

**UFR SCIENCES & TECHNIQUES COTE BASQUE**

Université de Pau et des Pays de l'Adour

**Licence de Biologie des Organismes**

Relations entre les concentrations en mercure, sélénium et lipides dans différents organes de thons obèses (*Thunnus obesus*) et de thons rouges (*Thunnus albacares*) de Nouvelle-Calédonie

**MERE Aurore**



**Stage effectué du 07/03/2016 au 24/06/2016 au laboratoire**

**IPREM**

**Equipe LCABIE**

UFR Côte Basque.  
Allée du Parc Montauray  
64600 ANGLET

**sous la direction scientifique de Mme MONPERRUS Mathilde.**

*Le présent rapport constitue un exercice pédagogique qui ne peut en aucun cas engager la responsabilité de l'Entreprise ou du Laboratoire d'accueil"*

## 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 rapport.

Tout d'abord, j'adresse mes remerciements à mon maître de stage, **Mme Mathilde MONPERRUS, enseignant-chercheur à l'UFR d'Anglet**, pour m'avoir accueillie une nouvelle fois au sein de son équipe, pour son encadrement et qui m'a permis de développer mon autonomie pendant ce stage.

Je tiens à remercier aussi, **Mr Laurent LANCELEUR, post-doc à l'IPREM-LCABIE**, pour m'avoir épaulée durant toute la durée de mon stage.

Pour finir, je remercie également toute l'équipe de l'UFR d'Anglet pour son accueil, sa gentillesse et sa convivialité.

Pour finir, je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont conseillée et qui ont relu ce rapport.

## Table des matières

|                                                                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Introduction.....                                                                                                                                              | 1  |
| 1. Présentation du laboratoire .....                                                                                                                           | 3  |
| 1.1. L'Institut de recherche (L'IPREM).....                                                                                                                    | 3  |
| 1.2. L'organigramme de l'Institut .....                                                                                                                        | 3  |
| 1.3. Le laboratoire de recherche (LCABIE).....                                                                                                                 | 3  |
| 2. Contexte et présentation du projet .....                                                                                                                    | 4  |
| 3. Matériels et méthodes .....                                                                                                                                 | 6  |
| 3.1. Echantillonnage et préparation des échantillons.....                                                                                                      | 6  |
| 3.2. Analyse des lipides .....                                                                                                                                 | 6  |
| 3.3. Analyse du sélénium.....                                                                                                                                  | 7  |
| 3.3.1. Protocole d'analyse .....                                                                                                                               | 7  |
| 3.3.2. Validation de la méthode .....                                                                                                                          | 8  |
| 3.4. Analyse du mercure.....                                                                                                                                   | 9  |
| 3.5. Outils statistiques .....                                                                                                                                 | 10 |
| 4. Résultats .....                                                                                                                                             | 11 |
| 4.1. Concentrations des différents paramètres mesurés pour l'espèce <i>Thunnus albacares</i> (YFF) et <i>Thunnus obesus</i> (BET) en fonction des organes..... | 11 |
| 4.1.1. Concentrations en mercure pour l'espèce <i>Thunnus albacares</i> (YFF) et <i>Thunnus obesus</i> (BET) en fonction des organes.....                      | 11 |
| 4.1.2. Concentrations en sélénium total pour l'espèce YFF et BET en fonction des organes .                                                                     | 12 |
| 4.1.3. Concentrations en lipides pour l'espèce YFF et BET en fonction des organes.....                                                                         | 13 |
| 4.2. Conclusion .....                                                                                                                                          | 14 |
| 4.3. Concentrations des différents paramètres mesurés pour l'espèce YFF en fonction du sexe et des organes .....                                               | 14 |
| 4.3.1. Concentrations en mercure pour l'espèce YFF en fonction du sexe et des organes ....                                                                     | 14 |
| 4.3.2. Concentrations en sélénium pour l'espèce YFF en fonction du sexe et des organes ...                                                                     | 15 |
| 4.3.3. Concentrations en lipides pour l'espèce YFF en fonction du sexe et des organes .....                                                                    | 16 |
| 4.4. Conclusion .....                                                                                                                                          | 16 |
| 4.5. Relations entre les différents paramètres mesurés .....                                                                                                   | 17 |
| 4.5.1. Relations entre les concentrations en mercure et en sélénium .....                                                                                      | 17 |
| 4.5.2. Relations entre les concentrations en mercure et en lipides.....                                                                                        | 18 |
| 4.5.3. Relations entre la concentration en mercure et la longueur des thons .....                                                                              | 19 |

|        |                                                                             |    |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.5.4. | Relations entre les concentrations en sélénium et en lipides.....           | 20 |
| 4.5.5. | Relations entre la concentration en sélénium et la longueur des thons ..... | 21 |
| 4.5.6. | Relations entre la concentration en lipides et la longueur des thons.....   | 22 |
| 4.6.   | Conclusion .....                                                            | 22 |
| 5.     | Discussion .....                                                            | 23 |
|        | Conclusion générale .....                                                   | 24 |
|        | Références.....                                                             | 25 |
|        | Annexe.....                                                                 | 27 |

## Introduction

Le mercure est un élément trace métallique, de symbole Hg et de masse atomique 200,59. C'est un constituant naturel de la croûte terrestre supérieure (0-21 km) (Wedepohl, 1995) et peut être concentré sous forme de minéral de sulfure de mercure HgS appelé cinabre. Les processus naturels tels que les éruptions volcaniques ou l'altération des roches mobilisent le mercure de la croûte terrestre qui va ensuite pouvoir être transporté dans l'atmosphère et l'hydrosphère. Cependant l'Homme intervient aussi dans le cycle géochimique global de cet élément. En effet, ce métal présente des caractéristiques physiques et chimiques particulières. Sa sensibilité aux variations de température et de pression, sa forte densité, sa capacité à émettre un rayonnement UV (254 nm) et sa capacité à former des alliages sont des propriétés qui ont été exploitées par l'Homme par exemple pour les appareils de mesures physiques, des lampes fluorescentes, les interrupteurs électriques ou encore les amalgames dentaires et constitue une source diffuse de mercure dans l'environnement à laquelle s'ajoute l'utilisation des combustibles fossiles (Ludovic FLOURY et al, 2013) et du bois et les procédés utilisés en métallurgie des produits non ferreux. L'émission de mercure liée aux activités anthropiques est de 4000 tonnes environ par an, soit quatre fois supérieure à celle liée aux processus naturels (1000 tonnes ; Fitzgerald and Mason, 1997).

Qu'il soit d'origine naturelle ou anthropique, le mercure peut être redistribué dans tous les compartiments de l'environnement (atmosphère, océans, sédiments, continents) et former des liaisons chimiques avec des éléments inorganiques et des molécules organiques. La spéciation du mercure est contrôlée par les paramètres biologiques et géochimiques environnementaux. Il peut se présenter sous trois espèces chimiques différentes :

- Sous forme liquide ( $\text{Hg}^0$ )
- Sous forme ionique ( $\text{Hg}^+$  ou  $\text{Hg}^{2+}$ )
- Sous forme de composés organomercuriels (méthylmercure, diméthylmercure).

Le mercure est toxique sous presque toutes ses formes, contrairement à d'autres éléments minéraux. Le caractère lipophile du méthylmercure, apporté par l'alkylation, le rend soluble dans les graisses et lui permet de passer les barrières membranaires pour diffuser dans l'organisme. Il est l'un des éléments les plus bioaccumulables dans les tissus des organismes marins. Les concentrations en méthylmercure dans la chair des poissons augmentent à chaque niveau trophique : il est dit bioamplifié (Cossa et al, 2012). Le méthylmercure représente 90 % de la contamination en mercure, au niveau des grands prédateurs terminaux (Burger et al, 2013) comme pour les thons car ce sont des poissons migrateurs qui peuvent s'être contaminés en mercure au cours de leur migration.

Chez l'Homme, le mercure peut impacter le développement neurologique du fœtus (Trasande et al, 2005) et le système immunitaire (H.Frouin et al, 2012). Le cycle géochimique global du mercure, sa capacité à se bioaccumuler et se bioamplifier et sa forte toxicité font de cet élément une priorité pour l'estimation des risques environnementaux et sanitaires.

Depuis plusieurs années, les scientifiques ont constaté un lien entre le mercure et le sélénium dans les tissus biologiques. Le sélénium est un métalloïde inclus dans la composition de protéines ayant des fonctions antioxydantes présentes naturellement dans le corps humain. Son apport se fait par la consommation d'aliments contenant du sélénium. D'après les recherches menées, le sélénium pourrait avoir un rôle protecteur qui dépend du ratio molaire entre le sélénium et le mercure. En effet, une forte corrélation entre la concentration en mercure et en sélénium dans des tissus biologiques notamment chez les poissons a été montrée (Joanna Burger et al, 2005). En effet, une forte corrélation entre la concentration en mercure et en sélénium dans des tissus biologiques, notamment chez les poissons, a été montrée (Joanna Burger et al, 2005). Le sélénium aurait la possibilité de déméthylmer le méthylmercure par exemple par les bactéries de l'intestin et donc de le rendre moins toxique. Il y a

une forte affinité entre le mercure et le sélénium, ils vont former un complexe solide inerte qui va pouvoir être éliminé par les reins.

Malgré cela, peu d'informations existent sur le métabolisme du sélénium, sur la forme de cet oligo-élément et sur son ou ses endroits de stockage dans les organismes vivants, même si quelques pistes sont envisagées notamment sur une séléroprotéine-Hg dépendante contenue dans le foie (Chouvelon et al, 2009).

Cette problématique est un des axes de recherche du laboratoire de recherche IPREM, engagé dans le projet de recherche suivant : « Variations spatiales des concentrations en contaminants métalliques dans les réseaux trophiques de l'Océan Pacifique Sud : état des lieux et études de leur potentiel comme traceur de migration (VACOPA) » dans lequel s'inscrit mon stage. Le laboratoire doit réaliser l'analyse du sélénium total dans des échantillons biologiques. Il doit aussi déterminer la spéciation de molécules séléniées et rechercher des complexes séléno-mercurés pour mieux comprendre l'interaction mercure/sélénium et le possible rôle détoxifiant de ce dernier sur le mercure.

# 1. Présentation du laboratoire

## 1.1. L'Institut de recherche (L'IPREM)

L'**IPREM**, l'Institut Pluridisciplinaire de Recherche sur l'Environnement et Matériaux est une Unité Mixte de Recherche (n° 5254 du CNRS) publique à caractère scientifique, commune et labellisée par plusieurs organismes :

- l'Université de Pau et des Pays de l'Adour (UFR)
- le Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS)

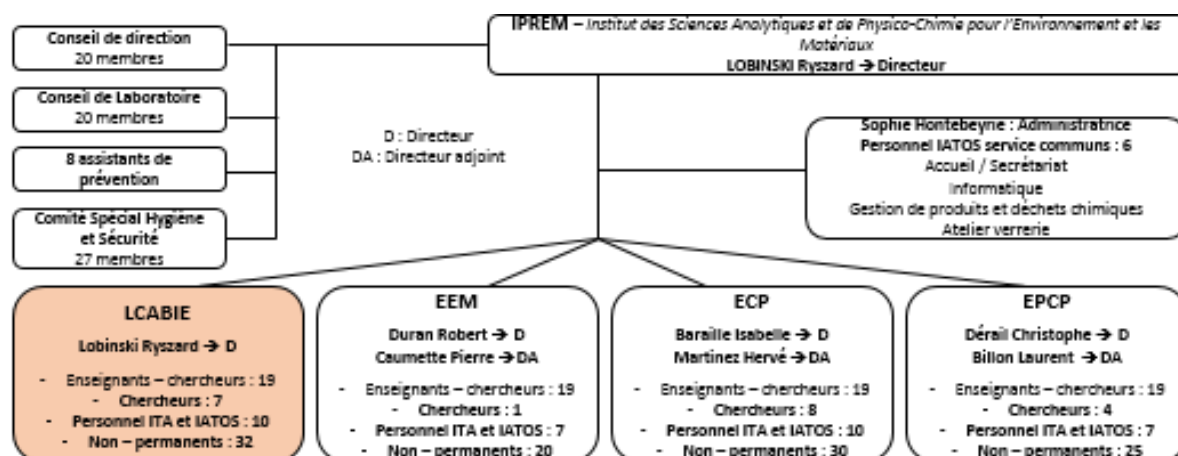
Cet institut a été créé lors du décret n°70-1174 du 17 décembre 1970. Il bénéficie d'une autonomie pédagogique, scientifique, administrative et financière. Son siège social se trouve à Pau.

L'**IPREM** regroupe 4 équipes de recherche dans les domaines de la chimie analytique, chimie physique, chimie théorique, physique et chimie des polymères et microbiologie :

- Laboratoire de Chimie Analytique Bio-inorganique et Environnement (LCABIE).
- Equipe Environnement et Microbiologie (EEM).
- Equipe Chimie Physique (ECP).
- Equipe de Physique Chimie des Polymères (EPCP).

## 1.2. L'organigramme de l'Institut

J'ai effectué mon stage au sein du laboratoire de recherche LCABIE situé à l'UFR d'Anglet (cf partie orange de l'organigramme ci-dessous). Mme Mathilde Monperrus, mon maître de stage est l'un des 16 enseignants-chercheurs du laboratoire.



## 1.3. Le laboratoire de recherche (LCABIE)

Le **LCABIE** a été créé en 1997 par la fusion du Laboratoire de Chimie Analytique (LCA) à l'Université de Pau avec les groupes d'Olivier Donard et de Ryszard Lobinski arrivant du CNRS de Bordeaux. Le LCABIE est aujourd'hui l'une des quatre équipes de l'Institut Pluridisciplinaire de Recherche sur l'Environnement et Matériaux (UMR 5254).

Le domaine de recherche principal est le développement d'instrumentations et de méthodes analytiques pour l'analyse de spéciation (détection, identification et quantification des formes chimiques) des métaux et des métalloïdes afin de comprendre l'écodynamique des contaminants minéraux des micro-milieus jusqu'au transfert au vivant et décrire, au niveau moléculaire, les mécanismes d'essentialité et de toxicité des métaux dans le vivant. C'est donc dans ce contexte que j'ai effectué mon stage sur l'interaction entre le mercure, le sélénium et les lipides dans les tissus organiques plus précisément dans des thons de Nouvelle-Calédonie.

## 2. Contexte et présentation du projet

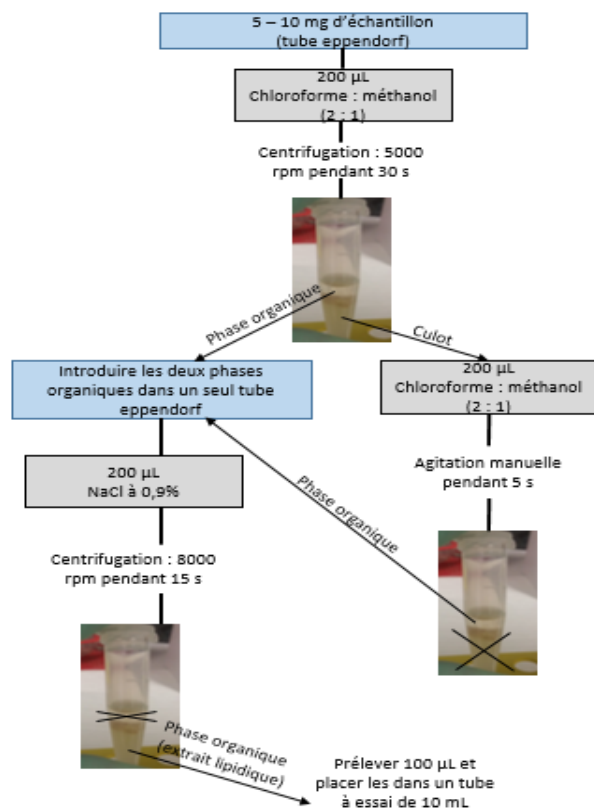
La communauté scientifique énonce la nécessité de recueillir des données de concentrations en mercure et en d'autres contaminants sur différents maillons de la chaîne trophique notamment sur les zones tropicales où très peu d'études ont été effectuées, notamment sur le Pacifique. Pourtant, de fortes concentrations ont été mesurées chez plusieurs prédateurs supérieurs de Nouvelle-Calédonie. En effet, les eaux côtières sont soumises à de grandes entrées de métaux, principalement en raison des activités d'exploitation minière intense (en particulier le nickel), mais aussi en raison de l'érosion naturelle des sols associés aux pluies tropicales, le développement urbain et le manque d'efficacité de récupération des eaux usées (Ambastian et al, 1997). Ceci génère une forte pollution des eaux côtières et commence à poser un problème sanitaire car les poissons côtiers accumulent de forte concentration de mercure et ils sont la base de la nourriture en Nouvelle-Calédonie (Chouvelon et al, 2009). D'autre part, aucune étude n'est à ce jour disponible sur les prédateurs supérieurs du Pacifique Sud que ce soit pour le mercure ou les autres contaminants métalliques.

C'est dans ce contexte que le projet VACOPA a vu le jour. Le laboratoire porteur du projet : Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR) vise à comprendre et à prédire comment les changements globaux (anthropisation, changement climatique, espèces invasives, ...) affectent, ou en retour sont affectés par, les écosystèmes marins et les cycles biogéochimiques. Anne LORRAIN, responsable du Laboratoire LEMAR à Nouméa, est coordinatrice du projet. Plusieurs coordinateurs locaux, organismes et laboratoires partenaires participent à ce projet : le Laboratoire d'Océanographie et du Climat (UMR 182-LOCEAN), le Laboratoire Insulaire du Vivant et de l'Environnement (LIVE), l'IPREM-LCABIE, etc.

Les objectifs de ce projet, sont, de tout d'abord d'acquérir une meilleure connaissance et de documenter l'accumulation et les effets du mercure et autres contaminants métalliques dans le réseau trophique marin dans le Pacifique Sud, à la fois en milieux côtier et hauturier, en mesurant à large échelle, dans la région pacifique, les concentrations en méthylmercure (MeHg) et autres contaminants métalliques. L'analyse du sélénium total, ainsi que la spéciation des molécules sélénées et la recherche de complexes séléno-mercurés vont être également entrepris afin de mieux comprendre l'interaction mercure/sélénium et le possible rôle détoxifiant de ce dernier sur le méthylmercure. Pour finir, des tests sur les variations spatiales des concentrations en contaminants métalliques, couplées à celles des isotopes stables (C et N) dans les tissus des organismes migrateurs étudiés (thons, espadons) sont réalisés, pour déterminer s'ils peuvent être utilisés comme traceurs d'habitat et de migration pour les thonidés.

Pour répondre à ces objectifs, le laboratoire IPREM-LCABIE a donc été chargé d'analyser le mercure contenu dans des échantillons de thons de deux espèces : *Thunnus albacares* (YFF) et *Thunnus obesus* (BET) pêchés au large de la Nouvelle-Calédonie pour répondre à une urgence sanitaire en Nouvelle-Calédonie due à la consommation de poissons (cf premier paragraphe du contexte scientifique). L'échantillonnage permettra de rechercher les zones de méthylation dans la grande région du Pacifique Sud-Ouest. De plus, le laboratoire doit effectuer l'analyse du sélénium total dans ces échantillons de thons et recherche des complexes séléno-mercurés pour mieux comprendre l'interaction mercure/sélénium et déterminer le rôle de ce dernier sur le mercure.

**Protocole d'extraction :**



**Protocole d'analyse :**



Figure 1. Schéma du protocole pour l'extraction et l'analyse des lipides.

### 3. Matériels et méthodes

#### 3.1. Echantillonnage et préparation des échantillons

Des thons de deux espèces : *Thunnus albacares* (YFF) et *Thunnus obesus* (BET), ont été pêchés au large de la Nouvelle-Calédonie pendant la période de reproduction (début juillet). L'échantillonnage a été fait à bord du navire Yellow-Fin, au débarquement. Les tissus ci-après ont été prélevés : muscle dorsal, gonade, foie, cerveau et sang. Les échantillons ont ensuite été congelés à -20 °C, lyophilisés et broyés. Les échantillons ont été conservés au congélateur dans des piluliers à - 8 °C. Treize individus issus de cette pêche ont été utilisés pour l'analyse du mercure, du sélénium et des lipides (cf. Annexe n°1).

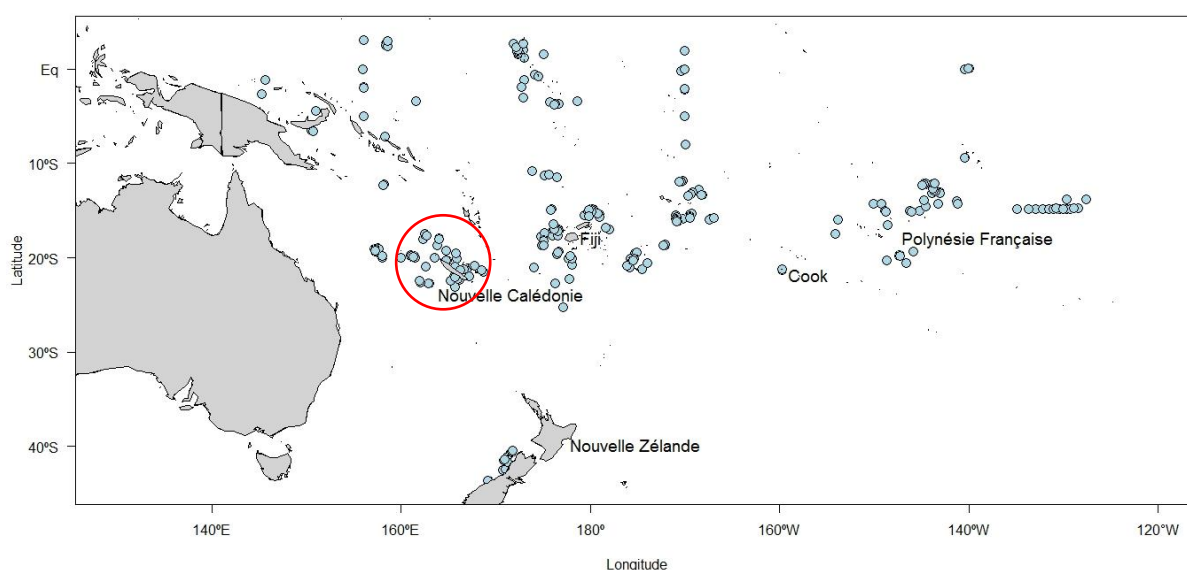


Figure 2. Carte montrant la localisation des échantillons analysés et récoltés via le Secrétariat général de la communauté du Pacifique (CPS). N = 950.

#### 3.2. Analyse des lipides

Le protocole effectué s'inspire d'une technique colorimétrique : la microcolorimétrie à sulfophosphovanilline (SPV) décrite par Lu et al, 2008.

Un mélange de chloroforme-méthanol (2 :1) et du chlorure de sodium à 0,9 % a été utilisé pour l'extraction des lipides dans les tissus des thons (cf Figure 1. Schéma du protocole pour l'extraction et l'analyse des lipides). Le réactif sulfophosphovanilline (SPV) va permettre de colorer l'extrait lipidique des thons. L'absorbance des échantillons traités a été déterminée par spectrophotométrie.

La quantité de lipides est déduite de la relation absorbance/quantité de lipides obtenus d'après l'analyse de la gamme étalon réalisée à partir d'une solution mère d'huile d'olive extra vierge à 10 mg.L<sup>-1</sup>. Le protocole d'analyse (cf **Figure 1. Schéma du protocole pour l'extraction et l'analyse des lipides**) est appliqué sur la gamme étalon, seul le volume d'échantillon à analyser change. La concentration de la gamme étalon varie de 0 à 0,05 mg.L<sup>-1</sup>.

### 3.3. Analyse du sélénium

#### 3.3.1. Protocole d'analyse

##### *(a) Préparation des échantillons*

Des recherches dans la littérature ont été effectuées pour déterminer le protocole de minéralisation et établir les conditions optimales a utilisé lors de cette étude (cf Annexe n°2).

Dans un premier temps le protocole était le suivant :

1. Pesée de 0,2 g de tissus dans un tube Digipret de 50 mL
2. Ajout de 2 mL d' $\text{HNO}_3$
3. Ajout de 1 mL d' $\text{H}_2\text{O}_2$
4. Bouchage non-hermétique
5. Chauffe au four à micro-ondes à 85 °C pendant 10 minutes
6. Conservation au réfrigérateur

Après réalisation, il s'est avéré que l'utilisation du four à micro-ondes n'est pas nécessaire : la dégradation des tissus avec les réactifs est extrêmement forte et génère beaucoup de pression en peu de temps, ce qui met en sécurité le four à micro-onde qui ne peut plus réguler la pression.

Le protocole a été refait sans temps de chauffe et en 24 h : la dégradation totale des tissus s'est opérée. Au final, l'utilisation du four à micro-ondes n'est pas nécessaire pour l'extraction du sélénium dans des tissus biologiques.

Avant l'analyse, les échantillons doivent être dilués avec de l'eau MQ (ajuster jusqu'au trait de jauge dans les tubes digipret) car l'ICP-MS ne peut tolérer que 3 à 5 % d'acidité.

Après dilution, les échantillons doivent être filtrés car il peut y avoir des bouts de tissus biologiques qui peuvent boucher les colonnes de l'ICP-MS.

##### *(b) Gammes étalons*

Les échantillons ont dû être dilués car ils étaient trop concentrés. De ce fait, les gammes étalons ont été diluées avec le même facteur de dilution que les échantillons (dilution au 10<sup>ème</sup> et au 50<sup>ème</sup>). Les gammes étalons ont été réalisées à partir des blancs (Réactifs sans les tissus biologiques) et d'un standard de sélénium à 10 ppm et 100 ppb selon le choix de la concentration des gammes.

##### *(c) Analyse à l'ICP-MS*

La spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif à cellule de collision, ou ICP-MS, est une technique instrumentale d'analyse reposant sur la séparation, l'identification et la quantification des éléments constitutifs d'un échantillon en fonction de leur masse.

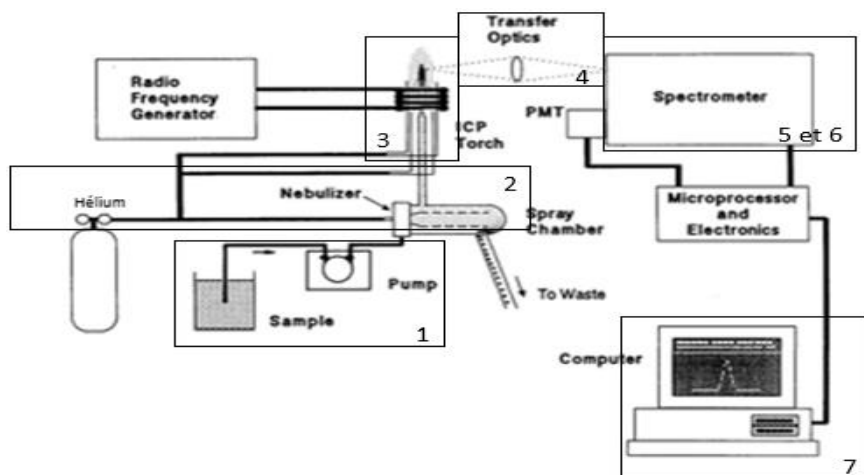


Figure 3. Schéma d'un ICP-MS<sup>1</sup>

#### Fonctionnement :

1. L'échantillon est introduit dans la chambre de vaporisation à l'aide d'une pompe péristaltique.
2. Le nébuliseur transforme l'échantillon en un aérosol liquide composé de microgouttelettes à l'aide d'un gaz de collision : ici l'hélium.
3. L'aérosol est ensuite envoyé dans une torche à plasma qui se trouve à très haute température, ce qui va permettre de vaporiser, dissocier, atomiser et ioniser la plupart des éléments de l'aérosol.
4. Un système de vide différentiel accélère les ions de la torche à plasma vers un ensemble de lentilles électrostatiques qui extrait les ions chargés positivement et les transporte vers un filtre de masse quadripolaire. Cet ensemble de lentilles est aussi appelé lentille ionique. Ce filtre de masse transmet seulement les ions présentant un rapport masse sur charge particulier, déterminé en fonction de la fréquence appliquée au quadripôle.
5. Les ions sélectionnés sont ensuite séparés en fonction de leur charge et de leur masse dans le spectromètre. Seuls les ions ayant le rapport  $m/z$  (masse/charge) désiré seront transmis au détecteur.
6. Les ions vont heurter le détecteur ce qui va générer un signal qui se traduit en nombre de coups.
7. Pour un isotope donné, le nombre d'ions mesuré permet de calculer directement la concentration de l'élément analysé. Les nombres de coups sont convertis en concentrations grâce à une gamme étalon (cf (b)).

**Pour cette analyse l'isotope 80 permet de quantifier le plus grand nombre d'ions mais il interfère avec l'hélium ce qui peut générer une grande erreur. Le choix s'est porté sur les isotopes 78 et 77 car ils interfèrent peu avec l'hélium.**

#### 3.3.2. Validation de la méthode

Pour l'extraction et le dosage du sélénium total deux matériaux de référence (CRM) ont été utilisés pour valider la méthode appliquée. Ces deux CRM ont été choisis car ils sont certifiés pour le sélénium total. Ce sont aussi des matrices qui se rapprochent le plus des échantillons de thons.

<sup>1</sup> Référence image : [http://www.pa.ingv.it/laboratori/tracce/jpg/schema\\_icp.jpg](http://www.pa.ingv.it/laboratori/tracce/jpg/schema_icp.jpg)

Tableau 1. Tableau des performances analytiques

| CRM                           | Valeurs certifiées<br>(mg.kg <sup>-1</sup> ) | Valeurs mesurées<br>(mg.kg <sup>-1</sup> ) | Rendements (%) |
|-------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------|
| DOLT-4 (DogFish Live)         | 8,3 ± 1,3                                    | 8,29 ± 0,37                                | 99,88          |
| ERM-CE278K<br>(Mussel Tissue) | 1,62 ± 0,12                                  | 1,62 ± 0,11                                | 100            |

Les résultats de l'analyse des CRM sont donnés dans le **Tableau 1. Tableau des performances analytiques**. Ces résultats montrent que le protocole utilisé donne des concentrations en accord avec les concentrations certifiées. Les rendements sont de 100 % pour les deux CRM avec des précisions inférieures à 5 % ce qui permet de valider ce protocole pour l'analyse du sélénium total dans des tissus biologiques.

### 3.4. Analyse du mercure

L'analyse du mercure total a été effectuée ultérieurement au laboratoire LEMAR (cf.2.Contexte et présentation du projet).

#### (a) Préparation des échantillons

Le protocole de digestion est le suivant :

1. Pesée de 20 mg d'échantillon dans un tube de 15 mL
2. Ajout de 1 mL d'acide nitrique concentré
3. Chauffe dans un digesteur à 100 °C pendant deux heures
4. Refroidissement
5. Ajout de 200 µL d'eau oxygénée
6. Mise au froid pendant au moins une heure
7. Chauffe pendant 2 heures dans un digesteur à 100 °C
8. Refroidissement
9. Homogénéisation et analyse immédiate

#### (b) Analyse au spectromètre de fluorescence atomique

La concentration de mercure total dans les échantillons a été dosée par un spectromètre de fluorescence atomique couplé à un système de génération de vapeur froide. Dans l'échantillon digéré, le mercure est sous forme ionique Hg<sup>2+</sup>. Celui-ci est réduit en présence de chlorure stanneux par le déplacement de deux électrons :  $\text{Hg}^{2+} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Hg}^0$ . Le mercure ionique se transforme en mercure atomique Hg<sup>0</sup> volatil à température ambiante. Le mercure entraîné par un flux d'argon, passe ensuite par des dispositifs de séchage pour éliminer toutes traces d'humidité qui interféreraient sur le dosage (filtres, piège de chlorure de calcium et dispositif à membrane semi perméable sous courant d'air comprimé) jusqu'à être introduit dans l'appareil de mesure : un spectromètre de fluorescence atomique. Là, les atomes de mercure stimulés par une lampe à rayonnement UV émettent une radiation lumineuse. Un photomultiplicateur placé perpendiculairement au trajet optique traversant une cellule de quartz permet de mesurer l'intensité de la fluorescence. L'intensité de fluorescence mesurée par le détecteur est directement proportionnelle à la quantité de mercure. **La Figure 4. Schéma de la technique de Spectrométrie de Fluorescence Atomique** illustre la chaîne de mesure du mercure total.

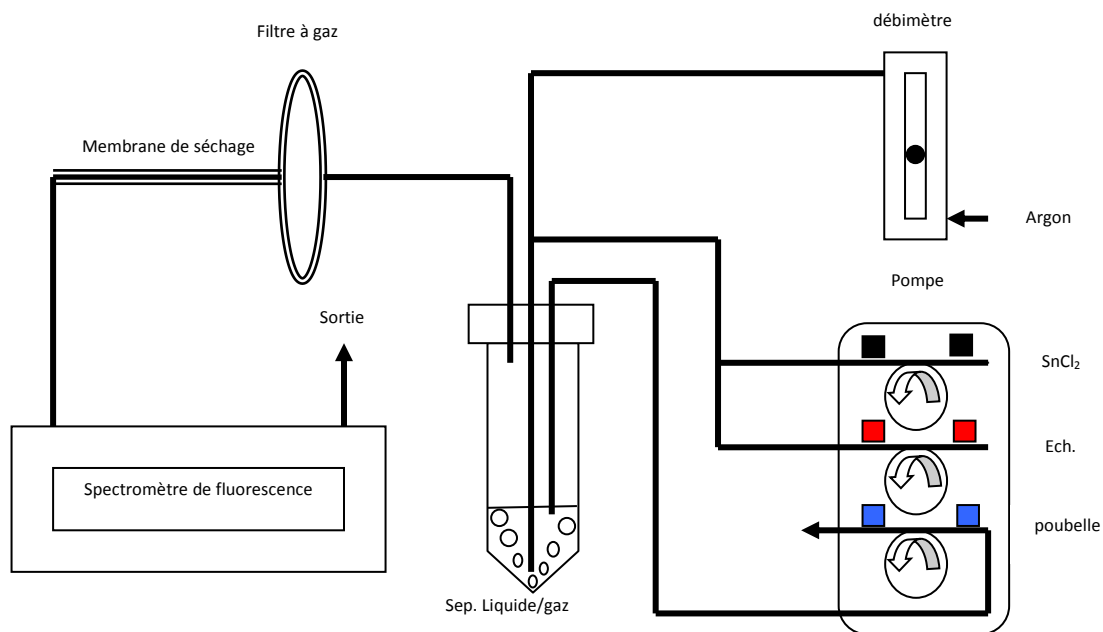


Figure 4. Schéma de la technique de Spectrométrie de Fluorescence Atomique

### 3.5. Outils statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R et R commandeur, le niveau de signification a été fixé à  $p \leq 0.05$ . Les relations de concentrations du mercure, du sélénium et des lipides entre les différents organes (muscle, foie, sang, gonade et cerveau), les deux espèces (*Thunnus albacares* (YFF) et *Thunnus obesus* (BET)) et les sexes ont été mis en évidence par l'intermédiaire de box-plots où sont représentés la médiane, les quartiles, le minimum et le maximum et d'une analyse de significativité avec un test de Wilcoxon sous l'hypothèse  $H_0$  : « p.value < 0.05 : différence significative ».

## 4. Résultats

Les résultats pour chaque individu et chaque paramètre (sexe, longueur, espèces, mercure, sélénium et lipides) sont donnés en Annexe n°1. Dans cette partie, une synthèse de ces données est faite.

### 4.1. Concentrations des différents paramètres mesurés pour l'espèce *Thunnus albacares* (YFF) et *Thunnus obesus* (BET) en fonction des organes

#### 4.1.1. Concentrations en mercure pour l'espèce *Thunnus albacares* (YFF) et *Thunnus obesus* (BET) en fonction des organes

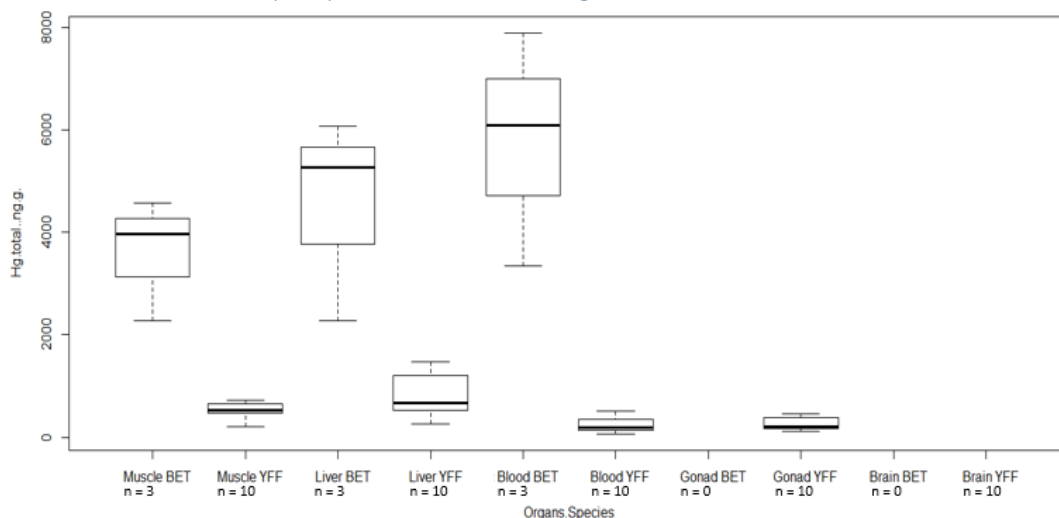


Figure 5. Box-plots de la concentration totale en mercure en fonction de l'organe et de l'espèce

Tableau 2. . P.value des Box-plots Figure 5 sous l'hypothèse  $H_0$  : "p.value < 0,05 : différence significative"

|            | Muscle BET     | Muscle YFF    | Liver BET     | Liver YFF     | Blood BET     | Blood YFF |
|------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------|
| Muscle YFF | <b>0.01469</b> |               |               |               |               |           |
| Liver BET  | <b>0.02458</b> | <b>0.0052</b> |               |               |               |           |
| Liver YFF  | <b>0.01469</b> | 1.0000        | <b>0.0469</b> |               |               |           |
| Blood BET  | <b>0.01022</b> | <b>0.0017</b> | <b>0.0102</b> | <b>0.0022</b> |               |           |
| Blood YFF  | <b>0.0052</b>  | <b>0.0469</b> | 0.1437        | 0.1469        | <b>0.0043</b> |           |
| Gonad YFF  | <b>0.01423</b> | <b>0.0469</b> | 0.1423        | 0.1469        | <b>0.0043</b> | 1.0000    |

Les concentrations en mercure total sont présentées dans la Figure 5 qui donne box-plots des concentrations pour chaque espèce et pour chaque organe. Le Tableau 2 présente les p.valeurs correspondantes. Une valeur inférieure à 0,05 permettra de considérer que la différence de concentration sera statistiquement significative. D'un point de vue général, l'espèce BET est de 4 à 6 fois plus concentrée en mercure que l'espèce YFF. L'espèce BET a une dispersion des échantillons plus grande que pour l'espèce BET. En effet, mise à part pour le foie de l'espèce YFF, les écarts entre les minimum et maximum sont 2 fois plus grands pour l'espèce BET. L'organe le plus concentré en mercure, pour l'espèce BET, est le sang avec une concentration moyenne en mercure de 6500 ng.g<sup>-1</sup> (6,5 ppm), il a l'une des plus fortes dispersions car le minimum est de 5000 ng.g<sup>-1</sup> et de 7000 ng.g<sup>-1</sup> pour le maximum. Pour l'espèce YFF, le foie est l'organe le plus concentré avec une concentration de l'ordre de 1000 ng.g<sup>-1</sup> (1 ppm). Les valeurs moyennes des box-plots varient de 4000 à 6500 ng.g<sup>-1</sup> pour l'espèce BET contre 50 à 500 ng.g<sup>-1</sup> pour l'espèce YFF. On peut voir qu'au sein de l'espèce BET, les

organes ont une concentration en mercure significativement différente. La concentration dans les organes de cette espèce décroît selon l'ordre suivant : Sang > Foie > Muscle. Pour l'espèce YFF les organes n'ont pas de différence significative. De plus, le muscle et les gonades de l'espèce YFF sont les organes ayant la plus faible concentration en mercure : de l'ordre de 500 ng.g<sup>-1</sup> (0,5 ppm) contre 6500 ng.g<sup>-1</sup> (6,5 ppm) pour le tissu le plus concentré (Sang de l'espèce BET).

#### 4.1.2. Concentrations en sélénium total pour l'espèce YFF et BET en fonction des organes

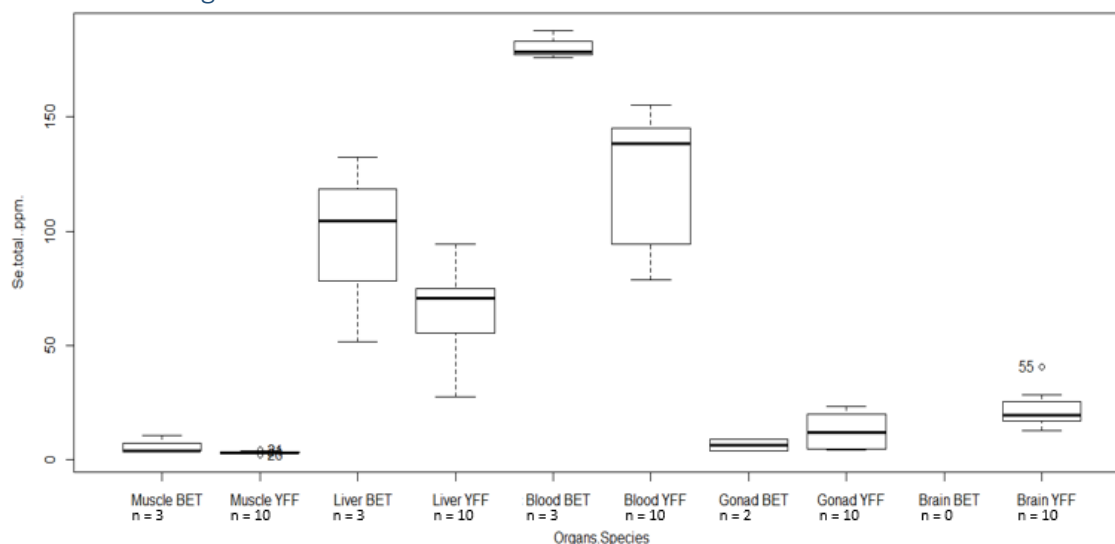


Figure 6. Box-plots de la concentration totale en sélénium en fonction de l'organe et de l'espèce (cf Annexe n°3 pour valeurs aberrantes)

Tableau 3. P.value des box-plots Figure 6 sous l'hypothèse H0 : "p.value < 0,05 : différence significative"

|            | Muscle BET      | Muscle YFF      | Liver BET      | Liver YFF      | Blood BET      | Blood YFF      | Gonad BET       | Gonad YFF       |
|------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Muscle YFF | 1.0000          |                 |                |                |                |                |                 |                 |
| Liver BET  | <b>0.0145</b>   | <b>0.0147</b>   |                |                |                |                |                 |                 |
| Liver YFF  | <b>0.0258</b>   | <b>0.0259</b>   | <b>0.0345</b>  |                |                |                |                 |                 |
| Blood BET  | <b>0.00022</b>  | <b>0.00039</b>  | <b>0.0085</b>  | <b>0.00032</b> |                |                |                 |                 |
| Blood YFF  | <b>0.0065</b>   | <b>0.0066</b>   | <b>0.0345</b>  | <b>0.00240</b> | <b>0.0345</b>  |                |                 |                 |
| Gonad YFF  | 1.0000          | 1.0000          | <b>0.00039</b> | <b>0.00156</b> | <b>0.00032</b> | <b>0.00039</b> |                 |                 |
| Gonad BET  | 1.0000          | 1.0000          | <b>0.00039</b> | <b>0.00156</b> | <b>0.00032</b> | <b>0.00039</b> | 1.0000          |                 |
| Brain YFF  | <b>0.025175</b> | <b>0.025175</b> | <b>0.00047</b> | <b>0.00187</b> | <b>0.00039</b> | <b>0.00047</b> | <b>0.025175</b> | <b>0.025175</b> |

Les concentrations en sélénium total sont présentées dans la Figure 56 qui donne les box-plots des concentrations pour chaque espèce et pour chaque organe. Le Tableau 23 présente les p.values correspondantes. Une valeur inférieure à 0,05 permettra de considérer que la différence de concentration sera statistiquement significative. On peut noter des différences de concentrations pour le sélénium entre les espèces pour le foie et le sang. L'espèce BET est environ 1,5 fois plus concentrée en sélénium pour ces deux organes. Pour les autres organes (muscle et gonade), quelle que soit l'espèce il n'y a pas de différence significative, mise à part pour le cerveau YFF qui est 5,5 fois plus concentré que les autres organes. Pour l'espèce BET, ainsi que pour l'espèce YFF, l'organe le plus concentré est le sang avec respectivement une concentration moyenne en sélénium de 190 ppm et de 75 ppm. De plus, la concentration en sélénium pour les muscles et gonades des deux espèces est faible : de l'ordre de 10 ppm. La concentration dans les organes pour l'espèce BET et YFF décroît selon l'ordre suivant : Sang > Foie > Cerveau (seulement pour l'espèce YFF) > Muscle = Gonade. Pour finir,

les foies des deux espèces ont une forte dispersion mais le sang de l'espèce YFF a la dispersion la plus importante. Son minimum est de 95 ppm et son maximum est de 145 ppm soit un écart de 50 ppm contre un écart de 30 à 1 ppm pour les autres organes quelle que soit l'espèce.

#### 4.1.3. Concentrations en lipides pour l'espèce YFF et BET en fonction des organes

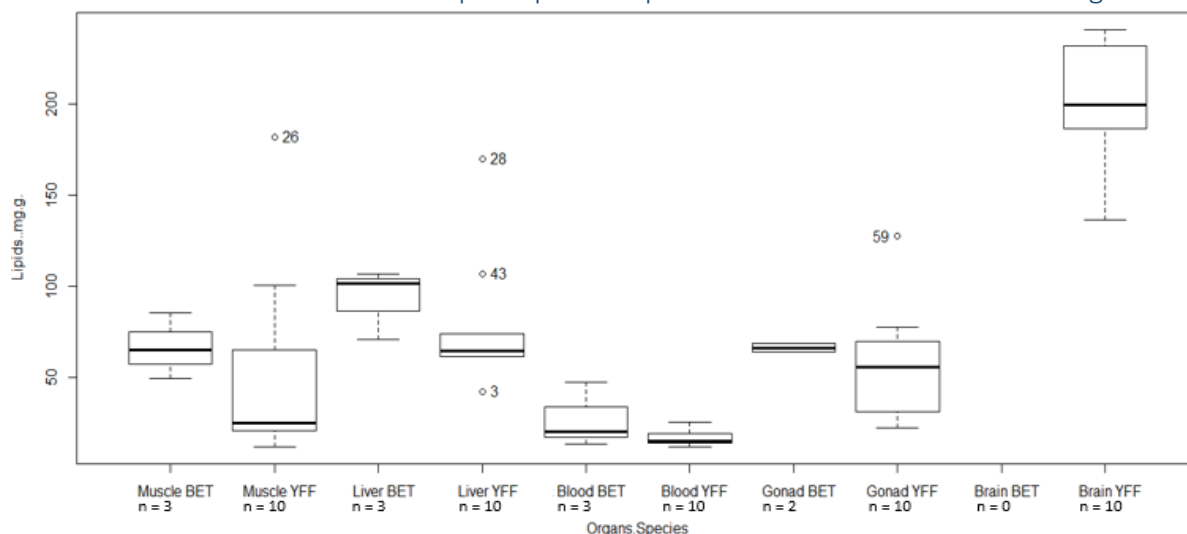


Figure 7. Box-plots de la concentration totale en lipides en fonction de l'organe et de l'espèce (cf Annexe n°3 pour valeurs aberrantes)

Tableau 4 .P.value des box-plots Figure 7 sous l'hypothèse  $H_0$  : "p.value < 0,05 : différence significative"

|            | Muscle BET     | Muscle YFF     | Liver BET      | Liver YFF      | Blood BET      | Blood YFF      | Gonad BET     | Gonad YFF     |
|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|---------------|
| Muscle YFF | <b>0.04939</b> |                |                |                |                |                |               |               |
| Liver BET  | <b>0.04939</b> | <b>0.04929</b> |                |                |                |                |               |               |
| Liver YFF  | 1.0000         | 1.0000         | <b>0.04939</b> |                |                |                |               |               |
| Blood BET  | <b>0.02517</b> | <b>0.02507</b> | <b>0.02478</b> | <b>0.02517</b> |                |                |               |               |
| Blood YFF  | <b>0.02514</b> | <b>0.02504</b> | <b>0.02475</b> | <b>0.02514</b> | <b>0.04939</b> |                |               |               |
| Gonad YFF  | 1.0000         | 1.0000         | <b>0.04939</b> | 1.0000         | <b>0.02514</b> | <b>0.02508</b> |               |               |
| Gonad BET  | 1.0000         | 1.0000         | <b>0.04939</b> | 1.0000         | <b>0.02514</b> | <b>0.02508</b> | 1.0000        |               |
| Brain YFF  | <b>0.0064</b>  | <b>0.0054</b>  | <b>0.0118</b>  | <b>0.0064</b>  | <b>0.00022</b> | <b>0.00018</b> | <b>0.0064</b> | <b>0.0064</b> |

Les concentrations en lipides sont présentées dans la Figure 7 qui donne les box-plots des concentrations pour chaque espèce et pour chaque organe. Le Tableau 4 présente les p.values correspondantes. Une valeur inférieure à 0,05 permettra de considérer que la différence de concentration sera statistiquement significative. On peut noter des différences de concentrations en lipides entre les espèces, pour le muscle, le foie et le sang. L'espèce BET est environ de 0,05 à 1 fois plus concentrée en lipides pour ces trois organes. Pour les gonades, la différence n'est pas significative. Pour l'espèce BET l'organe le plus concentré est le foie avec une concentration moyenne en lipides de 100 mg.g<sup>-1</sup> tandis que pour l'espèce YFF c'est le cerveau qui a une concentration moyenne de l'ordre de 200 mg.g<sup>-1</sup>. De plus, les tissus Muscle BET, Foie YFF, Gonade BET et YFF ont tous la même concentration en lipides de 70 mg/g. Le tissu ayant le moins de lipides est le sang de l'espèce YFF avec une concentration de 20 mg.g<sup>-1</sup>. Pour finir, les muscles, les gonades et le cerveau de l'espèce YFF ont une dispersion très importante par rapport aux autres organes : l'écart entre le minimum et le maximum est de 35 mg.g<sup>-1</sup> contre 10 à 1 mg.g<sup>-1</sup> pour les autres organes des autres espèces.

## 4.2. Conclusion

D'un point de vue général, l'espèce BET a la plus importante concentration en mercure, en sélénium et en lipides. Elle est de 6 à 0,05 fois plus concentrée selon la substance ou l'organe. Les organes sont beaucoup plus concentrés en sélénium quelle que soit l'espèce par rapport au mercure : de 10 à 190 ppm pour le sélénium contre 0,5 à 6,5 ppm pour le mercure. La concentration en mercure pour l'espèce BET et en sélénium pour l'espèce BET et YFF, dans les organes décroissent toujours dans cet ordre ci : Sang > Foie > Muscle > ou = Gonade. La concentration en mercure pour l'espèce YFF ne varie pas quel que soit l'organe. En ce qui concerne, la concentration en lipides, celle-ci est aléatoire selon l'organe et l'espèce. Pour l'espèce BET, le sang est le plus concentré en mercure et en sélénium et le foie en lipides. Pour l'espèce YFF, le foie est le plus concentré en mercure, le sang en sélénium et le cerveau en lipides.

## 4.3. Concentrations des différents paramètres mesurés pour l'espèce YFF en fonction du sexe et des organes

### 4.3.1. Concentrations en mercure pour l'espèce YFF en fonction du sexe et des organes

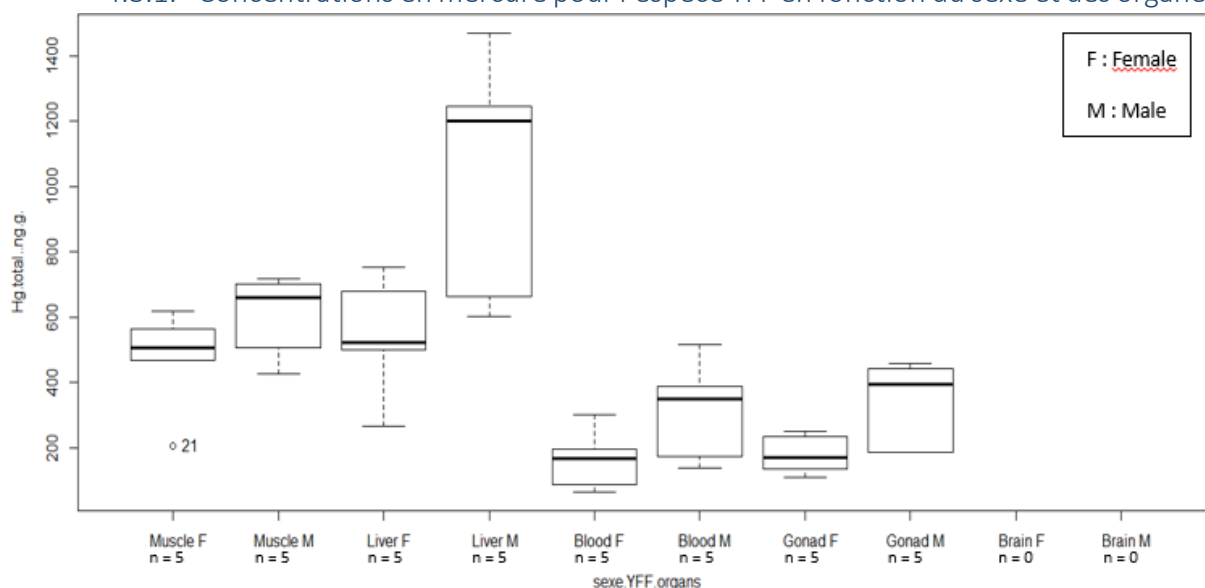


Figure 8. Box-plots de la concentration totale en mercure en fonction de l'organe et du sexe (cf Annexe n°3 pour valeurs aberrantes)

Tableau 5. P.value des box-plots Figure 8 sous l'hypothèse  $H_0$  : "p.value < 0,05 : différence significative"

|          | Muscle F     | Liver F      | Blood F      | Gonad F      |
|----------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Muscle M | <b>0.044</b> |              |              |              |
| Liver M  | <b>0.022</b> | <b>0.011</b> |              |              |
| Blood M  | <b>0.022</b> | <b>0.013</b> | <b>0.038</b> |              |
| Gonad M  | <b>0.024</b> | <b>0.011</b> | <b>0.035</b> | <b>0.038</b> |

Les concentrations en mercure sont présentées dans la Figure 8 qui donne les box-plots des concentrations pour chaque espèce et pour chaque organe. Le Tableau 5 présente les p.values correspondantes. Une valeur inférieure à 0,05 permettra de considérer que la différence de concentration sera statistiquement significative. Les mâles de l'espèce YFF ont une concentration moyenne environ 2 fois plus forte en mercure par rapport aux femelles. Les concentrations en mercure dans les organes sont significativement différentes pour les mâles et les femelles. La concentration moyenne en mercure décroît selon l'ordre suivant des organes : Foie > Muscle > Gonade > Sang. Les

muscles et foie des individus mâles et femelles sont les organes les plus concentrés : de 500 ng/g à environ 1100 ng/g. Le sang et les gonades, eux, sont les organes les moins concentrés : de 190 ng/g à 380 ng/g quel que soit le sexe. Les foies des mâles ont une forte dispersion de leur concentration en mercure : le minimum du box-plot est de 700 ng/g et le maximum est de 1250 ng/g : soit un écart de 550 ppm contre un écart de 100 ppm à 50 ppm pour les autres organes des mâles et des femelles.

#### 4.3.2. Concentrations en sélénium pour l'espèce YFF en fonction du sexe et des organes

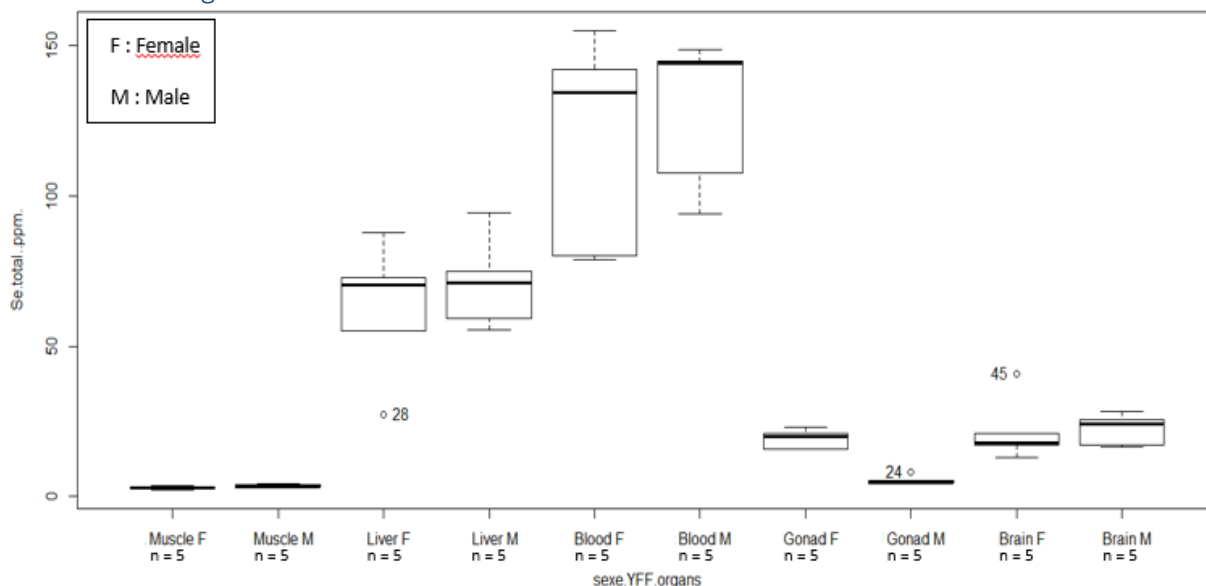


Figure 9. Box-plots de la concentration totale en sélénium en fonction de l'organe et de l'espèce (cf Annexe n°3 pour valeurs aberrantes)

Tableau 6. P.value des box-plots Figure 9 sous l'hypothèse  $H_0$  : "p.value < 0,05 : différence significative"

|          | Muscle F      | Liver F       | Blood F        | Gonad F      | Brain F |
|----------|---------------|---------------|----------------|--------------|---------|
| Muscle M | 1.00          |               |                |              |         |
| Liver M  | <b>0.036</b>  | 1.00          |                |              |         |
| Blood M  | <b>0.0071</b> | <b>0.0071</b> | 1.00           |              |         |
| Gonad M  | 1.00          | <b>0.0036</b> | <b>0.00068</b> | <b>0.049</b> |         |
| Brain M  | <b>0.049</b>  | <b>0.0071</b> | <b>0.00064</b> | 1.00         | 1.00    |

Les concentrations en sélénium sont présentées dans la Figure 9 qui donne les box-plots des concentrations pour chaque espèce et pour chaque organe. Le Tableau 6 présente les p.values correspondantes. Une valeur inférieure à 0,05 permettra de considérer que la différence de concentration sera statistiquement significative. Les femelles de l'espèce YFF ont une concentration environ 4 fois plus forte en sélénium par rapport aux mâles pour les gonades. Pour les autres organes, leur concentration n'est pas significativement différente. Les gonades mâles ont la même concentration en lipides que le muscle des mâles et femelles contrairement aux femelles qui ont leurs gonades à la même concentration que le cerveau. Pour l'ensemble des individus, la concentration en sélénium décroît selon l'ordre suivant des organes : Sang > Foie > Cerveau et Gonade femelle > Muscle et Gonade mâle. Les concentrations en sélénium varient de 5 ppm à 125 ppm selon l'organe. Le sang des femelles a une dispersion de concentration en sélénium beaucoup plus importante que pour les autres organes des deux sexes. En effet, le minimum du box-plot de 75 ppm et le maximum est de 140 ppm : soit un écart de 65 ppm contre un écart de 40 à 5 ppm pour les autres organes.

#### 4.3.3. Concentrations en lipides pour l'espèce YFF en fonction du sexe et des organes

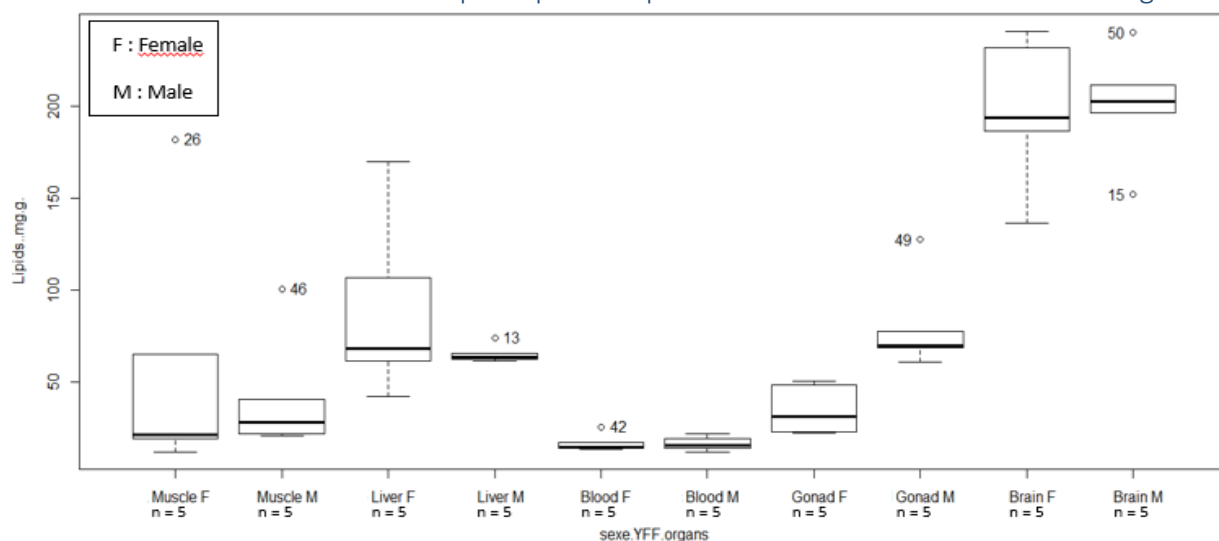


Figure 10. Box-plots de la concentration totale en lipides en fonction de l'organe et de l'espèce (cf Annexe n°3 pour valeurs aberrantes)

Tableau 7. P.value des box-plots Figure 10 sous l'hypothèse H0 : "p.value < 0,05 : différence significative"

|          | Muscle F       | Liver F       | Blood F        | Gonad F        | Brain F |
|----------|----------------|---------------|----------------|----------------|---------|
| Muscle M | 1.00           |               |                |                |         |
| Liver M  | <b>0.036</b>   | 1.00          |                |                |         |
| Blood M  | <b>0.049</b>   | <b>0.022</b>  | 1.00           |                |         |
| Gonad M  | <b>0.032</b>   | 0.89          | <b>0.043</b>   | <b>0.040</b>   |         |
| Brain M  | <b>0.00054</b> | <b>0.0077</b> | <b>0.00022</b> | <b>0.00065</b> | 1.00    |

Les concentrations en lipides sont présentées dans la Figure 10 qui donne box-plots des concentrations pour chaque espèce et pour chaque organe. Le Tableau 7 présente les p.values correspondantes. Une valeur inférieure à 0,05 permettra de considérer que la différence de concentration sera statistiquement significative. D'après les box-plots et les p.values les mâles de l'espèce YFF ont une concentration environ 2,5 fois plus forte en lipides par rapport aux femelles pour les gonades. Pour les autres organes, leur concentration n'est pas significativement différente. Les gonades mâles sont à la même concentration en lipides que le foie des mâles et femelles contrairement aux femelles qui ont leurs gonades à la même concentration que le muscle. Pour l'ensemble des individus, la concentration en lipides décroît selon l'ordre suivant des organes : Cerveau > Foie et Gonade mâle > Muscle et Gonade femelle > Sang. Les concentrations en lipides vont de 20 mg.g<sup>-1</sup> à 200 mg.g<sup>-1</sup> selon l'organe. Pour finir, les muscles, les foies et les cerveaux des femelles ont une dispersion de leurs concentrations plus importante que chez les mâles. En effet, l'écart entre les minima et les maxima des box-plot est de 45 mg.g<sup>-1</sup> contre 15 à 2 mg.g<sup>-1</sup>.

#### 4.4. Conclusion

Les mâles ont une concentration deux fois plus forte en mercure par rapport aux femelles quel que soit l'organe. Cela n'est pas le cas pour le sélénium et les lipides où seule leur concentration est significativement différente pour les gonades. De plus, les concentrations en sélénium sont toujours plus fortes par rapport à celles en mercure : de 5 à 125 ppm contre 0,19 à 1,1 ppm. Les concentrations en mercure, sélénium et lipides dans les organes ne décroissent pas de la même façon. Malgré cela, le foie est souvent, soit le premier ou le deuxième organe le plus concentré. Les gonades sont peu concentrées quelle que soit la substance. Le sang, quant à lui, est le moins concentré seulement pour le mercure et les lipides.

#### 4.5. Relations entre les différents paramètres mesurés

##### 4.5.1. Relations entre les concentrations en mercure et en sélénium

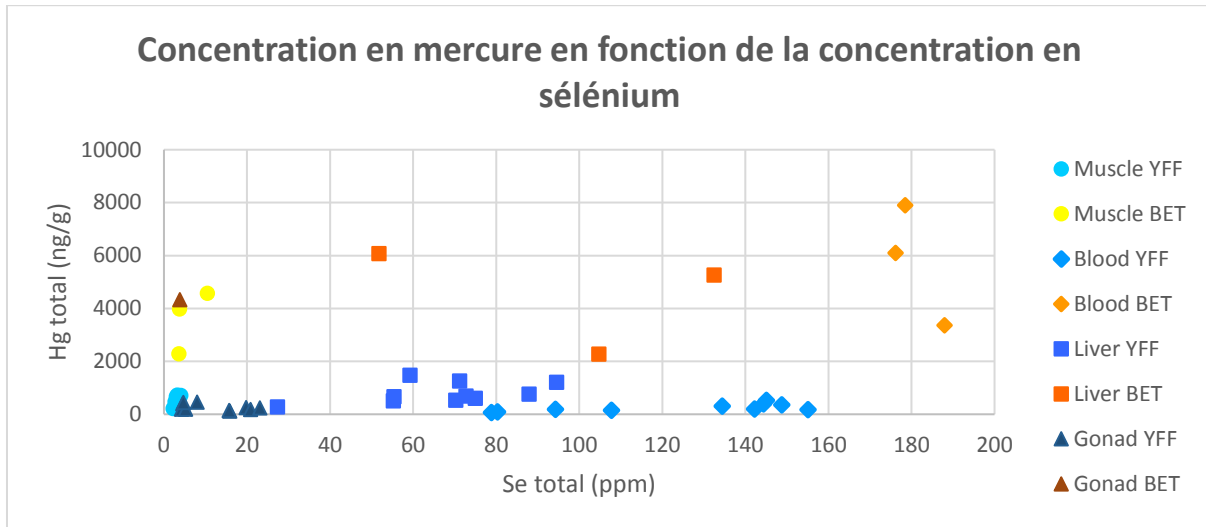


Figure 11. Relation entre les concentrations en mercure et en sélénium

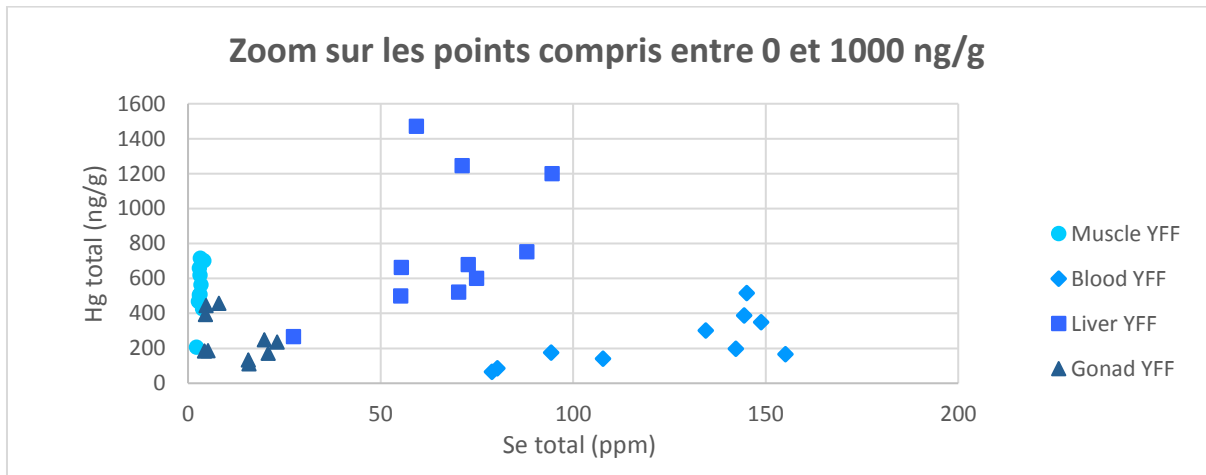


Figure 12. Zoom sur les points de 0 à 1000 ng/g en mercure

Les relations entre les concentrations en mercure et en sélénium sont représentées dans la Figure 11 et la Figure 12. D'un point de vue général, on peut voir que l'espèce BET est beaucoup plus concentrée pour tous les organes en mercure. Les muscles BET et YFF, sont fortement corrélés avec le mercure ainsi que le foie de l'espèce BET qui est corrélé mais négativement. Le sang de l'espèce YFF est corrélé avec le sélénium. On peut voir que pour le foie et les gonades des individus sont fortement expliqués par les variables sélénium et mercure. Les gonades de l'espèce BET sont corrélées avec le mercure mais on ne peut pas clairement conclure sur cette relation car il n'y a qu'un seul individu.

#### 4.5.2. Relations entre les concentrations en mercure et en lipides

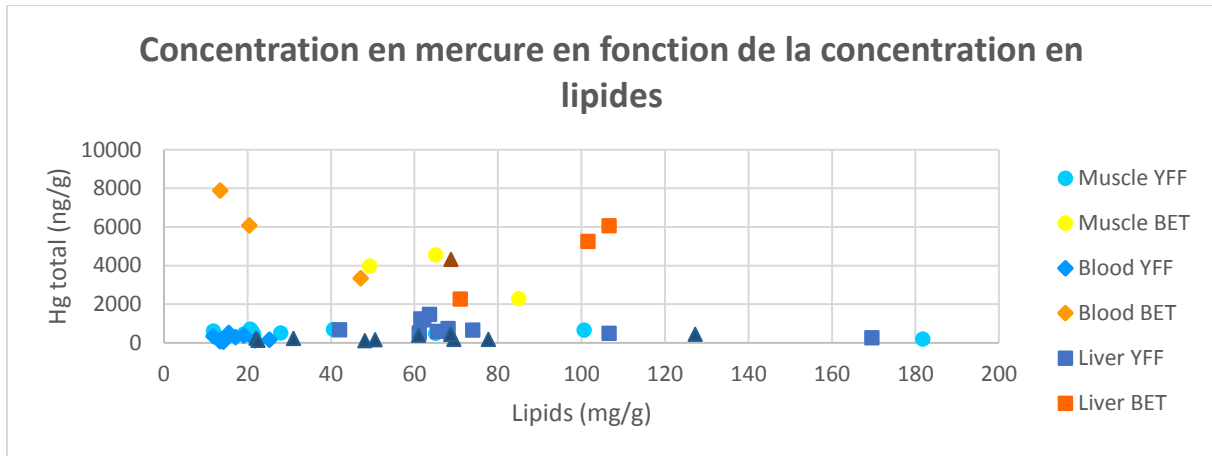


Figure 13. Relations entre le mercure et les lipides

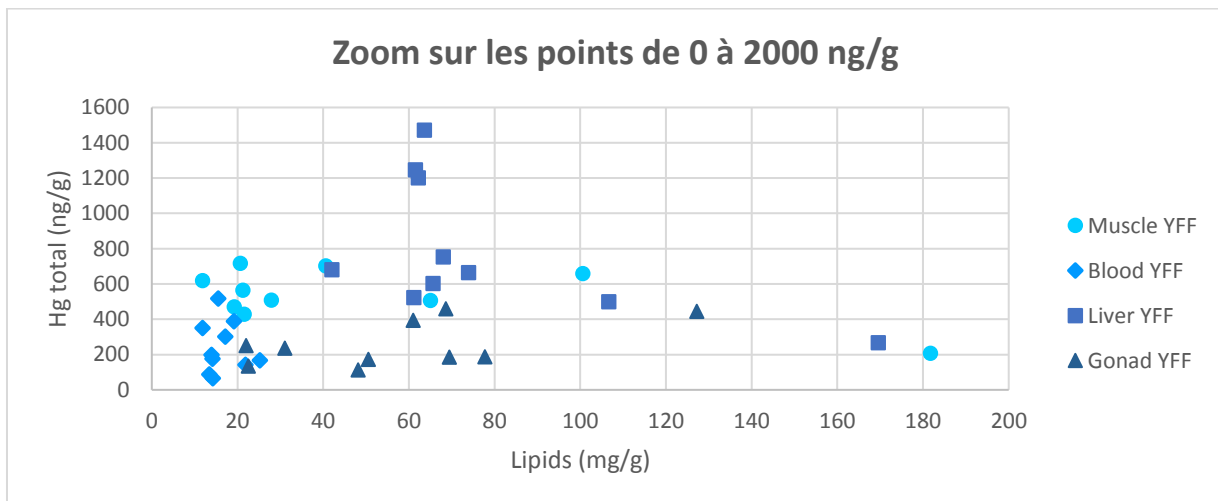


Figure 14. Zoom sur les points de 0 à 2000 ng/g en mercure

Les relations entre les concentrations en mercure et en lipides sont représentées dans la Figure 13 et la Figure 14. D'un point de vue général, on peut voir que l'espèce BET est beaucoup plus concentrée pour tous les organes en mercure. On peut voir que pour le foie, les gonades de l'espèce BET et pour le sang, les gonades de l'espèce YFF sont fortement expliquées par les variables mercure et Lipides. Le sang de l'espèce BET est corrélé négativement avec le mercure. Pour les muscles de l'espèce YFF, ils sont regroupés : ce qui signifie qu'il n'y a pas de variations de concentration des lipides et de mercure pour cet organe. Pour les autres organes (sang de l'espèce BET et foie de l'espèce YFF) les points ne montrent pas de tendance entre les deux axes.

#### 4.5.3. Relations entre la concentration en mercure et la longueur des thons

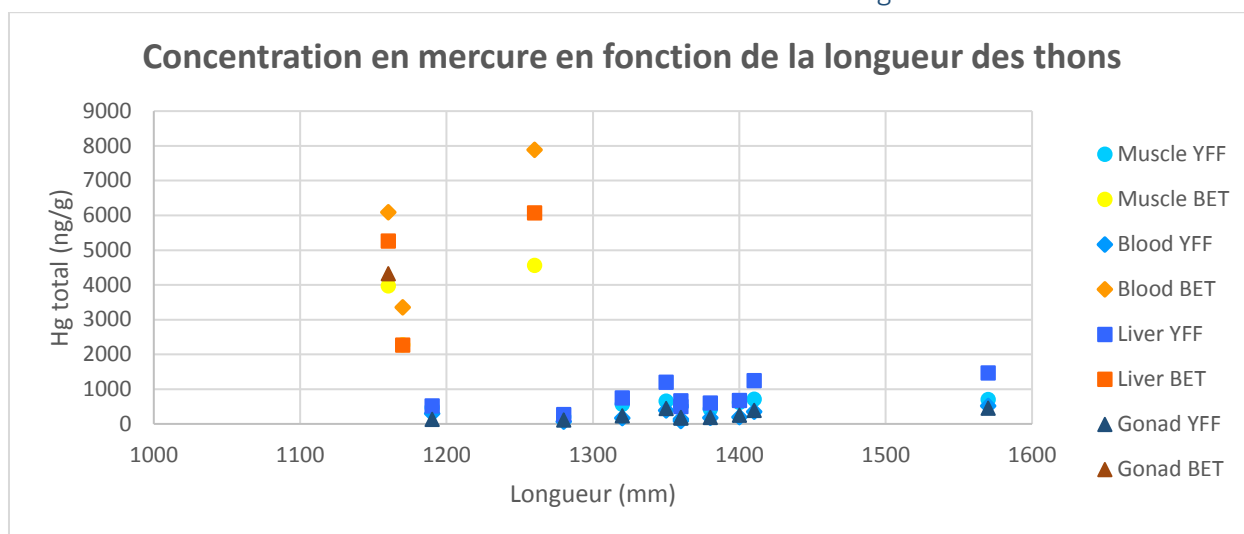


Figure 15. Relations entre le mercure et la longueur des thons

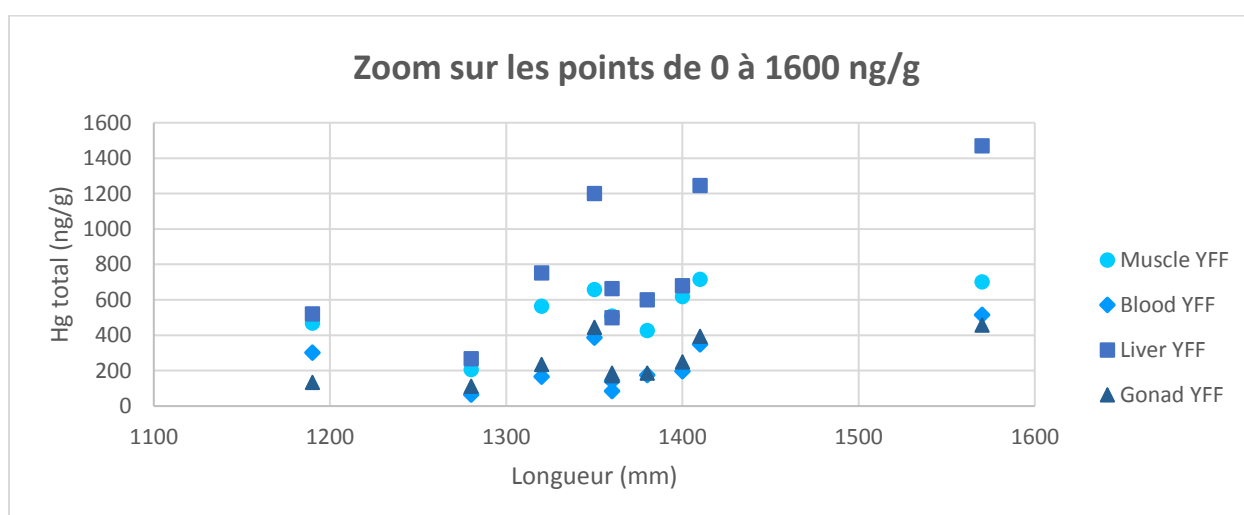


Figure 16. Zoom sur les points de 0 à 1600 ng/g en mercure

Les relations entre les concentrations en mercure et la longueur des thons sont représentées dans la Figure 15 et la Figure 16. D'un point de vue général, on peut voir que l'espèce BET est beaucoup plus concentrée pour tous les organes en mercure. Pour cette espèce aucune relation n'est mise en évidence entre ses organes et les variables mercure et longueur. Au contraire, pour tous les organes de l'espèce YFF les variables mercure et longueur sont fortement corrélées avec ceux-ci.

#### 4.5.4. Relations entre les concentrations en sélénium et en lipides

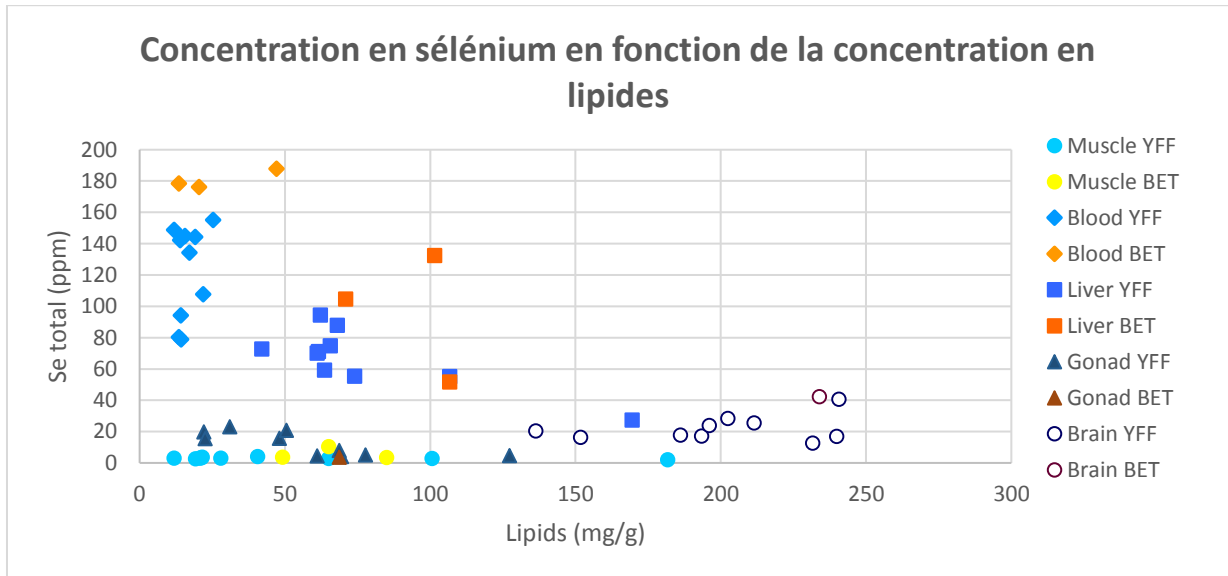


Figure 17. Relations entre le sélénium et les lipides

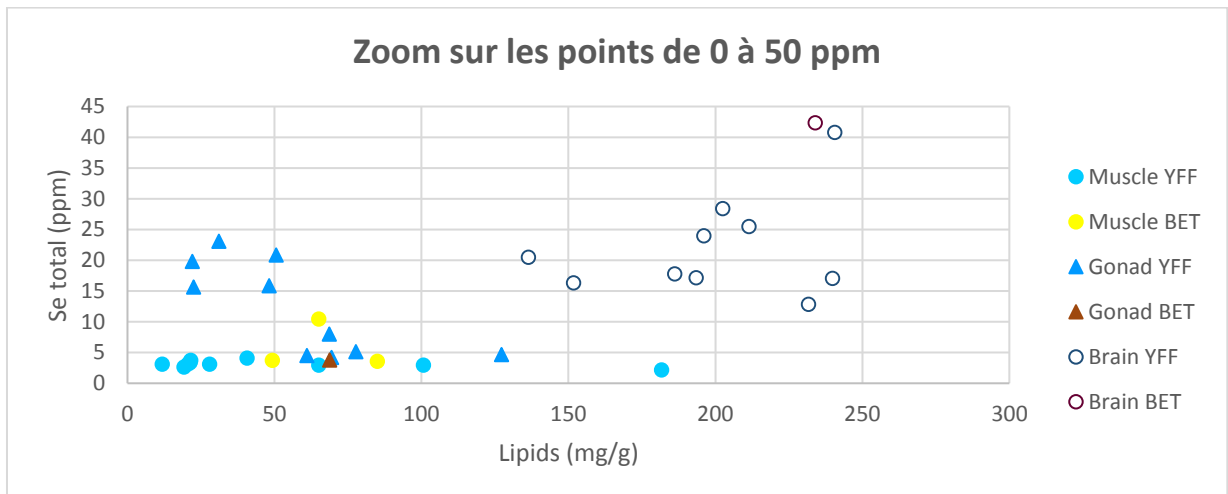


Figure 18. Zoom sur les points de 0 à 50 ppm en sélénium

Les relations entre les concentrations en sélénium et en lipides sont représentées dans la Figure 17 et Figure 18. D'un point de vue général, on peut voir que l'espèce BET est beaucoup plus concentrée pour tous les organes en sélénium. Pour cette espèce, aucune relation n'est mise en évidence entre ses organes et les variables sélénium et lipides. Pour l'espèce YFF, le sang est fortement corrélé avec le sélénium et le muscle avec les lipides. Pour le foie et le cerveau YFF, les variables sélénium et lipides sont fortement corrélées avec ceux-ci. Pour les autres points, il n'y a pas de relations significatives.

#### 4.5.5. Relations entre la concentration en sélénium et la longueur des thons

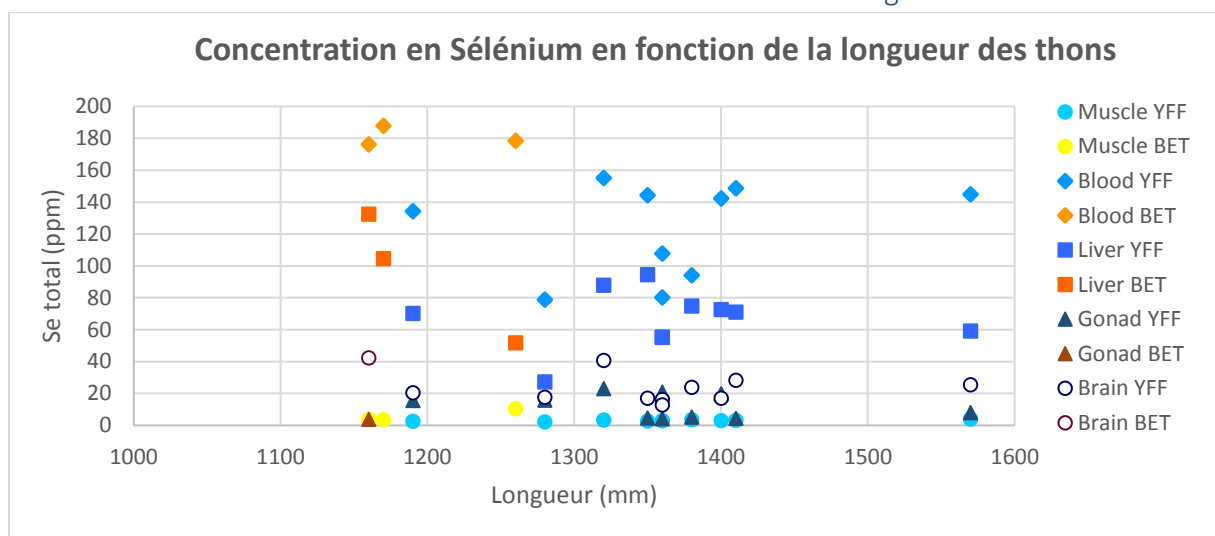


Figure 19. Relations entre le sélénium et la longueur

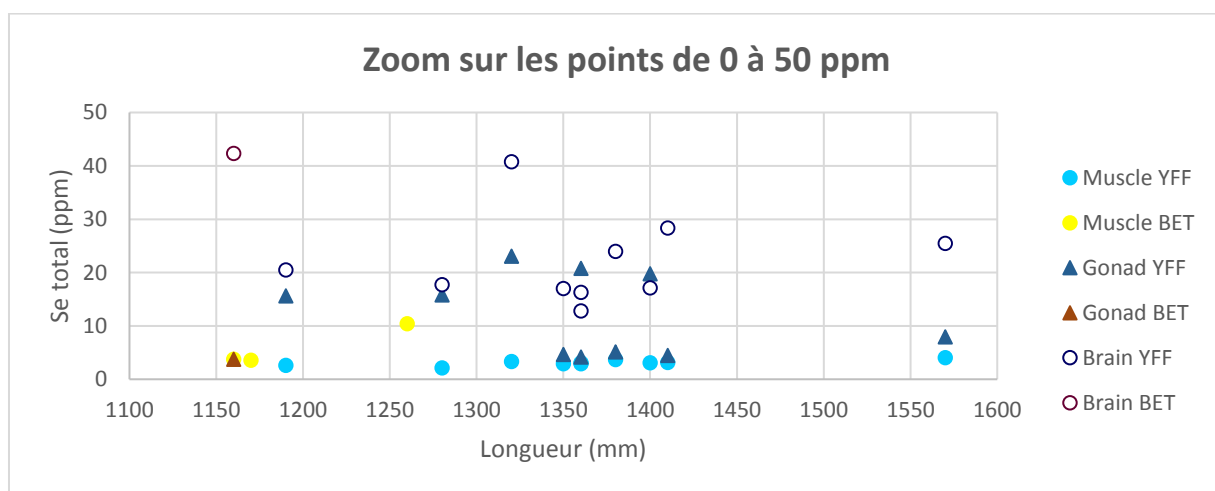


Figure 20. Zoom sur les points de 0 à 50 ppm en sélénium

Les relations entre les concentrations en sélénium et la longueur des thons sont représentées dans la Figure 17 et la Figure 18. D'un point de vue général, le sang des deux espèces est le plus concentré en sélénium. Dans l'espèce BET, le muscle, le foie et le sang sont tous expliqués par les variables sélénium et longueur. Les muscles YFF sont fortement corrélés avec la variable longueur. Pour les autres organes, il n'y a pas de relations significatives entre les deux paramètres.

#### 4.5.6. Relations entre la concentration en lipides et la longueur des thons

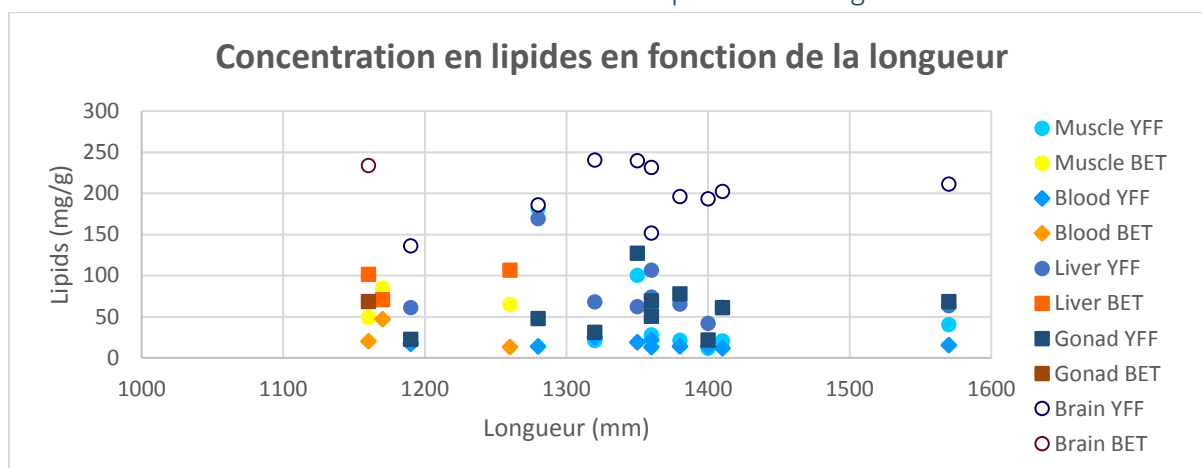


Figure 21. Relations entre les lipides et la longueur

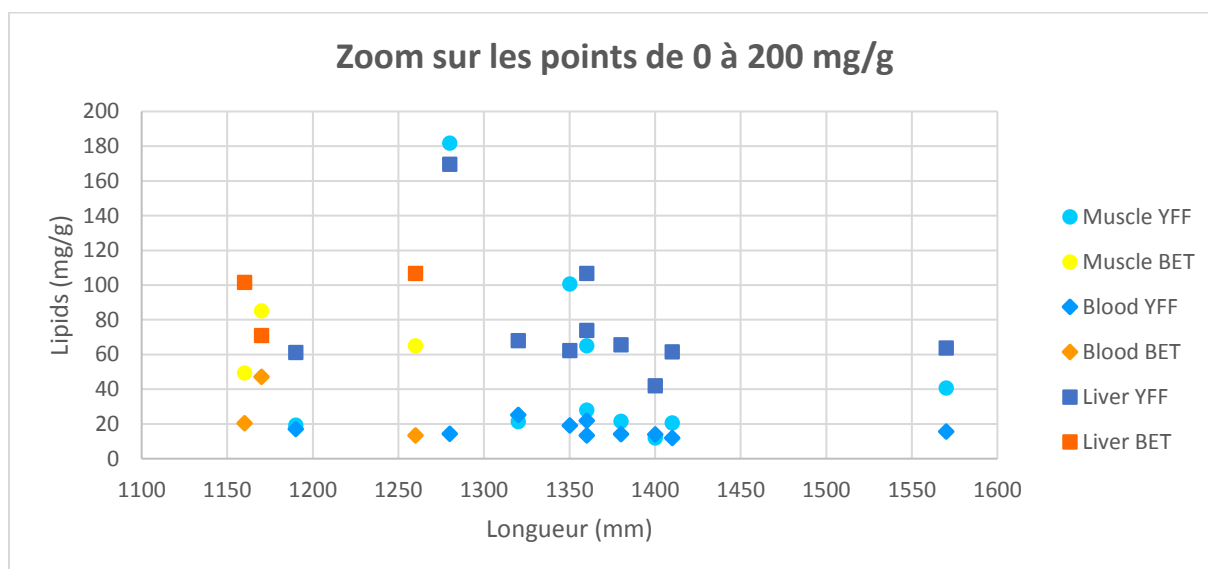


Figure 22. Zoom sur les points de 0 à 200 mg/g en lipides

Les relations entre les concentrations en sélénium et la longueur des thons sont représentées dans la Figure 17 et la Figure 18. D'un point de vue général, les cerveaux de l'espèce YFF sont ceux les plus concentrés en lipides. Les muscles et les foies de l'espèce YFF sont corrélés négativement avec les variables lipides et longueur. Le sang des individus de l'espèce YFF est fortement corrélé avec la longueur. Pour l'espèce BET il n'y a aucune relation mise en évidence entre ses organes et les variables lipides et longueur.

#### 4.6. Conclusion

D'un point de vue général, l'espèce BET est la plus concentrée pour le mercure, le sélénium et les lipides. Le manque de données sur les concentrations pour l'espèce BET ne permet pas de conclure de façon concrète sur des relations sur certains organes de cette espèce avec les différents paramètres mesurés. Les gonades pour les deux espèces sont fortement corrélées avec les variables mercure et sélénium. De plus, pour la plupart des organes, ceux-ci sont fortement corrélés avec les variables mercure et lipides, mercure et longueur ainsi que sélénium et longueur. Les relations entre sélénium et mercure et lipides et longueur en fonction des organes n'ont pas été montrées dans ces résultats.

## 5. Discussion

L'un des objectifs de cette thématique était de déterminer s'il existait des différences ou des points communs entre les thons de l'espèce *Thunnus albacares* (YFF) et de l'espèce *Thunnus obesus* (BET). D'un point de vue général, l'espèce BET est beaucoup plus concentrée en mercure, sélénium et lipides. Ceci valide donc l'hypothèse que lorsqu'un poisson est plus gras, il accumule beaucoup plus le mercure, et, de ce fait, le sélénium. De plus, les individus de l'espèce BET ont une longueur plus importante que ceux de l'espèce YFF, la relation entre la longueur et le mercure ainsi qu'avec le sélénium a clairement été mise en évidence pour la plupart des organes. Le mercure est donc plus accumulable quand les poissons sont de grande taille (Burger et al, 2005). D'après les résultats, la relation entre les concentrations en mercure et en sélénium a été mise en évidence dans tous les organes, ce qui montre bien qu'il existe un lien entre les deux paramètres. De plus, le sélénium est toujours beaucoup plus concentré que le mercure, cela peut être expliqué par le fait que le mercure séquestre le sélénium et non pas l'inverse, c'est cet excès de sélénium qui contrecarre les effets néfastes du mercure.

Des recherches bibliographiques (cf Annexe n°4) ont été effectuées pour savoir si les concentrations en mercure et en sélénium trouvées dans les thons, étaient du même ordre de grandeur dans la littérature. Les valeurs retrouvées dans les articles scientifiques sont plus petites que celles trouvées pendant les analyses mais cela est expliqué par le fait que les analyses ont été seulement réalisées sur des petits poissons de moins de 50 cm. Du point de vue des organes, plusieurs points ont été mis en évidence. Le foie est généralement très concentré, quelle que soit l'espèce en mercure et en sélénium. Ceci est expliqué par le fait que le foie joue un rôle majeur dans le stockage et la désintoxication de nombreux éléments et donc du mercure (Chouvelon et al, 2009). Le foie est également très fortement concentré en lipides, comme vu plus haut il y a une forte relation entre la concentration en mercure et en lipides. Par conséquent, comme énoncé dans le premier paragraphe, plus il y a de lipides (graisses) plus le mercure est accumulé. On peut voir que pour cet organe cela est vérifié. De plus, le sang est l'un des organes les plus concentrés en sélénium et en mercure chez les deux espèces, ceci peut être expliqué par la capacité du sang à se charger en mercure et le sélénium empêche celui-ci de pénétrer dans les membranes. Comme la relation entre le sélénium et le mercure a été mise en évidence, la forte concentration en sélénium peut être expliquée par ceci car un excès le sélénium séquestre le mercure (Burger et al, 2013).

Pour les relations entre les organes des mâles et femelles, d'après les résultats il n'y a pas de relations significativement montrées dans les résultats. Cela peut être expliqué par le manque d'homogénéité dans les échantillons : les poissons sont de tailles différentes et il n'y a pas d'informations sur leur poids. Par conséquent, le rapport poids/taille ne peut pas être effectué pour éliminer cette source d'incertitude. Pour finir, les gonades pour les mâles est du sperme et pour les femelles des œufs ; ces deux tissus ne sont donc pas comparables car on ne part pas de la même entité.

## Conclusion générale

Lors de cette étude, plusieurs hypothèses ont été validées. Les deux espèces de thons : *Thunnus albacares* (YFF) et *Thunnus obesus* (BET) présentent effectivement des différences de concentration en mercure, sélénium et lipides. C'est dans l'espèce BET, plus grasse que l'espèce YFF que les concentrations plus fortes, en mercure et sélénium ont été retrouvées. Cela prouve que le mercure est fortement hypophile et qu'il a tendance à davantage s'accumuler dans des poissons gras. Une forte corrélation entre la concentration en mercure et la longueur des thons a été mise en évidence : plus un poisson est long, plus il va stocker de graisses et par conséquent plus il va accumuler le mercure. De plus, cette relation mercure/longueur, montre que plus un poisson est long plus celui-ci est avancé en âge, ce qui suggère que l'âge peut influencer l'accumulation du mercure. Cette hypothèse a déjà été émise par Burger et al, 2005. L'excès de sélénium dans les organes et la présence d'une corrélation entre le sélénium et le mercure dans tous les organes, montre bien la relation entre sélénium/mercure, ce qui suggère que ces échantillons sont intéressants pour la spéciation du mercure et du sélénium afin de déterminer plus en détails les liens entre ces deux complexes chimiques. De plus, plusieurs organes se sont révélés être plus concentrés en mercure et sélénium notamment le foie et le sang où se formerait un complexe mercure-sélénium. La recherche d'oligo-protéine sélénite ou de complexe séléno-mercure pour comprendre la relation entre ces deux éléments est donc intéressante à exploiter dans ces organes. Pour finir, aucune différence entre les sexes n'a été mise en évidence, ce qui suggère que les différences de concentrations sont influencées seulement par l'espèce et la longueur des individus. Les analyses peuvent être effectuées sur une plus grande quantité d'échantillons pour répondre à l'objectif premier qui est de comprendre l'accumulation et les effets du mercure ainsi que d'autres contaminants métalliques dans le réseau trophique marin dans le Pacifique Sud.

## Références

- Adams, D.H., Sonne, C., Basu, N., Dietz, R., Nam, D-H., Leifsson, P.S., Jensen, A.S., 2010. Mercury contamination in spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus*: An assessment of liver, kidney, blood, and nervous system health. *Science of the Total Environment* 408, 5808–5816.
- Ambastian, P., Fernex, F., Bernet, M., Parron, C., Lecolle, J., 1997. High metal inputs to closed seas: the New Caledonia lagoon. *Journal of Geochemistry Exploration* 59, 59-74.
- Andre, J., Boudou, A., Ribeyre, F., Bernhard, M., 1990. Comparative study of mercury accumulation in Dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from French Atlantic and Mediterranean coasts. *The Science of the Total Environment* 104,191-209.
- Andre, J., Boudou, A., Ribeyre, F., Bernhard, M., 1990. Mercury Contamination Levels and Distribution in Tissues and Organs of Delphinids (*Stenella attenuata*) from the Eastern Tropical Pacific, in Relation to Biological and Ecological Factors. *Marine Environmental Research* 30, 43-72.
- Bierla, K., Dernovics, M., Vacchina, V., Szpunar, J., Bertin, G., Lobinski, R., 2008. Determination of selenocysteine and selenomethionine in edible animal tissues by 2D size-exclusion reversed-phase HPLC-ICP MS following carbamidomethylation and proteolytic extraction. *Anal Bioanal Chem* 390, 1789–1798.
- Burger, J., 2009. Risk to consumers from mercury in bluefish (*Pomatomus saltatrix*) from New Jersey: Size, season and geographical effects. *Environmental Research* 109, 803–811.
- Burger, J., Jeitner, C., Donio, M., Pittfield, T., Gochfeld, M., 2013. Mercury and selenium levels, and selenium:mercury molar ratios of brain, muscle and other tissues in bluefish (*Pomatomus saltatrix*) from New Jersey, USA. *Science of The Total Environment* 443, 278–286.
- Burger, J., Gochfeld, M., 2005. Heavy metals in commercial fish in New Jersey. *Environmental Research* 99, 403–412.
- Burger, J., Gochfeld, M., 2011. Mercury and selenium levels in 19 species of saltwater fish from New Jersey as a function of species, size, and season. *Science of the Total Environment* 409, 1418–1429.
- Burger, J., Gochfeld, M., 2012. Selenium and mercury molar ratios in salt water fish from New Jersey: Individual and species variability complicate use in human health fish consumption advisories. *Environmental Research* 114, 12–23.
- Buzina, R., Suboticaneć, K., Vukusić, J., Sapunar, J., Antonić, K., Zorica, N., 1989. Effect of industrial pollution on seafood content and dietary intake of total and methylmercury. *The Science of the Total Environment*, 78, 45-57.
- Chouvelon, T., Warnau, M., Churlaud, C., Bustamante, P., 2009. Hg concentrations and related risk assessment in coral reef crustaceans, molluscs and fish from New Caledonia. *Environmental Pollution* 157 (1), 331-340.
- Cossa, D., Harmelin-Vivien, M., Mellon-Duval, C., Voizeau, V., Averty, B., Crochet, S., Chou, L., Cadiau, J-C., 2012. Influences of Bioavailability, Trophic Position and Growth on Methylmercury in Hakes (*Merluccius merluccius*) from Northwestern Mediterranean and Northeastern Atlantic. *Environmental Sciences & Technology* 46 (9), 4885-4893.
- Fitzgerald, W.F., Mason, R.P, 1997. Biogeochemical cycling of mercury in the marine environment, in : *Mercury and its Effects on Environment and Biological Systems*. Marcel Dekker Inc., New York, 53-110.

- Frodello, J.P., Roméo, M., Viale, D., 2000. Distribution of mercury in the organs and tissues of five toothed-whale species of the Mediterranean. *Environmental Pollution* 108, 447-452.
- Frouin, H., Loseto, L.L., Stern, G.A., Haulena, M., Ross, P.S., 2012. Mercury toxicity in beluga whale lymphocytes: Limited effects of selenium protection. *Aquatic Toxicology* 109, 185-193.
- Godin, S., Fontagne-Dicharry, S., Bueno, M., Tacon, P., Antony, P., Prabhu, J., Kaushik, S., Medale, F., Bouyssiére, B., 2015. Influence of Dietary Selenium Species on Selenoamino Acid Levels in Rainbow Trout. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63, 6484-6492.
- Goldstein, R.M., Brigham, M.E., Stauffer, J.C., 1996. Comparison of mercury concentrations in liver, muscle, whole bodies, and composites of fish from the Red River of the North. *Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques* 53 (2), 244-252.
- Holsbeek, L., Das, H.K., Joiris, C.R., 1997. Mercury speciation and accumulation in Bangladesh freshwater and anadromous fish. *The Science of the Total Environment* 198, 201-210.
- Jagtap, R., Maher, W., 2016. Determination of selenium species in biota with an emphasis on animal tissues by HPLC–ICP-MS. *Microchemical Journal* 124, 422-529.
- Kaneko, J., Ralston, N., 2007. Selenium and Mercury in Pelagic Fish in the Central North Pacific Near Hawaii. *Biol Trace Elem Res* 119, 242–254.
- Metian, M., Warnau, M., Chouvelon, T., Pedraza, F., Rodriguez y Baena, A., Bustamante, P., 2013. Trace element bioaccumulation in reef fish from New Caledonia: Influence of trophic groups and risk assessment for consumers. *Marine Environmental Research* 87-88, 26-36.
- Nam, D-H., Basu, N., 2011. Rapid methods to detect organic mercury and total selenium in biological samples. *Chemistry Central Journal*, 5-3.
- Svensson, B-G., Schfitz, A., Nilsson, A., Akesson, I., Akesson, B., Skerfving, S., 1992. Fish as a source of exposure to mercury and Selenium. *The Science of the Total Environment* 126, 61-74.
- Trasande, L., Landrigan, P-J., Schechter, C., 2005. Public health and economic consequences of methylmercury toxicity to the developing brain. *Environmental Health Perspectives* 113, 590-596.
- Ralston, N.V.C., 2009. Introduction to 2nd Issue on Special Topic: Selenium and Mercury as Interactive Environmental Indicators. *Environmental Bioindicators*, 4:286–290, 2009.
- Reyes, L., Guzmán Mar, J-L., Mizanur Rahman, G-M., Seybert, Seybert, B., Fahrenholz, T., Skip Kingston, H.M., 2009. Simultaneous determination of arsenic and selenium species in fish tissues using microwave-assisted enzymatic extraction and ion chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta* 78, 983–990.
- Watanabe, C., Yoshida, K., Kasanuma, Y., Kun, Y., Satoh, H., 1999. In Utero Methylmercury Exposure Differentially Affects the Activities of Selenoenzymes in the Fetal Mouse Brain. *Environmental Research Section A* 80, 208-214.
- Wedepohl, K.H., 1995. The composition of the continental crust. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 59 (7), 1217-1232.
- Lu, Y., Ludsin, S.A., Fanslow, D.L., Pothoven, S.A., 2008. Comparison of three microquantity techniques for measuring total lipids in fish. *Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques* 65(10), 2233-2241.
- Žižek, S., Horvat, M., Gibičar, D., Fajon, V., Toman, M-J., 2007. Bioaccumulation of mercury in benthic communities of a river ecosystem affected by mercury mining. *Science of the Total Environment* 377, 407–415.

## Annexes

### Annexe n°1 : Liste et informations sur les échantillons de thons

| Code échantillon | Espèces     | Sexe   | Organes | Longueur (mm) | Sélénium total (ppm) | SD Sélénium total (ppm) | Lipides (mg.g <sup>-1</sup> ) | SD Lipides (mg.g <sup>-1</sup> ) | Hg total (ppm) |
|------------------|-------------|--------|---------|---------------|----------------------|-------------------------|-------------------------------|----------------------------------|----------------|
| B13402           | T.albacares | Female | muscle  | 1400          | 3,1                  | 0,2                     | 11,8                          | 4,2                              | 0,6            |
| B13402           | T.albacares | Female | Blood   | 1400          | 142,2                | 3,7                     | 13,9                          | 4,0                              | 0,2            |
| B13402           | T.albacares | Female | liver   | 1400          | 72,7                 | 2,3                     | 42,0                          | 2,2                              | 0,7            |
| B13402           | T.albacares | Female | gonad   | 1400          | 19,8                 | 0,8                     | 22,0                          | 3,0                              | 0,2            |
| B13402           | T.albacares | Female | brain   | 1400          | 17,1                 | 0,7                     | 193,4                         | 6,4                              |                |
| B13403           | T.albacares | Male   | muscle  | 1410          | 3,2                  | 0,2                     | 20,6                          | 4,2                              | 0,7            |
| B13403           | T.albacares | Male   | blood   | 1410          | 148,8                | 3,3                     | 11,8                          | 4,0                              | 0,3            |
| B13403           | T.albacares | Male   | liver   | 1410          | 71,1                 | 2,4                     | 61,5                          | 2,2                              | 1,2            |
| B13403           | T.albacares | Male   | gonad   | 1410          | 4,5                  | 0,3                     | 61,0                          | 3,0                              | 0,4            |
| B13403           | T.albacares | Male   | brain   | 1410          | 28,3                 | 1,1                     | 202,4                         | 6,4                              |                |
| B13404           | T.albacares | Male   | muscle  | 1360          | 3,08                 | 0,2                     | 27,9                          | 4,2                              | 0,5            |
| B13404           | T.albacares | Male   | blood   | 1360          | 107,7                | 4,0                     | 21,8                          | 4,0                              | 0,1            |
| B13404           | T.albacares | Male   | liver   | 1360          | 55,3                 | 2,07                    | 73,9                          | 2,2                              | 0,7            |
| B13404           | T.albacares | Male   | gonad   | 1360          | 4,2                  | 0,2                     | 69,4                          | 3,0                              | 0,2            |
| B13404           | T.albacares | Male   | brain   | 1360          | 16,3                 | 0,7                     | 151,7                         | 6,4                              |                |
| B13405           | T.albacares | Male   | muscle  | 1380          | 3,7                  | 0,3                     | 21,5                          | 4,2                              | 0,4            |
| B13405           | T.albacares | Male   | blood   | 1380          | 94,2                 | 2,4                     | 14,1                          | 4,0                              | 0,2            |
| B13405           | T.albacares | Male   | liver   | 1380          | 74,9                 | 2,5                     | 65,6                          | 2,2                              | 0,6            |
| B13405           | T.albacares | Male   | gonad   | 1380          | 5,1                  | 0,3                     | 77,7                          | 3,0                              | 0,2            |
| B13405           | T.albacares | Male   | brain   | 1380          | 23,9                 | 0,9                     | 196,0                         | 6,4                              |                |
| B13411           | T.albacares | Male   | muscle  | 1570          | 4,05                 | 0,3                     | 40,6                          | 4,2                              | 0,7            |
| B13411           | T.albacares | Male   | blood   | 1570          | 145,02               | 3,3                     | 15,5                          | 4,0                              | 0,5            |
| B13411           | T.albacares | Male   | liver   | 1570          | 59,2                 | 1,8                     | 63,6                          | 2,2                              | 1,4            |
| B13411           | T.albacares | Male   | gonad   | 1570          | 7,9                  | 0,3                     | 68,6                          | 3,0                              | 0,5            |
| B13411           | T.albacares | Male   | brain   | 1570          | 25,5                 | 0,9                     | 211,4                         | 6,4                              |                |
| B13412           | T.albacares | Female | muscle  | 1280          | 2,1                  | 0,2                     | 181,7                         | 4,2                              | 0,2            |
| B13412           | T.albacares | Female | blood   | 1280          | 78,8                 | 2,3                     | 14,2                          | 4,0                              | 0,06           |
| B13412           | T.albacares | Female | liver   | 1280          | 27,3                 | 1,1                     | 169,5                         | 2,2                              | 0,3            |
| B13412           | T.albacares | Female | gonad   | 1280          | 15,8                 | 0,7                     | 48,1                          | 3,0                              | 0,1            |
| B13412           | T.albacares | Female | brain   | 1280          | 17,8                 | 1,0                     | 186,1                         | 6,4                              |                |
| B13413           | T.obesus    | Male   | muscle  | 1160          | 3,7                  | 0,3                     | 49,2                          | 4,2                              | 4,0            |
| B13413           | T.obesus    | Male   | blood   | 1160          | 176,2                | 3,9                     | 20,4                          | 4,0                              | 6,1            |
| B13413           | T.obesus    | Male   | liver   | 1160          | 132,5                | 3,2                     | 101,5                         | 2,2                              | 5,3            |
| B13413           | T.obesus    | Male   | gonad   | 1160          | 3,8                  | 0,2                     | 68,7                          | 3,0                              | 4,3            |
| B13413           | T.obesus    | Male   | brain   | 1160          | 42,3                 | 1,6                     | 233,9                         | 6,4                              |                |
| B13414           | T.obesus    | Male   | muscle  | 1170          | 3,6                  | 0,3                     | 85,0                          | 4,2                              | 2,3            |
| B13414           | T.obesus    | Male   | blood   | 1170          | 187,9                | 4,8                     | 47,1                          | 4,0                              | 3,4            |
| B13414           | T.obesus    | Male   | liver   | 1170          | 104,7                | 3,8                     | 70,9                          | 2,2                              | 2,3            |
| B13414           | T.obesus    | Male   | gonad   | 1170          | 9,04                 | 0,4                     | 63,7                          | 3,0                              |                |

|        |             |         |        |      |        |     |       |     |      |
|--------|-------------|---------|--------|------|--------|-----|-------|-----|------|
| B13417 | T.albacares | Female  | muscle | 1360 | 2,9    | 0,2 | 65,0  | 4,2 | 0,5  |
| B13417 | T.albacares | Female  | blood  | 1360 | 80,3   | 1,9 | 13,4  | 4,0 | 0,09 |
| B13417 | T.albacares | Female  | liver  | 1360 | 55,2   | 1,9 | 106,6 | 2,2 | 0,5  |
| B13417 | T.albacares | Female  | gonad  | 1360 | 20,8   | 0,8 | 50,5  | 3,0 | 0,2  |
| B13417 | T.albacares | Female  | brain  | 1360 | 12,8   | 0,6 | 231,6 | 6,4 |      |
| B13418 | T.albacares | Female  | muscle | 1190 | 2,6    | 0,2 | 19,2  | 4,2 | 0,5  |
| B13418 | T.albacares | Female  | blood  | 1190 | 134,4  | 3,6 | 17,1  | 4,0 | 0,3  |
| B13418 | T.albacares | Female  | liver  | 1190 | 70,2   | 2,2 | 61,1  | 2,2 | 0,5  |
| B13418 | T.albacares | Female  | gonad  | 1190 | 15,7   | 0,7 | 22,5  | 3,0 | 0,1  |
| B13418 | T.albacares | Female  | brain  | 1190 | 20,8   | 0,9 | 136,3 | 6,4 |      |
| B13419 | T.albacares | Female  | muscle | 1320 | 3,4    | 0,2 | 21,2  | 4,2 | 0,6  |
| B13419 | T.albacares | Female  | blood  | 1320 | 155,09 | 3,6 | 25,2  | 4,0 | 0,2  |
| B13419 | T.albacares | Female  | liver  | 1320 | 87,9   | 2,4 | 68,0  | 2,2 | 0,8  |
| B13419 | T.albacares | Female  | gonad  | 1320 | 23,09  | 0,9 | 31,0  | 3,0 | 0,2  |
| B13419 | T.albacares | Female  | brain  | 1320 | 40,8   | 1,6 | 240,6 | 6,4 |      |
| B13420 | T.albacares | Male    | muscle | 1350 | 2,9    | 0,2 | 100,6 | 4,2 | 0,7  |
| B13420 | T.albacares | Male    | blood  | 1350 | 144,4  | 4,9 | 19,1  | 4,0 | 0,4  |
| B13420 | T.albacares | Male    | liver  | 1350 | 94,5   | 2,5 | 62,2  | 2,2 | 1,2  |
| B13420 | T.albacares | Male    | gonad  | 1350 | 4,7    | 0,2 | 127,2 | 3,0 | 0,4  |
| B13420 | T.albacares | Male    | brain  | 1350 | 17,03  | 0,7 | 239,8 | 6,4 |      |
| P249   | T.obesus    | Unknown | muscle | 1260 | 10,4   | 0,6 | 65,0  | 4,2 | 4,6  |
| P249   | T.obesus    | Unknown | blood  | 1260 | 178,4  | 5,4 | 13,4  | 4,0 | 7,9  |
| P249   | T.obesus    | Unknown | liver  | 1260 | 51,7   | 2,2 | 106,6 | 2,2 | 6,1  |

Annexe n°2 : Recherches bibliographiques pour la détermination du protocole d'analyse du sélénium

| Référence Article            | Masse échantillon                          | Solvant et quantité                                                                                                            | Programme four          | CRM                                                                                                                             |
|------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Bierla et al, 2008           | 0,2 g                                      | HNO <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (3 = 1 v/v)<br>4 mL                                                            | 6h à 65 °C              | BCR 185R (Bovine Live) à 1,68 ± 0,24 mg.kg <sup>-1</sup>                                                                        |
| Hinojosa et al, 2009         | 500 mg                                     | 9 mL HNO <sub>3</sub><br>0.5 mL H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                                                                  | 10 minutes à 180 ± 5 °C | DOLT-3 (DogFish Live)<br>BCR-627 (Tuna Fish Tissues)                                                                            |
| Jagtap R. and Maher W., 2016 | 0,3 g                                      | 4 M CH <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S<br>25 mL                                                                                  | 16 h à 110 °C           | SELM-1 (levure)                                                                                                                 |
| Jagtap R. and Maher W., 2016 | 0,25g                                      | 4 M CH <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S*                                                                                          | 16 h à 90 °C            | SELM-1 (levure)                                                                                                                 |
| Jagtap R. and Maher W., 2016 | 0,10g                                      | 2% SNCl <sub>2</sub> dans 0.1 M HCl*                                                                                           | 24 h à 37 °C            |                                                                                                                                 |
| Godin et al, 2015            | 200 mg d'aliments<br><br>100 mg de poisson | 1 mL H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>2,5 mL HNO <sub>3</sub><br>0,5 mL H <sub>2</sub> O <sub>2</sub><br>1 mL HNO <sub>3</sub> | 6 h à 85 °C             | Gallium                                                                                                                         |
| Nam D-H. and Basu N., 2011   | De 10 à 50 mg                              | 400 µL de HNO <sub>3</sub> (70 %)<br>100 µL HClO <sub>4</sub> (40 %)                                                           | 80 minutes à 195°C      | DOLT-3 (DogFish Live)<br>TORT-2 (matériaux)<br>NIST 1568a (rice flour)<br>NIST 1577B (Bovine Liver)<br>NIST 1515 (Apple leaves) |

\* Plusieurs réactifs sont utilisés pour obtenir le sélénium total après le passage au four à micro-ondes

### Annexe n°3 : Valeurs aberrantes des box-plots

|    | sp_name           | sample | Organs.Species | Lipids..mg.g. |
|----|-------------------|--------|----------------|---------------|
| 3  | Thunnus albacares | liver  | Liver YFF      | 42.0          |
| 26 | Thunnus albacares | muscle | Muscle YFF     | 181.7         |
| 28 | Thunnus albacares | liver  | Liver YFF      | 169.5         |
| 43 | Thunnus albacares | liver  | Liver YFF      | 106.6         |
| 59 | Thunnus albacares | gonad  | Gonad YFF      | 127.2         |

|    | sp_name           | sample | Organs.Species | Se.total..ppm. |
|----|-------------------|--------|----------------|----------------|
| 21 | Thunnus albacares | muscle | Muscle YFF     | 4.05           |
| 26 | Thunnus albacares | muscle | Muscle YFF     | 2.13           |
| 55 | Thunnus albacares | brain  | Brain YFF      | 40.78          |

|    | sp_name           | sexe   | sample | sexe.YFF.organs | Mg.total..mg.g. |
|----|-------------------|--------|--------|-----------------|-----------------|
| 21 | Thunnus albacares | Female | muscle | Muscle F        | 206             |

|    | sp_name           | sexe   | Sexe.YFF...organs | sexe.YFF.organs | Lipids..mg.g. |
|----|-------------------|--------|-------------------|-----------------|---------------|
| 19 | Thunnus albacares | Male   | liver             | Liver M         | 73.9          |
| 19 | Thunnus albacares | Male   | brain             | Brain M         | 181.7         |
| 26 | Thunnus albacares | Female | muscle            | Muscle F        | 181.7         |
| 42 | Thunnus albacares | Female | blood             | Blood F         | 23.2          |
| 44 | Thunnus albacares | Male   | muscle            | Muscle M        | 100.6         |
| 49 | Thunnus albacares | Male   | gonad             | Gonad M         | 127.2         |
| 50 | Thunnus albacares | Male   | brain             | Brain M         | 239.8         |

|    | sp_name           | sexe   | Sexe.YFF...organs | sexe.YFF.organs | Se.total..ppm. |
|----|-------------------|--------|-------------------|-----------------|----------------|
| 24 | Thunnus albacares | Male   | gonad             | Gonad M         | 7.98           |
| 28 | Thunnus albacares | Female | liver             | Liver F         | 27.33          |
| 45 | Thunnus albacares | Female | brain             | Brain F         | 40.78          |

Annexe n°4 : Recherche de concentrations en sélénium et en mercure dans les organes analysés dans la littérature

| Référence article         | Lieux                            | Espèce                             | Eléments chimiques   | Concentrations (en ppm) Se et Hg dans différents organes |               |             |             |             |
|---------------------------|----------------------------------|------------------------------------|----------------------|----------------------------------------------------------|---------------|-------------|-------------|-------------|
|                           |                                  |                                    |                      | Muscles Blanc                                            | Muscles Rouge | Cerveau     | Rein        | Foie        |
| Joanna Burger et al, 2013 | New Jersey, USA                  | Bluefish (pomatomus saltatrix)     | <b>Mercure (Hg)</b>  | 0.32 ± 0.02                                              | 0.37 ± 0.09   | 0.09 ± 0.01 | 0.57 ± 0.09 | 0.33 ± 0.06 |
|                           |                                  |                                    | <b>Sélénium (Se)</b> | 0.37 ± 0.03                                              | 0.50 ± 0.04   | 0.36 ± 0.03 | 3.03 ± 0.17 | 1.94 ± 0.08 |
| Joanna Burger et al, 2009 | New Jersey, USA                  | Bluefish (pomatomus saltatrix)     | <b>Mercure (Hg)</b>  | 0.35 ± 0.02                                              |               |             |             |             |
|                           |                                  |                                    | <b>Sélénium (Se)</b> | 0.37 ± 0.01                                              |               |             |             |             |
| Joanna Burger et al, 2005 | New Jersey, USA                  | Bluefish (pomatomus saltatrix)     | <b>Mercure (Hg)</b>  | 0.26 ± 0.02                                              |               |             |             |             |
|                           |                                  |                                    | <b>Sélénium (Se)</b> | 0.51 ± 0.04                                              |               |             |             |             |
|                           |                                  | Yellowfin tuna (Thunnus albacares) | <b>Mercure (Hg)</b>  | 0.65 ± 0.1                                               |               |             |             |             |
|                           |                                  |                                    | <b>Sélénium (Se)</b> | 0.75 ± 0.1                                               |               |             |             |             |
| Joanna Burger et al, 2012 | New Jersey, USA                  | Blue Fish (Pomatomus saltatrix)    | <b>Mercure (Hg)</b>  | 0.52 ± 0.034                                             |               |             |             |             |
|                           |                                  |                                    | <b>Sélénium (Se)</b> | 0.43 ± 0.038                                             |               |             |             |             |
|                           |                                  | Bluefin Tuna (Thunnus thynnus)     | <b>Mercure (Hg)</b>  | 0.20 ± 0.015                                             |               |             |             |             |
|                           |                                  |                                    | <b>Sélénium (Se)</b> | 0.47 ± 0.027                                             |               |             |             |             |
|                           |                                  | Yellowfin tuna (Thunnus albacares) | <b>Mercure (Hg)</b>  | 0.35 ± 0.021                                             |               |             |             |             |
|                           |                                  |                                    | <b>Sélénium (Se)</b> | 0.37 ± 0.009                                             |               |             |             |             |
| Kaneko et al, 2007        | Hawaii                           | Yellowfin tuna (Thunnus albacares) | <b>Mercure (Hg)</b>  | 0.30 ± 0.18                                              |               |             |             |             |
|                           |                                  |                                    | <b>Sélénium (Se)</b> | 1.25 ± 0.27                                              |               |             |             |             |
| Goldstein et al, 1996     | Rivière rouge d'Amérique du jour | Barbue (Ictalurus punctatus)       | <b>Mercure (Hg)</b>  | 0.31                                                     |               |             |             | 0.11        |
|                           |                                  | Carpe (Cyprinus carpio)            | <b>Mercure (Hg)</b>  | 0.18                                                     |               |             |             | 0.16        |
| Andre et al, 1990         | Zone orientale tropica           | Dauphin (Stenella attenuata)       | <b>Mercure (Hg)</b>  | 76.47                                                    |               | 1.21        | 1.45        | 85.68       |

|                         |                                                 |                                                   |                         |          |  |  |          |            |
|-------------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------|----------|--|--|----------|------------|
|                         | le<br>(Pacifi<br>que)                           |                                                   |                         |          |  |  |          |            |
| Frodello et<br>al, 2000 | Mer<br>médite<br>rranée<br>(côte<br>Corses<br>) | Grand<br>dauphin<br>(Tursiops<br>truncatus)       | <b>Mercure<br/>(Hg)</b> | 334 ± 51 |  |  | 256 ± 23 | 4250 ± 119 |
|                         |                                                 | Dauphin<br>rayé<br>(Stenella<br>coeruleoalb<br>a) | <b>Mercure<br/>(Hg)</b> | 21 ± 2   |  |  | 49 ± 4   | 460 ± 58   |
|                         |                                                 | Baleine<br>pilote<br>(Globiceph<br>ala melas)     | <b>Mercure<br/>(Hg)</b> | 25 ± 1   |  |  | 66 ± 5   | 985 ± 54   |
|                         |                                                 | Dauphin<br>commun<br>(Delphinus<br>delphis)       | <b>Mercure<br/>(Hg)</b> | 16 ± 1   |  |  | 41 ± 1   | 134 ± 5    |
|                         |                                                 | Dauphin de<br>Risso<br>(Grampus<br>griseus)       | <b>Mercure<br/>(Hg)</b> | 189 ± 9  |  |  | 162 ± 17 | 3298 ± 114 |