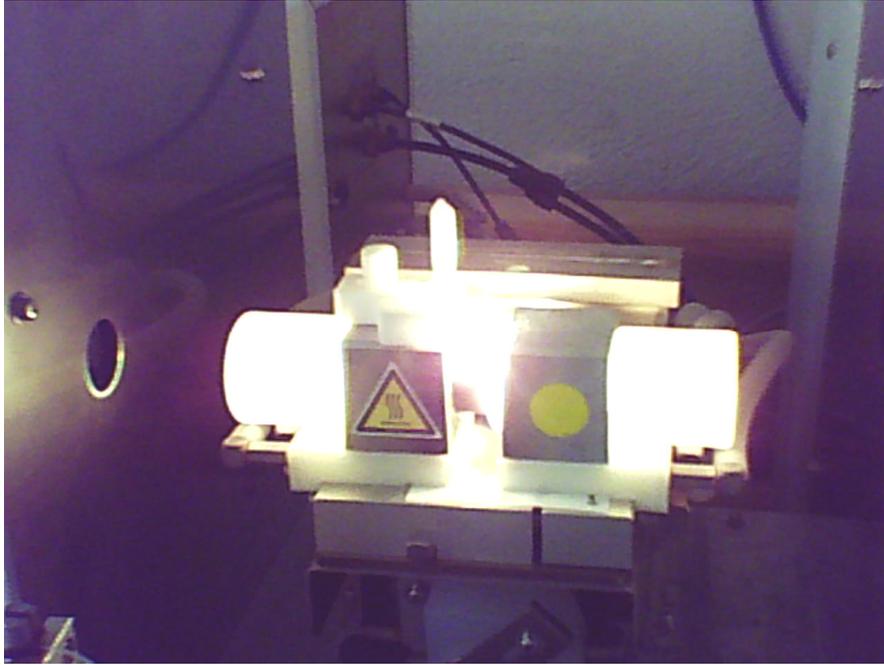
### 3.3.2. Four en graphite

L'appareil est constitué par un petit cylindre creux en graphite de quelques centimètres de longueur et d'environ 1 cm de diamètre interne. Il est chauffé par effet joule et traversé par le rayonnement issu de la source (figure 5)

L'atomisation y est réalisée par réduction des oxydes métalliques par le carbone à haute température (PERE, 1999), comme la montre la photo 5.



**Figure 5 :** Schéma du four graphite  
Source : (PERE, 1999).



**Photo 5:** Four graphite en phase d'atomisation

Source : ESPA

Le cycle de température ; Quelques microlitres de solution à analyser sont introduits dans le four qui est chauffé selon un cycle programmable. Il y a successivement :

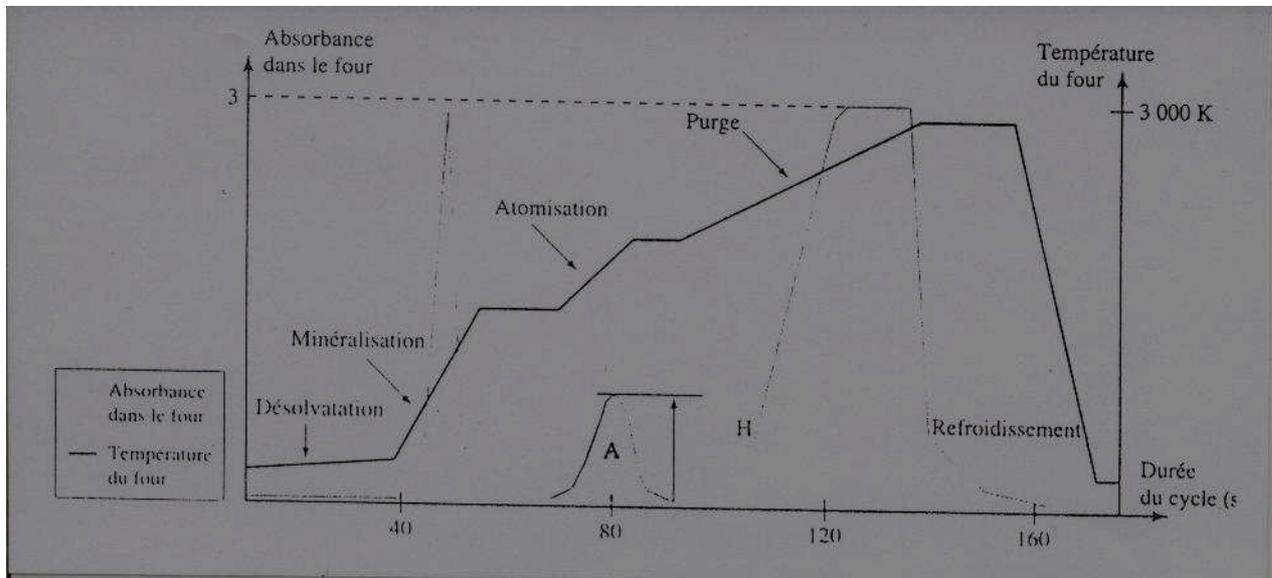
- Désolvatation ; c'est- à- dire évaporation de la phase liquide (jusqu'à une température de 100°C environ si la solution est aqueuse). cette étape doit être effectuée lentement mais ne prend que 20 à 40 secondes environ.
- Minéralisation par formation d'oxydes ; à une température dépendant de la nature des métaux présents (20 à 40 secondes environ).
- Production de la vapeur atomique par réduction des oxydes ; à une température comprise entre 200 et 2600°C (quelques secondes). Il faut veiller à ne pas dépasser une température au-delà de la quelle une ionisation excessive des atomes diminuerait le nombre de ceux qui peuvent absorber.
- Purge du système ; par un courant d'argon à une température supérieure à 2000°C (maximum 3000°C).
- Refroidissement ; par circulation d'eau autour du four.

Le rôle de l'argon ; Si l'on ne prenait pas de précautions, le graphite du four brûlerait à de telles températures. Il faut éviter tout contact entre le graphite chauffé et l'oxygène (et donc l'air). Pour cela, le four est parcouru par un courant d'argon lors de la montée en température. Ce courant gazeux emporte les vapeurs de solvant, les éventuelles fumées et les éléments

volatilisés avant que la température d'atomisation de l'élément à doser soit atteinte. On arrête cependant le courant d'argon juste avant d'atteindre la température d'atomisation de l'élément à doser.

L'atomisation se produit donc dans une enceinte remplie d'argon, ce qui permet d'atteindre des concentrations atomiques élevées.

Le courant d'argon reprend lors de la purge. L'absorbance dans le four évolue au cours du temps (figure 6). Les éventuelles fumées produites lors de la minéralisation donnent une absorbance mesurable. L'atomisation se fait ensuite à une température choisie en fonction de l'élément à doser et donne un pic que l'on espère isolé et spécifique, dont on utilise la hauteur  $H$ , ou plutôt l'aire  $A$ , pour l'analyse quantitative. La purge peut aussi donner lieu à une forte absorbance.



**Figure 6 :** Evolution de l'absorbance dans un four en graphite au cours d'un cycle

Source : (PERE, 1999).

### 3. 4. LE MONOCHROMATEUR

Le rôle du monochromateur consiste à éliminer toute la lumière, quelle que soit son origine, ayant une longueur d'onde différente de celle à laquelle on travaille (Galez, 2008).

### 3. 5. LE DETECTEUR

Le détecteur est situé à la sortie du monochromateur. Son rôle est de mesurer les intensités lumineuses nécessaires au calcul des absorbances. Cette absorbance est proportionnelle d'après la loi de Beer-Lambert à la concentration de l'élément dans la solution (Galez, 2008). Pratiquement tous les appareils à l'heure actuelle sont équipés d'un tube photomultiplicateur.

## **4. GRANDEURS CARACTERISTIQUES**

### **4.1. LA SENSIBILITE**

En spectrométrie d'absorption atomique, la sensibilité ou concentration caractéristique est la concentration exprimée en mg/L qui conduit à une absorption de 1% c'est-à-dire une absorbance égale à 0,0044 (Galez, 2008).

Sensibilité (mg/L) = Concentration étalon (mg/L) × 0,0044 / absorbance mesurée

### **4.2. LES LIMITES DE DETECTION ET DE QUANTIFICATION**

La limite de détection est définie comme la plus petite quantité d'analyte pouvant être détectée dans un échantillon mais pas nécessairement quantifiée comme une valeur exacte (Quevauviller, 2006).

Elle dépend bien sûr de la sensibilité mais également de la stabilité du signal d'absorbance ; La concentration qui donne une absorbance trois fois supérieure au bruit de la ligne de base (sans analyte). Celui-ci est égal à l'écart type d'une série de dix mesures d'absorbance de la ligne de base (Quevauviller, 2006).

La limite de quantification exprime la plus petite concentration (ou masse) d'analyte qui peut être déterminée quantitativement avec une incertitude acceptable. Elle correspond à 4 fois la limite de détection (Quevauviller, 2006).

PARTIE

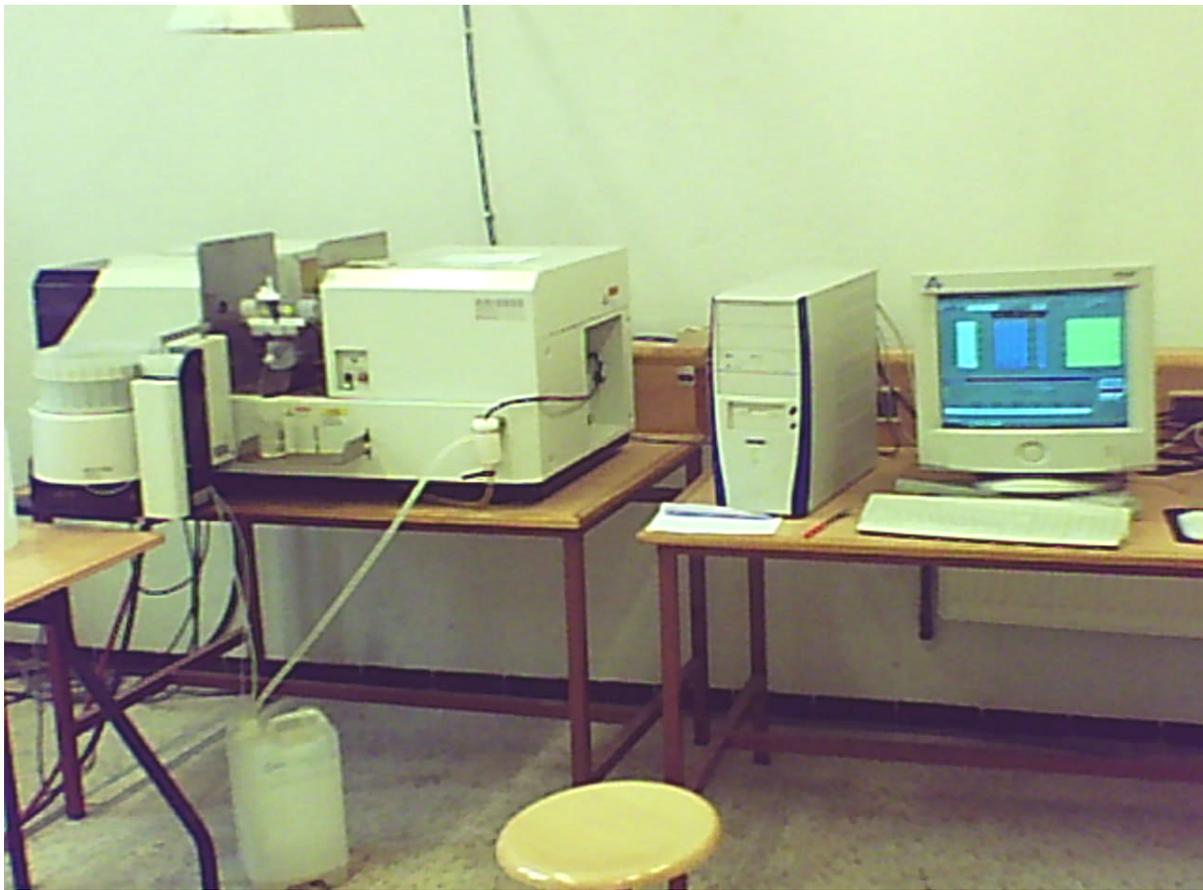
EXPERIMENTALE

**Lieu d'expérimentation : Laboratoire Environnement Santé et Production Animale (ESPA) de l'université de Batna.**

## **1. MATERIELS**

### **1.1. APPAREILLAGE**

Nous avons utilisé un spectrophotomètre d'absorption atomique de marque Shimadzu AA 6800 avec échantillonneur automatique (ASC- 6100) comprenant des godets jetables préalablement lavés à l'eau distillée (Photo 6). Ce spectrophotomètre **AA-6800** conjugue automatisation, facilité d'utilisation et ultra haute performance. Il bascule simplement et automatiquement de la flamme au four grâce au logiciel, évitant ainsi toute perte de temps liée au réalignement optique.



**Photo 6** : Un spectromètre d'absorption atomique de marque Shimadzu AA 6800.

Source : ESPA

## 1.2. MATERIELS POUR EXTRACTION

### 1.2.1. Système de dissolution sous pression à micro-ondes speedwave MWS-2



**Photo 7** : micro-ondes speedwave MWS-2

Source : ESPA

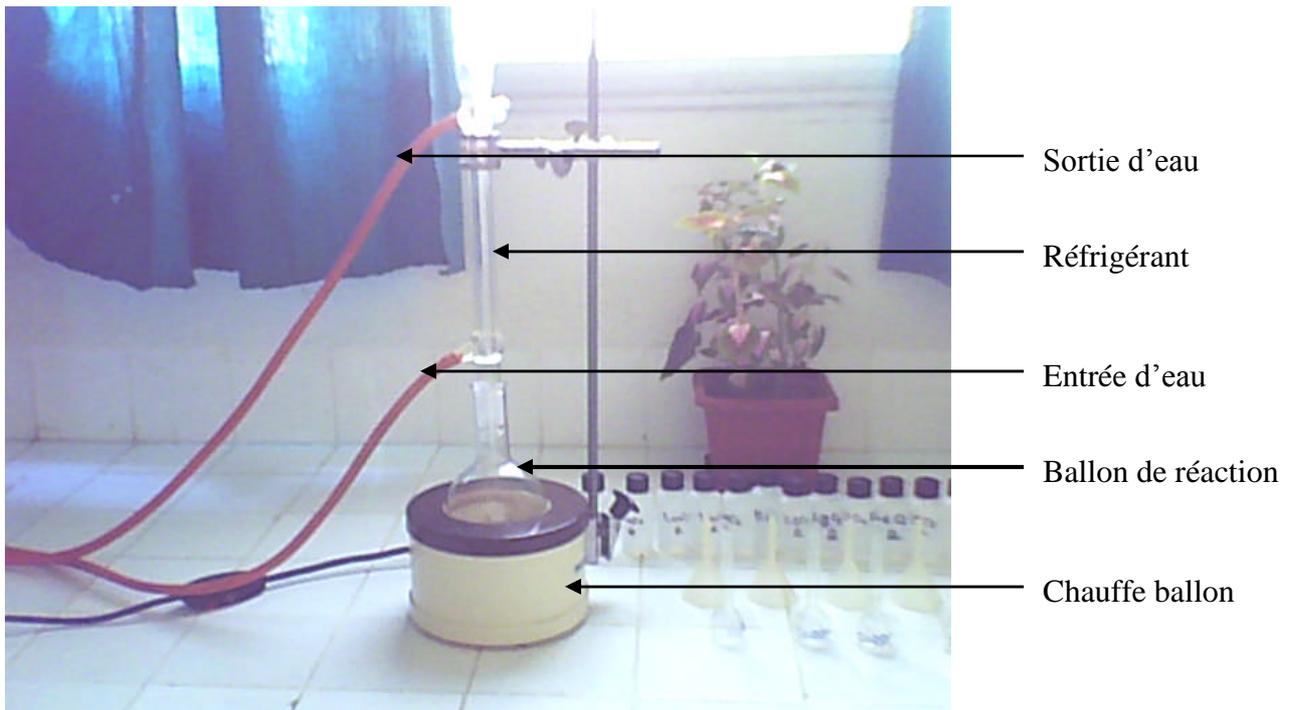
### 1.2.2. Four à moufle de marque Heraeus : pour la calcination, température réglable.



**Photo 8** : Four à moufle utilisé pour la calcination

Source : ESPA

### 1.2.3. Chauffage à reflux de PHYWE.



**Photo 9 :** chauffage à reflux  
Source : ESPA

### 1.3. AUTRES MATERIELS

- Etuve de laboratoire ; utilisée pour le séchage des échantillons.
- distillateur pour la préparation d'eau distillée



**Photo 10 :** Une étuve pour séchage  
Source : ESPA



**Photo 11 :** Un distillateur  
Source : ESPA

- Balance analytique OHAUS, sensibilité de 0.1mg, utilisée pour la pesée des échantillons.
- un dessiccateur
- Pipettes automatiques avec embouts jetables.



**Photo 12 :** Une balance analytique  
Source : ESPA



**Photo 13 :** un dessiccateur  
Source : ESPA



**Photo 14 :** Des micropipettes  
Source : ESPA



**photo 15:** Embout jetable et un godet  
source : ESPA

### 1.3. REACTIFS

- Acide nitrique –  $\text{HNO}_3$  à 60 %.
- Acide chlorhydrique –  $\text{HCl}$  à 35%.
- Sel de nitrate de plomb  $[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2]$ , un sel de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , du sulfate de cuivre 5 fois hydraté  $[\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$ ,
- Solution mère du cadmium à 1g/l, solution mère du manganèse à 1g/l et une solution mère de zinc à 1g/l. Sont tous des solutions mères Perkin Elmer.
- L'eau régale utilisée dans la digestion acide de l'échantillon est préparée en mélangeant les deux acides nitrique et chlorhydrique comme suit : 1 volume  $\text{HNO}_3$  et 3 volume  $\text{HCl}$ .
- Eau distillée préparée au niveau du laboratoire à l'aide d'un distillateur.

#### 1.3.1. Préparation des solutions

##### 1.3.1.1. Préparation des solutions mères

- Solution mère de plomb à 1000 ppm (partie par million), c-à-d : 1g/l.

Peser environ exactement 1.598g d'un sel de nitrate de plomb + 5 ml d' $\text{HNO}_3$  + Quantité suffisante pour un litre d'eau distillée.

- Solution mère de cuivre à 1000 ppm (partie par million), c-à-d : 1g/l.

Peser environ exactement 3.93g de sulfate de cuivre + 5 ml d' $\text{HNO}_3$  + Quantité suffisante pour 1 litre d'eau distillée.

- Solution mère de fer à 1000 ppm (partie par million), c-à-d : 1g/l.

Peser environ exactement 4.84g d'un sel de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  + 10 ml d'acide nitrique à 1 % + Quantité suffisante pour 1 litre d'eau distillée.

R/ l'acide nitrique est ajouté dont le but de mieux solubiliser ces sels en milieu acide.

##### 1.3.1.2. Préparation d'une solution intermédiaire multi-élément de 100 mg/l

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

### 1.3.1.3. Préparation d'une solution multi-élément de 10 mg/l

Dans une fiole de 100 ml, et à l'aide d'une pipette graduée de 10 ml, on fait une dilution  $1/10^{\text{ème}}$  de la solution intermédiaire multi-élément de 100 mg/l, c-à-d : 10 ml de la solution (5-2) + 90 ml d'eau distillée.

### 1.3.1.4. Préparation des solutions étalons

À partir de la solution (1.3.1.3) multi-élément de 10 mg/l, on prépare les solutions étalons de la manière suivante :

- Pour les éléments : cuivre, zinc, manganèse et fer et qui sont dosés par spectrométrie d'absorption atomique avec flamme, les étalons sont de l'ordre de 0.1 ppm, 0.5 ppm, 1 ppm, 2 ppm et 5 ppm.

R/ à noter que : ppm (partie par million) équivaut à milligramme par litre.

- Pour le cadmium, et qui est dosé par spectrométrie d'absorption atomique avec four en graphite, les étalons sont de l'ordre de : 0.1 ppb, 0.5 ppb, 1 ppb, 2 ppb et 5 ppb.

R/ à noter que : ppb (partie par billion) équivaut à microgramme par litre.

- Pour le plomb, et qui est dosé par spectrométrie d'absorption atomique avec four en graphite, les étalons sont de l'ordre de : 5 ppb, 10 ppb, 20 ppb et 50 ppb.

### **Remarque importante**

Pour travailler dans les mêmes conditions de dosage au laboratoire, les solutions étalons sont préparés en même que les échantillons à doser, généralement par le même personnel dont le but de minimiser au maximum le niveau de contamination.

## 2. METHODES

### 2.1. EXTRACTION DES ETM DANS LES ABATS (FOIE ET REINS)

#### 2.1.1. Techniques d'extraction des ETM dans le foie de référence

Trois techniques d'extraction des éléments traces métalliques ont été réalisées au niveau du laboratoire de recherche Environnement Santé et Production Animale (ESPA) de Batna sur un échantillon de foie certifié de bovin (Photo 16) dont les références sont les suivantes :



**Photo 16** : foie certifié de bovin

Source : ESPA

NIST (National Institute of Standards and Technology). Standard Reference Material ® 1577 b Bovine Liver. U.S. Department of commerce Gaithersburg, MD 20899.

Un matériau de référence (MR) est défini comme un matériau ou substance dont une (ou plusieurs) valeur (s) de la (des) propriété (s) est (sont) suffisamment homogène (s) et bien définie (s) pour permettre de l'utiliser pour l'étalonnage d'un appareil, l'évaluation d'une méthode de mesurage ou l'attribution de valeurs aux matériaux (Guide ISO 30 cité par Quevauviller, 2006).

Un matériau de référence certifié (MRC) est un matériau de référence, accompagné d'un certificat, dont une (ou plusieurs) valeur (s) de la (des) propriété (s) est (sont) certifiée (s) par une procédure qui établit son raccordement à une réalisation exacte de l'unité dont laquelle chaque valeur certifiée est accompagnée d'une incertitude à un niveau de confiance indiqué (Guide ISO 30 cité par Quevauviller, 2006).

### 2.1.1.1. Minéralisation par calcination sèche

Trois prises d'essai d'un foie de référence, chacune de 1 gramme environ, placées dans des capsules en porcelaine, ont subi une minéralisation selon une méthode décrite par (Milhaud et Mehennaoui, 1988).

La calcination se fait par paliers successifs jusqu'à 450°C (figure 7), dans le but d'éviter une inflammation brutale du prélèvement et qui provoquerait des pertes : après la pesée exacte pour chaque prélèvement, on allume le four à moufle à température réglable. On laisse les échantillons à l'intérieur pendant 1 heure à 100°C, 1 heure à 200°C, 1 heure à 300°C et 16 heures à 450°C. A la sortie des échantillons du four, il faut s'assurer qu'il a refroidi pour éviter un choc thermique qui risquerait de casser les capsules.

Le résultat doit être des cendres blanches. Dans le cas contraire on doit refaire la calcination, en augmentant toujours la température par paliers successifs de la même que précédemment. Une fois que les cendres sont bien blanches, on procède par une attaque à l'acide, 1 ml d' $\text{HNO}_3$  5N pour faire dissoudre les cendres en chauffant légèrement dans un bain de sable (type Gerhardt). Le liquide obtenu est filtré sur du papier filtre spécial pour métaux (Whatman de 90 mm de diamètre) dans une fiole de 50 ml, puis avec de l'eau distillée on rince bien la capsule et on ajuste la fiole à son volume final.

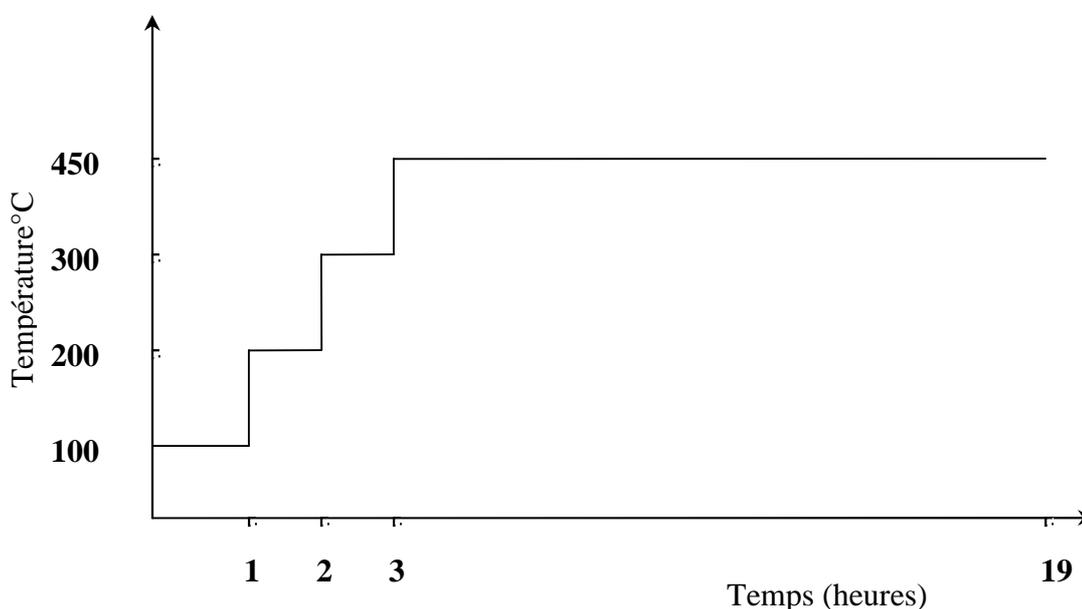


Figure 7 : programme de température du four à moufle

### 2.1.1.2. Digestion humide par chauffage à reflux

**Principe :** En chauffant électriquement, Le chauffage à reflux est utilisé pour accélérer, ou permettre, une réaction chimique sans perte de réactifs ou de produits par évaporation. Du fait de l'augmentation de la température certaines espèces chimiques s'évaporent. Ces espèces

chimiques montent alors dans le réfrigérant. De l'eau froide s'écoule en permanence dans ce réfrigérant, au contact des parois les gaz refroidissent et se condensent sous formes de gouttelettes sur les parois du réfrigérant et finissent par retomber dans le ballon de réaction. Pour contrôler l'ébullition, on utilise un agitateur magnétique chauffant (chauffe ballon).

**Protocole :** Dans un ballon de réaction, une prise d'essai de 0.5 gramme environ d'un foie de référence subit une attaque acide par 10 ml d'eau régale pendant une heure de temps environ jusqu'à digestion complète de l'échantillon.

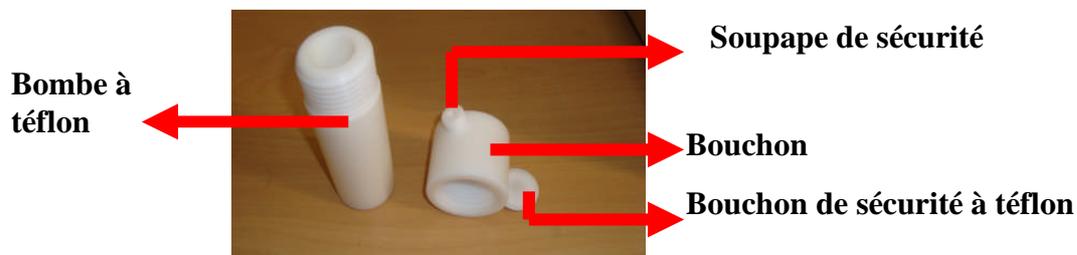
Après refroidissement, le contenu du ballon à réaction est filtré sur du papier filtre spécial pour métaux (Whatman de 90 mm de diamètre) dans une fiole de 20 ml, puis avec de l'eau distillée on rince bien le ballon et on ajuste la fiole à son volume final.

L'opération est répétée trois fois pour trois prises d'essai différentes de 0.5 gramme environ.

### 2.1.1.3. Digestion humide par micro-ondes (*speedwave MWS-2*)

**Principe :** La minéralisation par micro-ondes est devenue l'une des techniques à usage assez large pour la digestion de matériels biologiques, géologiques, environnementales et métalliques et qui remplace les méthodes classiques (Lamble et Hill, 1998). Plusieurs articles ont décrit la procédure de digestion humide par micro-ondes (Sures *et al.*, 1995 ; Bermejo-Barrera *et al.*, 2000). Nous allons appliqués cette technique pour la première fois au niveau du labo de Batna. En effet, C'est dans des bombes à téflon (photo 17), perméables aux micro-ondes, que les échantillons sont chauffés dans une solution acide d'eau régale appropriée selon un programme thermique préétabli. De cette manière l'échantillon est complètement détruit et dissout.

L'avantage du chauffage par un champ de micro-ondes réside dans la rapidité de la montée en température de l'échantillon et de la solution acide. De même qu'un contrôle efficace des réactions grâce à la mesure de la température et de la pression.



**Photo 17 :** Bombe à téflon

Source : ESPA

## Protocole

- Pour chaque bombe à téflon, 06 ml d'eau régale est ajoutée à une prise d'essai de 0.3 gramme environ.
- Laisser 20 minute avant de cerner les bombes à téflon.
- Démarrer le micro-ondes type speedwave MWS-2 avec le programme P6, pendant 25 minutes.

Le programme est le suivant :

T 1	t 1	p 1	T 2	t 2	p 2	T 3	t 3	p 3
130 °C	8 min	80 %	155 °C	5 min	80 %	170 °C	12 min	80 %

Avec : T : température, t : temps, p : puissance.

- A la sortie du micro-ondes, les bombes à téflon subissent un refroidissement dans un bain d'eau froide pendant 20 minutes.
- Ouvrir les bombes à téflon dans une chambre d'aspiration.
- Filtration du contenu des bombes à téflon dans des fioles de 20 ml à l'aide d'un papier filtre spécial pour métaux (Whatman de 90 mm de diamètre) puis avec de l'eau distillée on rince bien la bombe à téflon, et on ajuste la fiole à son volume final (Photo 18).



**Photo 18** : Filtration du contenu des bombes à téflon dans des fioles de 20 ml.

Source : ESPA

**2.1.2. Application de la digestion au micro-ondes sur un échantillon de bovin 4 :**(foie et rein). Bovin 4 : Un taureau âgé de trois ans abattu au niveau de l'abattoir de Tamalous (Skikda).

**a. Dès l'arrivée des échantillons au laboratoire de Batna :** les échantillons ont subi les prétraitements suivants :

- Une décongélation à l'air ambiante.
- Une homogénéisation avec le mixeur.
- Une pesée du poids frais en utilisant une balance de précision.
- Les échantillons sont mis dans des capsules en aluminium en tarant le poids.
- Etiquetage et séchage à l'étuve à 80°C, pendant 24 heures.
- A la sortie de l'étuve, nous avons mis l'échantillon dans un dessiccateur, pour subir un refroidissement dans une atmosphère sans humidité.
- nous avons effectué une pesée du poids sec de l'échantillon à l'aide d'une balance de précision.
- Une homogénéisation à l'aide d'un mixeur.
- L'échantillon sous forme de poudre est mis un flacon en plastique référencé, pour une analyse de traces ultérieure.
- la tenue de registre, en mentionnant le type d'échantillon, la date.

#### **Remarque**

- L'échantillon du rein a subi une décapsulation, ainsi qu'un enlèvement du bout du tissu adipeux.
- Le pourcentage d'humidité (% H) est calculé comme suit :  $\% H = (M_0 - M_1)/M_0 * 100$

**Avec :**  $M_0$  : masse initiale de l'échantillon avant séchage (poids frais).

$M_1$  : masse finale de l'échantillon après séchage (poids sec).

Le pourcentage d'humidité pour le foie est égale à :  $(41.258g - 12.392g) / 41.258g * 100 =$   
**69.96 %.**

Le pourcentage d'humidité pour le rein est égale à :  $(24.167g - 4.854g) / 24.167g * 100 =$   
**79.91 %.**

**b. Maintenant,** les échantillons sont prêts pour l'analyse

- Pour avoir une prise d'essai représentative, il faut mélanger le contenu à l'intérieur du flacon.
- Ouvrir le flacon dans un dessiccateur.

- cinq prises d'essai de rein et cinq prises d'essai de foie ont subi une digestion à l'eau régale par micro-onde, comme suit : 0.5 g d'échantillon + 06 ml d'eau régale. Cinq répétitions pour le rein et cinq pour le foie, selon le protocole décrit précédemment **(2.1.1.3)**.

### **2.1.3. Méthode des ajouts dosés**

Elle consiste à additionner des quantités croissantes de l'élément considéré à des aliquotes de la solution étudiée. On obtient ainsi une gamme de calibration croissante, de même matrice et à volume final constant.

L'analyse des échantillons, celui pour qui aucun ajout n'a été effectué et ceux avec les ajouts croissants, permet d'établir une droite d'étalonnage :

En traçant la relation absorbance / concentration, on obtient une droite dont l'intersection avec l'axe des abscisses donne la concentration de l'analyte dans la solution sans ajout. Théoriquement, une meilleure précision est obtenue avec l'ajout correspondant à la valeur attendue de la concentration de l'élément analysé.

Pour doser le cadmium par SAA à flamme, on a procédé au dopage d'un foie de bovin (2), en adoptant la technique d'extraction par micro-ondes.

#### **Le protocole est le suivant**

Dans chaque bombe à téflon numérotée de 2280 à 2284, on ajoute une prise d'essai de 0.5 g environ, plus un ajout de volume de la solution de (Cd) de 100mg/l comme suit :

- 2280.....0.4989 g + 0 ajout.
- 2281.....0.5024 g + 100 microlitre.
- 2282.....0.5016 g + 200 microlitre.
- 2283.....0.5018 g + 500 microlitre.
- 2284.....0.4994 g + 1000 microlitre.

Puis, on procède à la digestion à l'eau régale par micro-onde comme décrit dans le protocole **(2.1.1.3)**.

A noter qu'un volume de 100 microlitre de la solution cadmium de 100 mg/ l correspond à une quantité d'analyte de telle façon à ce que la concentration soit 20 mg / kg.

Donc les concentrations théoriques ajoutées sont :

- 2281.....20 mg/kg
- 2282..... 40 mg/kg
- 2283.....100 mg/kg
- 2284.....200 mg/ kg

Pour le 2280 (0 ajout), c'est la concentration réelle de l'échantillon.

## 2.2. EXTRACTION ET DOSAGE DES ETM DANS LE LAIT

Un lait candia partiellement écrémé du commerce est utilisé pour cette étude ;

### 2.2.1. Dosage direct

Une méthode directe, sans minéralisation préalable a été testée avec une gamme d'étalonnage préparée quotidiennement de la même façon que les échantillons en utilisant un lait candia afin d'éviter les variations liées à la matrice selon la modalité précisée dans le tableau V.

**Tableau V:** gamme d'étalonnage du cadmium

lait	100 µl d'une solution étalon de nitrate de cadmium	Triton x à 0.5%	HNO <sub>3</sub> à 0.05N
200 µl	0 µg /l	400 µl	300 µl
200 µl	05 µg /l	400 µl	300 µl
200 µl	10 µg /l	400 µl	300 µl
200 µl	20 µg /l	400 µl	300 µl
200 µl	50 µg /l	400 µl	300 µl

### 2.2.2. Digestion acide du lait par micro-ondes

Nous avons procédé à une digestion au micro-ondes selon le protocole suivant :

Dans chaque bombe à téflon, nous ajoutons 01 ml de lait candia + 06 ml d'eau régale, ensuite nous démarrons le micro-ondes selon le programme ci-dessous :

T 1	t 1	p 1	T 2	t 2	p 2	T 3	t 3	p 3
150 °C	10 min	70 %	190 °C	20 min	70 %	100 °C	10 min	40 %

Avec : T : température, t : temps, p : puissance.

## 2.3. DOSAGE DES ETM PAR SPECTROMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE

Le cadmium a été dosé par spectromètre d'absorption atomique Shimadzu AA 6800, équipé d'un four graphite et d'un échantillonneur automatique (ASC- 6100).

Le cuivre, le zinc, le fer et le manganèse ont été dosés par spectrométrie d'absorption à flamme à l'aide d'un appareil type Shimadzu AA

### 2.3.1. Dosage du cadmium

**Dans le foie de référence :** le dosage du cadmium a été effectué par étalonnage direct sans modificateur de matrice.

**La zone de linéarité :** Elle est comprise entre 0 et 5 µg /l pour les échantillons de référence extraits par chauffage à reflux ou bien par calcination sèche, de même que pour les échantillons de foie certifié de bovin ainsi que pour le bovin 4 (foie et rein) extraits par micro-ondes (figure 08).

**La limite de détection** est de 0.07 µg /l.

Les caractéristiques du programme thermique pour le dosage du cadmium dans le foie de référence sont représentées dans le tableau VI :

**Tableau VI :** caractéristiques du programme thermique pour le dosage du cadmium

Séchage	150°C	Pendant 20 secondes
Décomposition	250°C	Pendant 10 secondes
Pyrolyse	500°C	Pendant 23 secondes avec une rampe de 10 secondes
Atomisation	2200°C	Pendant 02 secondes
Nettoyage	2400°C	Pendant 02 secondes

**2.3.2. Dosage du cuivre, zinc, manganèse et fer :** le dosage a été réalisé grâce à un spectrophotomètre d'absorption atomique équipé d'un brûleur.

**La zone de linéarité :**

- pour le cuivre ; elle est comprise entre 0.5 et 5 mg/l (figure 09).
- Pour le zinc ; elle est comprise entre 0.5 et 2 mg/l (figure 10).
- Pour le manganèse ; elle est comprise entre 0.5 et 5 mg/l (figure 11).
- Pour le fer ; elle est comprise entre 0.5 et 5 mg/l (figure 12).

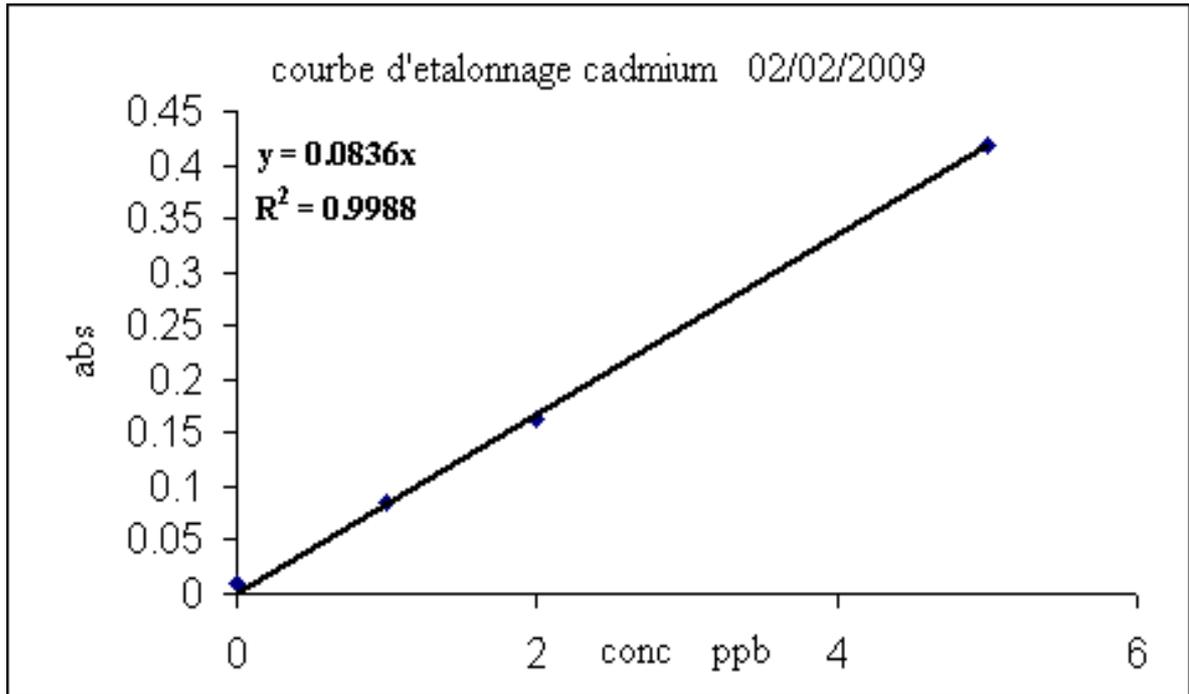


Figure 08 : courbe d'étalonnage du cadmium

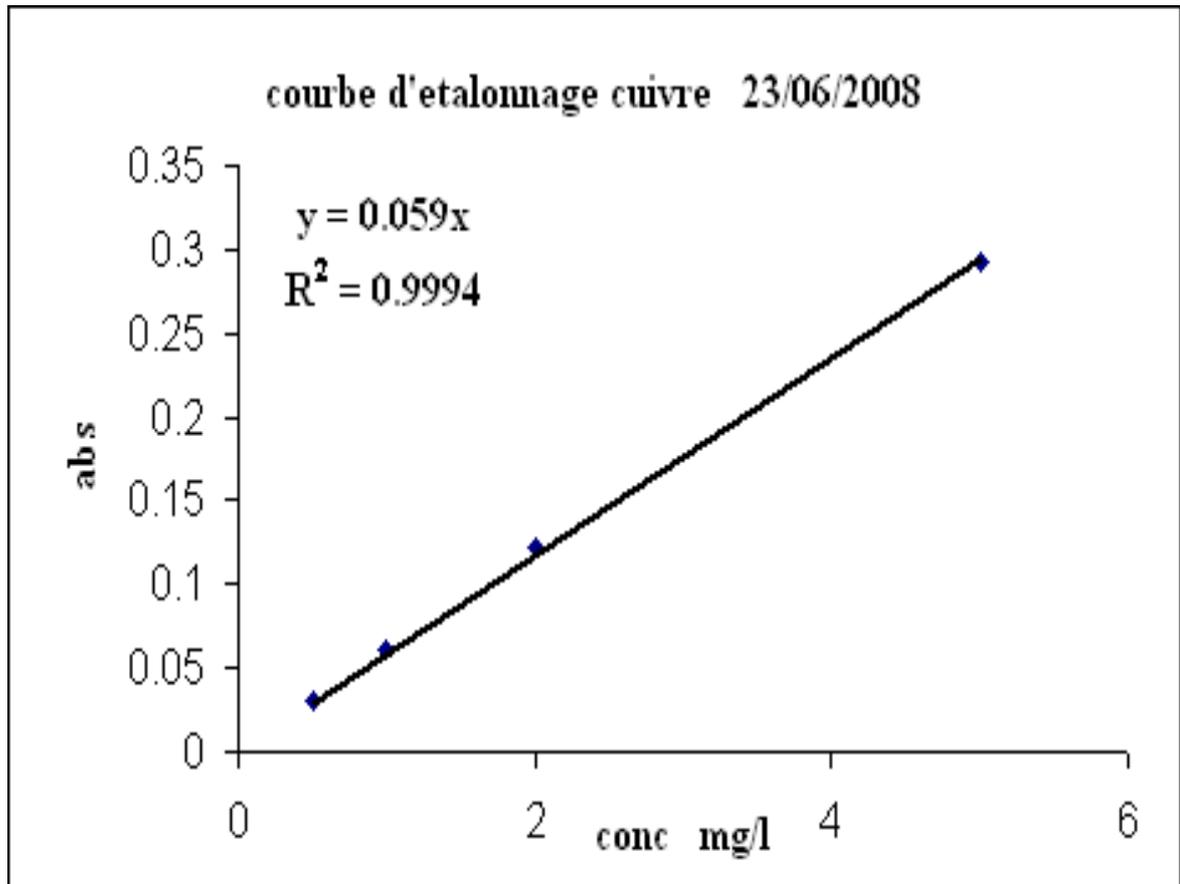
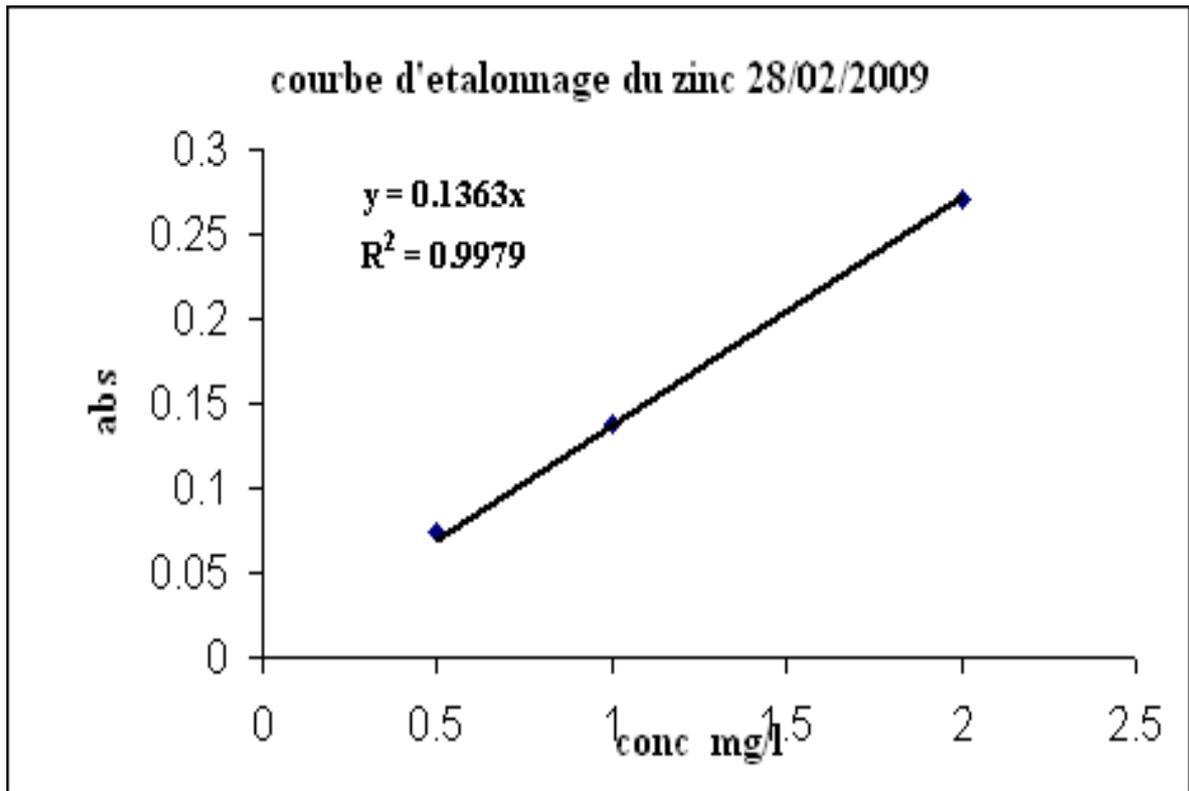
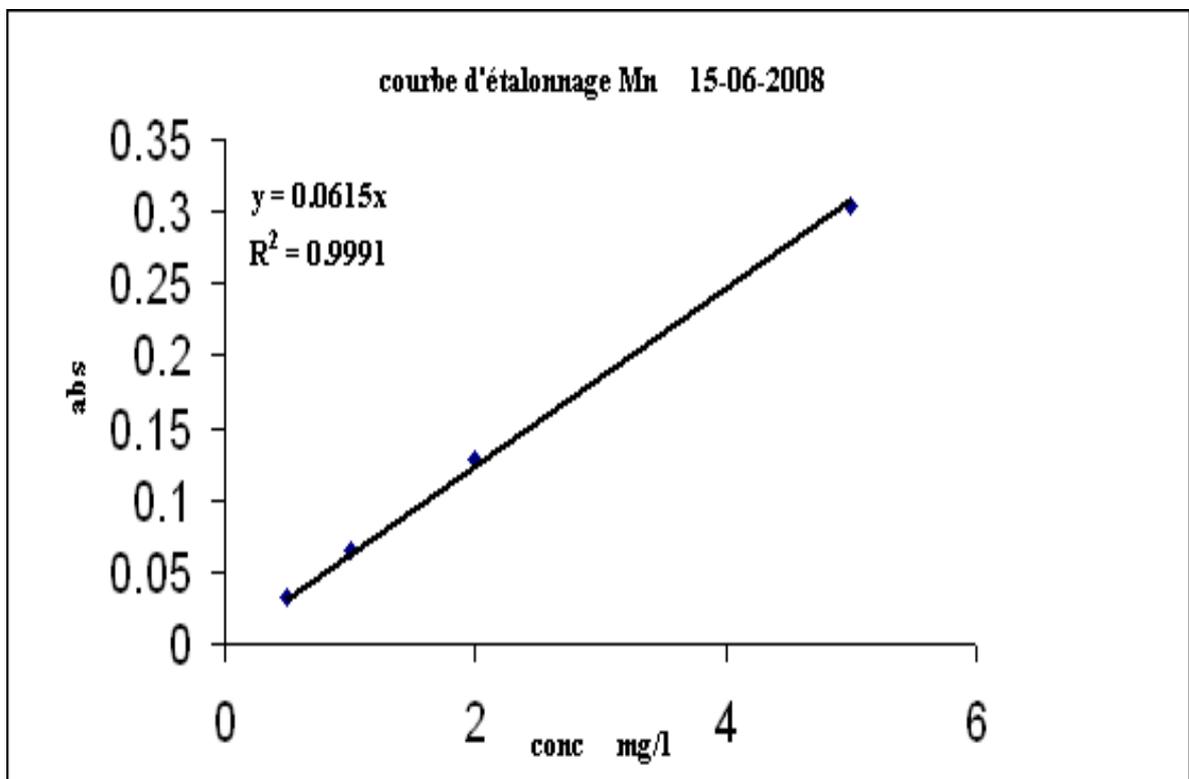


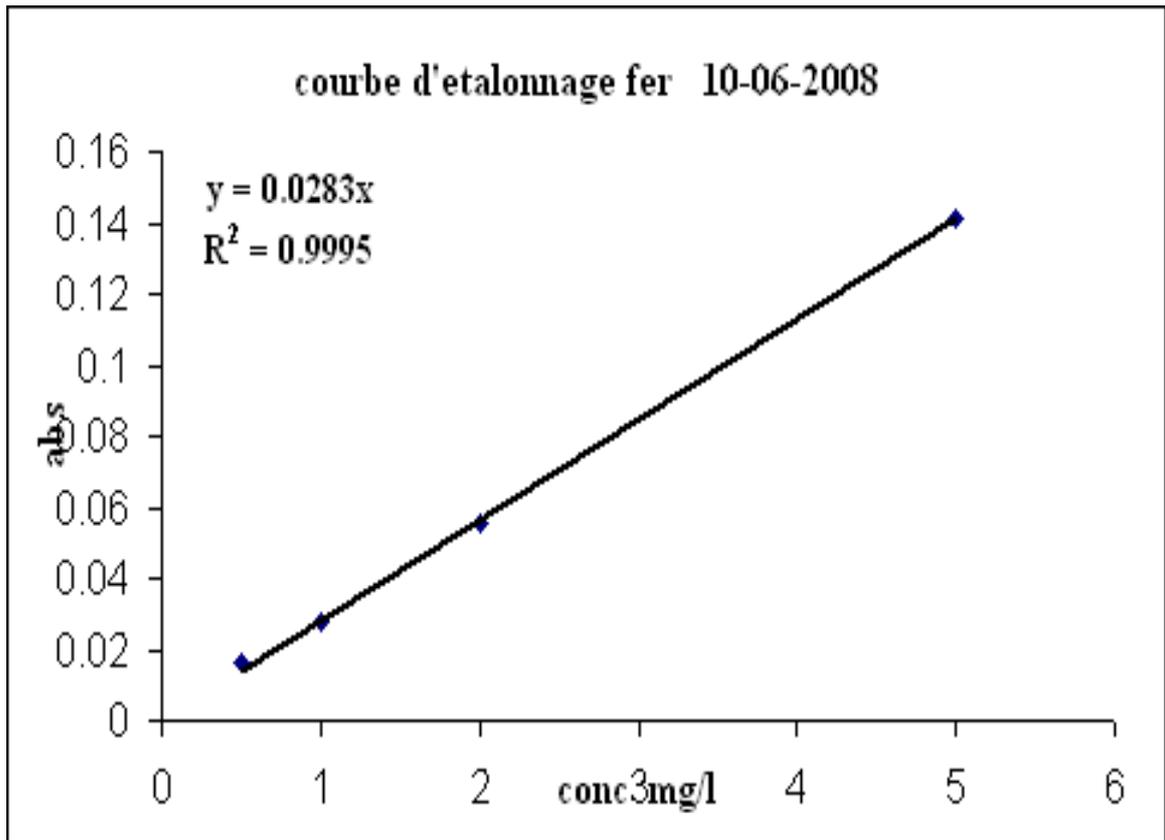
Figure 09 : courbe d'étalonnage du cuivre



**Figure 10:** courbe d'étalonnage du zinc



**Figure 11:** courbe d'étalonnage du manganèse



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

Seront abordés successivement les résultats obtenus et leurs commentaires relatifs à :

- La limite de détection et la limite de quantification.
- L'extraction des ETM suivants (cadmium, cuivre, zinc, fer et manganèse) par trois techniques différentes (extraction au micro-ondes, calcination par four à moufle et digestion acide par chauffage à reflux), à partir de l'échantillon de foie de référence.
- L'application de la technique d'extraction au micro-ondes sur un échantillon de foie et de rein de bovin 4 (provenant de l'abattoir de Tamalous – Skikda).
- Au cadmium ajout dosé : cadmium dopé dans un échantillon de foie de bovin 2 extrait par micro-ondes et dosé par SAA à flamme.
- Des dosages des ETM suivants (cadmium, zinc et fer) dans le lait partiellement écrémé.

Analyses statistiques : L'analyse a été effectuée grâce aux logiciels Excel et Statistica :

- Moyenne et écart-type
- Taux de récupération calculé comme suit : valeur moyenne / valeur certifiée \* 100 (Coni *et al.*, 1994)
- Matrice de corrélation
- Test de student pour petits échantillons indépendants ou pour séries appariées.

La probabilité de signification est fixée à  $p < 0.05$ .

## 1. DÉTERMINATION DE LA LIMITE DE DÉTECTION (L.D) ET LA LIMITE DE QUANTIFICATION (L.Q)

La limite de détection qui correspond à la plus petite quantité d'analyte pouvant être détectée dans un échantillon mais pas nécessairement quantifiée comme une valeur exacte. Elle est considérée comme égale à 3 fois l'écart-type des mesures à blanc ou 3 fois le rapport signal/ bruit.

La limite de quantification exprime la plus petite concentration (ou masse) d'analyte qui peut être déterminée quantitativement avec une incertitude acceptable. Elle correspond à 4 fois la limite de détection

La limite de détection pour le cadmium a été déterminée sur 04 blancs et les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau VII.

**Tableau VII :** Limites de détection et de quantification pour le cadmium dosé par SAA four graphite.

	Concentration en ppb
Blanc 1	0.14
Blanc 2	0.19
Blanc 3	0.19
Blanc 4	0.15
moyenne	0.17
Ecart-type	0.024
Limite de détection = 3 * écart-type	<b>0.07</b>
Limite de quantification = 4 * limite de détection	<b>0.28</b>

La limite de détection pour le cadmium est de **0.07 µg/l** et la limite de quantification est de **0.28 µg/l**.

Cette limite de détection est inférieure à celle rapportée par Mehennaoui *et al.* (1999); Houpert *et al.* (1997), de l'ordre de **0.2 µg/l**.

Compte tenu des conditions analytiques différentes (matrices différentes, modalités d'extraction différentes, appareillage différent...).

Sedki *et al.* (2003) a mentionné une limite de détection plus proche, de l'ordre de 0.06 µg/l.

## 2. DOSAGE DES ETM DANS LE FOIE DE REFERENCE

Seront présentés les résultats relatifs au dosage élément par élément suivi d'une interprétation sous forme de bilan global pour l'ensemble des éléments

### 2.1. RESULTATS RELATIFS AU DOSAGE DU CADMIUM

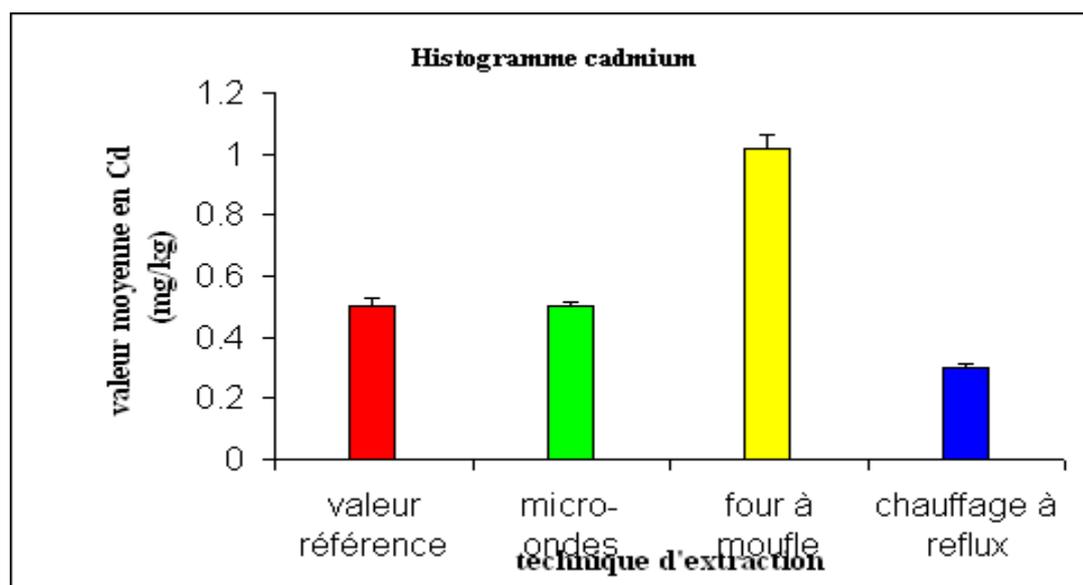
Le cadmium est dosé par SAA équipée d'un four en graphite. Les résultats sont rassemblés dans le tableau VIII, avec un pourcentage de récupération très satisfaisant pour l'échantillon extrait par micro-ondes.

**Tableau VIII** : Résultats du dosage du cadmium dans le foie de référence par SAA four graphite, extrait par trois techniques d'extraction ;

Dosage du cadmium	Moyenne (mg/kg)	Ecart-type	Coefficient de variation (CV%)	% de récupération
Extraction par micro-ondes	0.5	0.012	2	100 %
Minéralisation par four à moufle	1.02	0.04	4	204 %
Digestion acide par chauffage à reflux	0.3	0.015	5	60 %

Valeur de référence  $0.5 \pm 0.03$  ug/g de poids sec.

Les teneurs moyennes (mg/kg) et les écart-types des trois techniques d'extraction, en comparaison avec celles des valeurs de référence sont illustrés dans la figure 13.



**Figure 13** : Résultats du dosage du cadmium dans le foie de référence par SAA four graphite, extrait par trois techniques d'extraction

## 2.2. RESULTATS RELATIFS AU DOSAGE DU CUIVRE

Le cuivre est dosé par SAA équipée d'un brûleur.

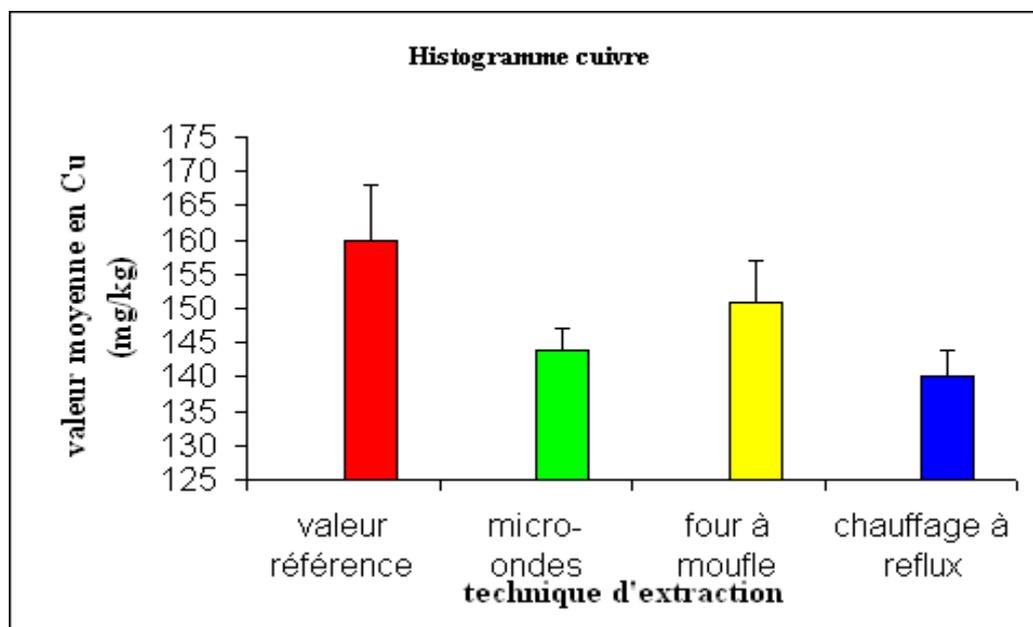
Les résultats sont rassemblés dans le tableau IX, avec un taux de récupération satisfaisant pour les deux techniques four à moufle et micro-ondes respectivement 94 et 90 %. Il est moins satisfaisant pour la technique d'extraction par chauffage à reflux (88%).

**Tableau IX** : Résultats du dosage du cuivre dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction ;

Dosage du cuivre	Moyenne (mg/kg)	Ecart-type	Coefficient de variation (CV%)	% de récupération
Extraction par micro-ondes	144	3	2	90 %
Minéralisation par four à moufle	151	6	4	94 %
Digestion acide par chauffage à reflux	140	4	3	88 %

Valeur de référence :  $160 \pm 08$  ug/g de poids sec.

Les teneurs moyennes (mg/kg) et les écart-types des trois techniques d'extraction, en comparaison avec celles des valeurs de référence sont illustrés dans la figure 14.



**Figure 14** : Résultats du dosage du cuivre dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction

### 2.3. RESULTATS RELATIFS AU DOSAGE DU ZINC

Le zinc est dosé par spectrométrie d'absorption atomique à flamme.

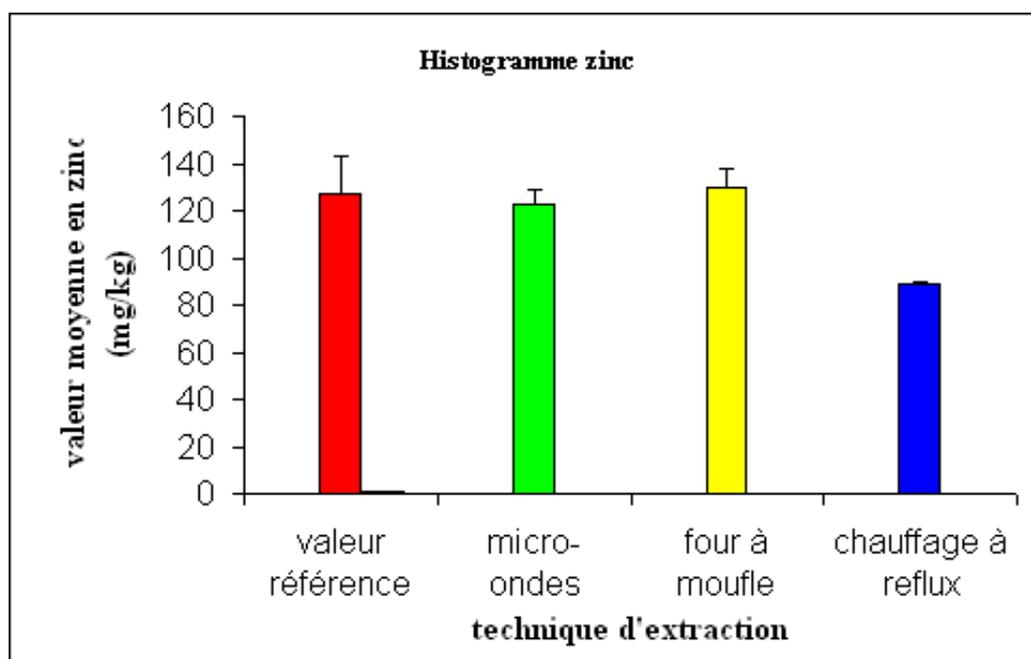
Les résultats sont groupés dans le tableau X, avec un taux de récupération très satisfaisant pour les deux techniques micro-ondes et calcination sèche respectivement 97 et 102 %. Il est faible pour le chauffage à reflux (70%).

**Tableau X** : Résultats du dosage du zinc dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction ;

Dosage du zinc	Moyenne (mg/kg)	Ecart-type	Coefficient de variation (CV%)	% de récupération
Extraction par micro-ondes	123	6	5	97 %
Minéralisation par four à moufle	130	8	6	102 %
Digestion acide par chauffage à reflux	89	1	1	70 %

Valeur de référence  $127 \pm 16$  ug/g de poids sec.

Les teneurs moyennes (mg/kg) et les écart-types des trois techniques d'extraction, en comparaison avec celles des valeurs de référence sont illustrés dans la figure 15.



**Figure 15** : Résultats du dosage du zinc dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction

#### 1.4. RESULTATS RELATIFS AU DOSAGE DU MANGANESE

Le manganèse est dosé par spectrométrie d'absorption atomique à flamme.

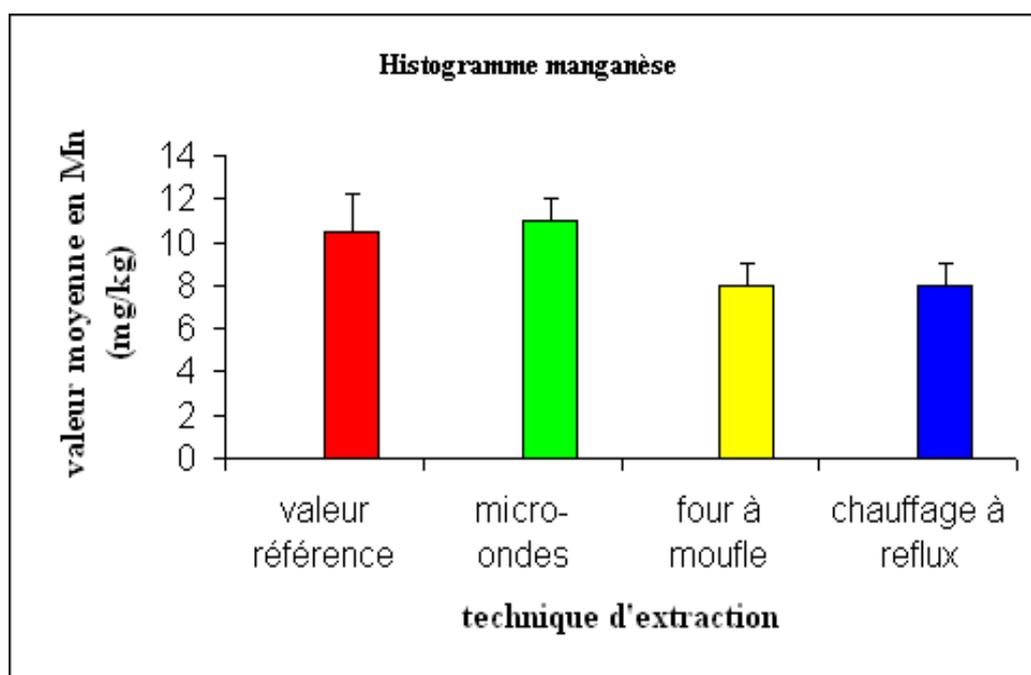
Les résultats sont rassemblés dans le tableau XI, avec seulement un taux de récupération satisfaisant pour l'échantillon extrait par micro-ondes. Les deux autres techniques ont un faible taux de récupération de l'ordre de 76 %.

**Tableau XI** : Résultats du dosage du manganèse dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction ;

Dosage du manganèse	Moyenne (mg/kg)	Ecart-type	Coefficient de variation (CV%)	% de récupération
Extraction par micro-ondes	11	1	9	105 %
Minéralisation par four à moufle	8	1	12.5	76 %
Digestion acide par chauffage à reflux	8	1	12.5	76 %

Valeur de référence de  $10.5 \pm 1.7$   $\mu\text{g/g}$  de poids sec.

Les moyennes (mg/kg) et les écart-types des trois techniques d'extraction, en comparaison avec celles des valeurs de référence sont illustrés dans la figure 16.



**Figure 16** : Résultats du dosage du manganèse dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction

## 1.5. RESULTATS RELATIFS AU DOSAGE DU FER

Le fer est dosé par un spectrophotomètre d'absorption atomique équipé d'un brûleur.

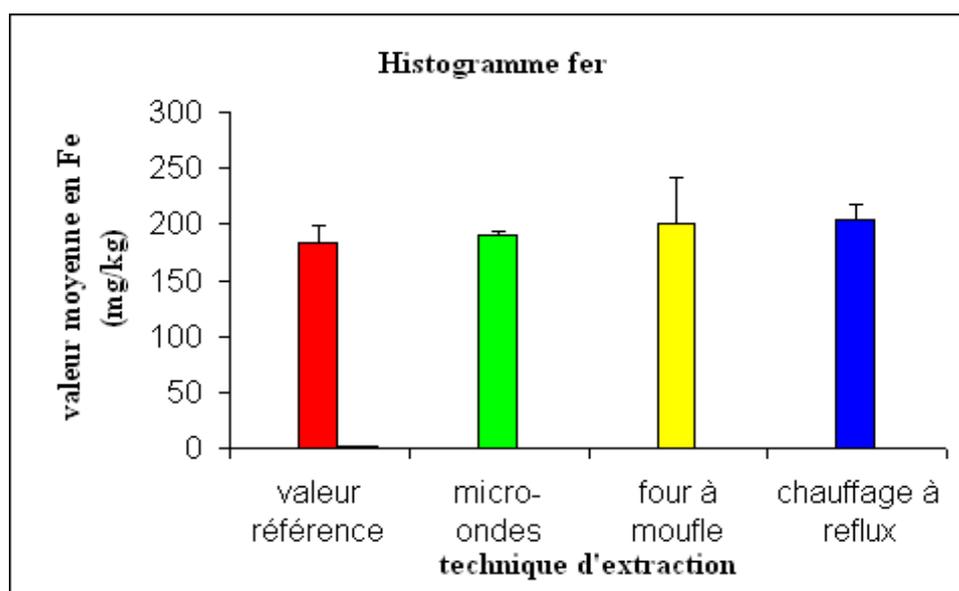
Les résultats de nos mesures montre que les valeurs d'extraction par micro-ondes sont situées dans l'intervalle de l'échantillon certifié, avec un taux de récupération satisfaisant de 103 %. Les deux autres techniques fournissent des taux de récupération de 109 à 111 %, cela veut dire que la détermination du fer est effectuée par excès. Ceux-ci sont groupés dans le tableau XII.

**Tableau XII** : Résultats du dosage du fer dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction ;

Dosage du fer	Moyenne (mg/kg)	Ecart-type	Coefficient de variation (CV%)	% de récupération
Extraction par micro-ondes	190	3	2	103%
Minéralisation par four à moufle	200	42	21	109 %
Digestion acide par chauffage à reflux	204	14	7	111 %

Valeur de référence de  $184 \pm 15$   $\mu\text{g/g}$  de poids sec.

Les moyennes (mg/kg) et les écart-types des trois techniques d'extraction, en comparaison avec celles des valeurs de référence sont illustrés dans la figure 17.



**Figure 17:** Résultats du dosage du fer dans le foie de référence par SAA à flamme, extrait par trois techniques d'extraction.

Les trois techniques d'extraction des ETM (extraction par micro-ondes, minéralisation par four à moufle et digestion acide par chauffage à reflux) fournissent des taux de récupération différents selon la technique adoptée ainsi que l'élément à doser, comme est présenté dans le tableau XIII.

**Tableau XIII** : Tableau récapitulatif des taux de récupération par les trois techniques d'extraction des ETM (Cd, Cu, Zn, Mn et Fe) dans le foie de référence.

	<b>cadmium</b>	<b>cuivre</b>	<b>zinc</b>	<b>manganèse</b>	<b>fer</b>
Taux de récupération lors d'extraction par micro-ondes (%)	<b>100 %</b>	<b>90 %</b>	<b>97 %</b>	<b>105 %</b>	<b>103 %</b>
Taux de récupération lors de minéralisation par four à moufle (%)	<b>204 %</b>	<b>94 %</b>	<b>102 %</b>	<b>76 %</b>	<b>109 %</b>
Taux de récupération lors de digestion acide par chauffage à reflux (%)	<b>60 %</b>	<b>88 %</b>	<b>70 %</b>	<b>76 %</b>	<b>111 %</b>

La technique d'extraction par micro-ondes semble la technique la plus fiable qui donne des pourcentages de récupération satisfaisants pour l'ensemble des éléments traces métalliques dosés par SAA à flamme et four graphite. Ce taux varie de 90% pour le cuivre, jusqu'au 105 % pour le manganèse, avec un taux de 100 % pour le cadmium, ce qui est très satisfaisant.

La technique de minéralisation par four à moufle donne des taux de récupération allant de 76 % pour le manganèse, jusqu'au 204 % pour le cadmium ce qui signifie une détermination par excès.

La technique de digestion acide par chauffage à reflux semble la technique qui donne des taux de récupération faible et moins satisfaisant dans notre étude.

Pour cela, la technique d'extraction par micro-ondes sera la technique adoptée pour le dosage des éléments traces métalliques dans les matrices biologiques telles que le foie, le rein, le muscle, le lait et éventuellement d'autres organes ou tissus.

### 3. APPLICATION DE LA MINERALISATION AU MICRO-ONDES POUR LE DOSAGE DES ETM DANS LE FOIE ET LE REIN DE BOVINS

Cinq éléments traces métalliques ont été dosé par spectrophotométrie d'absorption atomique comme suit :

Le cadmium est dosé par SAA équipée d'un four en graphite.

Le cuivre, le zinc, le fer et le manganèse sont dosés par SAA à flamme.

**Tableau XIV** : Le Tableau indique les valeurs moyennes (mg/kg), les écarts-type pour les cinq ETM dans le foie et le rein (rapportées au poids frais et sec). S : significatif (P<0.05), NS : non significatif (P> 0.05).

Eléments traces métalliques	foie	rein	Test de Student pour séries apparies
Cadmium (Cd)	0.412 ± 0.024 (a)	1.034 ± 0.05 (a)	S (P<0.001)
	0.288 ± 0.017 (b)	0.826 ± 0.039 (b)	S (P<0.001)
	n = 05 (c)	n = 05 (c)	
	CV = 5.9 % (d)	CV = 4.8 % (d)	
Cuivre (Cu)	53.65 ± 2.8	17.9 ± 0.65	S (P<0.001)
	37.53 ± 1.96	14.30 ± 0.51	S (P<0.001)
	n = 04 CV = 5.2	n = 05 CV = 3.6	
Zinc (Zn)	154.52 ± 1.89	94.24 ± 2.39	S (P<0.001)
	108.10 ± 1.32	75.31 ± 1.91	S (P<0.001)
	n = 04 CV = 1.2	n = 05 CV = 2.5	
Fer (Fe)	178.03 ± 3.75	207.37 ± 10.72	S (P=0.0021)
	124.55 ± 2.62	165.70 ± 8.57	S (P<0.001)
	n = 04 CV = 2.1	n = 05 CV = 5.2	
Manganèse (Mn)	9.73 ± 0.45	3.2 ± 0.52	S (P<0.001)
	6.80 ± 0.31	2.56 ± 0.41	S (P<0.001)
	n = 04 CV = 4.7	n = 05 CV = 16.3	

(a) : Moyenne ± écart-type (poids sec)

(b) : Moyenne ± écart-type (poids frais)

(c) : Effectif

(d) : Coefficient de variation (CV en %).

### **3.1. LE CADMIUM DANS LE FOIE ET LE REIN**

Dans notre étude, sur cinq répétitions, les valeurs moyennes rapportées au poids frais dans le foie et le rein sont respectivement 0.288 et 0.826 mg/kg. Ces valeurs sont supérieures à celles publiées par Falandysz (1993) de l'ordre de 0.12 et 0.610 mg/kg de poids frais. Cependant ces valeurs sont inférieures aux teneurs maximales pour le cadmium dans le foie et le rein de bovin (article 1 du règlement CE n° 446/2001) respectivement de l'ordre de 0.5 et 1 mg/kg.

Rapportées au poids sec, les valeurs moyennes du cadmium dans le foie et le rein sont respectivement 0.412 et 1.034 mg/kg. Celles-ci sont largement inférieures à celles rapportées par Sedki *et al.* (2003) de l'ordre de 5.1 et 10.3 mg/kg.

### **3.2. LE CUIVRE DANS LE FOIE ET LE REIN**

Les valeurs moyennes dans le foie et le rein sont respectivement de l'ordre de 53.65 et 17.9 mg/kg de poids sec. Ces valeurs sont nettement inférieures à celles rapportées par Sedki *et al.* (2003) de l'ordre de 112 et 33 mg/kg de poids sec.

Rapportées au poids frais, les valeurs moyennes dans le foie et rein sont respectivement de 37.53 et 14.3 mg/kg. Ces résultats sont supérieurs à ceux publiés par Falandysz (1993) de l'ordre de 29 et 5.6 mg/kg de poids frais.

### **3.3. LE ZINC DANS LE FOIE ET LE REIN**

Dans notre étude, sur 4 répétitions, les valeurs moyennes du zinc dans le foie et le rein rapportées au poids frais sont respectivement 108.1 et 75.31 mg/kg. Ces valeurs sont supérieures à celles publiées par Falandysz (1993) de l'ordre de 29 et 5.6 mg/kg de poids frais.

Les valeurs moyennes du zinc dans le foie et le rein rapportées au poids sec sont respectivement 154.52 et 94.24 mg/kg. Celles-ci sont supérieures à celles rapportées par Sedki *et al.* (2003) de l'ordre de 126 et 89.33 mg/kg.

### **3.4. LE MANGANESE DANS LE FOIE ET LE REIN**

Les teneurs moyennes en manganèse dans le foie et le rein, rapportées au poids frais sont respectivement de l'ordre de 6.8 et 2.56 mg/kg. Ces valeurs sont nettement plus élevées à celles publiées par Falandysz (1993) de l'ordre de 1.8 et 0.93 mg/kg de poids frais.

### 3.5. LE FER DANS LE FOIE ET LE REIN

Rapportées au poids frais, les teneurs moyennes en manganèse dans le foie et le rein sont respectivement de l'ordre de 124.55 et 165.70 mg/kg. Ces valeurs sont nettement plus élevées à celles publiées par Falandysz (1993) de l'ordre de 44 et 72 mg/kg de poids frais.

D'après le tableau XII, nous remarquons que les teneurs en cuivre, en zinc et en manganèse sont significativement plus élevées dans le foie que dans le rein. En revanche, les concentrations en cadmium et en fer sont significativement plus élevées dans le rein que dans le foie ( $P < 0.05$ ).

Ces concentrations sont en relation avec le métabolisme de ces éléments traces métalliques dans l'organisme. Ainsi que la richesse de ces organes en métallothionéines ; A titre d'exemple, environ 80 pour cent du cuivre absorbé sont fixés à de la métallothionéine du foie (USEPA, 1980).

Dans ce qui suit, nous allons voir les corrélations existantes entre les éléments traces métalliques dans le foie et le rein des bovin 4.

**Tableau XV :** Matrice de corrélation (foie de bovin 4). Corrélations significatives marquées à  $p < 0.05$ . Avec p : probabilité corrélation.

	CADMIUM	CUIVRE	ZINC	MN	FER
CADMIUM	1 p= ---				
CUIVRE	0.0659 p=.934	1 p= ---			
ZINC	-0.2914 p=.709	0.8177 p=.182	1 p= ---		
MN	-0.5309 p=.469	0.6747 p=.325	0.9632 p=.037	1 p= ---	
FER	-0.1601 p=.840	0.9237 p=.076	0.9758 p=.024	0.8949 p=.105	1 p= ---

Nous constatons deux corrélations significatives marquées à  $p < 0.05$  ; une entre le zinc et le manganèse (Zn-Mn) et l'autre entre le zinc et le fer (Zn-Fe). Ce qui est en relation avec le métabolisme de ces deux oligo-éléments dans le foie.

**Tableau XVI** : Matrice de corrélation (rein de bovin 4). Corrélations significatives marquées à  $p < 0.05$ . Avec  $p$  : probabilité corrélation.

	CADMIUM	CUIVRE	ZINC	MN	FER
CADMIUM	1 $p = \text{---}$				
CUIVRE	-0.325 $p = .594$	1 $p = \text{---}$			
ZINC	-0.5905 $p = .294$	0.7892 $p = .112$	1 $p = \text{---}$		
MN	-0.7196 $p = .171$	0.25 $p = .685$	0.6035 $p = .281$	1 $p = \text{---}$	
FER	-0.5615 $p = .325$	0.3557 $p = .557$	0.67 $p = .216$	0.9656 $p = .008$	1 $p = \text{---}$

Nous remarquons une seule corrélation significative marquée à  $p < 0.05$ , celle entre le manganèse et le fer (Mn-Fe). Ce sont deux oligoéléments.

#### 4. DOSAGE DU CADMIUM PAR SAA A FLAMME ; METHODES DES AJOUTS DOSES

La valeur du cadmium de l'échantillon sans ajout est de 0.35 mg/kg, calculée par l'équation suivante : concentration = Abs/ pente \* volume de dilution / prise d'essai

$$\text{Concentration} = 0.0012 / 0.1366 * 20 / 0.4989 \text{ g} = \mathbf{0.3521 \text{ mg/l.}}$$

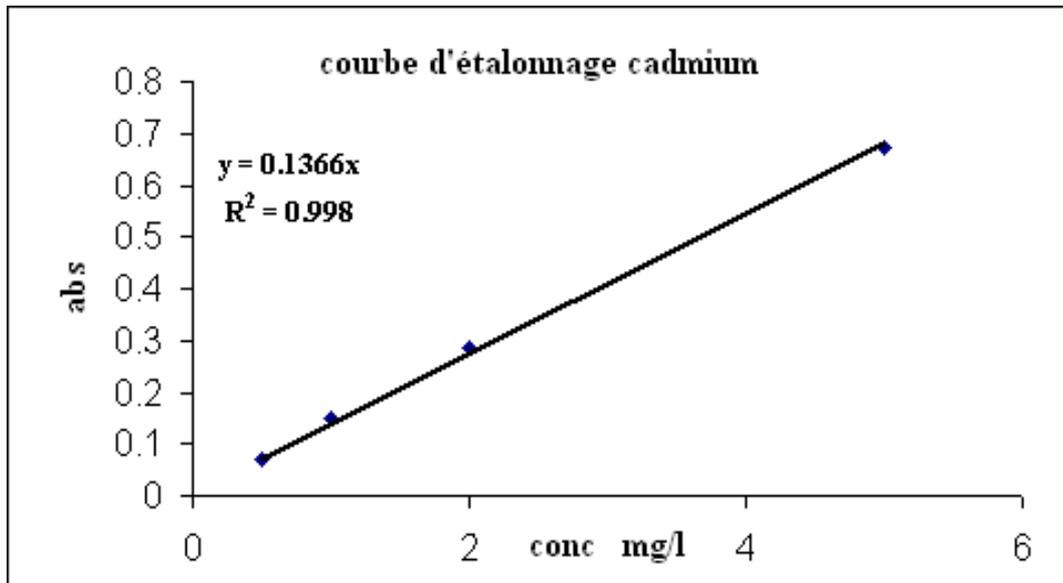


Figure 18 : courbe d'étalonnage du cadmium (ajouts dosés)

Nous avons pu déterminé la concentration du cadmium par la méthode des ajouts dosés, En traçant la relation absorbance / concentration, on obtient une droite dont l'intersection avec l'axe des abscisses donne la concentration de l'analyte dans la solution sans ajout

La valeur du cadmium dans ce cas est de **0.3015 mg/l.**

Elle est obtenue comme suit : l'équation de la courbe ;  $Y = 0.0587 X + 0.0177$

Quand  $Y = 0$  (l'intersection avec l'axe des abscisses),  $X = \text{valeur absolue de } (-0.0177 / 0.0587) = 0.3015 \text{ mg/l}$  (figure 19).

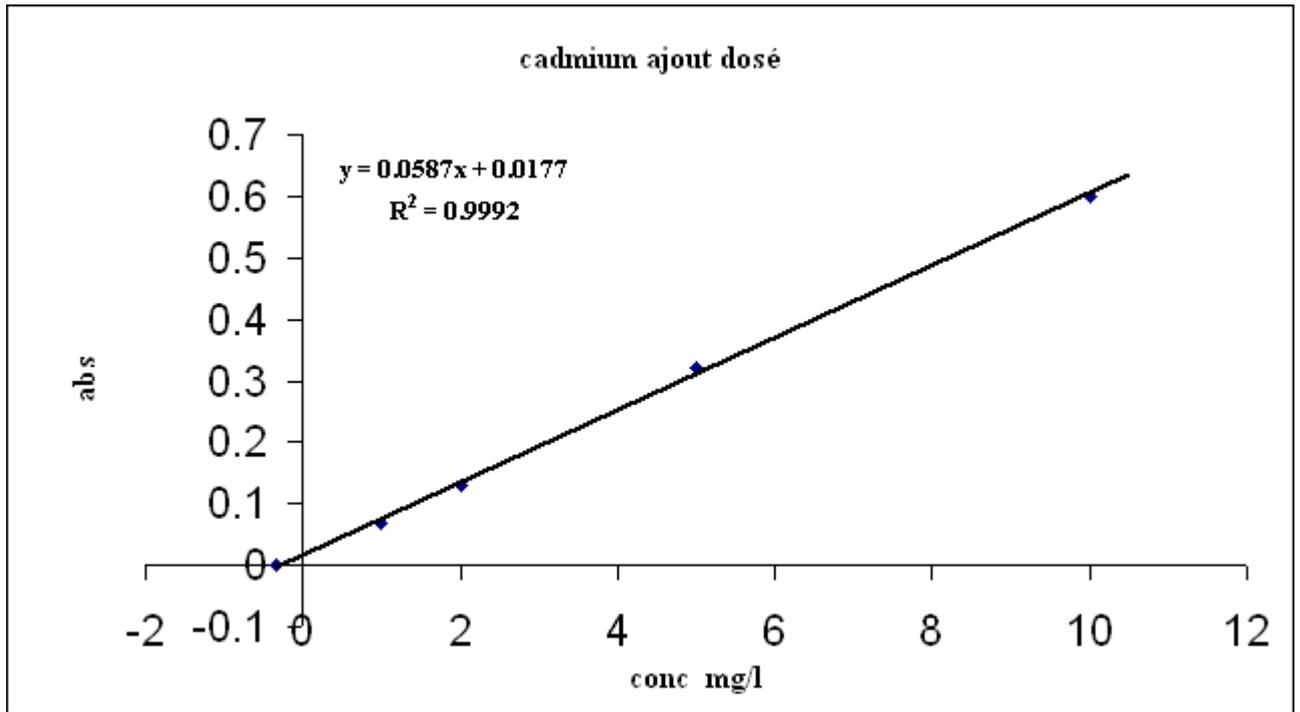


Figure 19 : cadmium ajout dosé

Des taux de récupération satisfaisants sont obtenus par digestion au micro-ondes des ajouts dosés. Les résultats sont présentés dans le tableau XVII ci-dessous.

Tableau XVII : Valeurs des ajouts dosés (Cd) par SAA à flamme.

	Ajout dosé 1 dans bombe à téflon 2281	Ajout dosé 2 dans bombe à téflon 2282	Ajout dosé 3 dans bombe à téflon 2283	Ajout dosé 4 dans bombe à téflon 2284
Concentration ajoutée (mg/kg)	20	40	100	200
Concentration mesurée (mg/kg)	20	38	94	176
Taux de récupération (%)	100	95	94	88

Il apparaît donc que les teneurs mesurées sont similaires aux teneurs ajoutées, théoriques. Avec des pourcentages de récupération variant de 88 à 100 % en fonction des quantités d'analyte ajoutées.

## 5. DOSAGE DU CADMIUM, ZINC ET FER DANS LE LAIT PARTIELLEMENT ECREME

Le dosage direct du cadmium a donné un bruit de fond trop élevé, supérieur même à l'absorbance et qui est relatif à l'utilisation du programme thermique pour le cadmium par défaut. Donc une nécessité pour une optimisation du programme thermique.

Dans notre cas, nous avons procédé à une digestion au micro-ondes du lait et les résultats sont mentionnés ci-dessous.

### 5.1. DOSAGE DU CADMIUM

Le cadmium est dosé par spectrophotométrie d'absorption atomique four graphite

#### Solutions étalons : ppb

0.5	0.117
1	0.207
2	0.398

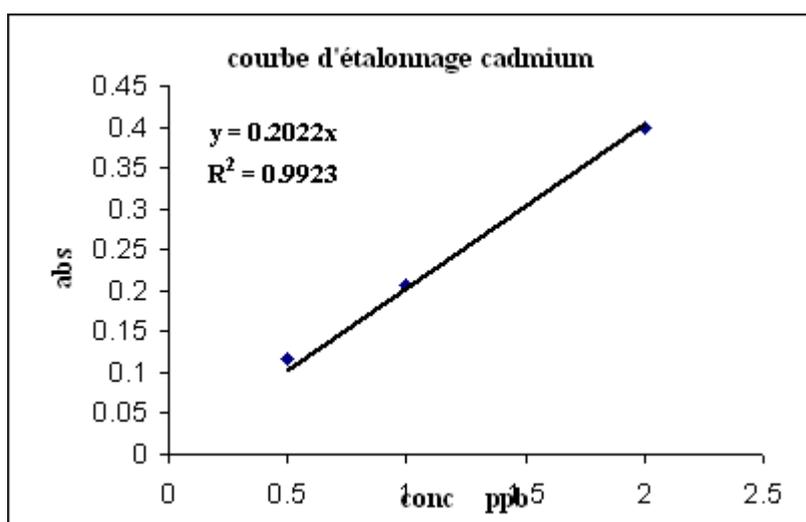


Figure 20 : Courbe d'étalonnage du cadmium (lait)

Echantillon	abs	pen	prise d'essai	Conc ppb
lait 1	0.07	0.2022	1	7
lait 2	0.071	0.2022	1	7
lait 3	0.06	0.2022	1	6
lait 4	0.062	0.2022	1	6
lait 5	0.034	0.2022	1	3.4
lait 6	0.048	0.2022	1	4.7
Moyenne	5.68743818	5.7		
Ecart-type	1.404062272	1.4		
CV	24.68707751	25%		

Les résultats des teneurs en cadmium dans le lait sur six répétitions varient de 3.4 à 7  $\mu\text{g/l}$  avec une moyenne de  $5.7 \pm 1.4$  et un coefficient de variation de 25 %.

Il faut noter que les absorbances relatives aux échantillons de lait sont proches de l'intervalle entre la limite de détection et la limite de quantification : c'est pourquoi les concentrations déterminées peuvent être qualifiées de semi-quantitatives telles que décrit par Milhaud *et al* (2000).

Selon Milhaud *et al.* (2000), les concentrations du cadmium dans le lait devraient être inférieures à 0.5  $\mu\text{g/l}$ , dans la crème de 1.5- 2  $\mu\text{g/kg}$  et de 3-5  $\mu\text{g/kg}$  dans les fromages. Dépassées ces concentrations, une contamination au cours des fabrications devra être suspectée.

## 5.2. DOSAGE DU ZINC

Le zinc est dosé par spectrophotométrie d'absorption atomique à flamme  
La zone de linéarité est comprise entre 0.1 et 2 ppm, le coefficient de corrélation est de 0.9999 (figure 21).

### Solutions étalons : ppm

0.1	0.01
0.5	0.0554
1	0.1095
2	0.2192

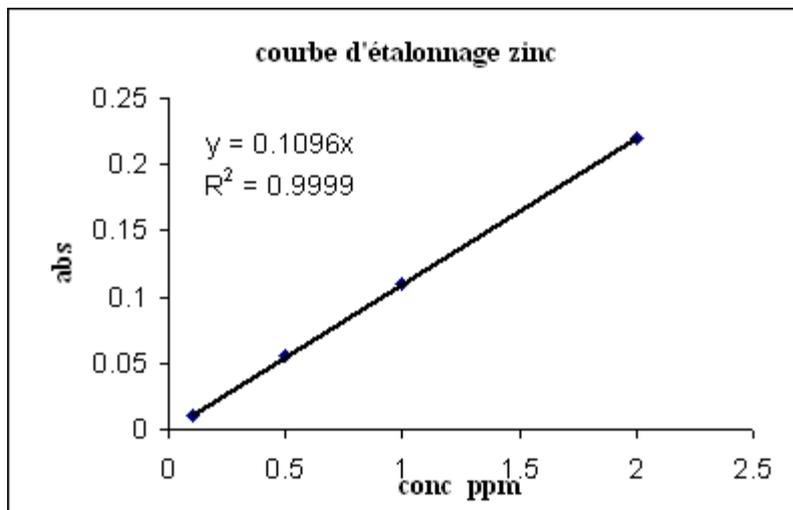


Figure 21 : Courbe d'étalonnage du zinc (lait)

Echantillon	abs	pente	prise d'essai	conc ppm
lait 1	0.0298	0.1096	1	5.43
lait 2	0.0346	0.1096	1	6.31
lait 3	0.0299	0.1096	1	5.45
lait 4	0.0326	0.1096	1	5.95
lait 5	0.0282	0.1096	1	5.14
lait 6	0.0275	0.1096	1	5.02
lait 7	0.0203	0.1096	1	3.7
Moyenne	5.28	5		
Ecart-type	0.83	1		
CV	15.72	16%		

Les résultats des teneurs en zinc dans le lait sur sept répétitions varient de 3.7 à 6.3 mg/l avec une moyenne de  $5 \pm 1$  et un coefficient de variation de 16 %. Un litre de lait, partiellement écrémé contient 4.2 à 4.3 mg ([www.doctissimo.fr/html/nutrition](http://www.doctissimo.fr/html/nutrition)). Ce qui est plus proche de nos valeurs.

Le zinc est un minéral jouant un rôle relativement important dans le métabolisme des macronutriments (de part sa présence dans plusieurs enzymes). De plus il est intéressant pour les mécanismes d'antioxydation (il participe donc à la protection des cellules contre l'action des radicaux libres). Une carence en zinc provoquera des retards de croissance et des problèmes immunitaires. Les apports conseillés sont de 15 mg/jour pour les adultes, apports devant être augmentés en période de grossesse (environ 20 mg/jour). ([www.doctissimo.fr/html/nutrition](http://www.doctissimo.fr/html/nutrition)).

### 5.3. DOSAGE DU FER

Le fer est dosé par spectrophotométrie d'absorption atomique à flamme. La zone de linéarité est comprise entre 0.5 et 2 ppm, le coefficient de corrélation est de 0.9962 (figure 22).

#### Solutions étalons : ppm

0.5	0.008
1	0.017
2	0.036

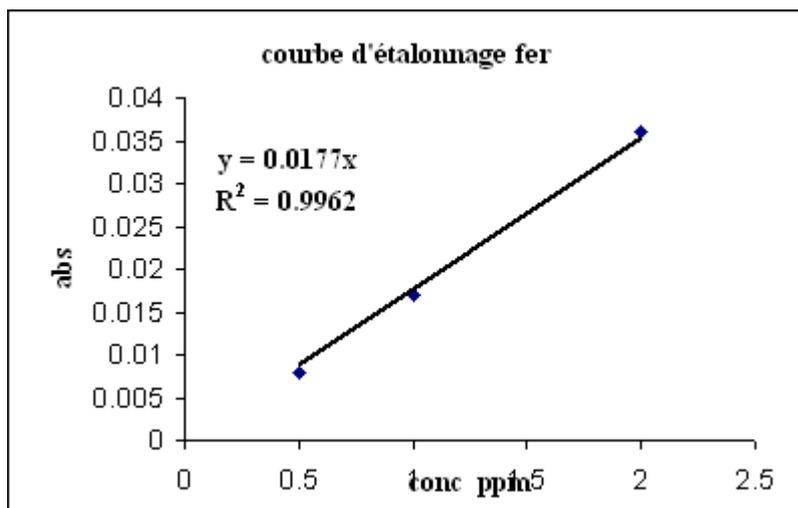


Figure 22 : Courbe d'étalonnage du fer (lait)

Echantillon	abs	pente	prise d'essai	Conc (ppm)
lait 1	0.0083	0.0177	1	9.37
lait 2	0.0107	0.0177	1	12.09
lait 3	0.0083	0.0177	1	9.37
lait 4	0.0096	0.0177	1	10.84
lait 5	0.0087	0.0177	1	9.83
lait 6	0.0098	0.0177	1	11.07
lait 7	0.0101	0.0177	1	11.41
Moyenne	10.57	11		
Ecart-type	1.06	1		
CV	10.03	10%		

Les résultats des teneurs en fer dans le lait sur sept répétitions varient de 9.37 à 12.09 mg/l avec une moyenne de  $11 \pm 1$  et un coefficient de variation de 10 %.

Le lait et les produits laitiers sont des sources pauvres en fer (Coïc et Coppenet, 1989).

Par exemple, un litre de lait, concentré, partiellement écrémé contient 2.4 mg ([www.doctissimo.fr/html/nutrition](http://www.doctissimo.fr/html/nutrition)). Dans notre cas, nous avons trouvé  $11 \pm 1$  mg/l. Ceci suggère une contamination au cours des fabrications.

Le fer est un minéral indispensable aux hémoglobines (globules rouges) puisqu'il en constitue l'atome central. De plus c'est cet atome qui fixe les molécules d'oxygène et qui en assure donc le transport. Il est également important pour le système immunitaire. Le déficit en fer conduit à des anémies, des diminutions de capacités physiques et intellectuelles et une résistance plus faible aux infections. Les apports nutritionnels conseillés sont de 9 mg/jour pour un homme adulte, besoins beaucoup plus important pour les adolescents (12 à 14 mg/jour) et les femmes (16 mg/jour) particulièrement les femmes enceintes (25 à 35 mg/jour) ([www.doctissimo.fr/html/nutrition](http://www.doctissimo.fr/html/nutrition)).

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La quantification des éléments traces présente un intérêt tant pour la santé publique que pour la santé environnementale.

Au terme de l'étude que nous avons effectuée, il semble que l'extraction des ETM constitue une étape clé de l'analyse quantitative d'éléments traces.

La minéralisation par micro-ondes semble la technique la plus adaptée pour ce type d'analyse de traces surtout pour les matrices biologiques consommables à l'échelle individuelle (les abats ; foie et rein) ou à l'échelle collective (le lait); elle est plus rapide, fiable et fournit un taux de récupération satisfaisant.

La validation de la méthode analytique des éléments traces métalliques est vérifiée à l'aide d'un matériau de référence (foie de bovin 1577b) et par la méthode des ajouts dosés.

L'application de la minéralisation par micro-ondes d'un échantillon de foie et rein de bovin, a un double objectif ; d'une part de prouver l'efficacité de ce choix, et d'autre part de connaître le niveau de contamination métallique pour cette denrée alimentaire, afin d'avoir une estimation ou une évaluation du risque pour le consommateur. Ainsi la teneur en cadmium dans l'échantillon de foie et rein de bovin est inférieure à la LMR pour cet élément.

Le dosage direct du cadmium dans le lait nécessite une optimisation du programme thermique. C'est pour cette raison que nous avons procédé à une digestion acide par micro-ondes du lait.

La présence de substances toxiques dans l'environnement, même à des concentrations faibles peut produire des effets néfastes pour les organismes qui y sont exposés pendant de longues périodes, en raison du caractère cumulatif dans la chaîne alimentaire d'où la nécessité de suivre avec vigilance le transfert des ETM dans la chaîne sol- plante- animal – homme.

Vient ensuite la nécessité d'appliquer une réglementation concernant ces ETM en Algérie. Ces deux derniers aspects mériteraient une contribution et ce que nous attacherons à effectuer dans le cadre d'un programme de recherche multidisciplinaire.

## Références bibliographiques

**ANONYME 1 (2005).** Impacts environnementaux de la gestion biologique des déchets. Bilan des connaissances.331p.

**ANONYME 2 (2001). ORS PACA** (observatoire régional de la santé Provence alpes cote d'azur), (2001). Evaluation des conséquences sanitaires et environnementales de la pollution d'origine industrielle au cadmium.161p.

**BENLEULMI A. (1987).** Etude comparative des protoporphyrinémies mesurées par HPLC et avec un hématofluorimètre chez les bovins exposés au plomb : application au dépistage du saturnisme. Thèse Maîtrise es Sciences vétérinaires, E.N.V. Nantes, 77pp.

**BERMEJO-BARRERA P., MOREDA-PINEIRO A., MUNIZ-NAVEIRO O., GOMEZ-FERNANDEZ A.M.J. ET BERMEJO-BARRERA A. (2000).** Optimization of microwave-pseudo-digestion procedure by experimental designs for the determination of trace elements in seafood products by atomic absorption spectrometry. Spectrochimica Acta Part B 55, 1351-1371.

**BURGAT-SACAZE V, CRASTE L ET GUERRE P. (1996).** Le cadmium dans les chaînes alimentaires : une revue, Rev. Méd.Vét.147 (10), 671-680.

**COIC Y. ET COPPENET M. (1989).** Les oligo-éléments en agriculture et élevage. Incidence sur la nutrition humaine. Institut National de la Recherche Agronomique. 114 p.

**CONI E., CAROLI S., IANNI D. ET BOCCA A. (1994).** A methodological approach to the assessment of trace elements in milk and dairy products. Food Chemistry **50**, 203-210.

**CONSEIL SUPERIEUR D'HYGIENE PUBLIQUE DE FRANCE (CSHPF) SECTION DES EAUX (1997).** Ministère du travail et des affaires sociales- Direction Générale de la Santé. Risques sanitaires liés aux boues d'épuration des eaux usées urbaines. Edition Lavoisier – TEC et DOC, Paris 8<sup>ème</sup> 106p.

**CRASTE L. (1995).** Les cervidés sauvages bioindicateurs de pollution par le cadmium : Etude bibliographique. Thèse de doctorat vétérinaire E.N.V. de Toulouse 125p.

**DELPHINE D. (2002).** Intoxication par le plomb chez les bovins : Données bibliographiques et présentation des résultats du laboratoire de toxicologie de Lyon de 1998 à 2001. Thèse, Université Claude Bernard- Lyon I 87p.

**DESCHAMPS Th., BENZAAZOUA M., BUSSIÈRE B., BELEM T. ET MBONIMPA M. (2006).** Mécanismes de rétention des métaux lourds en phase solide : cas de la stabilisation des sols contaminés et des déchets industriels. Vertigo – La revue en sciences de l'environnement, Vol 7 n°2. Canada 11p.

**DI BENEDETTO M. (1997).** Dossier SAM 1997 sur Les métaux lourds. Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne 49p.

**FALANDYSZ J. (1993).** Some toxic and essential trace metals in cattle from the northern part of Poland. *The Science of the Total Environment*, 136 (1993) 177-191

**GALEZ P. (2008).** Techniques spectroscopiques d'analyse / Absorption atomique & émission de flamme. *Mesures Physiques Annecy*, 19p.

**GONZALEZ M. (2000).** Les intoxications professionnelles provoquées par le plomb et ses dérivés. Faculté de médecine - Université LOUIS PASTEUR – STRASBOURG.

**HEYMAN C., HAEGHEBAERT S., FARVACQUES C. ET KALACHE N. (2008).** Pertinence d'un dépistage du saturnisme et de mesures de l'imprégnation de la population en cadmium sur le secteur de Montagne-du-nord. INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE. Rapport final, 42p.

**HOUPERT P., MEHENNAOUI S., FEDERSPIEL B. ET MILHAUD G. (1997).** Cadmium and lead elimination through milk in the ewe in: contaminated soils, biogéochimie of traces elements, Ed. INRA, Paris, 317-324.

**INERIS, (2006).** Eléments sur l'origine et l'élaboration des valeurs réglementaires de l'eau, de l'air et des denrées alimentaires, applicables en France pour les substances chimiques. DRC- 06- 75999/ DESP-R1b. 163p.

**INSERM, (1999).** Plomb dans l'environnement - Quels risques pour la santé ? Expertise Collective. Les Editions ISBN 2 85598-745-8.

**INSTITUT UNIVERSITAIRE DE MEDECINE DU TRAVAIL (I.U.M.T). (1999).** Intoxication professionnelle par le plomb (revue).I.U.M.T. de Rennes.

**JOHNSON J.E., WARD G.M., ENNIS Jr M.R. ET BOAMAH K.N. (1988).** Transfer coefficients of selected radionuclides to animal products. I. Comparison of milk and meat from dairy cows and goats. *Health Physics*, 54 (2), 161-166.

**JUMARIE C. (2005).** Des métaux lourds qui menacent la santé humaine et environnementale UQAM Sciences Express.  
[www.sciences.uqam.ca](http://www.sciences.uqam.ca)

**LAMBLE K. J. AND HILL S. J. (1998).** "Microwave digestion procedures for environmental matrices", *Analyst*, 123, pp.103R-133R.

**LAPERCHE V., DICTOR M.C., CLOZEL-LELOUP B. ET BARANGER Ph. (2004) –** Guide méthodologique du plomb, appliqué à la gestion des sites et sols pollués. BRGM/RP-52881-FR, 136 p., 40 ill.

**LAVOIX M.P. (1978).** Contribution à l'étude écotoxicologique du cadmium. Thèse, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Faculté de médecine de Créteil. 69p.

**MEHENNAOUI S. (1995).** Toxicité du plomb chez les ruminants :

I. Surveillance biologique du saturnisme subclinique chez les bovins.

II. Toxicocinétique chez la brebis en lactation : modifications provoquées par le zinc et le cadmium. Thèse de doctorat, Université de Paris VII 132p

**MEHENNAOUI S., CHARLES E., J- ENRIQUEZ B., CLAUN M. ET MILHAUD G. (1988).** Indicators of lead, zinc and cadmium exposure in cattle: II- Controlled feeding and recovery. *Vet. Hum. Toxicol.* 30 (6), 550-555.

**MEHENNAOUI S., HOUPERT H., FEDERSPIEL B., JOSEPH-ENRIQUEZ B., KOLF-CLAUN M. ET MILHAUD G. (1997).** Toxicokinetics of lead in the lacting ewe: Variations induced by cadmium and zinc environmental sciences. *Vol 5, 2.* 65-78.

**MENCH M. ET BAIZE D. (2004).** Contamination des sols et de nos aliments d'origine végétale par les éléments en traces. *Courrier de l'environnement de l'INRA n°52.* (INRA Éditions, Paris).

**MENCH M., JUSTE C. ET SOLDA P. (1992).** Effets de l'utilisation de boues urbaines en essais de longue durée: accumulation des métaux par les végétaux supérieurs. *Actual. Bot.*, 1:141- 156.

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

**MILHAUD G., VASSAL L., FEDERSPIEL B., DELACROIX- BUCHET A., MEHENNAOUI S., CHARLES E., ENRIQUEZ B. ET COLF-CLAUW M. (1998).** Devenir du cadmium du lait de brebis dans la crème et les caillés présure ou lactique. *Le Lait* 78 : 689-698.

**MILHAUD G., DELACROIX-BUCHET A., MIN HAN, MEHENNAOUI S., DUCHET A., ENRIQUEZ B. ET COLF-CLAUW M. (2000).** Devenir du cadmium du lait de chèvre dans la crème et les caillés présure et lactique. *Le Lait* 80 : 277-288.

**MIQUEL G. (2001).** Rapport sur les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. (Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, N° 2979 Assemblée Nationale, N° 261 Sénat).365p.

**NILSON V., ATTWELL R., CHISTOFFERSON J.D., SCHULTZ A., AHLGREN L., SKERFVING S. ET MATSON J. (1991).** Kinetics of lead in bone and blood after end of occupational exposure. *Pharmacol. Toxicol.*, **68** (6), 477-484.

**NORDBERG G.F. (2004).** Environmental exposure and preventive measures in Sweden and EU. *Biometals* 17, 589–592.

**OMS (ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE). (1980).** Exposition aux métaux lourds : limites recommandées d'exposition professionnelle à visée sanitaire. Genève. Série de rapports techniques 647. 132p.

**OSCARSSON A., JORHEM L., SUNDBERG J., NILSON N.G. ET ALBANUS L. (1992).** Lead poisoning in cattle. Transfer of lead to milk. *Sci. Total. Environ.*, **111**(2-3), 83-94.

**PELLETIER S., TAILLEFER M., TREMBLAY A. (1997).** Intoxication au plomb chez le bovin. *Notes de toxicologie clinique vétérinaire.* MEV 2030. Univ. Montréal. Fac.med.vet.

**PERE J. P. (1999).** Techniques spectroscopiques en biochimie analytique. Bordeaux : Centre Régional de Documentation Pédagogique D'Aquitaine, 150p.

**PETIT B. K. M. (2007).** Actualisation des connaissances sur les éléments biologiques et minéraux persistants dans les boues des stations d'épuration. Impact sur la santé publique. Thèse de doctorat vétérinaire, E.N.V. d'Alfort Paris 141p.

**PEYRET J. (2002).** Le cadmium: Cumulatif toxique. Tierra Toxic N°4, 8 p.

**PICHARD A. (2005).** Cadmium et ses dérivés. Fiche INERIS- DRC-01-25590-00DF 249\_Version 2-3- doc, p.1-60

**PICOT A. (2003).** Intoxication de l'organisme par les métaux lourds et autres toxiques  
Le mercure, le plomb et le cadmium trois métaux traces toxiques. Conférence ADNO Paris 14p.

**QUEVAUVILLER Ph. (2006).** Métrologie en chimie de l'environnement. 2<sup>e</sup> édition. 277 p.

**RABINOWITZ M.B. (1991).** Toxicokinetics of bone lead. Environm. Health Perspect, **91**, 33-37.

**SEDKI A., LEKOUCH N., GAMON S. ET PINEAU A. (2003).** Toxic and essential traces metals in muscle, liver and kidney of bovines from a polluted area of Morocco. The science of the Total Environment 317; 201-205.

**SHARMA R.P., STREET J.C., SHUPE J.L ET BOURCIER D.R. (1982).** Accumulation and depletion of cadmium and lead in tissues and milk of lactating cows fed small amounts of these metals. J. Dairy Sci., **65**, 972-979.

**SURES B., TARASCHEWSKI H. ET HAUG C. (1995).** Determination of trace metals (Cd, Pb) in fish by electrothermal atomic absorption spectrometry after microwave digestion. Analytica Chimica Acta 311, 135-139.

**USEPA (U.S. Environmental Protection Agency) (1980).** Ambient water quality for copper. Publ. No. PB81-117475, Office of Water Regulations and Standards, Criteria and Standards Division, Washington, DC (1980).

**USEPA (U.S. Environmental Protection Agency) (1988).** Cadmium, dans Reviews of environmental contamination and toxicology. Vol. 107. Springer-Verlag, New York.

**VERLOO M. (2003).** Les métaux lourds dans les denrées alimentaires: origine et évolution des teneurs. Symposium "Les oligo-éléments dans l'alimentation en Belgique - Données récentes" 3p.

#### **SITES INTERNET CONSULTÉS**

([www.wikipedia.org/.../Élément-trace\\_métallique](http://www.wikipedia.org/.../Élément-trace_métallique)). Date de consultation 18/06/2009.

([www.doctissimo.fr/html/nutrition](http://www.doctissimo.fr/html/nutrition)). Date de consultation : 25/06/2009.