



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
جامعة زيان عاشور - الجلفة
Université Ziane Achour – Djelfa
كلية علوم الطبيعة و الحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم العلوم الفلاحية و البيطرية
Département des Sciences Agronomiques et Vétérinaires

Projet de fin d'étude
En vue de l'obtention du Diplôme de Master
Filière: Sciences alimentaires
Option: Qualité des produits et sécurité alimentaire
Thème:

Identification et caractérisation des HAP dans la sardine par CGMS

Présenté par:

- Hamidi Kheira Ikram
- Oricha khadidja soulaf

Devant le jury composé de:

Président:	Kacimi Mohamed	MCB	Université Ziane Achour-Djelfa
Promoteur:	Lahrech Mokhtar Boualem	MCB	Université Ziane Achour-Djelfa
Examineur:	Brahim Saliha	MCB	Université Ziane Achour-Djelfa

Année universitaire: 2022-2023

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon stage et qui m'ont aidée lors de la rédaction de ce mémoire. Je voudrais dans un premier temps remercier, mon directeur de mémoire M.Lahrech , à l'université de Ziane Achour, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion. Je remercie également toute l'équipe pédagogique de l'université de Ziane achour et les intervenants professionnels responsables de ma formation, pour avoir assuré la partie théorique de celle-ci. Je remercie mes très chers parents qui ont toujours été là pour nous . À tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.

Sommaire

I.1. Introduction Générale.....	5
I.2. Références bibliographiques.....	7
II. Rappels sur les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP).....	7
II.1. Présentation des hydrocarbures aromatiques.....	8
II.2. Définition des HAP et BTEX.....	10
II.3. Origines.....	11
II.4. Identification de profils d'hydrocarbures aromatiques.....	12
II.5. Formation par pyrosynthèse des HAP.....	13
II.6. Conclusion.....	13
III. 1. Rappels bibliographiques sur les Quechers.....	14
III. 2. Conclusion.....	16
IV. Résultats et discussion.....	17
IV.1. Introduction.....	18
IV.2. Valeurs nutritives de la sardine.....	18
IV.2.a. Caractéristiques de la sardine.....	18
IV.2.b. Valeurs nutritionnelles et caloriques de la sardine.....	19
IV.2.c. Carte d'identité de la sardine.....	24
IV.3. Conclusion.....	25
V. a. Echantillonnage.....	26
V. b. Préparation des échantillons pour extraction.....	27
V. c. Extraction par Quechers.....	27
V. d. Analyse par GC-MS.....	27
V. e. Rappels bibliographiques sur la technique GC-MS.....	28
V. f. Interprétation du spectre du CG – MS.....	32
VI. Conclusion générale.....	36
Références bibliographiques.....	39

Introduction Générale

I. 1. Introduction générale :

L'état actuel de la pollution dans le globe terrestre tire une sonnette d'alarme qui n'est grandissante que davantage. Les facteurs anthropologique et l'industrie moderne sont indéniablement les causes principales de la contamination de l'hydrosphère (Lambert et al., 1981; Salomon, 2003 & Houma et al., 2005 a).

Le milieu marin, considéré comme réceptacle aux déchets issus des activités humaines, qui proviennent alors d'urbanisation, d'agriculture, d'industrialisation ou encore de transport maritime.

Ces déchets rejetés dans le milieu marin ne deviennent véritablement polluants que s'ils portent atteinte aux organismes marins et par conséquent à l'espèce humaine consommatrice de ressources marines (Ramade, 1982).

Ramade, (1982) définit la pollution marine comme une altération de la qualité du milieu marin, le plus vaste des écosystèmes de la biosphère. La mer est le lieu privilégié de toutes sortes de pollutions dont 80% proviennent des activités terrestres et 01 % des activités maritimes. Ces dernières sont génératrices de divers types de pollutions : atmosphériques (cheminées des navires), marines (substances liquides nocives, chute à la mer de la cargaison contenant des substances toxiques ou rejets de déchets domestiques).

Toutefois, la plus symbolique, la plus ancienne et la plus médiatisée des pollutions marines reste sans doute, pour l'opinion publique, la pollution par hydrocarbures (Borloo, 2009).

Pulgarin, (2012) rapporte que le déversement d'hydrocarbures pétroliers est une problématique environnementale fréquente dans le monde entier ; en effet, plus de 10 000 galons de pétrole ont été reportés dans la base de données internationale des déversements pétroliers. Ces déversements entraînent une dégradation dans les écosystèmes et portent préjudice à la santé humaine.

L'impact des incidents de déversements d'hydrocarbures sur les milieux marins est énorme et les méthodes physiques et chimiques éliminent rapidement la majorité du pétrole échoué, mais une part importante reste sur le site pollué (Roling et al., 2002).

Jusqu'à l'heure actuelle ; l'ampleur de ce type de pollution ainsi que l'exposition de l'Homme à ce type de polluant demeure peu discerné, d'où la nécessité plus que jamais de recourir aux méthodes innovantes, fiables et efficaces qui garantissent

l'estimation de cette ampleur et la surveillance rigoureuse et périodique de l'état de pollution des écosystèmes marins.

Toutefois, les hydrocarbures sont considérés, d'un point de vue analytique comme matrice complexe ce qui rend leur mise en évidence, leur séparation, leur caractérisation et leur quantification un vrai défi analytique.

Il est dans cette optique que s'inscrit ce projet de mémoire qui s'est fixé pour objectif de mener une investigation sur la présence éventuelle des polluants hydrocarbonés issus de milieux marins dans la chair de poisson commercialisé et consommé dans la ville de Djelfa.

Pour répondre à cette problématique analytique ; la technique de QuEChERS est adoptée pour ces avantages particulier : rapide, facile, abordable, efficace, robuste et sécuritaire d'où elle tire son nom : Quick, Easy, Cheap, Efficient, Rugged and Safe.

Le présent travail de mémoire s'articule sur les parties suivantes :

- Une synthèse bibliographique décrivant la pollution des écosystèmes marins et son incidence sur les espèces marines.
- Une partie expérimentale dans laquelle seront alignés les matériels et les méthodes utilisés pour mener à terme l'investigation faisant l'objet du présent projet de fin d'étude.

II : Rappels sur les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP):

II. Rappels sur les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP):

II.1. Présentation des hydrocarbures aromatiques:

Structure et propriétés :

Il existe un très grand nombre d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (plus de 1000) mais les 16 de la liste de l'US-EPA établissant les polluants prioritaires à surveiller seront plus particulièrement abordés. Ces HAP possèdent au minimum 2 cycles aromatiques et peuvent en comporter jusqu'à 6 ou plus. En ce qui concerne les hydrocarbures aromatiques monocycliques, ils regroupent le benzène, le toluène, l'éthylbenzène et les xylènes (BTEX). Les diméthylbenzènes également appelés xylènes se composent de trois isomères (méta, ortho et para).

Les hydrocarbures aromatiques sont composés d'atomes de carbone et d'hydrogène formant un ou plusieurs cycles insaturés. Les BTEX comportent un seul cycle aromatique (figure 1) :

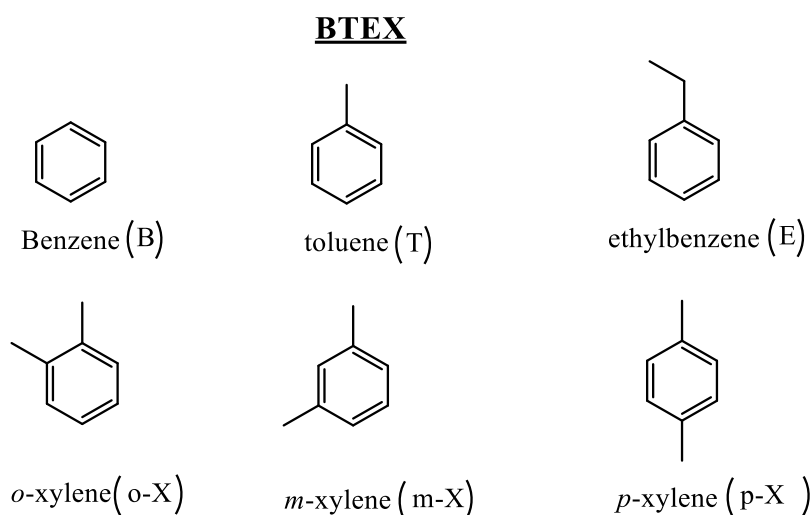
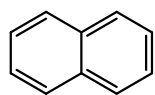


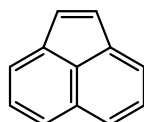
figure1 : Structure des BTEX

Tandis que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont constitués d'au moins deux cycles benzéniques (figure 2).

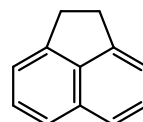
HAP selon la liste de l'US-EPA



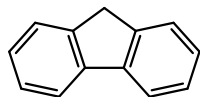
Naphtalene (NPH)



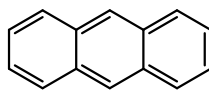
Acenaphthalene (ACY)



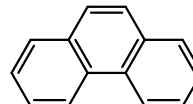
Acénaphène (ACP)



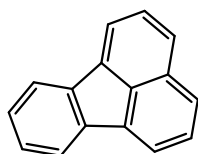
Fluorène (FLR)



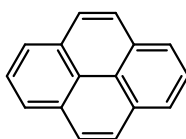
Anthracène (ANT)



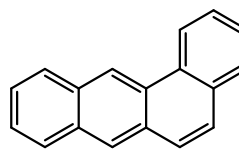
Phénanthrène (PHE)



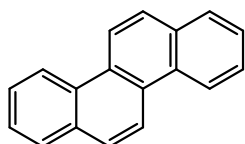
Fluoranthene (FA)



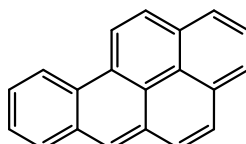
Pyrene (PYR)



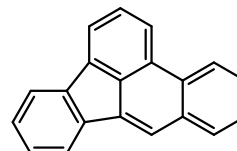
Benzo(a)anthracene (BaA)



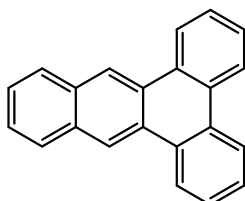
Chrysene (CHR)



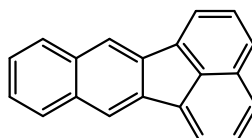
Benzo(a)pyrene (BaP)



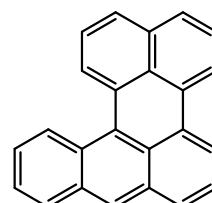
Benzo(b)fluoranthene (BbF)



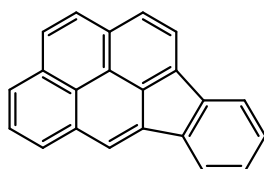
benzo[f]tetraphene



Benzo[k]fluoranthene (BkF)



Benzoperylene (BP)



Indenopyrene (IP)

Figure 2 : Hydrocarbures aromatiques polycycliques.

II.2 . Définition des HAP et BTEX:

Les hydrocarbures aromatiques sont des composés lipophiles et possèdent une bonne solubilité dans les solvants organiques et sont faiblement solubles dans l'eau. Le benzène est, par exemple, 4 fois moins soluble dans l'eau que l'hexan-1-ol, 7 fois moins que l'acide hexanoïque et 54 fois moins que la cyclohexanone. Parmi les hydrocarbures aromatiques, les BTEX sont des composés plus volatils et plus solubles dans l'eau que les HAP. Le benzène est le composé le plus soluble dans l'eau, avec une solubilité de $1,6 \times 10^3$ mg/L. La présence supplémentaire de groupements carbonés au noyau benzénique entraîne une diminution de la solubilité des composés. L'acénaphthylène, comportant 3 cycles aromatiques et elle a une solubilité dans l'eau de 3,9 mg/L contre $5,7 \times 10^{-3}$ mg/L pour le benzo(a)anthracène qui possède 4 cycles (tableau 1). Certains HAP possèdent le même nombre de cycle benzénique mais leur différence de configuration leur confère des propriétés différentes . La solubilité des HAP dans l'eau varie notamment en fonction de la complexité de leur structure moléculaire.

II.3. Origines :

Les hydrocarbures aromatiques (HAP et BTEX) peuvent être d'origine naturelle ou anthropogénique. Ils sont notamment présents à l'état naturel dans le pétrole brut et des processus tels que les éruptions volcaniques ou les feux de forêts sont à l'origine de leurs émissions dans l'environnement.

On soupçonne également que le naphthalène est un constituant physiologique de certaines fleurs de magnolia, permettant l'identification du genre Iulania. Le naphthalène (10,0 à 36,5% de la composition de l'extrait éthéré) a été trouvé dans les pétales de 5 cultivars de magnolia alors qu'il n'a pas été trouvé dans leurs feuilles ni dans aucune partie des autres cultivars étudiés dans la forêt amazonienne, 20 hydrocarbures aromatiques polycycliques ont été également trouvé

Dans les fourmilières et à proximité (dans les branches ligneuses et dans le sol : avec une prédominance de naphthalène, de phénanthrène et de pérylène. Dans les termitières, la concentration de naphthalène atteint 3645 µg/kg et 547 µg/kg de concentration de

pérylène. Dans le bois et le sol à proximité termitières, le pérylène contient (14 et 11 µg/kg, respectivement) et le naphthalène (jusqu'à 1436 et 400 µg/kg, respectivement) avaient de faibles concentrations, indiquant que ces composés sont produits dans les termitières par digestion du bois et de la terre dans l'intestin des termites. Quant au naphthalène, il est libéré par les termites pour fumiger leurs nids afin de les protéger des prédateurs, et il agit également comme agent désinfectant contre les micro-organismes pathogènes (Chen, 1998). La quantité de phénanthrène observée dans l'écorce et les branches des arbres, les auteurs considèrent qu'il s'agit d'une possible origine biologique pour ces deux Hydrocarbures aromatiques polycycliques

Malgré leur présence à l'état naturel, les principales sources d'émission des hydrocarbures aromatiques sont anthropogéniques. Ces composés peuvent être issus de la combustion du bois, des gaz d'échappement automobile, de l'évaporation de carburant au cours de son stockage, de son transport et de sa distribution. Ils sont aussi retrouvés dans de nombreux solvants ainsi que dans la fumée de cigarette. Les transports sont responsables de l'émission de 30 % des HAP retrouvés dans l'atmosphère. Les secteurs résidentiel et tertiaire, auxquels appartient notamment le chauffage domestique, représentent la principale source d'émission avec plus de 60 % des HAP émis. De même, en Aquitaine en 2010, 88 % des émissions de benzène ont été imputées aux secteurs résidentiel et tertiaire (AIRAQ Atmo Aquitaine, 2013).

II.4. Identification de profils d'hydrocarbures aromatiques :

Différents types d'hydrocarbures aromatiques sont émis. Les composés de faibles masses moléculaires, présentant moins de trois cycles benzéniques, se forment à de faibles températures de combustion lors de la combustion du bois, par exemple. Les composés de masses moléculaires plus élevées (trois cycles ou plus) sont majoritairement émis à de plus fortes températures, comme au cours de la combustion de l'essence (Tobiszewski, 2012). La dominance des HAP légers est également suggérée pour les émissions de véhicules de fort tonnage à motorisation diesel, tandis que les véhicules légers à essence sont la principale source de benzo(a)pyrène et de

dibenzo(ah)anthracène (Miguel, 1998). Ces différences ont permis la mise en place de ratios ayant pour but d'identifier la source des émissions d'hydrocarbures aromatiques (sources regroupées dans le tableau 1.

Ratio	Valeur	Source d'émission	Référence
FA/(FA + PYR)	0,4-0,5	Combustion de combustibles fossiles	De La Torre-Roche, 2009
	>0,5	Combustion d'herbe, bois, charbon	
IP/(IP + BghiP)	0,2-0,5	Combustion de produits pétroliers	Yunker 2002
	>0,5	Combustion d'herbe, bois, charbon	
BaP/BghiP	>0,6	Émissions liées au trafic	Katsoyiannis 2007
	<0,6	Émissions non liées au trafic	

FA : fluoranthène, PYR : pyrène, IP : Indéno(1,2,3-*cd*)pyrène, BaP : benzo(*a*)pyrène, BghiP : benzo(*ghi*)perylène

Tableau 1: Sources de provenance des HAP.

Ces ratios sont des outils de diagnostic permettant de déterminer l'origine des hydrocarbures aromatiques ; ils peuvent être utilisés pour l'air, le sol, les sédiments, l'eau et certains bio-indicateurs tels que les feuilles, les aiguilles de pins ou les moules (Li, 2008 ; Tobiszewski, 2012). Néanmoins, certains ratios sont établis avec des composés tels que le chrysène, le benzo(a)anthracène, l'anthracène et le phénanthrène, dont les niveaux peuvent être affectés par la présence de lumière ou par les changements climatiques (Tobiszewski, 2012).

II.5. Formation par pyrosynthèse des HAP :

Les hydrocarbures aromatiques sont généralement issus de combustions incomplètes. Les deux principaux mécanismes de formation des hydrocarbures aromatiques sont la pyrosynthèse et la pyrolyse (Kislov, 2013). Les hydrocarbures aromatiques peuvent être synthétisés, dans des conditions déficitaires en oxygène, à partir d'hydrocarbures saturés, tels que l'éthane (**figure 3**) :

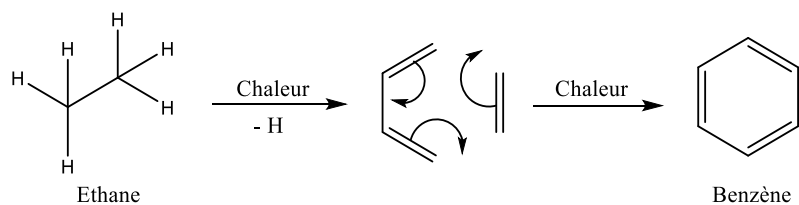


Figure 3 : Pyrosynthèse du benzène à partir de l'éthane.

II.6. Conclusion :

Nous pouvons conclure de cette partie de notre travail que le nombre des composés aromatiques ne cessent présentent de plus en plus de menaces pour toutes les espèces végétales et animales en particulier pour l'homme.

Il reste que leurs identifications et leurs présences doivent être connues pour lutter et minimiser leurs consommations.

III. Rappels bibliographiques sur les Quechers.

III. 1. Rappels bibliographiques sur les Quechers.

Les contaminants organiques tels que les pesticides et les médicaments présents dans les cours d'eau se répartissent entre les différentes phases du milieu : eau-litières de feuilles, sédiments, matières en suspension. La détermination de leurs concentrations dans ces matrices est donc primordiale pour comprendre leur distribution dans les milieux aquatiques. Ces analyses de traces dans ces matrices solides complexes requièrent des techniques analytiques efficaces pour atteindre une sensibilité et une spécificité appropriées. L'extraction et la purification sont des étapes cruciales qui nécessitent une optimisation afin de maximiser les rendements d'extraction et de minimiser les effets de matrices. En comparaison avec d'autres techniques classiques, la méthode QueChers[1], [2], [3] (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe), présente l'avantage d'être simple à mettre en oeuvre, plus respectueuse de l'environnement et permet d'obtenir des extraits relativement propres.

Cette technique de quechers présente une multitude d'avantages que nous avons cités auparavant ainsi que le nombre important de champs d'application. Nous citons comme exemple l'utilisation de cette technique dans l'apiculture qui sert à identifier la présence des pesticides et insecticides qui causent une grande mortalité chez les abeilles.

Un autre domaine est concerné par les contaminations nous citons le sol qui est une source importante de la présence des polluants.

Un troisième champ important dans l'équilibre de l'écosystème est le milieu aquatique (sujet qui nous intéresse pour notre étude).

Le monde agricole qui est la source principale de la nourriture que soit pour l'être humain ou pour l'animal peut subir les mêmes procédés pour identifier les différents polluants existants.

Quechers est un mot composé qui provient de l'anglais (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe)

Les Quechers sont commerciaux souvent des échantillons solides blancs faciles à manipuler. Le phénomène mis en jeu est sûrement l'adsorption.

Les différentes étapes qui sont indiquées dans la figure 4 seront détaillées dans la partie résultats et discussion.



Figure 4 : Différentes étapes de l'utilisation du QuEchers.

III.2. Conclusion :

La méthode du QuEchers est une technique fiable, spécifique et sensible et très utile développées pour la quantification d'un certain nombre de contaminants. De bons résultats ont été obtenus sur la majorité des molécules avec la méthode QuEchers. Ces développements nous offrent de nouvelles perspectives pour une meilleure évaluation des niveaux de contamination en contaminants organiques dans les différents compartiments aquatiques.

IV. Résultats et discussion

IV.1. Introduction :

Au cours de ce travail nous avons choisi la sardine comme sujet d'analyse.

Pourquoi ce choix ?

Plusieurs raisons nous ont guidé à choisir ce poisson :

- Élément essentiel dans l'alimentation du citoyen.
- Pas cher et disponible pour le consommateur.
- La sardine vit en milieu aquatique et l'étude va nous permettre de faire une analyse à double cibles l'animal ainsi que le milieu aquatique.
- La valeur très nutritive du sujet que nous allons citer ci-dessous.
-

IV.2. Valeurs nutritives de la sardine :

La sardine est un poisson gras qui contient certains principes actifs ayant des effets intéressants sur la santé, le principal étant assurément son contenu en acides gras oméga-3. Sans oublier les nutriments contenus dans ce poisson, tels que le calcium, le sélénium, le phosphore, la vitamine D et des vitamines du groupe B, ce qui en fait un aliment à intégrer plus souvent à notre alimentation.

IV.2.a. Caractéristiques de la sardine.

- Grande richesse en Oméga-3 ;
- Excellente source de protéines ;
- Favorise la santé du cerveau ;
- Protection du système cardiovasculaire;
- Bonne source de vitamines et minéraux.

IV.2.b. Valeurs nutritionnelles et caloriques de la sardine.

Les bienfaits de la sardine

Quelques études sur la consommation spécifique de sardine ou d'huile de sardine ont été réalisées, surtout chez l'animal. Certains principes actifs précis ont été identifiés dans ces études et sont abordés ci-dessous. Quant aux avantages liés à la consommation d'huiles de poisson, ils sont décrits dans notre fiche Poisson (huiles).

Une excellente source de bonnes graisses.

La sardine est considérée comme un poisson gras. Le contenu élevé en matières grasses, et donc en acides gras oméga-3 des poissons gras, leur confère des avantages incontestables pour la santé. La littérature scientifique abonde à ce sujet, et l'impact de la consommation de poissons gras sur la diminution du risque de maladies cardiovasculaires fait maintenant l'unanimité auprès des chercheurs.

Des études ont aussi démontré que les gens consommant plus de poisson présentaient moins de cas de dépression et moins de risque d'être atteints de la maladie d'Alzheimer. Finalement, d'autres études ont observé un lien entre la consommation de poissons gras et la diminution de l'incidence de l'arthrite. L'American Heart Association (AHA) recommande aux adultes en santé de consommer au moins deux repas de poisson par semaine, principalement les poissons gras, afin de profiter de leurs effets sur la santé.

Protection cardiovasculaire et autres bénéfiques.

La sardine est une excellente source d'acide eicosapentaénoïque (AEP) et d'acide docosahexaénoïque (ADH), deux acides gras de la famille des oméga-3. Ces acides gras agissent comme précurseurs de messagers chimiques favorisant un bon fonctionnement des systèmes immunitaire, circulatoire et hormonal. Plusieurs études épidémiologiques et cliniques ont démontré que la consommation d'acides gras oméga-3 (provenant majoritairement de poissons gras) exerçait des effets favorables sur la santé cardiovasculaire et réduisait la mortalité par maladie cardiovasculaire. Ces acides gras sont connus pour agir de plusieurs façons sur l'organisme, notamment en réduisant la tension artérielle, les triglycérides sanguins et la formation de caillots sanguins, diminuant ainsi les risques d'athérosclérose.

La consommation régulière d'acides gras oméga-3 diminuerait aussi l'arythmie cardiaque et pourrait même inhiber la croissance des cellules cancéreuses, quoique cet effet anticancer vient d'être contredit par une récente étude de synthèse dans laquelle ont été répertoriés les résultats de 38 études de cohorte provenant de différents pays. Les auteurs de cette méta-analyse indiquent que les données actuelles ne permettent pas d'affirmer qu'il existe un lien significatif entre la consommation d'acides gras oméga-3 et la diminution de l'incidence du cancer. De plus, des études ont aussi démontré que les acides gras oméga-3 joueraient un rôle dans la régulation

de l'humeur et la prévention de la dépression. Finalement, ces acides gras exerceraient certains effets anti-inflammatoires, ce qui pourrait être utile dans le traitement de pathologies telles l'asthme, l'arthrite rhumatoïde, les maladies inflammatoires de l'intestin et le psoriasis.

De plus, dans une étude d'observation, la pression artérielle des consommateurs de poisson était un peu plus faible que chez les non-consommateurs. Cette étude ne permet pas l'explication exacte de ce mécanisme, mais il est connu que les acides gras oméga-3 auraient un rôle à jouer dans la diminution de la tension artérielle. Par contre, un autre composé actif présent dans la sardine pourrait possiblement être impliqué. En effet, un peptide isolé de la sardine aurait un effet hypotenseur chez des personnes modérément hypertendues, après quatre semaines d'intervention. D'autres études devront être réalisées avant de bien comprendre le rôle de ce peptide sur l'hypertension et de savoir si la consommation de sardine entière présente les mêmes effets.

Impact positif sur le cerveau

Plus spécifiquement, des chercheurs ont démontré qu'après un an, des souris ayant une alimentation comprenant de l'huile de sardine présentaient une plus grande facilité d'apprentissage comparativement à des souris nourries à base d'huile de palme. De plus, le premier groupe d'animaux présentait des taux plus élevés d'ADH au cerveau, ainsi qu'une fluidité des membranes synaptiques plus grande.

Même si les quantités optimales d'acides gras oméga-3 à consommer ne sont pas établies avec certitude, les études scientifiques démontrent que l'ingestion quotidienne de 0,5 g à 1,8 g d'AEP et d'ADH permettrait de profiter des bienfaits qui y sont reliés. Une portion de 100 g de sardines en fournit près de 1 g. Ainsi, la sardine est l'un des six poissons les plus riches en acides gras AEP et ADH, avec la truite, le maquereau, le thon, le hareng et le saumon. Il est bon de noter que le contenu en lipides et en acides gras oméga-3 de la sardine varie considérablement selon la saison de pêche (les sardines sont plus riches en lipides en été et moins en hiver).

Teneur en protéines

Le poisson, de façon générale, est une excellente source de protéines complètes puisqu'il renferme les neuf acides aminés essentiels (ceux-ci ne sont pas produits par notre organisme et doivent provenir de notre alimentation). Les protéines

servent à la formation des enzymes digestives et des hormones de même qu'à former, réparer et maintenir les tissus, comme la peau, les muscles et les os. Par ailleurs, plusieurs études chez l'animal ont révélé que la consommation de protéine de poisson, en l'occurrence la protéine de morue, améliorerait la sensibilité à l'insuline et augmenterait l'absorption du glucose par l'organisme. Une récente étude a démontré que la consommation de protéines provenant de sources marines diminuait les taux de lipides sanguins après un repas davantage que des protéines provenant d'autres sources. Bref, ce ne sont pas uniquement les oméga-3 dans les poissons, mais également leurs protéines qui en feraient des aliments à intégrer plus souvent dans notre alimentation.

La protéine de sardine, quant à elle, a été isolée et donnée à des animaux afin d'évaluer son impact sur le sang. Les résultats ont démontré que la consommation de protéine de sardine augmentait la fibrinolyse en plus de prolonger le temps de coagulation du sang. Ces deux effets complémentaires pourraient être bénéfiques pour les individus à risque de thromboses.

Tous les scientifiques sont d'accords pour dire que la sardine est un très bon support nutritifs à cause de l'apport très riches que présente par exemple 100 grammes de sardine (voir tableau 2).

Que vaut une « portion » de sardine?	
Poids/volume	Sardine crue, 100 g
Calories	163
Protéines	19,5 g
Glucides	0,0 g
Lipides	9,48 g
- saturés	2,4 g
- monoinsaturés	1,2 g
- polyinsaturés	3,25 g
- oméga-3*	3,1 g
Cholestérol	78,9 mg
Fibres alimentaires	0,0 g

Tableau 2 : Valeur nutritionnelle de 100 grammes de sardine.

Parmi les nutriments contenus en bonne quantité dans la sardine, nous pouvons citer les suivants :

- **Calcium.** La sardine est une excellente source de calcium. Le calcium est de loin le minéral le plus abondant dans le corps. Il est majoritairement entreposé dans les os, dont il fait partie intégrante. Il contribue à la formation des os et des dents, ainsi qu'au maintien de leur santé. Le calcium joue aussi un rôle essentiel dans la coagulation du sang, le maintien de la pression sanguine et la contraction des muscles (dont le cœur).
- **Phosphore.** La sardine est une excellente source de phosphore (voir notre fiche Palmarès des nutriments Phosphore). Le phosphore constitue le deuxième minéral le plus abondant de l'organisme après le calcium. Il joue un rôle essentiel dans la formation et le maintien de la santé des os et des dents. De plus, il participe entre autres à la croissance et à la régénérescence des tissus et aide à maintenir à la normale le pH du sang. Il est l'un des constituants des membranes cellulaires.
- **Fer.** La sardine est une excellente source de fer pour l'homme et une bonne source pour la femme, car leurs besoins respectifs en ce minéral sont différents. Chaque cellule du corps contient du fer. Ce minéral est essentiel au transport de l'oxygène et à la formation des globules rouges dans le sang. Il joue aussi un rôle dans la fabrication de nouvelles cellules, d'hormones et de neurotransmetteurs (messagers dans l'influx nerveux). Il est à noter que le fer contenu dans les aliments d'origine animale (dont les poissons) est très bien absorbé par l'organisme, comparativement au fer contenu dans les végétaux ;
- **Sélénium.** La sardine est une excellente source de sélénium. Ce minéral travaille avec l'une des principales enzymes antioxydantes, prévenant ainsi la formation de radicaux libres dans l'organisme. Il contribue aussi à convertir les hormones thyroïdiennes en leur forme active.
- **Vitamine B3.** La sardine est une excellente source de vitamine B3. Appelée aussi niacine, elle participe à de nombreuses réactions métaboliques et contribue particulièrement à la production d'énergie à

partir des glucides, des lipides, des protéines et de l'alcool que nous ingérons. Elle participe aussi au processus de formation de l'ADN, permettant une croissance et un développement normaux.

- **Vitamine B12.** La sardine est une excellente source de vitamine B12. Cette vitamine travaille de concert avec l'acide folique (vitamine B9) pour la fabrication des globules rouges dans le sang. Elle veille aussi à l'entretien des cellules nerveuses et des cellules fabriquant le tissu osseux ;

- **Vitamine D.** La sardine est une excellente source de **vitamine D**. La vitamine D est étroitement impliquée dans la santé des os et des dents, en rendant disponibles le calcium et le phosphore dans le sang, entre autres pour la croissance de la structure osseuse. La vitamine D joue aussi un rôle dans la maturation des cellules, dont celles du système immunitaire.

- **Zinc.** La sardine est une bonne source de zinc pour la femme et une source pour l'homme, étant donné leurs besoins différents. Le zinc participe notamment aux réactions immunitaires, à la fabrication du matériel génétique, à la perception du goût, à la cicatrisation des plaies et au développement du fœtus. Le zinc interagit également avec les hormones sexuelles et thyroïdiennes. Dans le pancréas, il participe à la synthèse (fabrication), à la mise en réserve et à la libération de l'insuline.

- **Cuivre.** La sardine est une bonne source de cuivre. En tant que constituant de plusieurs enzymes, le cuivre est nécessaire à la formation de l'hémoglobine et du collagène (protéine servant à la structure et à la réparation des tissus) dans l'organisme. Plusieurs enzymes contenant du cuivre contribuent également à la défense du corps contre les radicaux libres.

- **Vitamine B2.** La sardine est une bonne source de vitamine B2. Cette vitamine est aussi connue sous le nom de riboflavine. Tout comme la vitamine B1, elle joue un rôle dans le métabolisme de l'énergie de toutes les cellules. De plus, elle contribue à la croissance et à la réparation des tissus, à la production d'hormones et à la formation des globules rouges.

Le mot du nutritionniste.

Pendant la grossesse, les besoins en plusieurs nutriments sont plus élevés. Les femmes enceintes doivent donc s'assurer de les combler le plus possible par une alimentation variée. Les sardines (tout comme les autres poissons gras) s'y insèrent très bien et pour plusieurs raisons. Elles sont une excellente source de calcium, de vitamine D et de fer, trois nutriments essentiels à la santé de la mère et du fœtus.

De plus, le contenu élevé en acides gras oméga-3 des sardines permet le développement neurologique optimal du fœtus. Si on ajoute à cela son contenu élevé en protéines, on obtient un excellent aliment à consommer pendant la grossesse (eBook Passeport Santé et Nutrition).

IV.2.c. Carte d'identité de la sardine

- Famille : Clupéidés ;
- Origine : Méditerranée et Atlantique;
- Saison : du printemps à l'automne;
- Couleur : gris bleu;
- Saveur : prononcée et iodée.

IV. 3. Conclusion:

Nous avons choisi un aliment primordial et nécessaire pour la santé de l'homme. Afin de contrôler et de valoriser cette aliment nous avons choisi le mode opératoire adéquat que nous développons dans la partie ultérieure.

V. Partie Expérimentale.

V. a. Echantillonnage :

Nous avons choisi un seul poissonnier pour la collecte de nos échantillons étalonnés sur une durée de quatre mois (janvier, février, mars et avril).

30 grammes de sardine sont collectés et séchés pendant un mois dans des conditions saines à savoir le stockage à l'ombre ainsi que l'emballage en papier cellulose pour éviter toute dégradation et contamination.

Les quatre échantillons séchés sont mis dans des Erlen Meyer Neufs dans 20 mL d'hexane pendant 24 heures sous agitation.

Après filtration des plaques CCM sont effectuées sur les quatre analytes.

La révélation des plaques CCM par trois différents révélateurs à savoir l'iode (I₂) ; à base d'anisaldéhyde et de vanilline montre la présence d'un certain nombre de «Spotes » et leurs Rf indiquent la présence d'acide gras insaturés et de caroténoïdes et de stérols.

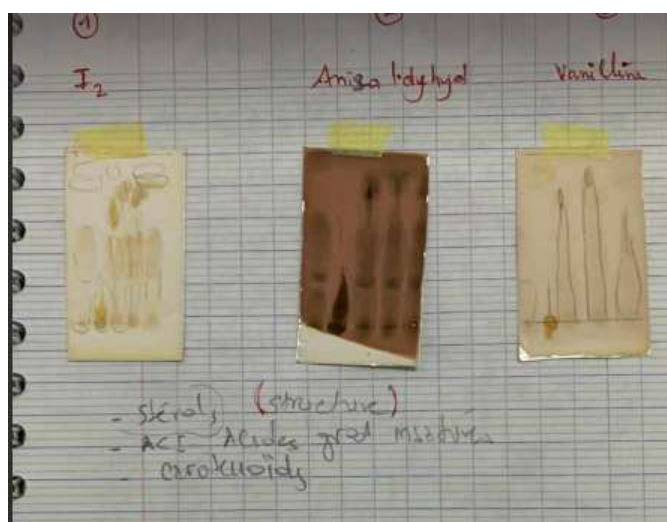


Figure 4 : Plaques CCM avec différents révélateurs.

Après évaporation du solvant organique à savoir l'hexane, quatre échantillons ont été obtenus.

La quantité très faible en masse nous a imposé d'éviter une approche avec plusieurs étapes à savoir saponification des acides gras existants et séparation par une colonne chromatographique sur gel de silice.

Il existe dans la littérature une technique très rapide, simple et efficace qui consiste d'utiliser l'extraction par Quercus que nous avons citée en partie théorique.

V. b. Préparation des échantillons pour extraction :

Les échantillons ont reçu 1 mL de H₂O et ont été secoués vigoureusement puis vortexés pendant 1 minute. Puis 2 ml d'acétonitrile ont été ajoutés et le mélange résultant a été homogénéisé par agitation pendant 15 minutes.

V. c. Extraction par Quechers :

Les tubes Quechers utilisés 55173-U Supel™ QuE (2 mL tubes) étaient du types Quechers AOAC et dont la composition était la suivante : Sulfate de magnésium : 150 mg, PSA : 25 mg, C18 : 25 mg.

Les échantillons prétraités y étaient transvasés, agités, vortexés pendant 5 minutes puis centrifugés à 3800 Rotation par minute (RPM) pendant 5 minutes.

V. d. Analyse par GC-MS :

Tous les échantillons ont été analysés à l'aide d'un GC-MS Perkin Elmer Clarus 680 avec ionisation par impact électronique (70 eV) utilisant une surveillance sélective des ions (SIM) en mode ions positifs et une colonne DB-5MS (30 m de longueur, 0,25 µm d'épaisseur du film, 0,25 mm diamètre interne). Le port d'injection de l'instrument a été utilisé en mode sans division pulsé, équipé d'un revêtement de verre de 2 mm avec de la laine de verre et a délivré un 1 µL d'échantillon.

La température d'injection a été maintenue à 300 C. La chromatographie des HAP a été réalisée en utilisant le programme suivant à un débit de colonne de 1 mL/min en utilisant de l'hélium comme gaz vecteur :

- La température initiale du four était de 70 C, maintenue 1 min,
- Rampe jusqu'à 300 à 10 C/min, 4 min de maintien,
- Rampe jusqu'à 310 à 10 C/min, 7 min de maintien pour une durée totale de fonctionnement de 36 min.

Les températures de la ligne de transfert, de la source et du quadripôle du spectromètre de masse étaient respectivement de 280 °C, 230 °C et 150 °C.

V. e. Rappels bibliographiques sur la technique de chromatographie couplée à la masse.

Introduction

Il existe plusieurs techniques pour séparer et identifier différents composés présents dans un échantillon. La chromatographie est un exemple de technique de séparation. Cette technique repose sur les différences d'affinité des composés d'un mélange avec deux phases non miscibles : la phase stationnaire et la phase mobile. La chromatographie en phase gazeuse (GC) est l'un des principaux types de chromatographie (Ambrose Douglas, Haleem J. Issaq). Dans cette même perspective, un type de chromatographie (séparation) peut être avantageusement couplé avec une technique de détection, d'identification et de quantification comme la spectrométrie de masse. Comme les colonnes capillaires n'existaient pas encore à l'époque, l'utilisation de grands débits de gaz avec une concentration faible en soluté demanda à développer un certain nombre de techniques de concentration de vapeur pour éliminer, en partie, le gaz porteur et augmenter la concentration du soluté. Il a donc fallu concevoir un spectromètre de masse qui, une fois couplé à la chromatographie en phase gazeuse, puisse facilement être interfacé au chromatographe. La création du premier bon spectromètre de masse pour un système chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse a été conçu par Bill Kelley et Ted Adlard dans leurs laboratoires de recherche.

Histoire

L'utilisation d'un spectromètre de masse comme détecteur en chromatographie en phase gazeuse a été développée dans les années 1950 par Roland Gohlke et Fred McLafferty. Ces premiers dispositifs sensibles étaient encombrants, fragiles et initialement limités aux laboratoires qui les développaient. L'apparition d'ordinateurs abordables et miniaturisés a contribué à la simplification de l'utilisation de cet appareil et permis de réduire considérablement le temps nécessaire à l'analyse d'un échantillon. En 1996, une unité CPG-SM haut de gamme et à grande vitesse, a terminé l'analyse de

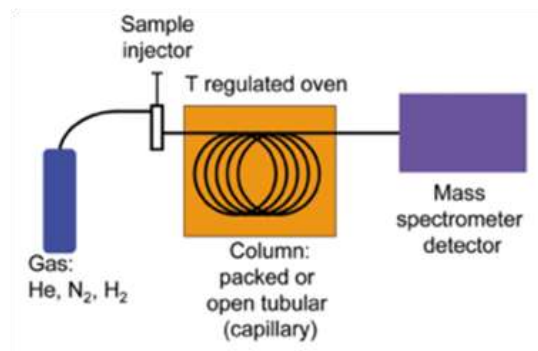
produits accélérateurs d'incendie en moins de 90 s, alors qu'avec la première génération de CPG-SM, il aurait fallu au moins seize minutes.

Définition

La **chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM¹, ou GC-MS)** de l'anglais **Gas chromatography-mass spectrometry**, est une technique d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse, pour la séparation des composés d'un échantillon, et de la spectrométrie de masse, pour la détection et l'identification des composés en fonction de leur rapport masse sur charge. Cette technique permet d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances présentes en très petites quantités, voire en traces. Les applications de la CPG-SM comprennent le dosage de médicaments ou de stupéfiants, l'analyse environnementale, la médecine légale et l'identification de toutes substances inconnues même sous forme de traces. La CPG-SM est d'ailleurs présentée comme étant la référence absolue des analyses en médecine légale.

Conception

Une unité CPG-SM est composée de deux blocs principaux: un chromatographe en phase gazeuse et un spectromètre de masse. Le chromatographe en phase gazeuse utilise une colonne capillaire qui dépend des dimensions de la colonne (longueur, diamètre, épaisseur du film) ainsi que des propriétés de la phase (par exemple 5 % polyphényl siloxane). La différence des propriétés chimiques entre les différentes molécules dans un échantillon les sépare quand celui-ci se déplace le long de la colonne. Les molécules prennent différents temps (appelé temps de rétention) pour sortir (éluer) du chromatographe en phase gazeuse, ce qui permet au spectromètre de masse en aval de capturer, ioniser, accélérer, dévier et de détecter les molécules ionisées séparément. Le spectromètre de masse brise pour cela chaque molécule en fragments ionisés et détecte ces fragments en fonction de leur rapport masse sur charge. Ces deux composantes utilisées ensemble, permettent l'identification d'une substance à un degré beaucoup plus fin que chaque unité utilisée séparément.



CPG-SM schématique



Intérieur d'un CPG-SM, avec la colonne de chromatographie en phase gazeuse .

Principe de base

Introduction de l'échantillon

Dans un premier temps, cette technique démarre comme une chromatographie en phase gazeuse normale. Un échantillon (sous forme de liquide volatil), est introduit en tête de la colonne dans l'injecteur par une microsiringue (siringue Hamilton). La colonne, balayée en continu par un gaz porteur, va entrainer les différentes composantes de l'échantillon et ainsi les amener à se détacher les unes des autres en fonction de leur affinité avec la phase stationnaire⁶. Une fois séparées, ces différentes composantes sont détectées en sortie de colonne par un détecteur, le spectromètre de masse. Les composantes sont alors introduites directement dans ce dernier qui est relié au chromatographe.

Ionisation

Une fois à l'intérieur de l'appareil, une source ionise les différentes molécules. La source la plus utilisée est l'ionisation électronique (EI) (Harold M. McNair). Pour ce type d'ionisation, la source est un réseau électrique à deux entrées et sorties permettant le transfert d'énergie. Un courant s'écoule au travers de la source ce qui induit perpendiculairement un courant électronique entre un filament (la cathode) et une anode. Les molécules sont alors bombardées par des électrons libres émis par ce filament. L'interaction des électrons et de ces molécules neutres génère des ions moléculaires chargés positivement. Les molécules qui ne sont pas ionisées sont éloignées de la source par le vide poussé. Les ions moléculaires produits dans la source sont maintenant accélérés et focalisés par différentes lentilles et quadripôles pour augmenter la sensibilité et la sélectivité.

Séparation des ions

Il s'agit maintenant de l'étape de séparation des ions qui se fait dans l'analyseur de masse à quadripôle. Sous l'effet d'un champ magnétique, les ions vont osciller le long de l'axe des z du filtre quadripolaire à une tension continue (U) et une tension alternative (V) réglées par l'appareil afin que seuls les ions de rapport masse sur charge (m/z) choisis puissent traverser le filtre quadripolaire et se rendre jusqu'au détecteur (Robert M. Silverstein).

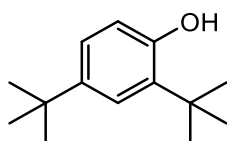
Détection des ions

La dernière étape est la détection des ions. À ce moment-là, les ions sont récoltés sur un multiplicateur d'électrons. D'une part, le détecteur convertit les ions en signal électrique (plus il y a d'ions, plus le courant est important). D'autre part, le détecteur amplifie le signal obtenu ce qui permet le traitement informatique, c'est-à-dire l'obtention de spectre (Manfred Hesse).

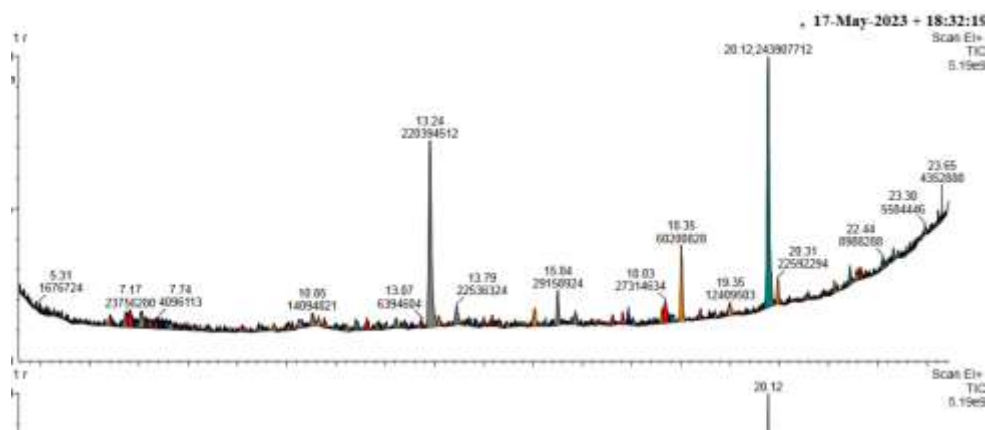
V. f. Interprétation du spectre CG – MS.

Nous avons choisi d'utiliser la chromatographie couplée à la masse (CG-MS), disponible au niveau de notre laboratoire, pour l'identification des substances chimiques organiques contaminants s'ils existent ?

L'analyse du CG-MS de notre échantillon traité par le Quechers montre bien l'inexistence des composés aromatiques polycycliques ciblés. Nous notons par contre la présence du 2,4-Bis(tert-butyl)phenol qui présente un temps de rétention $R_t = 13.7$



2,4-Bis(tert-butyl)phenol



$R_t = 13.79$

Name: Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-

Formula: $C_{14}H_{22}O$

MW: 206 Exact Mass: 206.167066 CAS#: 96-76-4 NIST#: 133233 ID#: 25771 DB: replib

Other DBs: Fine, TSCA, RTECS, EPA, HODOC, NIH, EINECS, IRDB

Contributor: NIST Mass Spectrometry Data Center, 1994

10 largest peaks:

191	999	57	268	206	164	192	149	41	134
29	80	163	64	74	56	91	51	39	46

Synonymes:

1. Phenol, 2,4-di-tert-butyl-

2. 2,4-Di-tert-butylphenol

3. 2,4-di-t-Butylphenol

4. 1-Hydroxy-2,4-di-tert-butylbenzene

5. Antioxidant No. 33

6. Prodox 146

7. Prodox 146A-85X

8. 2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenol

9. 2,4-Bis(tert-butyl)phenol

Le 2,4-Bis(tert-butyl)phénol est un composé aromatique naturel produit par un métabolite secondaire toxique courant produit par divers groupes d'organismes. Les biosources et les bioactivités du 2,4-DTBP ont été bien étudiées, mais le phénol n'a pas été systématiquement examiné. Le 2,4-DTBP a été trouvé dans au moins 169 espèces de bactéries (16 espèces, 10 familles), de champignons (11 espèces, huit familles), de diatomées (une espèce, une famille), d'hépatiques (une espèce, une famille), ptéridiphytes (deux espèces, deux familles), gymnospermes (quatre espèces, une famille), dicotylédones (107 espèces, 58 familles), monocotylédones (22 espèces, huit familles) et animaux (cinq espèces, cinq familles). Le 2,4-DTBP est souvent un composant majeur des huiles essentielles et présente une toxicité puissante contre presque tous les organismes testés, y compris les producteurs ; cependant, on ne sait pas clairement pourquoi les organismes produisent du 2,4-DTBP autotoxique et ses analogues. Les preuves accumulées indiquent que la régulation endocide semble être la fonction principale des phénols dans les organismes producteurs

Une fiche technique est présentée ci-dessous qui indique que le produit présente une activité anti-oxydante et en même temps c'est produit toxique pour les espèces aquatiques dont les poissons !

Fiche de données de sécurité
 selon 1907/2006/CE, Article 31

Date d'impression : 14.10.2021

Révisé : 14.10.2021

RUBRIQUE 1: Identification de la substance/du mélange et de la société/l'entreprise

1.1 Identificateur de produit

Nom du produit: 2,4-Di-tert-butylphénol CAS:96-76-1 (SB20990)

No CAS:

96-76-1

Numéro CE:

202-532-0

Numéro d'enregistrement

Un numéro d'enregistrement n'est pas disponible pour cette substance car la substance ou ses usages sont exemptés d'enregistrement, le tonnage annuel ne nécessite pas d'enregistrement ou l'enregistrement est envisagé pour un délai d'enregistrement ultérieur.

1.2 Utilisations identifiées pertinentes de la substance ou du mélange et utilisations déconseillées

Pas d'autres informations importantes disponibles.

Emploi de la substance / de la préparation Réactif de Laboratoire

1.3 Renseignements concernant le fournisseur de la fiche de données de sécurité

Producteur/fournisseur:

CPAchem Ltd.

2 Ivanda Terzirova Str.

Bozovitsko 6063

Sucea Zapadni, BULGARIA

info@cpachem.com

Service chargé des renseignements: Product safety department

1.4 Numéro d'appel d'urgence: During normal opening times: +359 42 607716

RUBRIQUE 2: Identification des dangers

2.1 Classification de la substance ou du mélange

Classification selon le règlement (CE) n° 1272/2008



GHS05 corrosif

Eye Dam. 1 H318 Provoque de graves lésions des yeux.



GHS09 environnement

Aquatic Acute 1 H400 Très toxique pour les organismes aquatiques.

Aquatic Chronic 1 H410 Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.



GHS07

Skin Irrit. 2 H315 Provoque une irritation cutanée.

2.2 Éléments d'étiquetage

Étiquetage selon le règlement (CE) n° 1272/2008

La substance est classifiée et étiquetée selon le règlement CLP.

(voir page 2)

Conclusion :

Le processus analytique proposé permet d'optimiser les recherches de produits toxiques en associant un protocole de préparation des échantillons rapide et facile à mettre en œuvre, une analyse de dépistage sur un large panel de molécules en et une méthode de confirmation et la quantification très sensible en CG/MS. Cette méthodologie pourra être élargie à d'autres matrices (sol , miel, cire, couvain ...) pour collecter plus de données sur les intoxications aiguës ou chroniques et être utilisée dans d'autres contextes comme des suivis environnementaux.

VI. Conclusion générale.

Conclusion Générale

Le sujet que nous avons proposé nous a permis de conclure que la sardine que nous consommons n'est pas contaminée par des produits aromatiques cancérigènes.

L'utilisation du Quechers s'est révélée très rapide et efficace pour l'étude et l'identification.

La présence du 2,4-Bis(tert-butyl)phenol, un produit naturel connu pour ses vertus antioxydants.

Néanmoins et d'après la bibliographie, il présente une certaine toxicité pour les espèces aquatiques dont le poisson.

Le processus analytique proposé permet donc d'optimiser les recherches de produits toxiques en associant un protocole de préparation des échantillons rapide et facile à mettre en œuvre, une analyse de dépistage sur un large panel de molécules en et une méthode de confirmation et la quantification très sensible en CG/MS. Cette méthodologie pourra être élargie à d'autres matrices (sol, miel, cire, couvain ...) pour collecter plus de données sur les intoxications aiguës ou chroniques et être utilisée dans d'autres contextes comme des suivis environnementaux.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- 1 -Borloo, J.L. (2009). Le livre bleu des engagements du Grenelle de la mer. Ed. Meeddm Paris P.21.
- 2 - Lambert Castel, F., & Penot, M. (1981). Actions des pétroles de l'Amoco Cadiz sur la croissance et certains aspects du métabolisme d'une algue phytoplanctonique
- 3 - Pavlovalutheri (DROPP) Green. In Indices Biochimiques et milieux marins. Actes du colloque des journées du GABIM, 14, CNEXO, Brest, pp.411-422.
- 4 - Houma, F. (2005(a)). The development of a methodology to characterise and determine the sea water pollution by hydrocarbons using satellite images. 3red International Conference on Marine Waste Discharges and Marine Environment CIESM Espagne 2004; INOC Izmir Turkey 12- 14.
- 5 - Pulgarin, A. (2012). Méthodes pour la datation des hydrocarbures déversés dans l'environnement. Université de Sherbrooke, Québec, Canada. PP.12-16.
- 6 - Ramade, F. (1982). Elément d'écologie appliquée. Editions Mc Graw- Hill: 452.
- 7 - Röling , W.F., Milner, M.G., Jones, D.M., K, L., Daniel, F., Swanell , R.J.& Head, I.M. (2002). Robust hydrocarbon degradation and dynamics of bacterial communities during nutrient-enhanced oil-spill bioremediation. Appl. Environ. Microbiol., 68: 5537-5548.
- 8 - Salomon, J.N. (2003). Danger pollutions ! Collection « Scieteren », Presse Universitaire de Bordeaux, France, 170.
- 9 - J. Chen, G. Henderson, C. C. Grimm, S. W. Lloyd R. A. Laine *Nature* (1998), 392, ,558–559.
- 10 - AIRAQ Atmosphere Aquitaine, 2013.
- 11 - Manuel G. Calvo, Juan J. Miguel-Tobal. *Motivation and Emotion*.(1998), 22, 211–230.
- 12 - Roberto J De La Torre-Roche, Wen-Yee Lee, Sandra I Campos-Díaz *J Hazard Mater.* (2009),30, 946-58.
- 13- Mark B. Yunker,Robie W. Macdonald and Lloyd R. Snowdon. *Global Biogeochemical Cycles*, (2009), 23, 1-13.
- 14 - A Katsoyiannis, AJ Sweetman. *Environmental science*. 2011, 45, 20, 8897–8906.
- 15 - Werner Bauer, Shi-Pu Li, Ying-Chao Han, Lin Yuan Mei-Zhen Yin. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. (2008), 19, 1091–1095.
- 16 - Marek Tobiszewski ¹, Jacek Namieśnik. *Environ Pollut.* (2012), 162:110-9.

- 17** - Kislov, A I Sadovnikov, A M Mebel. *J Phys Chem.* (2013) 13, 117(23):4794-816.
- 18** - Directive 2013/39/UE du Parlement européen et du Conseil du 12 août 2013 modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau.
- 19** - J. Cabillic et C. Fallot – rapport d'étape sur l'Etude de faisabilité de l'extraction et/ou de la purification par QuEChERS pour l'analyse des HAP sur sédiments – Rapport AQUAREF 2015 – 20 p.
- 20** M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbaher, F. J. Schenck, Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce, *Journal of AOAC International* 86 (2003) 412-431.
- 21** A. Albinet, S. Thomas, F. Lestremau, A really quick easy cheap effective rugged and safe (QuEChERS) extraction procedure for the analysis of particlebound PAHs in ambient air and emission samples, *Science of the total env.*, 450451 (2013) 31-38.
- 22** S. H. G. Brondi, A. N. de Macedo, G. H. L. Vicente, A. R. A. Nogueira, Evaluation of the QuEChERS method and gas chromatography-mass spectrometry for the analysis pesticide residues in water and sediment, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 86 (2011) 18-22.
- 23** L. Drabova, J. Pulkrabova, K. Kalachova, M. Tomaniova, V. Kocourek, J. Hajslova, Rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in tea using two-dimensional gas chromatography coupled with time of flight mass spectrometry, *Talanta*, 100 (2012) 2017-216.
- 24** K. Kalachova, J. Pulkrabova, L. Drabova, T. Cajka, V. Kocourek, J. Hajslova, Simplified and rapid determination of polychlorinated biphenyls, polybrominated diphenyl ethers and polycyclic aromatic hydrocarbons in fish and shrimps integrated into a single method, *analytica chim. Acta*, 707 (2011) 84-91.
- 25** M. J. Ramalhosa, P. Paiga, S. Morais, C. Delerue-Matos, M. B. Prior Pinto Oliveira, Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish: evaluation of a quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction method, *J. Sep. Sci.* 32 (2009) 3529-3538.
- 26** - A. Rashid, S. Nawaz, H. Barker, I. Ahmad, M. Ashraf, Development of a simple extraction and clean up procedure for the determination of organochloride pesticides in soil using gas chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of*

- Chromatographie. A, 1217 (2010) 2933-2939.
- 27- eBook Passeport Santé et Nutrition.
- 28 Ambrose Douglas (1961), *Gas chromatography*, Londres, Newnes, 220 p.
- 29 Haleem J. Issaq (2001), *A Century of Separation Science*, New York, CRC Press, 776 .
- 30 Roland S. Gohlke, « Time-of-Flight Mass Spectrometry and Gas-Liquid Partition Chromatography », *Analytical Chemistry*, vol. 31, n° 4, avril) 541-535 p. ,1959ISSN 0003-2700, DOI 10.1021/ac50164a024)
- 31 (en) Roland S. Gohlke et Fred W. McLafferty, « Early gas chromatography/mass spectrometry », *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, vol. 4, n° 5,) 371-367 p. ,1993 ISSN 1044-0305, DOI 10.1016/1044-0305(93)85001-E)
- 32 Acree, William E, Jr. (1998), *Basic Gas Chromatography*, *Journal of Chemical Education* (75) : 1094-1095.
- 33 Robert M. Silverstein, Francis X. Webster, David Kiemle (2005), *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, New York, Wiley, 512 p.
- 34 - Harold M. McNair, James M. Miller (2011), *Basic Gas chromatography*, États-Unis, Wiley-Interscience, 256 p.
- 35 - Manfred Hesse, Herbert Meier, Bernd Zeeh (1997), *Méthodes spectroscopiques pour la chimie organique*, Paris, Masson, 350 p.
- 36 Robert M. Silverstein, Francis X. Webster, David Kiemle (2005), *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, New York, Wiley, 512 p.
- 37 Ambrose Douglas (1961), *Gas chromatography*, Londres, Newnes, 220 p.
- 38 Haleem J. Issaq (2001), *A Century of Separation Science*, New York, CRC Press, 776 .
- 39 Roland S. Gohlke, « Time-of-Flight Mass Spectrometry and Gas-Liquid Partition Chromatography », *Analytical Chemistry*, vol. 31, n° 4, avril) 541-535 p. ,1959ISSN 0003-2700, DOI 10.1021/ac50164a024)
- 40 (en) Roland S. Gohlke et Fred W. McLafferty, « Early gas chromatography/mass spectrometry », *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, vol. 4, n° 5,) 371-367 p. ,1993 ISSN 1044-0305, DOI 10.1016/1044-0305(93)85001-E)
- 41 Acree, William E, Jr. (1998), *Basic Gas Chromatography*, *Journal of Chemical Education* (75) : 1094-1095.
- 42 Robert M. Silverstein, Francis X. Webster, David Kiemle (2005), *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, New York, Wiley, 512 p.

- 43 - Harold M. McNair, James M. Miller (2011), *Basic Gas chromatography*, États-Unis, Wiley-Interscience, 256 p.
- 44 - Manfred Hesse, Herbert Meier, Bernd Zeeh (1997), *Méthodes spectroscopiques pour la chimie organique*, Paris, Masson, 350 p.
- 45 Robert M. Silverstein, Francis X. Webster, David Kiemle (2005), *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, New York, Wiley, 512 p.