



HAL
open science

Évaluation du niveau de contamination chimique et de la qualité des ressources vivantes aquatiques

Mamadou Diop

► **To cite this version:**

Mamadou Diop. Évaluation du niveau de contamination chimique et de la qualité des ressources vivantes aquatiques. Biochimie [q-bio.BM]. Université du Littoral Côte d'Opale; Université Cheikh Anta Diop (Dakar, Sénégal; 1957-..), 2016. Français. NNT : 2016DUNK0435 . tel-02177141

HAL Id: tel-02177141

<https://theses.hal.science/tel-02177141v1>

Submitted on 8 Jul 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Thèse de doctorat de l'Université du Littoral

(Co-tutelle avec l'Université Cheikh Anta DIOP de Dakar)

**École Doctorale 104 "Sciences de la matière, du rayonnement et de l'environnement"
Spécialité: Géosciences, Ecologie, Paléontologie, Océanographie**

Mamadou DIOP

Évaluation du niveau de contamination chimique et de la qualité des ressources vivantes aquatiques

Présentée et soutenue le 1er Avril 2016

Devant le jury:

Santiago AUBOURG, Professeur, Instituto de Investigaciones
Marinas

Rapporteur

Ben S. TOGUEBAYE, Professeur, Université Cheikh Anta DIOP

Rapporteur

Christophe MINIER, Professeur, Université du Havre

Examineur

Petru JITARU, Docteur, ANSES

Examineur

Rachid AMARA, Professeur, Université du Littoral

Directeur de thèse

Amadou DIOUF, Professeur, Université Cheikh Anta DIOP

Co-directeur de thèse

Michael HOWSAM, Ingénieur de recherche, Université Lille 2

Co-encadrant

Philippe LENCEL, MCF, Université du Littoral

Co-encadrant

Guillaume DUFLOS, Docteur, HDR, ANSES

Invité

Résumé

Très appréciés des consommateurs du fait de leur qualité nutritionnelle, les produits de la mer jouent un rôle important dans l'alimentation humaine. Toutefois, la confiance du consommateur vis-à-vis de leur qualité est affectée par les risques associés à une exposition aux contaminants chimiques et à la fraîcheur des produits. Si le premier aspect résulte de la pollution des eaux marines sous l'effet d'une forte anthropisation des littoraux, le second est lié à la haute périssabilité de ces produits. Evaluer les niveaux de contamination chimique et la qualité-fraîcheur des produits de la mer est plus qu'un besoin : c'est aujourd'hui une nécessité. C'est dans ce contexte que les travaux de cette thèse ont été menés. Deux objectifs principaux ont été visés dans la présente étude.

Le premier objectif de ce travail était de faire une évaluation spatiale et saisonnière des niveaux de contamination par les polluants métalliques et organiques (HAPs et PCBs) des zones côtières du Sénégal en s'intéressant aux teneurs en contaminants dans les organismes marins. Nous avons étudié 7 espèces marines représentatives des différents maillons de la chaîne trophique (1 macroalgue verte, un mollusque bivalve, un crustacé et 4 espèces de poissons) prélevées le long du littoral au niveau de 5 sites présentant des degrés d'anthropisation différents. Les résultats de cette étude montrent que les teneurs en contaminants chimiques des organismes marins sont variables selon les espèces et soulignent ainsi la nécessité de l'approche multi-espèces pour l'étude de la contamination chimique du milieu. Des variations inter-sites de la teneur en contaminants chimiques dans les organismes ont été mises en évidence. Les sites les plus anthropisés comme Soumbédioune et Rufisque sont ceux qui présentent les teneurs les plus élevées. Les niveaux de contamination métalliques et organiques dans les organismes marins du littoral sénégalais sont inférieurs ou du même ordre de grandeur que ceux mesurés dans d'autres régions d'Afrique de l'Ouest ou dans d'autres régions du monde. L'évaluation des risques associés à l'ingestion des produits de la mer analysés montre que les teneurs en contaminants chimiques sont faibles et inférieures aux limites maximales admissibles pour la consommation humaine (normes UE). Seuls les sites de Rufisque et Soumbédioune présentent quelques dépassements chez certaines espèces (moules, sardinelles).

Le deuxième objectif de cette étude était de développer des méthodes permettant d'évaluer la fraîcheur des filets de poisson et de différencier des filets frais des filets décongelés. Les méthodes retenues sont basées sur la mesure de l'augmentation de la perméabilité cellulaire du muscle de poisson. La conservation des filets de poisson à 4°C va conduire à une perméabilisation des cellules dans le temps qui peut être appréhendée par la mesure de la libération d'enzymes intracytoplasmiques ou par l'augmentation de la perméabilité des cellules à des colorants fluorescents. La mesure de l'activité LDH est intéressante à double titre : elle va permettre d'une part de mesurer le niveau de lyse cellulaire, donc le niveau d'altération, des filets de poisson dans le temps. Elle va permettre d'autre part grâce à sa sensibilité à la congélation de mieux cerner les conditions qui permettraient à terme de faire la distinction entre des filets frais et des filets congelés /décongelés.

Mots clés : Pollution chimique, contaminants métalliques, contaminants organiques, produits de la mer, fraîcheur, lactate déshydrogénase, Sénégal.

Abstract

Much appreciated by consumers for its nutritional qualities, seafood plays an important role in human diet. Consumer confidence in the quality of these foodstuffs is nevertheless affected by concerns about risks associated with exposure to chemical contaminants and the freshness of these products.

If the first of these is the result of pollution resulting from increasing human activities along coastlines, the second is linked to the highly perishable nature of these products. An evaluation of the levels of chemical contaminants in seafood and of its freshness is therefore a necessity. It is within this context that the work presented in this thesis was carried out. Two principal objectives were targeted in the present study.

The first objective of this work was to evaluate the spatial and seasonal variability of seafood contamination by elements (including metals) and organic pollutants (PAHs and PCBs) along the Senegalese coast. We studied 7 marine species representative of different trophic level (a green macro algae, a bivalve mollusc, a crustacean and 4 species of fish) sampling them along the coastline at 5 sites representing different human activity pressur.

The results of this study showed that contamination levels varied with species, underlining the importance of a multi-species approach to study contamination in the marine environment.

Variations between sites were also observed. Sites with the greatest human activity, such as Soumbédioune and Rufisque, were also those where the highest levels of contaminants in seafood were found. The levels of contamination measured along the Senegalese coast, of both elements and organic pollutants, were inferior or of the same order of magnitude as those reported from other West African sites or from other regions of the globe. The risks associated with eating these seafood products were low, with contaminant levels generally below the admissible limits (EU) for human consumption. Only a few samples of certain species (mussels, sardines) exceeded these limits at Soumbédioune and Rufisque.

The second objective of this study was to develop methods to evaluate the freshness of fish fillets, and to distinguish fresh fillets from previously frozen ones. The methods developed were based upon a measure of cellular permeability within the fish muscle tissue. The conservation of fish fillets at 4°C results in increased permeability of cells over time, measurable by studying the liberation of intra-cytoplasmic enzymes or the increasing permeability of cells to fluorescent colouring agents. The measurement of lactate dehydrogenase (LDH) is doubly interesting in this context: on the one hand it enables a measure of cell lysis, and so the level of alteration of the fillets over time, to be established. It also, thanks to its sensitivity to freezing, to better distinguish fresh fillets from those that have been frozen then thawed.

Key words: *Chemical pollution, metal contaminants, organic contaminants, seafood, freshness, lactate dehydrogenase, Senegal.*

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail. Je remercie notamment le Pr Santiago Aubourg et le Pr. Ben S. Toguebaye qui se sont montrés disponibles pour rapporter cette étude. Merci également au Pr Christophe Minier et au Dr Petru Jitaru qui ont accepté d'examiner ce travail.

Mes plus sincères remerciements vont ensuite à mon idole, ma référence, mon directeur de thèse, Pr. Rachid Amara, qui m'a permis de réaliser ce travail et qui m'a soutenue depuis mes premiers pas sur le territoire français. Il m'a montré le chemin de la recherche, a su me guider, me faire partager ses connaissances de la phase expérimentale à la phase rédactionnelle. Il a toujours été patient à garder son calme malgré les nombreux problèmes épineux qui se sont passés. Merci pour votre enthousiasme, votre gentillesse et votre avertissement. Il m'a toujours aidé à trouver des financements et tant d'autres choses que je ne citerai pas et je le remercie vraiment au fond du cœur pour tout !

Je suis également infiniment reconnaissant envers mon co-directeur de thèse, Pr Amadou Diouf, qui m'a été d'un très grand soutien tout au long de mon travail de thèse. C'est à travers sa formation que la mouche de la recherche m'a piqué. Il s'est toujours comporté comme un père et je le remercie sincèrement.

Merci à mes deux supers co-encadrants : Philippe Lencel, pour votre dynamisme, vos encouragements de tout temps et pour m'avoir enseigné les techniques de dosages enzymatiques et de culture cellulaire et Michael Howsam pour m'avoir aidé à réaliser une bonne partie des analyses pour le dosage des métaux et pour la rédaction de nos articles en anglais. Votre disponibilité, votre ouverture d'esprit, vos blagues pour déstresser m'ont permis d'évoluer dans de bonnes conditions. Je remercie également Denis Watier pour sa disponibilité, son aide, ses conseils bref pour sa participation sans limite à la réalisation de ce travail.

Merci à Thierry Grard, à Jean François Goossens et à Fabrice Cazier pour m'avoir accueilli avec beaucoup de sympathie au sein de leur laboratoire et de m'avoir permis à réaliser sans contraintes toutes les analyses. Merci infiniment.

Je ne remercierai jamais assez Guillaume Duflos pour m'avoir accueilli au sein de l'ANSES et de me mettre dans d'excellentes conditions pour la réussite de ce travail de thèse. Je vous remercie également pour votre gentillesse, votre disponibilité et vos encouragements sans faille. Merci également pour les repas copieux qu'on a eu à partager avec la famille Duflos.

J'associe ces remerciements à Dorothee Dewaele pour m'avoir aidé pour mes analyses au CCM, à Françoise Henry pour m'avoir initié sur les techniques analytiques, à Elodie et à Lucie.

Je souhaite exprimer aussi ma gratitude à Khalef Rabhi pour son assistance, sa gentillesse et pour son implication dans l'analyse de mercure et à Mahmoud Bacha pour sa disponibilité, son aide et pour m'avoir conduit régulièrement au labo sans se plaindre.

Merci aux autres membres de l'équipe BPA : Irina, Pierrette, Périne et Maryse de m'avoir toujours accueilli avec beaucoup de sympathie.

J'associe à ces remerciements aux membres de l'ANSES à sa tête Mme Anne Brisabois de m'avoir accueilli, à mes collègues de l'équipe UPPCCA : Sylvie, Gaëlle et Charlotte et aux membres des autres équipes : Graziella, Sophie, Mélanie, Régine, Stéphanie, Corinne, Karine, Marie-Ange, Sabine, Virginie, Odile et Clémence.

Je voudrai également témoigner toute mon amitié aux docteurs et aux doctorants avec qui j'ai cheminé au BPA et à l'ANSES. Daline, Jérôme, Dr Alexandre, Estelle, Dr Thomas, Dr Yuwalee et aux nouveaux Ludovic et Arnaud pour tout ce qu'on a eu à partager ensemble. Je remercie également mes collègues thésards et anciens thésards du LOG avec qui j'ai fait une partie de chemin: Ahmed, Sherif, Mouhamed, Maxime, William, François Pierre, Hanne-hélène, Sara, Waed, Rym et Shakina.

Je ne saurais oublier mes collègues de l'Université de Dakar particulièrement Professeur Mamadou FALL pour son aide, son soutien et ses encouragements, au Dr Cheikh Diop à qui J'ai beaucoup apprécié ses qualités humaines et scientifiques et son aide durant les durs moments de l'échantillonnage. Je remercie également Ablaye Guèye, Pape Diockou et Khalla Gadiaga pour leur aide à l'échantillonnage et à la dissection. J'associe à ces remerciements Mariétou, Mathilde, Aminata TOURE, Mme Bassène et à toute l'équipe du Laboratoire de Toxicologie et Hydrologie de notre faculté.

Je ne manquerai pas de remercier mes amis à l'extension : Boris, Romane et aux membres du Dahira Touba Boulogne en souvenir des bons moments passés ensemble. Partager ces instants de ma vie avec vous m'a énormément enrichi. Merci pour tout. Mention spéciale à Ibrahima Kâ.

Je fais une mention spéciale à Ameth Biaye et à sa femme Fatou Binetou Diop. Je n'oublierai jamais les moments passés ensemble. Merci infiniment pour tout.

Je remercie également tous mes amis au Sénégal, ce travail est le vôtre.

Mes remerciements vont à mon guide religieux et spirituel, mon ami Serigne Abdou Ahad Mbacké. Ce qui nous lie ne peut pas se formuler en paroles. Il se vit et je le vis pleinement comme vous le faites.

Enfin, enfin, mes remerciements vont à ma famille et à tous mes proches, notamment à mon défunt père Elhadji Amadou que le paradis soit ton demeure éternelle Papa et à ma mère Amy Sèye à qui je souhaite longue vie. Si j'ai pu arriver jusqu'ici, c'est parce que vous m'avez inculqué une éducation et vous m'avez appris à être persévérant et à être tolérant. Votre amour envers ma personne est sans faille. J'ai une pensée pieuse à mon défunt frère Mor qui nous a quitté à la fleur de l'âge à qui je dédie ce travail, à Mbaye, Mass, Fallou et à mes sœurs Rokhaya, Mounass et Khoudia. A mes oncles, mes demi-sœurs et demi-frères. Merci à vous tous.

Je fais mention spéciale à ma douce moitié, mon amour Fatoumata pour sa patience et son soutien affectueux et indéfectibles. Je pense aussi à ma princesse Adja Aminata Diop. Longue vie à toi mon bébé adoré.

Dieuredieuf Serigne Touba

Valorisation

Publications scientifiques.

- 1) Sopheak NET, Françoise Henry, Suzanah Rabodonirina, **Mamadou Diop**, Dima Merhaby, Celine Mahfouz, Rachid Amara, Baghdad Ouddane, 2015. Accumulation of PAHs, Me-PAHs, PCBs and total mercury in sediments and marine species in coastal areas of Dakar, Senegal: Contamination level and impact. *Int. J. Environ. Research* 2015; 9:419–32.
- 2) **Mamadou Diop**, Michael Howsam, Cheikh Diop, Fabrice Cazier, Jean F Goossens, Amadou Diouf, and Rachid Amara. 2016 Spatial and Seasonal Variations of Trace Elements Concentrations in Liver and Muscle of Round Sardinelle (*Sardinella Aurita*) and Senegalese Sole (*Solea Senegalensis*) along the Senegalese Coast. *Chemosphere* 2016; 144:758–66.
- 3) **Mamadou DIOP**, Michael Hawsam, Cheikh Diop, Fabrice Cazier, Jean F Goossens, Amadou Diouf, Rachid Amara. 2016. Assessment of trace element contamination and bioaccumulation in algae (*Ulva lactuca*), mussels (*Perna perna*), shrimp (*Penaeus kerathurus*), and fish (*Mugil cephalus*, *Saratherondon melanotheron*) along the Senegalese coast. *Journal Marine Pollution bulletin*: 103 (2016), 339-343.
- 4) **Mamadou DIOP**, Denis WATIER, Rachid AMARA, Thierry GRARD, Philippe LENCEL 2016. Lactate deshydrogenase (LDH): freshness and frozen marker for Sea Bream (*Sparus aurata*) fillets? *Journal Food chemistry* 210 (2016), 428-434.
- 5) **Mamadou DIOP**, Rachid Amara, 2016. Mercury concentrations in the coastal marine food web along the Senegalese coast. *Journal Environmental Science and Pollution Research* (2016), 1-10.
- 6) **M. Diop**; S. Net; M. Howsman; P. Lencel; F. Henry; D. Watier; T. Grard; G. Duflos; A. Diouf and R. Amara. 2016. Concentrations and potential human health risks for regulated metals (Cd, Pb, Hg) and organic pollutants (PCBs, PAHs) in fish and seafood from the Senegalese coast (*En phase de soumission au Journal Food chemistry*)

Communication orales

- 1- Mamadou DIOP, Philippe LENCEL, Denis WATIER, Amadou DIOUF, Rachid AMARA, Thierry GRARD. La lactate deshydrogenase (LDH) : marqueur de fraicheur et de congélation des filets de poissons dorade royale (*sparus aurata*) ? *Doctoriales de la mer du 09 octobre 2014 à Boulogne sur Mer/ France par le Campus de la mer.*

- 2- Mamadou DIOP HOWSAM M., CAZIER F., NET S., HENRY F., COURCOT L., DIOUF A., AMARA R. Teneurs en contaminants métalliques (Cd, Pb, Hg) et organiques (HAPs, PCBs) réglementés des produits de la mer du littoral sénégalais. *Colloque Qualité et Sécurité des produits Aquatiques du 17 au 19 juin 2015 à Boulogne sur mer.*

Communication Affichées

- 1- Mamadou DIOP, Philippe LENCEL, Denis WATIER, Amadou DIOUF, Rachid AMARA, Thierry GRARD. La lactate deshydrogenase (LDH) : marqueur de fraîcheur et de congélation des filets de poissons dorade royale (*sparus aurata*) ? *Colloque Qualité et Sécurité des produits Aquatiques du 17 au 19 juin 2015 à Boulogne sur mer.*

SOMMAIRE

Introduction générale

1. Les ressources vivantes aquatiques : une source de nourriture importante et parfois contrastée pour l'homme.....	17
2. La contamination chimique des ressources vivantes aquatiques.....	19
2.1 Origines des contaminants en milieu aquatique	19
2.2. Les contaminants chimiques dans les milieux aquatiques.....	21
2.2.1 Les contaminants métalliques.....	21
2.2.2 Les contaminants organiques	23
2.3 Contamination et transfert des polluants dans les organismes vivants marins : Bioaccumulation et bioconcentration.....	25
2.4 Variation d'accumulation de contaminants entre espèces : Notion d'espèce sentinelle.....	27
2.5. Risques sanitaires liés à la consommation des produits de la mer	28
3. La fraîcheur du poisson	30
3.1 Les changements post-mortem influençant la fraîcheur du poisson	30
3.1.1 Structure et composition des muscles de poissons.....	30
3.1.2 Altération du filet de poisson.....	31
3.1.2.1 Altération protéolytique.....	32
3.1.2.2 Altération des lipides	36
3.1.2.3 Altération des acides nucléiques et des nucléotides	38
3.2 La fraîcheur des poissons : entre lyse membranaire et libération d'enzymes. Quelle méthode de détermination ?	41
4 Objectifs et organisation de la thèse	42

Chapitre I : Matériel et méthodes

Partie I. Niveaux de contamination métallique et organique des ressources vivantes aquatiques du littoral Sénégalais

I. 1. Présentation de la zone d'étude	47
II.2. Choix méthodologique.....	51
II.2.1 Sites d'étude.....	51
II.2.2 Modèles biologiques choisis	54

II.2.3.Echantillonnage.....	60
II.3. Méthodes de préparation et de dosages des contaminants chimiques	60
II.3.1 Dosage des éléments-traces dans les échantillons biologiques	61
II.3.2 Dosage des micro-contaminants organiques	67
II.3.2.1 Micropolluants organiques d'intérêts.....	67
II.3.2.2 Matériel et réactifs	68
II.3.2.3 Préparation des échantillons	68
II.3.2.4 Extraction.....	69
II.3.2.5 Purification et séparation sur gel de silice des extraits	70
II.3.2.6 Analyse en GC-MS.....	71
II.3.2.7 Quantification des HAPs, Me-HAPs et PCBs	73

Partie II : Méthodes d'étude sur la qualité fraîcheur et sur la différenciation entre un filet frais à un filet décongelé

III.1 Mesure de la fraîcheur dans les filets de daurade	76
III.1.1 Mesure de l'altération sur cellules SAF-1.....	76
III.1.1.1 Induction de Stress nutritif et thermique.....	76
III.1.1.1.2 Test de stabilité et dosage de la LDH.....	77
III.1.1.3 Marqueurs de fluorescence étudiés	79
III.1.2 Mesure de l'autolyse des filets de daurade.....	80
III.1.2.1 Dosage de la LDH.....	80
III.1.2.2 Autolyse des adipocytes des filets de daurade	81
III.2 Différenciation entre un filet frais à un filet décongelé	82

Chapitre II : Niveaux de contamination métalliques et organiques des côtes sénégalaises

Partie 1 : Spatial and Seasonal Variations of Trace Elements Concentrations in Liver and Muscle of Round Sardinelle (Sardinella Aurita) and Senegalese Sole (Solea Senegalensis) along the Senegalese Coast	89
--	-----------

Partie 2 : Assessment of trace element contamination and bioaccumulation in algae (<i>Ulva lactuca</i>), mussels (<i>Perna perna</i>), shrimp (<i>Penaeus kerathurus</i>), and fish (<i>Mugil cephalus</i> , <i>Saratherondon melanotheron</i>) along the Senegalese coast.	108
Partie 3: Mercury concentrations in the coastal marine food web along the Senegalese coast. And Accumulation of PAHs, Me-PAHs, PCBs and total mercury in sediments and marine species in coastal areas of Dakar, Senegal: Contamination level and impact.....	124
Chapitre III : Concentrations and potential human health risks for regulated metals (Cd, Pb, Hg) and organic pollutants (PCBs, PAHs) in fish and seafood from the Senegalese coasts.....	177
Chapitre IV: Assessment of freshness and freeze-thawing of sea bream fillets (<i>Sparus aurata</i>) by a cytosolic enzyme: lactate dehydrogenase.....	201
Discussion générale et perspectives.....	226

Liste des abréviations

AGLUC : Alpha-glucosidase

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADP : Adénosine diphosphate

AMP : Adénosine monophosphate

ANOVA : Analyse of variance de Variance

ANSD : Agence National de Statistique et de Développement

ANSES : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'Environnement et du travail

ARN : Acide Ribonucléique

ASE : Extracteur accéléré par solvant

ATP : Adénosine triphosphate

Au : Acide urique

A-d10 : Acénaphthène-d10

BAF : Bioaccumulation Factor

BCF : Bioconcentration Factor

CCM: Centre Commun de Mesure

CFPMT : Centre de Formation des Produits de la Mer et de la Terre

CSE: Centre de suivi écologique

CR: Cancer Risk

CRI : Collision reaction interne

CUMA : Centre Universitaire de Mesure et d'Analyse

DAPI: 4,6-Diamidino-2-Phénylindole

EC : European Community

ETM : Eléments Traces Métalliques

FAO : Food and Agruculture Organisation

GESAMP: Joint Group of Experts on Scientific Aspects of Marine Pollution

GC : Chromatographie en phase gazeuse

GC-MS : Gaz Chromatography-Mass Spectrometry

HADH : β -hydroxyacyl-CoA déshydrogénase

HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH)

HCL : Acide chlorhydrique

HPLC : Chromatographie liquide haute performance

Hx : Hypoxanthine

HxR : Xanthine

ICP-AES: Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectroscopy

ICP-MS: Inductively Coupled Plasma- Mass Spectrometry

IMP : Inosine monophosphate

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

Ino : Inosine

IP : Indice de peroxyde

LDH : Lactate déshydrogénase

LT : Longueur totale

MEC : Matrice extracellulaire

MeHg: Méthyl mercure

Me-HAP : Méthyl-HAP

NRCC: National Research Council of Canada

N-d8 : Naphtalène-d8

OCN : Octachloronaphtalène

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OSPAR: OSlo and PARis conventions for the protection of the marine environment of the north-east atlantic

PA : Pour Analyses

PBDE: Poly-bromodiphényle éthers

PBS: Phosphate Buffered Saline
PCB : PolyChlorobiphényles Benzène
PCB : Polychloro-biphénylebenzène
PCB-DL : PCB-Dioxin-Like
PCBi : PCB-indicateur
PCDDs: Polychlorinated dibenzo-dioxins
PCDFs: Dibenzofurans
PEHD : Polyéthylène haute densité
Per-d12 : Pérylène-d12
Phe-d10 : Phenanthrène-d10
PI: Propidium Iodide
PTFE : Polytétrafluoroéthylène
PUFA: Polyinsaturates Fatty Acids (acides gras polyinsaturés)
Pyr-d10 : Pyrène-d10

RfD : Reference dose
RNO: Réseau National d'Observation
RPMI: Roswell Park Memorial Institute medium

SAB : Sérumalbumine bovine
SAF-1 : Sparus aurata fibroblast
SVF: Sérum de veau fœtal

TBARS : Acide thiobarbuturiques
TCDD : Tétrachlorodibenzo-*para*-dioxine
TCN : Tétrachloronaphtalène
TEFs : Toxicity equivalence factors
THQ : Target Hazard Quotient
TTHQ: Total Target Hazard Quotient
US EPA : United States Environment Protection Agency

Introduction générale

Introduction générale

1. Les ressources vivantes aquatiques : une source de nourriture importante et parfois contrastée pour l'homme

La consommation du poisson et des produits aquatiques en général est en progression continue à travers le monde. Alors qu'elle était estimée à 9,9 kg/personne /an dans les années 1960, en 2012, la consommation moyenne mondiale des produits de la mer était estimée à 19,2 kg/personne /an couvrant près de 17% des apports en protéines animales de la population mondiale (FAO, 2014). Cet engouement croissant des produits de la mer auprès des consommateurs est lié au fait qu'ils sont considérés comme aliments sains du fait de leur qualité nutritionnelle et de leurs effets bénéfiques pour la santé humaine (Njinkoué, 2002).

En effet, les poissons, les crustacés et les mollusques jouent un rôle important dans une alimentation humaine équilibrée (apport en acide gras polyinsaturés, en matière grasse, en protéines, en minéraux etc.). La consommation du poisson a contribué à hauteur de près de 20 % à l'apport en protéines animales de plus de 2,9 milliards de personnes et contribue à hauteur de 15 % à l'apport en protéines animales de 4,3 milliards de personnes (FAO, 2014). Par opposition à la viande, le poisson est facilement digestible à cause de longues fibres musculaires. En plus de son apport nutritionnel, la consommation du poisson permet entre autre une réduction des risques des maladies cardiovasculaires qui sont en grande partie attribués aux acides gras polyinsaturés (PUFFA) (Morris et Culkin, 1989, Paige et al., 1996). Des effets préventifs et/ou curatifs des PUFA ont été reportés sur l'hypertension artérielle (Millar et al., 1992), le cancer du sein (Rose et al., 1993), les maladies inflammatoires (James et Cheland, 1996), l'asthme (Hodge et al., 1996) et sur les troubles du système immunitaire (levine et al., 1990). Les hydrolysats des protéines de poissons possèdent des propriétés anti-oxydatives, anti-hypertensives, antimicrobiennes et immunomodulatrices (Fujita et Yoshikawa, 1999).

Toutefois, la confiance du consommateur vis-à-vis de la qualité des produits de la mer est affectée par les risques associés à une exposition aux contaminants chimiques, tels que le mercure et les dioxines, dont on sait qu'ils s'accumulent dans le poisson. Par exemple, la teneur importante de certains poissons en mercure a amené les autorités sanitaires de différents pays à limiter leur consommation pour les femmes enceintes et les jeunes enfants. Au cours des dernières décennies, on note un intérêt croissant pour la détermination des niveaux de polluants chimiques dans l'environnement marin et notamment sur la mesure des niveaux de contamination dans les produits

de la mer qui sont consommés (Rose et al., 1999; Storelli, 2008; Stankovic and Jovic 2012; Bandowe et al., 2014).

Le deuxième aspect qui suscite des problèmes liés à la consommation des produits de la mer est leur vulnérabilité et leur haute périssabilité qui affectent leur qualité et fraîcheur (Özogul et al., 2013). Le caractère très périssable de ces aliments pose des problèmes tant hygiéniques, toxicologiques qu'économiques. Les différents modes d'exploitation (durée des marées), de conservation et de commercialisation des produits de la mer peuvent altérer leur qualité et fraîcheur. La qualité des poissons se dégrade après la mort en raison des réactions chimiques et des dégradations microbiennes. Le résultat de ces réactions entraîne une détérioration de la qualité organoleptique et nutritionnelle des produits de la mer.

Le terme de fraîcheur des poissons a stimulé ces derniers temps un grand intérêt et une attention particulière des producteurs, des commerçants et des consommateurs. En outre, il est généralement admis que la fraîcheur est le plus important attribut de la qualité qui est toujours contrôlée dans les produits destinés à la consommation directe où utilisée comme matière première dans les industries de transformation (Gallart-Jornet et al., 2007). Une des raisons qui fait de la fraîcheur la cible principale des consommateurs est sa forte relation avec le goût des produits (Alimelli et al., 2007). Les consommateurs deviennent de plus en plus exigeants sur la qualité-fraîcheur de ces produits. Ces dernières années, pour pallier l'insuffisance et à l'irrégularité des approvisionnements en poisson frais, on assiste à l'apparition d'un mouvement visant à approvisionner les rayons de poisson frais en poissons décongelés. Ce qui constitue de véritables fraudes dans la filière. Evaluer la qualité-fraîcheur de ces produits notamment des filets de poisson devient plus qu'un besoin : c'est aujourd'hui une nécessité. D'où l'intérêt de développer des méthodes simples, rapides et fiables pour déterminer la fraîcheur des filets de poisson.

L'évaluation du niveau de contamination chimique et de la fraîcheur des produits de la mer est donc un enjeu majeur dans le domaine de la pêche de façon à fournir aux consommateurs un produit indemne de toutes contaminations chimiques, attrayant et de bonne qualité nutritionnelle.

2. La contamination chimique des ressources vivantes aquatiques

2.1 Origines des contaminants en milieu aquatique

Les contaminants présents dans les milieux aquatiques sont multiples et variés. Ils proviennent principalement des sources naturelles et anthropiques. Les sources naturelles les plus importantes sont l'érosion, les feux de forêts et l'activité volcanique. Les substances présentes dans les milieux marins dérivant des sources anthropiques sont qualifiées de contaminants ou polluants lorsqu'elles sont présentes en quantité qui peut induire un danger pour les organismes vivants ou compromettre l'usage qui est habituellement fait du milieu récepteur (GESAMP, 1983). Les diverses activités humaines (agriculture, industrie, traitement des eaux usées, recyclage des déchets urbains et industriels, production d'énergie, transport) génèrent des pollutions de toutes sortes. A plus ou moins long terme, tous ces contaminants d'origine terrestre véhiculés par les cours d'eau rejoignent le milieu marin. La zone côtière est particulièrement touchée, notamment à proximité des embouchures des fleuves et des rivières. C'est le cas par exemple du fleuve Sénégal qui charrie vers l'Océan Atlantique d'importantes quantités de substances polluantes en provenance des zones agricoles et industrielles de la Guinée, du Mali, de la Mauritanie et du Sénégal. Les dépôts atmosphériques secs ou humides constituent une part non négligeable des flux de contaminants vers les milieux aquatiques (Garnaud et al., 1999). En effet, des particules très fines d'origine anthropique peuvent se déplacer sur de très longues distances. C'est le cas notamment des poussières libérées dans l'atmosphère par les activités agricoles et industrielles. Libérées dans l'atmosphère ou dans les sols, ces substances et leurs dérivés peuvent se retrouver pour une bonne part, transportées par les réseaux d'assainissement ou par ruissellement ou infiltration, dans les cours d'eau, les nappes phréatiques et même jusqu'aux eaux littorales.

Les polluants en mer peuvent aussi être introduits de façon accidentelle. Au niveau du continent africain, la liste des catastrophes écologiques provoquées par des accidents de navires est bien longue et ne cesse de s'allonger. On note le naufrage du Mobil Refiner au large des côtes camerounaises; de YArzen sur la côte béninoise ; de Fouche Island au large du Nigeria ; de l' Universe Defiance, du Costathina et du Ylonnis Angeli Cousis au large des côtes sénégalaises etc. Dans ce continent, l'une des pollutions la moins spectaculaire que celles des accidents de navires, mais qui est certes la plus importante est celle liée aux opérations de déballastages. Elle résulte de

rejets délibérés du pétrole en mer lors du nettoyage des citernes, de la vidange des ballasts, des soutes ou du nettoyage en cale sèche (PNUE, 1982).

Au-delà des pollutions accidentelles comme les marées noires, il existe une menace plus insidieuse qui provient de l'exposition répétée à de faibles doses de polluants. Ce sont ainsi des milliers de substances chimiques très diverses par leurs origines, leur nature et leurs propriétés, qui se retrouvent dans les eaux marines à l'état de traces. La figure 1.1 montre les différentes sources anthropiques et leurs voies de transfert dans les systèmes aquatiques.

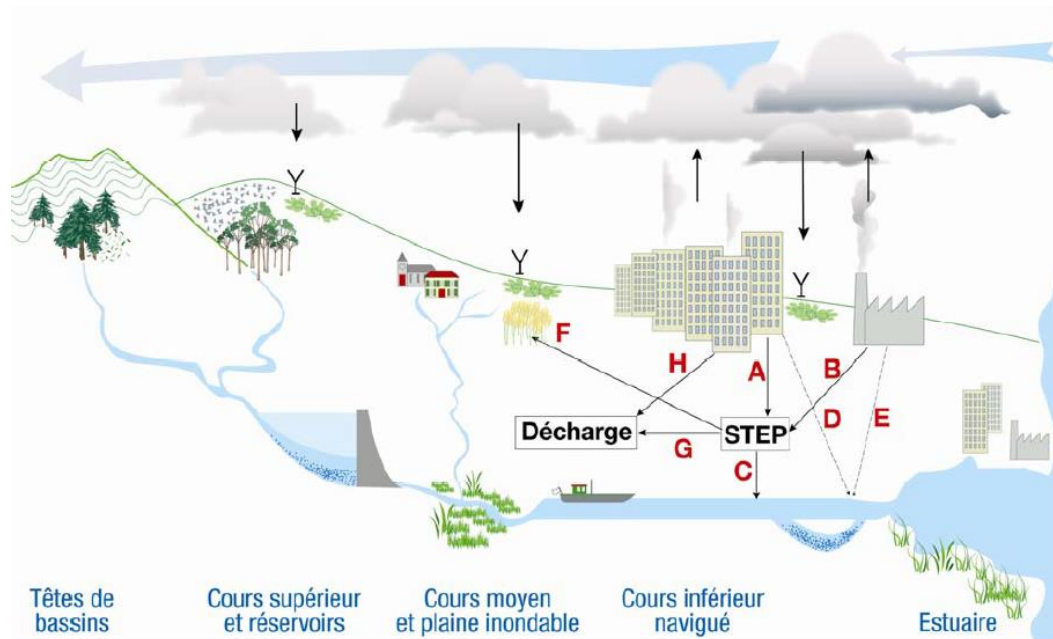


Figure 1. 1 : voies de transfert des métaux résultant des activités humaines :

eaux usées domestiques (A), industrielles (B), rejets d'eaux traitées par les stations d'épuration -STEP – (C), rejets directs d'eaux de ruissellement pluvial (D) et d'eaux usées industrielles (E), épandage agricole (F) où mise en décharge des boues produites par les stations d'épuration (G) et des ordures ménagères (H) (Thévenot et al., 2009).

Le problème de la pollution des zones côtières résulte principalement du fait de l'accroissement de l'urbanisation et de l'industrialisation du littoral. Aujourd'hui, plus de 60% de la population mondiale vit à moins de 60 km des côtes. L'UNESCO estime à 12 700 kg la quantité de polluants déversée par seconde dans les océans (www.planetscope.com, 2015). En effet, si dans certains pays, les effluents industriels subissent un traitement avant leurs rejets en mer, il n'en est pas de même pour les pays sous-développés ou en voie de développement. En Afrique, la situation est aggravée du fait que les rejets urbains et industriels ne sont presque jamais traités. Au Sénégal, dans la région dakaroise, chaque année plus de 67 millions de m³ d'eaux usées sont rejetées et moins de 60 % font

l'objet d'un traitement par des stations d'épuration, généralement vétustes, avant rejet dans la mer. Le reste des eaux usées est directement rejeté sans traitement préalable impactant la qualité du milieu marin.

Le niveau de contamination des zones côtières et la nature des polluants qui s'y trouvent sont très variables et dépendent souvent de la distance par rapport aux sources d'anthropisation. Des études récentes sur le littoral sénégalais ont montré que la quantité et la composition des métaux présents dans la colonne d'eau (Diop et al, 2014) ou dans les sédiments (Diop et al., 2015) suivent un gradient spatial et sont fortement liées aux caractéristiques anthropiques de chaque site.

Les pollutions des milieux aquatiques peuvent avoir des effets directs ou indirects sur la santé humaine mais également sur l'environnement. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés aux polluants métalliques, aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) et aux polychlorobiphényles benzène (PCBs).

2.2. Les contaminants chimiques dans les milieux aquatiques

2.2.1 Les contaminants métalliques

Les polluants métalliques sont des composés ayant une origine naturelle, mais dont la concentration peut artificiellement augmenter suite à l'activité humaine. La pollution métallique peut être due à différents métaux comme l'aluminium, l'arsenic, le chrome, le cobalt, le cuivre, le manganèse, le molybdène, le nickel, le zinc etc. ou encore à des éléments-traces comme le cadmium, le mercure ou le plomb, plus toxiques que les précédents.

Les principales sources anthropiques génératrices de polluants métalliques sont : les effluents d'extraction minière, les effluents industriels, les effluents domestiques et ruissellements orageux urbains, le lessivage des métaux en provenance des ordures ménagères, les épandages de produits phytosanitaires et de fertilisants en agriculture, les activités pétrochimiques (FAO, 2005). Le déversement de ces matériaux dans le milieu marin ou dans les eaux douces se fait soit directement (station d'épuration, sites miniers, installations industrielles) soit indirectement comme c'est le cas des décharges sèches et humides et du ruissellement agricole (Novotny, 1995 ; Kamau, 2002 ; Praveena et al, 2010).

Le tableau 1.1 résume les principales sources anthropiques de chaque ETM.

Tableau 1.1 : Sources des polluants métalliques présents dans l'environnement aquatique (Diop, 2014 modifié)

1. Les mines et les fonderies de métaux :
Terrils et résidus – contamination par lixiviation et érosion éolienne (Cd, Hg, Pb)
Résidus dispersés par les eaux – contamination des sols suite aux crues, inondations, etc. (Cd, Pb)
Transport des minerais (Cd, Pb)
Fonderie – contaminations dues aux poussières et aérosols (Cd, Pb)
Industrie du fer et de l'acier (Cu, Ni, Pb)
Traitement des eaux (Zn, Cu, Ni, Cr, Cd)
2. Les industries :
Plastiques (Co, Cr, Cd)
Textiles (Zn, Al)
Microélectronique (Cu, Ni, Cd, Zn)
Traitement du bois (Cu, Cr)
Raffineries (Pb, Ni, Cr)
3. Les retombées atmosphériques :
Sources urbaines/industrielles, dont incinérateurs et élimination des déchets (Cd, Cu, Pb)
Industries pyro-métallurgiques (Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn)
Gaz d'échappements automobiles (Mo, Pb)
Combustion des carburants fossiles (dont les centrales énergétiques) (Pb, Zn, Cd)
4. L'agriculture :
Engrais (ex : Cd, Mn et Zn dans certains engrais phosphatés)
Lisiers (ex : Cu dans des lisiers de porcs et de volailles, Mn et Zn dans certains lisiers de ferme)
Chaulage (Pb)
Pesticides (Cu, Mn et Zn dans les fongicides, Pb utilisés dans les vergers)
Eaux d'irrigation (Cd, Pb)
Corrosion des métaux (Fe, Pb, Zn)
5. Les dépôts de déchets sur les sols :
Boues d'épuration (Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn)

Percolât des décharges (Cd, Fe, Pb)

Tas de ferrailles (Cd, Cr, Cu, Pb, Zn)

Feux, cendres etc. (Cu, Pb)

Dans l'environnement aquatique, la mobilité des polluants métalliques va dépendre en grande partie de leur spéciation qui évolue en fonction des conditions physico-chimiques du milieu (Boust, 1999 ; Uré et Davison 2002). Elle conditionne non seulement le temps de séjour dans les différents compartiments du milieu, mais aussi la biodisponibilité, voire la toxicité du métal vis-à-vis de la faune ou de la flore aquatiques (Buffle, 1988; Tessier and Turner, 1995). La pollution métallique pose un problème particulier, car les métaux ne sont pas biodégradables. En outre, tout au long de la chaîne alimentaire, certains se concentrent dans les organismes vivants. Ils peuvent ainsi atteindre des taux très élevés dans certaines espèces consommées par l'homme, comme les poissons. Cette " bioaccumulation " explique leur très forte toxicité. Les effets toxiques des métaux lourds en particulier le mercure, le cadmium et le plomb ont été largement documentés (Narvaes, 2002; Castro- Gonzalez and Mendez-Armenta, 2008).

2.2.2 Les contaminants organiques

Les HAPs

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) résultent de la combustion des hydrocarbures et de leurs dérivés. Les sources naturelles productrices de HAP dans l'environnement sont la biosynthèse par des organismes vivants (Krauss et al., 2005), les incendies de forêts, les éruptions volcaniques et les filtres naturels du pétrole. Le transfert des HAP vers les zones côtières se fait par l'intermédiaire du compartiment atmosphérique et des eaux de surface.

Les HAPs sont également rejetés dans l'environnement par les activités humaines à travers les pertes à partir des transports (Ravindra et al., 2008), ou de l'utilisation des carburants fossiles, la pyrolyse des matières organiques à haute température, la combustion des charbons et pétroles (INERIS, 2014). Les HAPs sont rejetés en haute mer par le déversement des eaux de ballast des pétroliers ou accidentellement après naufrages (Marteil, 1974).

Les HAPS sont représentés de nos jours par quelques 130 molécules différentes. Parmi celles-ci, 16 sont retenues comme polluants prioritaires par l'agence américaine (USEPA, 2002). L'organisation mondiale de la santé (OMS) propose de suivre principalement 6 HAPs (tableau 1.2).

Tableau 1.2 : Liste des HAP considérés par l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 2003)

Nom	Nombre de cycles	Formule chimique
Fluoranthène	4	C ₁₆ H ₁₀
Benzo(a)pyrène	5	C ₂₀ H ₁₂
Benzo(b)fluoranthène		C ₂₀ H ₁₂
Benzo(k)fluoranthène		C ₂₀ H ₁₂
Benzo(ghi)pérylène	6	C ₂₀ H ₁₂
Indeno(1,2,3-cd)pyrène		C ₂₀ H ₁₂

La biodisponibilité des HAPs aux organismes aquatiques dépend des propriétés physico-chimiques des HAPs (solubilité dans l'eau, la pression de vapeur, le coefficient de partage octanol/eau etc.) et des propriétés physico-chimiques de leur milieu récepteur (pH, potentiel redox, température) (Ogala et Iwegbue, 2011; Ineris, 2014). La concentration des HAPs dans les organismes aquatiques dépend de la capacité de métabolisation et d'élimination de ces derniers (Livingstone, 1993). Les HAPs sont des molécules biologiquement actives qui, une fois accumulées dans les tissus organiques, se prêtent à des réactions de transformation ou de métabolisation. Les métabolites des HAPs formés peuvent s'accumuler et agir comme des procarcinogènes réactifs avec les groupements nucléophiles des macromolécules cellulaires telles que les protéines, l'ARN, l'ADN et en provoquant des dysfonctionnements des cellules (Albert et Loughlin, 2003). Par exemple, la toxicité du benzo(a)pyrène est en partie indirectement liée au pouvoir cancérigène de l'un de ses métabolites, le benzo(a)pyrène-7,8-dihydrodiol-9,10 époxyde, qui se fixe au niveau de l'ADN des cellules et entraîne des mutations pouvant, à terme, aboutir au développement d'un cancer (Albert et Loughlin, 2003). Outre leurs propriétés cancérigènes, les HAPs présentent un caractère mutagène dépendant de la structure chimique des métabolites formés. Ils peuvent aussi entraîner une diminution de la réponse du système immunitaire augmentant ainsi les risques d'infection (US Department of Health and Human Services, 2011; Bandowe et al., 2014; Cousin and Cachot, 2014).

Les PCBs

Contrairement aux contaminants métalliques et aux HAPs, la présence des PCBs dans l'environnement est uniquement d'origine anthropique (Smith et al., 2009). Les PCBs sont des produits qui ont été largement utilisés dans les industries énergétiques, dans les transformateurs électriques, dans les condensateurs et les équipements hydrauliques, les fluides hydrauliques, les fluides caloporteurs, les adjuvants des lubrifiants, les peintures, les vernis, les adhésifs et les plastiques (PNUE, 2001).

Les PCB rencontrés dans l'atmosphère proviennent de la volatilisation des PCBs présents dans les décharges non contrôlées ou non appropriées et dans les boues d'épuration, ou créés au cours de l'incinération des déchets industriels, de l'explosion et des surchauffes des transformateurs et des condensateurs électriques (INERIS, 2005). Dans les sols, les PCBs proviennent des décharges inappropriées, de l'épandage des boues d'épuration, des fuites et des écoulements accidentels provenant des appareils électriques ou des circuits hydrauliques (INERIS, 2005). Dans le milieu marin, la contamination par les PCBs résulte d'une manière générale du lessivage par les eaux de pluie des sols pollués (INERIS, 2005 ; Tolosa et al., 1995). En Afrique de l'Ouest, d'importantes sources de PCBs ont été identifiées sur le littoral (Gioia et al., 2011).

Un plan d'élimination international a été mis en place dans le cadre du protocole de Stockholm, qui prévoit pour tous les pays signataires l'engagement à ne plus produire, ni utiliser de PCB d'ici 2025. Les PCBs forment une famille de 209 congénères dérivés du biphenyle allant du monochloro au décachlorobiphenyle. Une douzaine sont considérés comme des PCBs *dioxin-like*, car leur mécanisme d'action toxique est commun avec celui de la 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-*para*-dioxine (2,3,7,8-TCDD). L'OMS a affecté à chacun de ces composés un TEF ("*toxic equivalent factor*") qui indique leur toxicité relative par rapport à la 2,3,7,8-TCDD, qui elle-même possède un TEF de 1. Parmi les PCBs, six congénères sont particulièrement retrouvés dans les produits contaminés et représentent généralement près de 50% des PCB retrouvés dans les milieux aquatiques. Ce sont les PCBs indicateurs (PCBi) et concernent les PCBs 28, 52, 101, 138, 153 et 180.

En raison de leurs caractéristiques chimiques (liposolubilité notamment) et de leur rémanence (longue durée de vie liée à leur stabilité chimique et leur très faible biodégradabilité), ces molécules peuvent se déplacer sur de très longues distances et se déposer loin des lieux d'émission (Vives et al., 2007). Ils ont tendance à se bioaccumuler et à se bioconcentrer dans les organismes vivants.

Les PCBs sont toxiques, écotoxiques et reprotoxiques (y compris à faible dose en tant que perturbateurs endocriniens). Leur dosage est utilisé pour quantifier la contamination par les PCBs des sédiments, des eaux et des organismes aquatiques (Perello et al., 2015).

2.3 Contamination et transfert des polluants dans les organismes vivants marins : Bioaccumulation et bioconcentration

Une fois dans le milieu marin, les effets des contaminants chimiques sur les organismes vivants sont très divers. Les espèces les plus immédiatement exposées sont celles qui sont en contact permanent avec le milieu contaminé (eau, sédiment) : on parle de contamination directe. Une autre voie de contamination passe par l'alimentation : c'est la voie trophique. Pour la plupart des substances, c'est la voie directe qui est prépondérante, mais pour certaines substances (comme le mercure ou le DDT) les transferts de contaminants d'une proie vers un prédateur peuvent devenir les plus importants.

Dans les environnements marins pollués ou riches en substances naturelles toxiques, les contaminants peuvent se retrouver dans les organismes aquatiques animaux ou végétaux à des concentrations supérieures aux concentrations présentes dans le milieu (Mendil et al., 2010). La concentration des substances toxiques par les organismes vivants dépend de la biodisponibilité des substances (Newman and Jagoe, 1994) qui est fonction des caractéristiques physico-chimiques du biotope (eau et sédiments) et de la physiologie des organismes exposés (INERIS, 2005). En effet dans l'écosystème aquatique, les mécanismes physiques (transport, diffusion, fixation sur particules), chimiques (dégradation, liaisons covalentes) ou encore biologiques (biodégradation bactérienne, accumulation, digestion, métabolisation) interagissent et transforment les contaminants qui deviennent plus accessibles et plus toxiques (Tusseau-Vuillemin et al., 2007 ; Gourlay-Francé et al., 2008).

En outre, la concentration des contaminants chimiques par les organismes aquatiques dépend de leur affinité vis-à-vis des sédiments et de la colonne d'eau. Les espèces aquatiques sont par exemple particulièrement sensibles aux contaminants dissous dans l'eau. L'absorption peut alors se faire par diffusion cutanée ou à travers les branchies. Chez les espèces benthiques, l'ingestion de particules adsorbées aux sédiments est une voie particulièrement importante de contamination. Du fait de l'accumulation des contaminants dans les sédiments, les organismes qui vivent en contact avec les sédiments sont plus exposés que les espèces pélagiques (Amara et al., 2007; Kerambrun et al., 2012). La bioaccumulation s'exprime par des ratios entre la concentration du contaminant étudié dans l'organisme et la concentration dans le milieu (sédiments/eau). Il s'agit du facteur de

bioaccumulation ou Bioaccumulation Factor (BAF) et du facteur de bioconcentration ou Bioconcentration Factor (BCF) (Rashed, 2001). Ces deux facteurs ont été calculés dans cette étude pour évaluer la capacité de concentration des contaminants métalliques des différentes espèces étudiées.

Les facteurs de bioconcentration et de bioaccumulation varient suivant les organes d'un même individu. Ces différences existent selon la nature de la barrière à franchir (peau, branchies, paroi intestinale...), de la taille des molécules et de la physiologie de l'organe. Les contaminants métalliques comme le cadmium sont facilement absorbés par le tractus gastro-intestinal et tendent à être persistants puisqu'ils s'accumulent dans les organes, surtout dans le foie et le rein en se liant aux résidus de cystéine des protéines et plus particulièrement aux métalloprotéines (Brillant, 1993). La présence de certains ligands, comme la métallothionéine, qui joue le rôle de séquestration et de détoxification de certains métaux tels que le Cu, le Cd et le Zn (Engel et Roesijadi, 1987) fait du foie un meilleur témoin de l'accumulation en métaux que le muscle (Ploetz et al., 2007; Uysal et al., 2009). Cette capacité du foie à concentrer plus de contaminants que les autres organes, fait du foie l'organe le plus utilisé dans les suivis de la contamination chimique des organismes aquatiques.

2.4 Variation d'accumulation de contaminants entre espèces : Notion d'espèce sentinelle

En règle générale, plus un élément est concentré dans l'environnement, plus il l'est dans les organismes (Chiffolleau, 2003). Cependant, il existe d'importantes différences selon les espèces et les types de contaminants. Les organismes vivants concentrent les métaux beaucoup plus que dans leur milieu. Mais l'analyse des transferts met en évidence une hiérarchie entre les espèces, classées selon leur propension à concentrer les contaminants. Cette exposition dépend du comportement biogéochimique des contaminants, du compartiment considéré (eau, sédiments), du mode d'alimentation des espèces et de leur place dans le réseau trophique. Les mollusques et crustacés, et dans une moindre mesure, les algues et les poissons sont d'excellents « capteurs de polluants » (Misheer et al., 2006; Kontas, 2012; Turkmen, 2012). Les mollusques sont aujourd'hui largement utilisés dans les programmes de surveillance de la pollution des milieux aquatiques (Conti et Cecchetti, 2003). Des programmes de surveillance de type "mussel watch" sont mis en application dans de nombreux pays (O'Connor et Lauestein, 2006). Par exemple, les mollusques filtreurs de l'estuaire de la Seine ont la propriété de concentrer certaines molécules présentes dans l'environnement aquatique, avec un facteur de concentration de l'ordre de 10 000 à 100 000 suivant la molécule et l'espèce (RNO, 2003). Henriques et al. (2015) ont montré que l'algue verte, *Ulva*

lactuca est capable de concentrer d'importante concentration de mercure présent dans l'eau de mer. Pour cette raison, *U. lactuca* est utilisée fréquemment comme espèce sentinelle dans l'évaluation de la pollution (Doshi et al., 2008; Turner et al., 2012 ; Schuhmacher et al., 1993 ; Misheer et al., 2006). L'utilisation des poissons et des crustacés dans l'évaluation et le suivi des contaminants est beaucoup moins systématique. L'échantillonnage, l'interprétation des données et les facteurs biologiques sont les principales raisons (OSPAR, 2012; Loizeau et al., 2001).

Ainsi, en fonction de la nature des contaminants, la concentration dans les organismes varie suivant les espèces (Pérez-Cadahía et al., 2004). Les mollusques et les crustacés ont la capacité de réguler les éléments essentiels comme le cuivre (Rainbow, 2002) mais ne possèdent pas de mécanismes pour réguler leur teneur en arsenic (Rainbow, 1998). De ce fait, les teneurs en arsenic dans ces espèces reflètent bien les niveaux de contamination du milieu par cet élément.

Les espèces utilisées dans l'évaluation de la pollution de l'environnement doivent satisfaire un certain nombre de critères (Philipps, 1980 ; OSPAR, 2012). Ainsi, elles doivent:

- refléter les évolutions des teneurs en contaminant dans le milieu environnant;
- présenter des coefficients de bioconcentration analogues dans toute la zone maritime pour une espèce donnée ;
- accumuler le contaminant sans pour autant être gravement touchées par les teneurs présentes dans le milieu marin;
- être représentatives de la zone étudiée;
- être abondantes dans l'ensemble de la zone à l'étude;
- être d'une taille raisonnable, permettant d'obtenir des quantités adéquates de tissus pour les analyses chimiques.

2.5. Risques sanitaires liés à la consommation des produits de la mer

Les organismes aquatiques constituent des vecteurs d'apport non négligeables en cadmium, plomb, méthylmercure (MeHg), PCB, dioxines/furanes (PCDD/F) et les poly-bromodiphényle éthers (PBDE) vers l'homme (ANSES, 2010). Ces contaminants sont pour la plupart néphrotoxiques, génotoxiques, cancérigènes et parfois mortels (Zweig et al. 1999; Taweel et al. 2013; Iqbal and Shah 2014). La forte concentration de ces composés toxiques peut conduire à des catastrophes, comme dans le cas du syndrome de l'île de Guam et de la maladie de Minamata qui a touché des milliers d'humains ; morts ou gravement empoisonnés par du mercure. La consommation de poissons

constitue la principale source d'exposition alimentaire de l'homme au méthylmercure (Driscoll et al. 2013).

Les poissons, les crustacés et les mollusques, sont les principaux vecteurs des contaminants chimiques vers l'homme avec pour conséquence une crainte du consommateur pour sa santé et une perte de confiance de la qualité des produits qui lui sont proposés. L'étude et la prise en compte de ces contaminants sont devenues des priorités pour les gouvernements et les gestionnaires à cause des connaissances accrues sur l'impact de ces polluants sur la santé de l'homme. Pour réduire les risques liés à ces contaminants à travers la consommation des produits halieutiques, plusieurs normes ont été établies par l'union européenne (EC, 488/2014; 1005/2015; 629/2008) pour le Cd, le Pb et le Hg respectivement, (EC, 1327/2014) pour les HAPs et (EC, 714/2015) pour les PCBs dans les poissons et les produits d'origine halieutique (Tableau 1.3).

Tableau 1.3 : Teneurs maximales admissibles pour quelques produits de la pêche

Contaminants		Maximum admissible (poids frais)						References
		<i>Penaeus</i>	<i>Perna</i>	<i>Sardinella</i>	<i>Solea</i>	<i>Mugil</i>	<i>Tilapia</i>	
Métaux (mg/kg)	<i>Cd</i>	0,5	1	0,25	0,05	0,05	0,05	UE N° 488/2014
	<i>Pb</i>	0,5	1,5	0,3	0,3	0,3	0,3	UE N° 1005/2015
	<i>Hg</i>	0,5	0,5	0,5	0,5	1	0,5	UE N° 629/2008
PAHs (mg/kg)	<i>BaP, BaA, BbF, Chr</i>	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	UE N° 1327/2014
PCBs (mg/kg)	<i>28, 52, 101, 138, 153, 180</i>	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	UE N° 704/2015

Si dans certains pays des efforts constants sont menés à travers des programmes pour contrôler les émissions de ces contaminants dans les milieux aquatiques, dans les pays sous-développés comme le Sénégal, même si la volonté existe, les efforts consentis sont moindres par rapport aux risques que peuvent engendrer ces substances. Actuellement, il existe au Sénégal plusieurs projets sur la restauration de la mangrove, la lutte contre l'érosion côtière, la conservation de la biodiversité, la dépollution industrielle de la baie de Han à Dakar, mais peu d'études se sont réellement focalisées sur les niveaux de contamination dans ces zones (Bodin et al., 2011; 2013). Les données concernant

la pollution du milieu marin sont insuffisantes et les risques encourus par la population par la consommation des produits de la mer méconnus.

Pourtant, du fait de la richesse de ses eaux, chaque année plus de 400 000 tonnes de produits halieutiques sont débarquées couvrant plus de 75% des besoins en protéines animales de la population.

Le littoral sénégalais reçoit actuellement une quantité importante de rejets. Ce phénomène est dû à une multiplication des usines (métallurgiques, minières, raffineries, cimenteries, alimentaires) le long des côtes et l'accroissement démographique des villes côtières et surtout un manque cruel de stations d'épuration. La quantité d'eaux usées rejetées chaque année s'élève à plus de 67 millions de m³ dont une partie seulement subit un traitement avant rejet à la mer. Les impacts potentiels de cette pollution sont une accumulation de ces polluants dans les ressources aquatiques avec des conséquences néfastes pour la faune et la flore aquatiques et pour la population sénégalaise fortement tributaire de ces ressources.

3. La fraîcheur du poisson

La fraîcheur et la qualité des produits aquatiques sont au centre des préoccupations des professionnels de la filière des produits aquatiques et des consommateurs. La fraîcheur est l'indicateur de qualité des produits de la mer le plus important. L'autolyse et l'altération microbienne conduisent à une dégradation de la qualité des filets de poisson. Plusieurs méthodes ont été développées pour évaluer l'autolyse et l'altération microbienne. Ces méthodes sont fondées sur des critères chimiques, physiques, microbiologiques et enzymologiques. De nos jours peu de méthodes permettent de mesurer avec précision l'état de fraîcheur des filets de poisson et encore moins de différencier un filet frais d'un filet décongelé.

Pour évaluer la qualité-fraîcheur du poisson, il est plus judicieux d'étudier les phénomènes précoces qui interviennent dès les premières heures qui suivent la mort de l'animal. L'altération du poisson débute par une rupture des membranes des myotomes s'accompagnant d'une libération du contenu cellulaire dans le milieu extracellulaire.

3.1 Les changements post-mortem influençant la fraîcheur du poisson

3.1.1 Structure et composition des muscles de poissons.

Chez les poissons, le tissu musculaire occupe une part importante de la masse totale. Les fibres musculaires sont constituées de cellules multinucléées formées par fusion de plusieurs myoblastes.

La cellule musculaire est l'unité fonctionnelle du tissu musculaire du poisson. Elle est délimitée par une gaine de tissu conjonctif appelé sarcolemme entourant le sarcoplasme. Le sarcoplasme est constitué du hyaloplasme (cytosol) et d'organites cellulaires. Parmi les organites, on peut distinguer la mitochondrie (siège de la synthèse de l'ATP), le noyau, le réticulum endoplasmique et les lysosomes (riches en enzymes lytiques). Le cytosol contient également de nombreuses protéines (structurales : myofibrilles ; protéines enzymatiques : calpaïnes, Lactate déshydrogénase etc.).

La proportion des constituants du muscle varie considérablement d'une espèce et d'un individu à l'autre selon l'âge, le sexe, son activité, l'environnement et la saison. Les variations de la composition chimique du poisson sont étroitement liées à son alimentation, aux déplacements migratoires et aux changements sexuels en rapport avec la ponte (Ahmed et al., 2015).

Les protéines sont des constituants cellulaires qui jouent un rôle important dans la texture et la structure du tissu. Ces protéines sont constituées principalement de filaments d'actines et de myosines. Les filaments de myosine représentent 50 à 60% des protéines myofibrillaires et contribuent au maintien de l'intégrité structurale et à la résistance du muscle (Huff Lonergan et al., 2010), tandis que les filaments d'actine représentent 15 à 30% des protéines musculaires (Hultin, 1984). Contrairement à la fraction lipidique qui subit des variations importantes, la fraction protéique est plutôt constante dans la plupart des espèces. Des variations ont été observées sur la réduction en protéines se produisant chez le saumon pendant les longues migrations (Ando et al., 1986 ; Ando et Hatano, 1987) et chez le cabillaud de la Baltique pendant la saison de ponte qui, pour cette espèce, s'étend de Janvier à Juin/Juillet (Borresen, 1992).

La variation de la composition musculaire des poissons pourra influencer l'altérabilité de ces muscles.

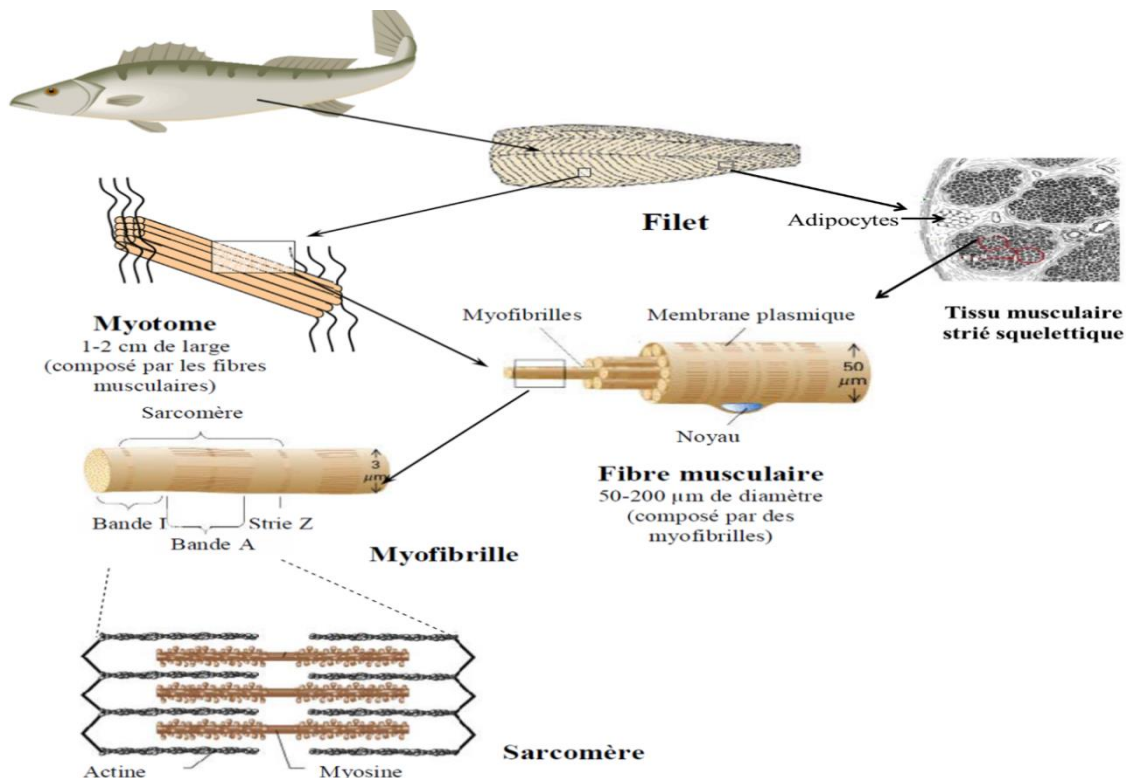


Figure 1.2 : Schématisation de l'organisation du muscle de poisson (Chéret, 2005 modifié)

3.1.2 Altération du filet de poisson

L'altération du poisson peut être définie comme étant les changements non acceptables se produisant dans le muscle du poisson *post-mortem* (Mukundan, 1986).

Elle peut être divisée en deux types : l'altération autolytique (Mukundan, 1986) et l'altération bactérienne (Macé et al., 2013). L'autolyse correspond à l'autodégradation des constituants du muscle et de la peau par des enzymes endogènes. L'altération bactérienne concerne l'ensemble des constituants du muscle. La multiplication microbienne est la principale cause d'altération, elle n'apparaît qu'après un début de perméabilisation cellulaire (Mukundan, 1986). L'autolyse est précoce et commence après la résolution de la rigidité cadavérique. L'autolyse entraîne une lyse des membranes cellulaires suivie d'une libération du contenu intracytoplasmique. Ces processus dégradent le goût et la saveur du poisson et promeuvent des changements de pH, de couleur, de texture et de composition nutritionnelle du poisson. Les changements sensoriels *post-mortem* observés sur les filets proviennent de changements biochimiques et cellulaires profonds.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à la qualité-fraîcheur du poisson donc aux phénomènes précoces qui se produisent dès les premiers jours après l'abattage du poisson. Nous nous focaliserons sur l'altération autolytique en présentant les différents phénomènes impliqués

dans l'autolyse et en décrivant les différentes méthodes d'évaluation de la fraîcheur existantes. Les premiers changements qui se produisent dans le muscle de poisson post-mortem sont dus à l'activité des enzymes endogènes favorisant la protéolyse des protéines musculaires et du tissu conjonctif, à l'hydrolyse des graisses (Bonilla et al., 2007 ; Ölafsdotir et al., 1997) et à l'hydrolyse des acides nucléiques.

L'hydrolyse des constituants cellulaires va contribuer directement ou indirectement à la lyse des membranes cellulaires du muscle post-mortem (Ahmed et al., 2015 ; Lee and Steinert, 2003).

La vitesse et l'ampleur de l'altération autolytique dépendent en grande partie du nombre de cellules lysées et donc de la quantité d'enzymes libérées. Cependant, la mesure de la quantité d'enzymes libérées pourra être utile dans l'évaluation de l'état de fraîcheur de ces muscles.

3.1.2.1 Altération protéolytique

On distingue deux systèmes protéolytiques endogènes majeurs : le système lysosomal (cathepsine) et l'activité des calpaïnes (Sentandreu et al. 2002). Ces protéases vont participer directement ou indirectement à l'hydrolyse des protéines des filets et plus particulièrement au complexe actine-myosine (Goll et al. 2008 ; Ladrat et al. 2003).

Protéolyse associée aux enzymes lysosomales

Les lysosomes des cellules de poissons contiennent plus de 60 enzymes hydrolytiques (Martinez et al., 1990). Ces enzymes présentes sous formes inactives sont capables lorsqu'elles sont activées de digérer tous les composants cellulaires comme les lipides, les glucides, les protéines, les acides nucléiques etc. (Mukundan, 1986 ; Martinez et al., 1990).

Les lysosomes des muscles de poissons sont riches en enzymes protéolytiques spécialement en cathepsines et en protéases. La distribution des cathepsines varie suivant les espèces de poisson, entre les individus d'une même espèce et suivant les tissus (Yamashita et Konagaya, 1992 ; Aoki et Ueno, 1997). L'activité de ces cathepsines augmente régulièrement avec la durée de stockage post mortem (Gaarder et al., 2012). La baisse du pH et la forte concentration des ions hydrogènes (Ahmed et al., 2015 ; Wang et al., 2011) dans le milieu intracellulaire provoquent la rupture des membranes des lysosomes suivie d'une libération dans le cytosol des cathepsines et d'autres enzymes hydrolytiques. Les lysosomes des poissons présentent 13 classes de cathepsines notamment les cathepsines A, B, C, D, H et L. Parmi ces dernières, les cathepsines B, D H et L jouent un rôle important sur l'altération des protéines fibrillaires du muscle post-mortem. La plupart des cathepsines sont des endoprotéases, mais la cathepsine B présente une forte activité

carboxypeptidase alors que la cathepsine H montre une activité aminopeptidase forte et une activité endopeptidase limitée. L'activation de ces protéases ou leurs actions synergiques provoquent l'hydrolyse des protéines myofibrillaires suivie d'un ramollissement de la chair du poisson post-mortem (Bahuaud et al., 2010). L'activité *in vivo* des cathepsines B, H et L est régulée par la cystatine (Ahmed et al., 2015). L'activité des cathepsines sur l'évolution du muscle post mortem du poisson a été bien documentée durant les dix dernières années (Ayala et al., 2005 ; Hultmann et Rustad, 2007 ; Chéret et al., 2007 ; Bahuaud et al., 2008 ; Bahuaud et al., 2010 ; Gaarder et al., 2012 ; Ahmed et al., 2013 ; Lerfall et al., 2015 ; Ahmed et al., 2015). Les cathepsines B, D, H et L sont hautement activées une fois libérées dans un milieu acide. Les cathepsines B, H et L peuvent être activées de façon irréversible à pH supérieur à 7. Ces cathepsines activées vont initier une cascade de réactions aboutissant à la protéolyse des protéines myofibrillaires du muscle *post mortem* (Aoki et Ueno, 1997 ; Yamashita et Konagaya, 1990). La vitesse et l'ampleur de l'action des cathepsines sur la structure du muscle dépendent du pH, de la température et de la durée de conservation.

Dans la cellule musculaire du poisson, la protéolyse des composants du cytosquelette entraîne la dégradation des myofilaments (Ayala et al., 2010 ; Olsen et Hermansson, 1996) suivie d'un détachement entre les myofibrilles. Le myotome se désintègre et conduit avec l'augmentation de la pression osmotique, à la lyse cellulaire. La lyse de la cellule s'accompagne d'une libération des enzymes cytosoliques et des enzymes contenues dans les organites cellulaires. La quantité d'enzymes libérées est fonction du niveau de lyse cellulaire et donc de l'état de fraîcheur. Parmi les enzymes libérées, il y a les enzymes mitochondriales comme la β -hydroxyacyl-CoA déshydrogénase ou HADH, la L-malate-NADP-oxydoréductase ou enzyme malique, l'aspartate-aminotransférase, la glutamate oxaloacetate transaminase, la lipoamide-réductase, le cytochrome C-oxydase etc., les enzymes cytosoliques comme la lactate déshydrogénase, les calpaïnes (Gaarder et al., 2012), les enzymes lysosomiques comme la α -glucosidase, la β -N-acetylglucosamidase, la phosphatase acide, la β -galactosidase, la β -glucuronidase (Duflos et al., 2002 ; Alberio et al., 2014) et les cathepsines (Bahuaud et al., 2008 ; Bahuaud et al., 2010 ; Ahmed et 2015).

Yamashita et Konagaya (1990) ont montré que l'activité protéolytique de la cathepsine L est fortement corrélée avec la rupture des membranes cellulaires du muscle frais ($r = 0,86$) et du muscle décongelé ($r = 0,95$). Il est intéressant de signaler ici que l'activité de la cathepsine L est plus importante dans un muscle décongelé que dans un muscle frais. Autrement dit, la libération d'enzymes sous l'action de la cathepsine L est plus importante dans un muscle décongelé que dans

un muscle frais. La libération d'enzymes associée à la rupture des membranes, suite au choc congélation-décongélation, pourrait-elle être utilisée pour différencier un filet frais à un filet décongelé ?

Protéolyse associée aux calpaïnes

Les calpaïnes sont des protéases à cystéines non-lysosomales présentes dans le cytosol. Contrairement aux cathepsines, l'activité autoprotéolytique des calpaïnes est optimale à pH neutre et est dépendante du calcium (Gaarder et al., 2012). Le système ubiquitaire de la calpaïne est composé de micro et de milli-calpaïnes (μ -calpaïne et m-calpaïnes) et d'un inhibiteur endogène, la calpastatine. Ces deux isoformes présentent des propriétés biochimiques similaires à l'exception de leur exigence en calcium. In vitro, l'activation des μ -calpaïnes requiert des teneurs faibles en ions calcium (de l'ordre du μ M) alors que l'activation des m-calpaïnes nécessite des teneurs plus élevées en ions calcium (de l'ordre du mM). Lorsque ces calpaïnes sont exposées à des quantités suffisantes de calcium (libérées par le réticulum endoplasmique lors des processus glycolytiques), elles migrent vers la membrane cellulaire et s'activent, provoquant l'autolyse de la cellule.

La calpastatine est le seul inhibiteur spécifique des calpaïnes (Ciobanu et al., 2004 ; Saito et al., 2007). Kristensen et al., (2002) ont montré que la tendreté du muscle post-mortem est inversement proportionnelle à l'activité de la calpastatine. Plusieurs auteurs montrent une action synergique des calpaïnes et des cathepsines sur l'autolyse des protéines myofibrillaires des mammifères (Goll et al., 1998). Dans le muscle des poissons, le rôle de la calpaïne sur la tendreté du filet n'est pas bien élucidé à nos jours (Bahuaud et al., 2010).

Protéolyse associée à d'autres systèmes protéolytiques

Le collagène est l'un des constituants majoritaires du tissu conjonctif des muscles de poisson (Masniyom, 2011). La dégradation du collagène conduit à des changements texturaux du muscle de poisson. Ces fibrilles se détériorent pendant la conservation au froid (Sriket et al., 2010). Des mesures instrumentales de la texture du muscle de la truite réfrigérée ont montré que des modifications de texture de la chair étaient associées à la solubilisation du collagène de type V (Sato et al., 1997). La protéolyse *post mortem* du collagène par des collagénases semble contribuer aux variations de texture des filets de nombreuses espèces de poisson (Ando et al., 1995). Par contre, les collagènes de type I ne sont pas dégradés durant le stockage à froid du filet de sébaste, mais la dégradation est rapide et complète à des températures comprises entre 15 et 20°C (Masniyom, 2011).

L'augmentation de la solubilité du collagène des filets de merlu durant la congélation a été associée à l'augmentation de la tendreté (Masniyom, 2011).

L'hydrolyse des collagènes peut être liée à des enzymes endogènes comme la trypsine et la chymotrypsine (Chéret, 2005). Ces protéases provoquent une désagrégation progressive des protéines du collagène conduisant à la séparation des fibres musculaires et donc à un ramollissement de la chair. Il a été démontré que les modifications de la texture de la chair sont essentiellement liées à une hydrolyse des fibres de collagène suite à une accumulation d'acide lactique issu de la glycolyse post-mortem (Montero et Borderias, 1990). Hernandez-Herrero et al. (2003) ont conclu que les modifications de texture du filet de poisson post mortem sont davantage liées aux changements structuraux des fibres de collagène qu'aux changements des protéines myofibrillaires.

La texture comprend les caractéristiques les plus communes telles que la dureté, l'élasticité et la masticabilité du filet. La mesure de la texture peut être utilisée pour déterminer les changements structuraux du muscle du poisson *post mortem*. Les instruments utilisés sont des texturomètres (Ojagh et al., 2013). La mesure de la texture du muscle du poisson entier est difficile à réaliser du fait que le muscle est très hétérogène dans sa structure, ce qui peut rendre difficile la standardisation de la taille des échantillons. La texture du muscle du poisson peut également être abordée par l'étude de la microstructure du muscle du poisson. Plusieurs techniques sont disponibles pour mesurer la microstructure : la microscopie optique, la microscopie confocale à balayage laser, la microscopie électronique à balayage et la microscopie électronique à transmission (Debarre, 2006).

Les changements de structure du muscle du poisson peuvent être déterminés en mesurant ses propriétés électriques. Trois instruments différents sont utilisés pour déterminer les propriétés électriques du muscle du poisson : le torrymètre, l'intellectron Fishtester VI et le RT-freshtester Grader. Ces instruments donnent des réponses immédiates et leur utilisation ne nécessitent pas beaucoup de qualifications (Olofdotir, 2006). Par contre, ces méthodes ne peuvent pas être utilisées sur du poisson décongelé ou sur du poisson qui a été conservé dans de l'eau de mer réfrigérée.

Les changements des propriétés spectrales des poissons frais peuvent être mesurés par des méthodes spectroscopiques. Ces méthodes de mesure sont devenues importantes dans le contrôle de la qualité en industries alimentaires. Les méthodes spectroscopiques fournissent des résultats rapides et elles peuvent être utilisées pour l'évaluation simultanée de plusieurs paramètres. Ces méthodes sont pour le moment insuffisantes pour caractériser pleinement les propriétés du poisson frais. Le développement dans l'instrumentation et les techniques utilisées pour évaluer les données spectrales

sont susceptibles de faciliter la collecte de plus d'informations sur les caractéristiques des poissons (Daher, 2012).

Bien qu'il existe de nombreuses mesures physiques différentes qui fournissent des informations sur les paramètres relatifs à la fraîcheur du poisson, aucun de ces procédés n'est capable de déterminer sans ambiguïté si un poisson est frais ou non encore moins de faire la différenciation entre un filet frais et un filet décongelé.

3.1.2.2 Altération des lipides

Suivant les teneurs en lipides, les poissons sont classés en espèces maigres et en espèces grasses. Les espèces maigres emmagasinent les graisses dans le foie tandis que les espèces grasses conservent les lipides dans des cellules spécialisées réparties dans d'autres tissus du corps. La teneur en lipides des filets de poisson maigres (comme le cabillaud, le lieu noir et le merlu) est basse et stable alors que la teneur en lipides des espèces grasses (comme le hareng, le maquereau et le sprat) est extrêmement variable (Boerresen et al., 1999). En revanche, chez les espèces intermédiaires comme la daurade royale (*Sparus aurata*), le compartiment lipidique du tissu musculaire est d'une remarquable plasticité (Médale, 2009). La teneur réelle en lipides a des conséquences sur les caractéristiques techniques du muscle post-mortem du poisson qu'il soit gras ou maigre.

L'une des principales réserves lipidiques est localisée dans les tissus adipeux où prédominent les triacylglycérols, les phospholipides et les stérols (Sheridan, 1988 ; Leaver et al., 2008). Ces tissus localisés au niveau périsvical, abdominal, intermusculaire et sous-cutané (dorsal et ventral) (Fauconneau et al., 1990) sont constitués en grande partie d'adipocytes. Les adipocytes se présentent sous des formes plus ou moins sphériques avec des diamètres d'environ 80 μm (Comley et Fleck, 2010). Le noyau des adipocytes est excentré et le cytoplasme est composé d'une ou de plusieurs gouttelettes lipidiques (réserve de triglycérides). Ces volumineuses cellules sont séparées par une mince couche de matrice extracellulaire (MEC) contenant quelques fibres de collagène de type III et de nombreux capillaires sanguins (Fauconneau et al., 1990). Les adipocytes sont des cellules incolores groupées souvent en amas ou dispersées dans le tissu conjonctif banal lâche. Ce sont des cellules très fragiles mais facilement extractibles.

Dans le muscle post-mortem, les lipides se dégradent principalement de deux façons : par hydrolyse et par oxydation.

Oxydation des lipides

Dans la chair des poissons, la forte concentration des acides gras polyinsaturés facilite les réactions d'oxydation des lipides durant la conservation (Masniyom, 2011). Outre une forte concentration en acides gras insaturés, la présence de pigments d'hème et d'ions métalliques dans les produits de la mer conduit à l'oxydation des lipides. Chez les espèces pélagiques comme le maquereau et le hareng qui présentent des teneurs élevées en graisses stockées dans la chair, l'oxydation est la principale cause de détérioration et d'altération des lipides (Fraser et Sumar, 1998). L'oxydation des lipides est un mécanisme qui implique la participation de radicaux libres. Elle se déroule en trois étapes: l'initiation, la propagation et la terminaison (Frankel, 1984; Khayat et Schwall, 1983). L'initiation débute quand les lipides insaturés perdent un atome d'hydrogène impliquant la formation de radicaux libres lipidiques. Elle est catalysée par la chaleur, les ions métalliques et par l'irradiation. Ces radicaux libres réagissent avec l'oxygène pour former des radicaux libres peroxydes instables. Au cours de la propagation, les radicaux peroxydes réagissent avec d'autres molécules d'acides gras pour former des hydroperoxydes et un nouveau radical libre (Fraser et Sumar, 1998; Hultin, 1994). La terminaison se produit quand ces radicaux libres qui s'accumulent s'interagissent pour former des produits non radicalaires. L'oxydation implique généralement la réaction de l'oxygène avec les doubles liaisons des acides gras. L'oxygène moléculaire doit être activé afin de permettre à l'oxydation de se produire (Hultin, 1994). Durant les stades avancés de l'oxydation des lipides, l'altération des hydroperoxydes génère des carbonyles et alcools composés de faible poids moléculaire qui pourraient conduire à des changements dans la qualité nutritionnelle, affectant la couleur, la texture, la saveur et l'odeur. Les produits d'oxydation des lipides formés ont la capacité à réagir avec les composés protéiques. Les produits formés durant ces réactions sont des pigments jaunes (Masniyom, 2011). Chez la seiche, ces changements de couleurs sont accompagnés d'un développement d'odeurs de rance durant la conservation (Tanonkaew et al., 2006). Thiansilakul et al., (2010) ont montré que les mauvaises odeurs qui se développent dans le loup de mer (*Lates calcarifere*) et dans le tilapia (*Oreochromis niloticus*) sont corrélées avec l'oxydation des lipides sur une durée de 15 jours de stockage sur glace. Ils ont constaté que l'ajout d'acides, qui abaissent le pH, peut accélérer l'oxydation des lipides grâce à l'Hb désoxygénée.

L'oxydation des lipides peut être mesurée en dosant la quantité d'oxygène consommée avec une électrode à oxygène (Hultin et al., 1994) tandis que la perte d'acides gras et les antioxydants peuvent être mesurés en utilisant une chromatographie en phase gazeuse (GC) et une chromatographie liquide haute performance (HPLC) (Erickson, 1993). La mesure de l'indice de peroxyde (IP) est le plus souvent utilisée pour évaluer le degré d'oxydation des lipides. Les méthodes utilisées sont la

chromatographie et la spectrophotométrie. Les produits secondaires de l'oxydation des lipides sont principalement les aldéhydes et les cétones qui sont des produits volatils. Ces produits volatils peuvent être mesurés en utilisant une GC et par une analyse sensorielle. Les tests des substances réactives de l'acide thiobarbuturiques (TBARS) (Wang et al., 2014) sont utilisés pour mesurer les aldéhydes formés par des méthodes colorimétriques.

Toutes ces méthodes sont utilisées dans la recherche, mais peu d'entre elles sont applicables en routine.

Hydrolyse des lipides

Chez les poissons, l'hydrolyse des lipides peut se produire par voie enzymatique ou non enzymatique. L'hydrolyse enzymatique des graisses par les lipases est appelée « lipolyse ». Au cours de ce processus, les lipases hydrolysent les triglycérides en acides gras libres, responsables de la saveur et du rancissement observés dans le muscle post-mortem (Huis in't Veld, 1996). Hwang et Regenstein (1993) ont rapporté que les acides gras libres et le 1, 2- diacylacylglycérol de la chair du maquereau hachée, augmentent pendant le stockage à 2-3 °C après 15 jours de stockage. Les enzymes impliquées sont les lipases présentes dans la peau, le sang et les tissus. Les principales lipases impliquées sont : le triacyl lipase, la phospholipase A2 et la phospholipase B (Audley et al, 1978).

Les acides gras formés interagissent avec les protéines sarcoplasmiques et myofibrillaires provoquant leur dénaturation (Anderson et Ravesi, 1969; King et al., 1962).

3.1.2.3 Altération des acides nucléiques et des nucléotides

Altération des acides nucléiques (ADN, ARN)

L'autolyse du filet de poisson conduit également à l'altération des acides nucléiques comme l'ADN et l'ARN sous l'effet des enzymes hydrolytiques. Un ensemble de processus contribue à la dégradation de l'ADN. Le principal phénomène de dégradation de l'ADN est d'origine enzymatique. Les enzymes endogènes (autolyse) et les enzymes microbiennes participent à cette dégradation (Marchuk et al., 1998)

Les endonucléases notamment les désoxyribonucléases vont agir sur l'ADN en le clivant et conduisent à la libération d'oligonucléosomes. Chez l'Homme, la quantité d'oligonucléosomes varie avec la durée de conservation *post-mortem* (Nzengue, 2007). Dans les premiers stades *post mortem*, l'importance de la dégradation enzymatique de l'ADN dépend d'un certain nombre de facteurs : du tissu, (rein, foie) et des facteurs physico-chimiques (présence de cations divalents, pH,

humidité, température) (Vass, 2001). Contrairement à l'ADN, l'ARN est très instable et il se dégrade rapidement après la mort sous l'action des ribonucléases activées par les protéases lysosomiques (Terova et al., 2011 ; Seear et Sweeney, 2007). Cependant des études sur la stabilité de l'ARN du muscle post mortem du bœuf (Fitzpatrick et al., 2002), du porc (Malik et al., 2003), du lapin (Marchuk et al., 1998) et du rat (Wetzel et al., 1994) ont montré que les ARN sont relativement stables à la température ambiante entre 24 et 48h après la mort. L'intégrité des ARN du muscle squelettique du poisson post mortem a été étudiée chez le bar (*Decentrarchus labrax*) (Bahuaud et al., 2010 ; Terova et al., 2011 ; Seear et Sweeney, 2008). Ces auteurs montrent l'influence de la température sur le niveau d'altération des ARN. Les ARN du muscle de poisson post mortem peuvent aussi être altérés par les ribonucléases bactériennes (Terova et al., 2011).

Dégradation de l'ATP et formation des dérivés de l'ATP

La figure 1.4 illustre la dégradation de l'ATP pour former l'adénosine diphosphate (ADP), l'adénosine monophosphate (AMP), l'inosine monophosphate (IMP), l'inosine (Ino), l'hypoxanthine (Hx), la xanthine (HxR) et l'acide urique (Au). Les enzymes qui interviennent dans ce processus sont l'ATP-ase, la myokinase, l'AMP-désaminase, l'IMP-phosphohydrolase, la nucléoside phosphorylase; l'inosine nucléosidase et la xanthine oxydase (Gill, 1992). La dégradation des catabolites de l'ATP s'effectue de la même manière dans la plupart des poissons, mais la vitesse de chaque réaction individuelle (d'un catabolite à l'autre) varie beaucoup d'une espèce à l'autre. La voie de dégradation de l'ATP conduisant à l'inosine est entièrement due aux enzymes autolytiques tandis que la conversion de l'inosine en hypoxanthine est accélérée par la nucléoside phosphorylase bactérienne (Surette, 1987). Les catabolites de l'ATP caractéristiques de l'autolyse sont l'ADP, l'AMP, l'IMP et l'Ino. Les autres catabolites sont plutôt des produits d'altération.

Ces nucléotides sont impliqués dans le développement de certaines saveurs. Le goût amer du poisson est lié aux teneurs élevées en Hx (Tikk et al., 2006) tandis que l'IMP est responsable du goût recherché du poisson frais qui n'existe que dans les produits de la mer de première qualité (Aristoy et Toldrà, 2009). Aucun des catabolites de nucléotides n'est considéré comme ayant un rapport avec les changements perceptibles sur la texture pendant le processus autolytique excepté bien sûr l'ATP dont la perte est associée à la *rigor mortis*. Saito et al., (1959) sont les premiers à utiliser les catabolites de l'ATP pour mesurer l'état de fraîcheur du poisson. C'est ainsi qu'ils ont développé une formule pour la fraîcheur du poisson basée sur ces changements autolytiques :

$$K\% = \frac{[Ino] + [Hx]}{[ATP] + [ADP] + [AMP] + [IMP] + [Ino] + [Hx]} \times 100$$

où [ATP], [ADP], [AMP], [IMP], [Ino] et [Hx] représentent les concentrations relatives de ces composants dans le muscle du poisson, mesurées à différentes périodes pendant la conservation. Le paramètre K ou indice de "fraîcheur" donne une estimation de fraîcheur relative basée principalement sur les altérations autolytiques qui se produisent pendant la conservation *post mortem* du muscle. La fraîcheur est proportionnelle à cet indice ; plus la valeur de K est élevée, plus le niveau de fraîcheur est bas. Ce facteur ne peut pas être appliqué pour certaines espèces comme le cabillaud d'Atlantique qui atteignent une valeur maximale de K de loin supérieure à la durée de conservation. La variation du facteur K en fonction des espèces de poisson est due d'une part par la variation du taux d'accumulation de l'hypoxanthine entre les espèces au cours du temps (Fraser et al., 1967). L'accumulation rapide de Hx dépend de la vitesse de dégradation de l'ATP qui est dépendante de l'activité de l'ATPase. L'activité de l'ATPase est optimale à pH 6 et est calcium-dépendant comme les calpaïnes (Gill et al., 2000).

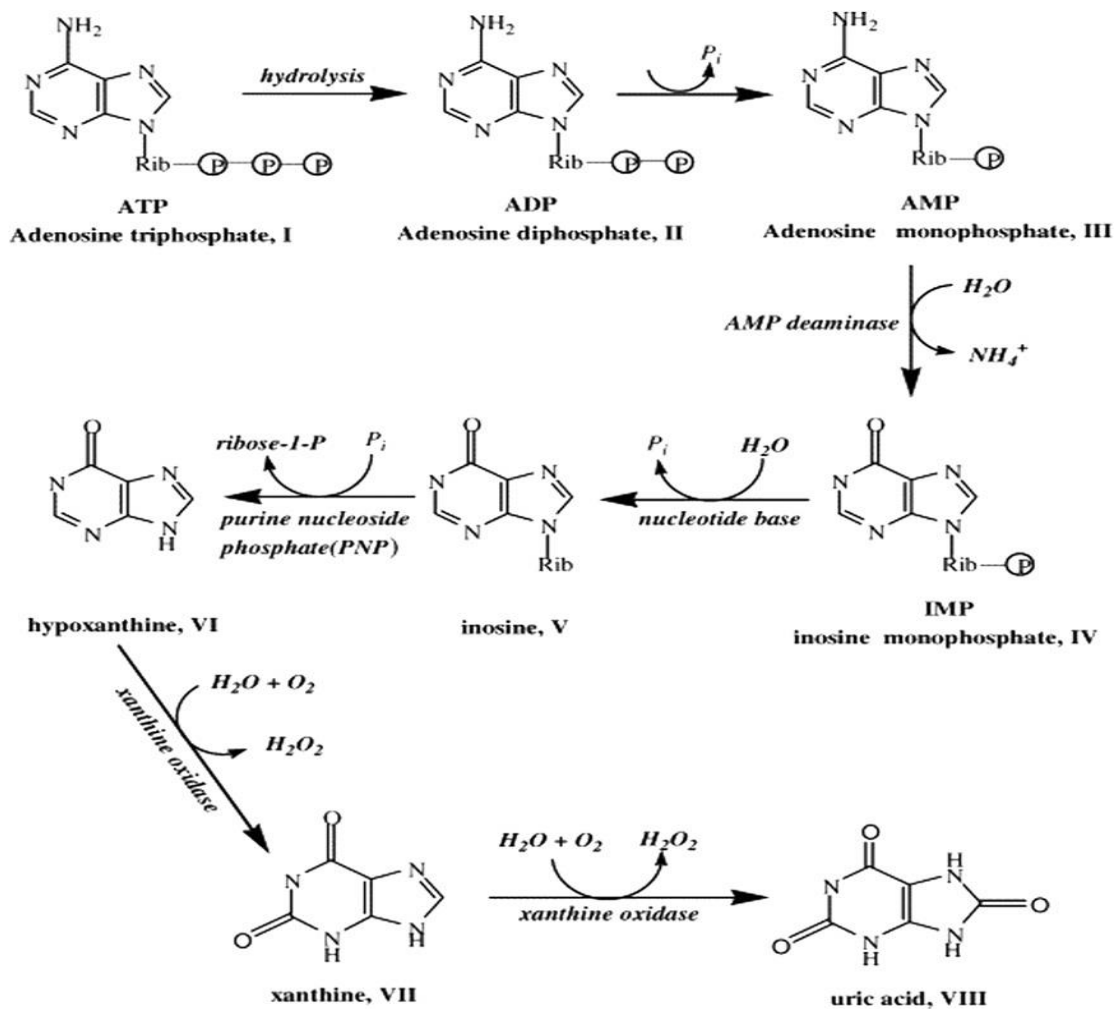


Figure 1.3: Décomposition de l'ATP Durant les processus d'altération du poisson

La figure 1.5 montre la variation des teneurs en Hx entre les espèces. D'après ce graphe, la détermination du facteur K ne sera pas utile pour la rascasse du Nord et pour l'espadon. Par ailleurs, la manutention physique accélère aussi les changements autolytiques dans le poisson réfrigéré.

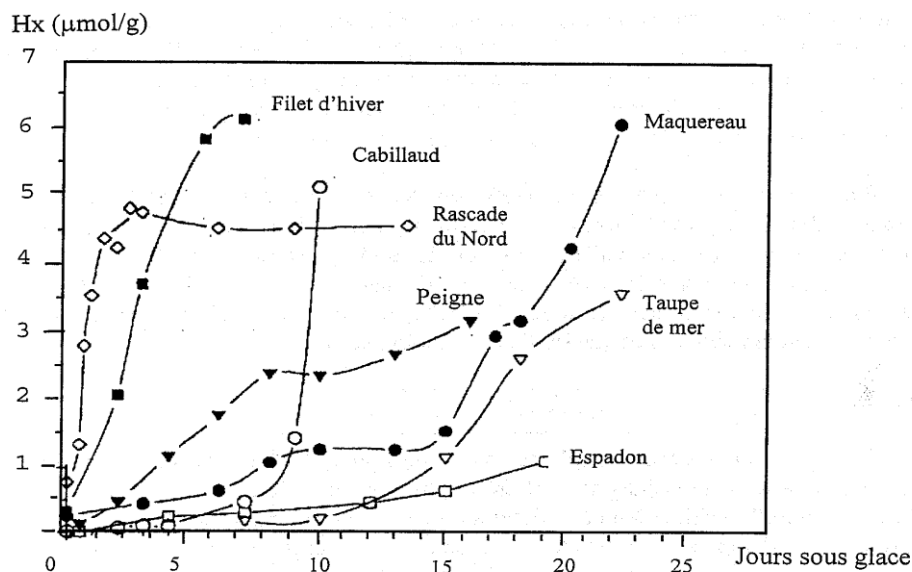


Figure 1.5 : Variation du taux d'accumulation de Hx de différentes espèces durant la conservation sous glace (Fraser et al., 1967).

Les catabolites de l'ATP utilisés pour la détermination du facteur K peuvent être séparés, identifiés et quantifiés par leur absorbance par chromatographie ionique ou par chromatographie liquide haute performance après une extraction acide suivie d'une neutralisation (Viciana-Nogues et al., 1997 ; Mora et al., 2010). Des méthodes enzymatiques ont été développées également pour déterminer le facteur K (Okuma et Watanabe, 2002).

L'utilisation de métabolites de l'ATP comme indice de fraîcheur est une technique de recherche qui n'est pas largement utilisée dans l'industrie en raison du coût élevé et de la durée des analyses. Le développement futur de cette approche exige des méthodes fiables et rapides pour la mesure des catabolites de l'ATP.

3.2 La fraîcheur des poissons : entre lyse membranaire et libération d'enzymes. Quelle méthode de détermination ?

La mort est associée à une forte consommation en ATP qui conduit à l'utilisation des réserves de glycogène stockées dans le foie et dans les tissus musculaires suivis d'une accumulation de l'acide lactique dans le milieu (Poli et al., 2005). Cette réaction est initiée dans le muscle *post mortem* par la phosphorylase. De même que la phosphorylase, les lipases sont activées après la mort du poisson pour produire de l'énergie par lipolyse dans le muscle *post mortem* (Masniyom, 2011). Ainsi, la baisse du pH due à l'accumulation de l'acide lactique dans le milieu intracellulaire, produit lors de la glycolyse, de la glycogénolyse et de la lipolyse et à la forte concentration des ions hydrogènes

produits par les acides gras libres formés au cours de la lipolyse, provoque une rupture des membranes des organites cellulaires suivie d'une libération de leur contenu dans le milieu extracellulaire (Ahmed et al., 2015 ; Wang et al., 2011).

L'autolyse débute au niveau cellulaire par une rupture des membranes du myotome suivi d'une libération d'enzymes dans le milieu extracellulaire. L'évaluation du niveau de lyse des cellules des filets de poissons va se faire par mesure de l'activité des enzymes libérées. Cependant, plusieurs techniques ont été développées pour mesurer l'activité de ces enzymes. Des résultats intéressants ont été obtenus par spectrophotométrie pour les enzymes comme la β -N-acetylglucosamidase et la HADH et par des mesures électrophorétiques pour le glutamate transaminase oxalo-acétate et l'acide malique (Duflos et al., 2002), mais aucune de ces méthodes ne permet à nos jours de dater avec précision l'âge d'un filet de poisson encore moins de différencier un filet frais d'un filet décongelé. Pour évaluer la qualité-fraîcheur du poisson il est plus judicieux de suivre les phénomènes précoces qui suivent la mort de l'animal. La libération des enzymes intracytoplasmiques fait partie de ce phénomène.

Parmi les enzymes libérées, certaines comme l' α -glucosidase sont thermostables et d'autres comme la lactate déshydrogénase, la catalase et la β -galactosidase se dénaturent à la congélation (Carpenter et al., 1993 ; Izutsu et al., 1993 ; Jiang et Nail, 1998). Le dosage d'une enzyme qui résiste aux actions protéolytiques et dont la libération est précoce pourrait être utile pour évaluer l'état de fraîcheur d'un filet de poisson. De même, le dosage d'une enzyme sensible à la congélation pourrait servir à différencier un filet frais d'un filet décongelé. Mais l'idéal revient à trouver une enzyme qui peut être utilisée pour évaluer la fraîcheur et pour différencier un filet frais d'un filet décongelé.

Dans cette étude, pour mesurer le niveau de lyse cellulaire, nous nous sommes intéressés à une enzyme sarcoplasmique : la Lactate Déshydrogénase (LDH). Le choix de cette enzyme se justifie par le fait qu'elle résiste aux actions protéolytiques des enzymes endogènes mais aussi par le fait qu'elle est sensible à la congélation.

4 Objectifs et organisation de la thèse

Notre étude a consisté à faire une évaluation du niveau de la contamination chimique et de la qualité (fraîcheur) des ressources vivantes aquatiques. Deux objectifs principaux ont été visés dans la présente étude.

Le premier objectif était de faire une évaluation spatiale et saisonnière des niveaux de contamination par les polluants métalliques et organiques (hydrocarbures aromatiques polycycliques et polychlorobiphényles benzènes) des zones côtières du Sénégal. Pour cela, nous nous sommes

intéressés à différentes espèces marines représentatives des différents maillons de la chaîne trophique, largement répartie sur le littoral, mais aussi pour la plupart d'entre-elles du fait qu'elles sont largement consommées par les populations locales. Les études ont été effectuées sur cinq sites de prélèvement représentatifs des zones côtières et estuariennes du Sénégal et présentant des degrés d'anthropisation différents. L'échantillonnage a été réalisé durant deux saisons différentes (saison sèche et saison des pluies). Le dosage des polluants métalliques, des HAPs et des PCBs ont été effectué dans 7 espèces dont une espèce d'algue (*Ulva lactuca*), une espèce de mollusques (*Perna perna*), une espèce de crevette (*Penaeus kerathurus*) et quatre espèces de poisson (*Solea senegalensis*, *Mugil cephalus*, *Sarotherodon melanotheron* et *Sardinella aurita*). Cette étude permettra de mieux connaître et, *in fine*, de mieux suivre la qualité environnementale et celle des ressources exploitées pour la consommation humaine. Les données acquises contribueront aux bases de données sur la contamination des différentes espèces les plus consommées et les plus exportées. Ces informations sont nécessaires aux scientifiques (apport à la connaissance, validation de modèles) et aux gestionnaires et permettront de faire une évaluation des risques et plus particulièrement dans le domaine de l'évaluation de l'exposition du consommateur aux contaminants chimiques par la consommation de produits de la mer du Sénégal.

Le second objectif de cette étude était de déterminer l'état de fraîcheur des filets de poisson et de différencier un filet frais d'un filet décongelé par utilisation de méthodes enzymatiques. Cela permettra de mieux dater l'âge d'un filet de poisson mais aussi de pouvoir différencier un filet frais d'un filet décongelé. Les études ont été menées conjointement sur les filets de daurade (*Sparus aurata*) et sur un modèle cellulaire SAF-1. Les cellules SAF-1 ont été placées dans les mêmes conditions que les filets de daurade. Le suivi de l'altération des cellules et des filets de poisson a été fait en dosant un marqueur précoce d'altération qui est la lactate déshydrogénase (LDH). Nous avons étudié les critères de sensibilité de la LDH à la congélation et mesuré les limites de son utilisation pour différencier les filets frais des filets décongelés. Cette nouvelle approche (utilisation d'un indicateur à la fois de fraîcheur et de congélation) pourra permettre aux scientifiques et aux professionnels de la filière d'avoir une nouvelle vision sur l'évaluation de la qualité-fraîcheur des poissons.

Le mémoire s'articule autour de quatre chapitres avec un premier chapitre qui est un chapitre méthodologique. Ce chapitre est scindé en deux parties. La première partie présente l'environnement du littoral sénégalais à la fois d'un point de vue des caractéristiques hydrodynamiques et climatiques

mais aussi des problèmes d'anthropisation et de pollution. Dans cette partie, les sites d'études sont présentés ainsi que les espèces biologiques étudiées, les différentes méthodes utilisées pour le dosage et l'analyse des contaminants chimiques (polluants métalliques, HAPs et PCBs) dans les organismes sont décrites.

La deuxième partie concerne la qualité-fraîcheur des poissons et aborde d'une part l'évaluation de la fraîcheur des filets de daurade et, d'autre part, la différenciation entre un filet frais à un filet décongelé.

Le chapitre II concerne l'étude de la contamination chimique des organismes marins du littoral sénégalais. Nous avons dans un premier temps analysé et comparé les teneurs de 11 contaminants métalliques, du mercure, des HAPs et PCBs dans 7 espèces (algues, moules, crustacés et poissons). Les résultats sont discutés en termes de variabilité de contamination inter-espèces, de variations spatiales en relation avec les niveaux d'anthropisation du littoral et de variations saisonnières. Dans ce chapitre est également abordée la question de la bioaccumulation des contaminants au sein de la chaîne trophique.

Le chapitre III traite l'aspect sécurité sanitaire des produits de la mer des côtes sénégalaises en termes de niveau de contamination chimique. Les teneurs en contaminants chimiques réglementés, plomb, cadmium, mercure, HAPs et PCBs, ont été analysées et comparées aux normes européennes et internationales dans les produits de la mer. Une évaluation des risques a été effectuée pour évaluer le degré d'exposition de la population face aux contaminants réglementés présents dans ces denrées.

Dans le chapitre IV, nous nous sommes intéressés aux méthodes de détermination de la fraîcheur des filets de poisson et sur la différenciation des filets frais à des filets décongelés.

Dans cette partie, nous avons travaillé sur une lignée cellulaire (SAF-1) et sur des filets de daurade royale (*Sparus aurata*). Dans la première partie de ce chapitre, nous avons mesuré le degré de lyse cellulaire et tissulaire par dosage d'une enzyme intracytoplasmique : la lactate déshydrogénase. Nous avons comparé la libération de la LDH et de l'alpha-glucosidase entre un filet frais et un filet décongelé.

Le manuscrit se termine par une discussion générale et des perspectives.

Chapitre I : Matériel et méthodes

Chapitre I : Matériel et méthodes

Ce chapitre est scindé en deux parties.

Dans la première partie, l'environnement du littoral sénégalais est décrit à la fois d'un point de vue des caractéristiques hydrodynamiques et climatiques mais aussi des problèmes d'anthropisation et de pollution. Dans cette partie, les sites d'études sont présentés ainsi que les espèces biologiques étudiées. Les différentes méthodes utilisées pour le dosage et l'analyse des contaminants chimiques (éléments traces, HAPs et PCBs) dans les organismes sont décrites.

La deuxième partie axée sur la qualité-fraîcheur des poissons concerne les méthodes développées d'une part pour l'évaluation de la fraîcheur des filets de daurade et, d'autre part pour la différenciation entre un filet frais à un filet décongelé.

Partie I. Niveaux de contamination métallique et organique des ressources vivantes aquatiques du littoral Sénégalais

I. 1. Présentation de la zone d'étude

Le Sénégal, situé à l'extrême-ouest du continent africain, entre 12°8 et 16°41 de latitude nord et 11°21 et 17°32 de longitude Ouest, s'étend sur une superficie de 196 712 km² et abrite plus de 14 millions d'habitants en 2015 (ANSD, 2015). Le Sénégal possède une façade maritime longue de 700 km formée de deux grands ensembles aux caractéristiques géomorphologiques, sédimentologiques et hydrodynamiques très différentes séparées par la presqu'île du Cap Vert (Diaw, 1997) : la Grande Côte et la Petite Côte (Figure 2.1).

La Grande Côte, orientée suivant la direction NNE-SSW, s'étend de l'estuaire de Saint-Louis jusqu'à l'extrémité nord de la presqu'île du Cap Vert. Elle est constituée de plaines côtières avec des formations dunaires. La Petite Côte, s'étend de Hann au sud de Joal dans les îles du Saloum. Elle a une orientation NNW-SSE. Elle est constituée de cordons et de flèches sableuses, de falaises, de baies, de lagunes et d'estuaires à mangrove. La presqu'île du Cap Vert, zone de transition entre ces deux formations, est une côte essentiellement rocheuse mais présentant néanmoins des plages et des falaises entre Hann et le Cap Manuel (Sakho, 2011).

La circulation océanique sur le plateau du Sénégal, varie suivant la topographie du plateau, l'orientation de la côte et les variations climatiques saisonnières (Diarra, 1999).

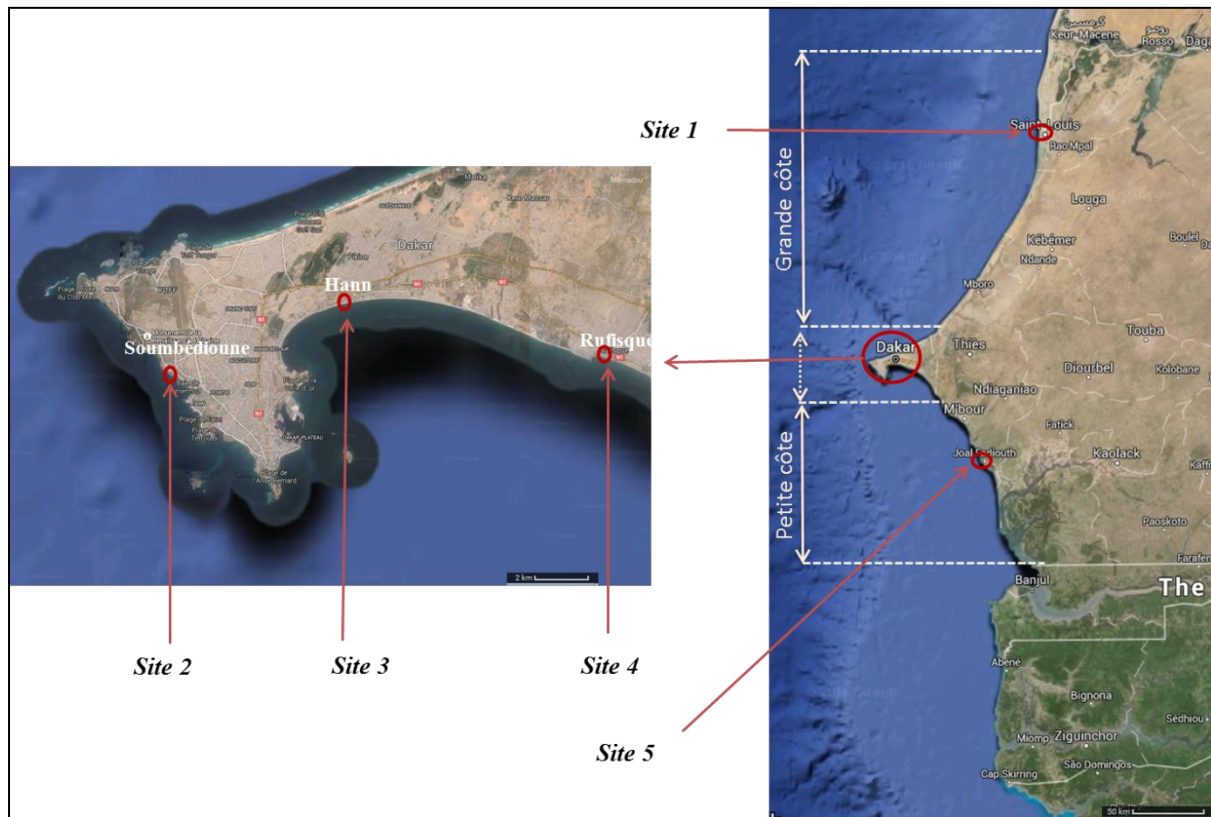


Figure 2.1 : Localisation des sites d'étude le long du littoral sénégalais.

La circulation climatique dans cette zone de l'Atlantique tropicale Est est dominée par l'influence des anticyclones des Açores et de Sainte-Hélène (Leroux, 1983). Ces deux anticyclones jouent un rôle important sur la circulation des courants marins et sur la climatologie de la région. Les deux anticyclones se balancent de façon saisonnière dans cette zone de l'Atlantique ce qui se traduit au Sénégal par l'alternance de deux saisons aux caractéristiques bien distinctes (Fall et al., 2006). De novembre à mai, le vent des alizés s'établit avec une vitesse qui augmente du mois de novembre au mois de décembre puis se stabilise à une valeur moyenne de 5m/s entre décembre et début février puis augmente de nouveau de février à mars. Ces vents en provenance du courant des Canaries avec les courants des upwellings (remontées des eaux froides riches en éléments nutritifs) favorisent la circulation des eaux froides ($<17^{\circ}\text{C}$) et salées ($>35,5\text{g/l}$) du mois de décembre au mois d'avril (Merle, 1978). Les eaux tropicales chaudes et salées circulent de mai à juillet sous l'influence des flux de mousson. Le courant de Guinée draine des eaux chaudes (24°C) et dessalées ($< 35,5 \text{ g/l}$) d'août à novembre (Rebert, 1977).

De juin à octobre, les alizés maritimes (vent de secteur N-NE) et continentaux (vent de secteur NW-N) laissent la place au flux de mousson chargé d'humidité responsable de la pluviométrie sur le continent (Roy, 1991). Le climat du Sénégal est soudano-sahélien caractérisé d'une saison sèche

plus longue et plus marquée de fin octobre à mi-juin et d'une saison des pluies courte de mi-juin à la fin du mois d'octobre.

Les précipitations annuelles totales au Sénégal augmentent du Nord au Sud. Elles sont de 263 mm à Saint Louis, 412 mm à Dakar (Dacosta et al., 2002), 600 mm à Joal (Bodin et al., 2013) et plus de 1200 mm au sud du pays.

Le Sénégal est arrosé par deux grands fleuves (le fleuve Sénégal long de 1800 km et le fleuve Gambie long de 1150 km) et de petits cours d'eau comme la Casamance, la Kayanga, la Falémé, l'Anambé, le Sine et le Saloum (CSE, 2010).

Les conditions hydrodynamiques, climatiques et géomorphologiques du milieu influencent en partie les ressources halieutiques du pays. Les côtes sénégalaises sont parmi les côtes les plus poissonneuses au monde. La très forte productivité de ces côtes dotées d'une grande diversité biologique peut être expliquée par la présence des phénomènes d'upwelling côtier, la température des eaux et les apports terrigènes en provenance des cours d'eau (Pauly et al., 2003).

Avec la crise agricole des années 1970 s due à la baisse de la pluviométrie, la pêche est devenue l'une des principales activités économiques génératrices de revenus au Sénégal. Elle contribue à hauteur de 1,8% du PIB en 2013 et emploie plus de 600 000 personnes (FAO, 2014). La pêche est devenue la première branche exportatrice du pays vers l'Europe, l'Amérique et l'Asie avant l'arachide ou les phosphates (FAO, 2003). En 2000, les prises annuelles étaient estimées à 418 764 tonnes dont 88 020 tonnes destinées à l'exportation (Ministère de l'environnement du Sénégal, 2003). Ainsi plus de 300 000 tonnes de produits halieutiques sont destinés chaque année à la consommation locale. La consommation moyenne par personne et par an est de 26 kg au Sénégal couvrant plus de 75 % des besoins en protéines animales (FAO, 2003). Les produits halieutiques sont consommés sous différentes formes. Ils sont consommés cuits à l'état frais lorsque les captures sont abondantes, ou fumés et/ou séchés lorsque les produits frais deviennent rares.

Malgré cette situation assez favorable pour l'économie du pays, les côtes sénégalaises à l'instar de nombreux littoraux du monde, subissent de sérieux problèmes environnementaux liés à la densification de la population et une concentration des activités industrielles le long des villes côtières.

Actuellement, plus de 40% de la population mondiale vit sur le littoral (Martinez et al., 2007). Cette population ne cesse d'augmenter et les côtes sénégalaises n'échappent pas à cette règle. Ce phénomène a débuté au Sénégal dans les années 1970s suite à un traumatisme de l'esprit de la population rurale causé par des sécheresses chroniques. La conséquence est une surpopulation des villes et des villages côtiers créant une occupation anarchique de l'espace public surtout dans un

pays où la réglementation n'est pas totalement appliquée à cause de la corruption. Les villes côtières regroupent la quasi-totalité des moyens de développement économique et social (pêche, industrie, tourisme, loisir), et sont ainsi le siège d'intenses activités industrielles. L'urbanisation importante et anarchique du littoral a généré d'importants problèmes de pollution. Ce phénomène est particulièrement marqué dans la région de Dakar et dans la région de Saint-Louis. La région de Dakar, le plus grand pôle démographique du littoral, concentre plus de 25 % de la population nationale avec une densité de plus 12 000 habitants/km² (CSE, 2010) et 87% des industries du pays (Dumont et Kanté, 2009; ANSD, 2014). La présence de ces millions de personnes (2 950 000 habitants en 2013 contre 132 000 en 1945 (ANSD, 2014)) affecte l'environnement dans sa globalité et plus particulièrement sur le littoral « malheureux » souvent considéré comme dépotoir privilégié. D'importantes quantités de déchets de toutes sortes sont rejetées régulièrement par la population. Les déchets solides ménagers rejetés en 2005 dans la région de Dakar s'élevaient à 465 000 tonnes (CSE, 2005). Ces déchets sont répartis dans plus de 120 dépôts sauvages dont la plupart se trouvent localisés dans la zone côtière (figure 2.2). A cela s'ajoutent les déchets solides biomédicaux (estimés 269 280 kg/jour en 2005 (CSE, 2005), les déchets solides industriels et agricoles.



Figure 2.2: Dépôts d'ordures ménagères à Rufisque

A côté de ces déchets solides, la région de Dakar génère plus de 180 000 m³ d'eaux usées dont 30% ont une origine ménagère et les 70% proviennent des industries. Malgré la présence de quatre stations d'épuration dans cette région, seules 40% de ces eaux usées subissent un traitement avant rejet dans la mer, les 60 % restants sont rejetées directement dans la mer sans aucun traitement préalable (Diawara, 2009). Les eaux usées domestiques pour la plupart sont drainées par des canaux à ciel ouvert qui se déversent directement en mer. Les rejets d'eaux usées industrielles en mer sont visibles sur la zone côtière qui borde la zone industrielle allant du port autonome de Dakar jusqu'à

Bargny. Cette zone abrite la quasi-totalité des industries de la région. On y trouve des industries de toute nature (agroalimentaires, chimiques, cimenteries, raffineries, etc.) déversants différents types de polluants en mer souvent de façon clandestine avec des effets parfois visibles sur la couleur de l'eau (figure 2.3).

L'environnement marin de Dakar est confronté aujourd'hui également aux problèmes liés à la pollution atmosphérique. La pollution de l'air dans cette région est due au transport routier avec la vétusté du parc automobile et aux rejets de certaines usines comme les cimenteries (44 % des gaz nocifs sont émis par les industries, 32 % pour les transports et 24 % pour les ménages et autres secteurs) (Ministère de l'urbanisme et de l'habita du Sénégal, 2007). Les particules générées par ses polluants peuvent se retrouver dans le milieu marin par le vent ou par la pluie.



Rejets d'eaux usées industriels



Modification de la couleur de l'eau de mer



Mélange d'eaux usées industrielles et domestiques



Rejets d'eaux usées domestiques

Figure 2.3: Rejets directs d'eaux usées industrielles et domestiques dans l'environnement marin de Dakar (Photos prises en 2013).

II.2. Choix méthodologique

II.2.1 Sites d'études

Pour étudier le degré de pollution du littoral sénégalais, nous avons étudié le niveau de contamination de certains organismes marins représentatifs du littoral. 5 sites de prélèvement ont été choisis dont 3 se trouvent dans la région de Dakar du fait de sa forte pollution (Figure 2.1). Les sites ont été choisis de façon à représenter une grande partie du littoral mais aussi en fonction de leur degré d'anthropisation (présence de rejets industriel, agricole, atmosphérique, domestique)

Site 1 : Saint Louis

La région de Saint Louis un peu comme Dakar présente une forte densité de population. Du fait de ses déchets (ordures et eaux usées domestiques), la population contribue fortement à la pollution de l'environnement marin Saint Louisien. En dehors de ces déchets domestiques, le fleuve Saint-Louis, qui prend naissance dans les massifs du Fouta Djallon en Guinée, traverse toute la partie occidentale du pays et se jette à la mer à Saint Louis. Ainsi, le fleuve Sénégal, charrie vers l'océan Atlantique d'importantes quantités de substances polluantes en provenance des zones agricoles et industrielles de la Guinée, du Mali, de la Mauritanie et du Sénégal.

Site 2: La baie de Soumbédioune

Située dans la partie nord de la presqu'île du Cap Vert, la baie de Soumbédioune a été choisie par le fait qu'il est le seul quai de pêche situé à proximité du centre-ville de Dakar. Les débarquements de la pêche et sa transformation artisanale font de cette zone un lieu d'élimination des résidus issus de cette transformation auxquels s'ajoutent les dépôts ordures ménagères (Diawara, 2009).

Cette baie reçoit aussi les eaux usées domestiques des quartiers surpeuplés de Médina, de Grand Dakar et de Fann, les eaux usées des trois hôpitaux du centre-ville et les eaux usées des hôtels situés à proximité. La baie de Soumbédioune abrite également des orpailleurs artisanaux qui utilisent parfois du mercure pour la recherche de l'or.

Site 3: La baie de Hann

La baie de Hann, d'une longueur d'environ 10 km, s'étend de Bel Air au village de Mbao. Elle abrite un quai de pêche et représente l'un des principaux sites de pêche de Dakar. La population vivant dans ces villages est en majorité constituée de pêcheurs qui ont conservé leurs vieilles méthodes d'élimination des déchets ménagers. Très longtemps considérée comme la plus belle baie du monde derrière celle de Rio (CSE, 2010), cette baie est aujourd'hui confrontée à d'importantes pollutions. Elle est souvent citée comme l'une des baies les plus polluées d'Afrique occidentale. Cette situation résulte de sa proximité avec le port de Dakar qui est un espace traditionnel

d'implantation de certaines industries d'exportation et des entrepôts et autres terminaux où plus de 2 millions de tonnes d'hydrocarbonés sont débarquées chaque année (CSE, 2010). La quantité de déchets liquides rejetés au niveau du port était estimée en 2000 à 274 878 m³/an par la direction de l'environnement du Sénégal.

La baie de Hann reçoit les eaux usées brutes des industries de pêche, des industries agroalimentaires et des industries textiles qui se trouvent dans la zone industrielle qui la borde.

Elle est également le réceptacle des eaux usées de la ville de Cambéréne mais aussi des déchets solides ménagers et des rejets d'eaux usées domestiques des villages de Hann, Mbao et Thiaroye (FAO, 2010). Le renouvellement de l'eau dans la baie de Hann est lent du fait de sa localisation (figure a) qui ralentit les courants marins et provoque un retour vers la côte des eaux contaminées (CSE, 2010).

Site 4: La baie de Rufisque

La ville de Rufisque est l'un des quatre départements de Dakar le plus peuplés. La ville se trouve dans la zone Sud de la presqu'île du Cap vert à 27 km de la ville de Dakar. Comme Hann et Soumbédioune, Rufisque possède un quai de pêche. La zone côtière à Rufisque est aujourd'hui perturbée par une urbanisation dense et par la présence d'industries comme la cimenterie (SOCOCIM), la société africaine de raffinage (SAR) et les industries chimiques du Sénégal. Les eaux usées domestiques dans cette ville sont évacuées directement en mer par des conduites à ciel ouvert qui partent dans différents points de la ville. Ces conduites sont utilisées par la population comme dépotoir de leurs ordures ménagères, ce qui crée les problèmes d'inondation dans la ville en saison des pluies. Les eaux usées industrielles (parfois chaudes) sont déversées sans traitement préalable en mer (figure 2.3).

Site 5: La baie de Joal

Joal se situe dans l'extrémité Sud de la petite côte. C'est la première station de débarquement de produits halieutique du Sénégal. Ce site a été choisi comme site témoin car il est éloigné d'influences anthropiques comme l'urbanisation et l'industrialisation.

II.2.2 Modèles biologiques choisis

Macroalgue

L'algue utilisée dans cette étude est la laitue de mer *Ulva lactuca* (Linnaeus, 1753). C'est une algue verte de la famille des Ulvacées. Elle est formée d'un thalle mince et aplati long de 15 à 50 cm et large de 10 à 15 cm. *U. lactuca* est une espèce très commune et cosmopolite et possède une aire de répartition très large (Kamala-Kannan et al., 2008). On la rencontre en Atlantique, en Méditerranée, en Manche, en mer du Nord, en mer Baltique et dans le Pacifique.

Les macroalgues comme *U. lactuca* sont reconnues comme de bons bioindicateurs utiles pour évaluer la pollution chimique de l'environnement aquatique en raison de son mode de vie sédentaire, de sa biomasse considérable et de son identification facile. Par ailleurs, plusieurs études ont montré que les concentrations en métaux dans les algues sont directement proportionnelles aux concentrations de métaux biodisponibles dans l'environnement (Bryan et Hummerstone, 1973; Morris and Bale, 1975; Forsberg et al., 1988; Ho, 1990; Say et al., 1990; Haritonidis et Malea, 1995).

U. lactuca est souvent utilisée pour évaluer la contamination par les éléments-traces (Ho, 1990; Haritonidis et Malea, 1999; Conti et Cecchetti, 2003 ; Laib et Leghouchi, 2012 ; Chakraborty et al., 2014) et par les polluants organiques comme les HAPs, les PCBs et les pesticides (Pavoni et al., 2003) de l'environnement aquatique dans plusieurs régions du globe.



Figure 2.4 : *Ulva lactuca* (Linnaeus 1753) dans son environnement naturel (Photo prise dans les îles des serpents de Soumbédioune)

La moule

La moule utilisée dans cette étude est *Perna perna* (Linnaeus, 1758). C'est la seule espèce du genre *Perna* présente le long des côtes Ouest africaines. C'est une espèce très largement répandue dans le monde puisqu'on la retrouve sur les côtes Est et Ouest de l'Atlantique tropicale et subtropicale et sur les bords de la Méditerranée (Cayré, 1976). La moule *P. perna* (figure 2.5) est un bivalve filtreur qui se nourrit de phytoplancton, de zooplancton et de matières organiques en suspension. Elle vit dans la zone intertidale fixée sur un support à l'aide de son byssus. Situés au second niveau trophique, les mollusques ont la capacité à accumuler des éléments essentiels et non essentiels de l'environnement aquatique dans lequel ils vivent.

P. perna possède les qualités premières d'une espèce sentinelle (large répartition, abondance, grande résistance, collection facile) et est souvent proposée comme bioindicateur de la qualité de l'eau car elle reflète assez bien les niveaux de pollution de leur environnement de vie (Boyden et Phillips, 1981). C'est dans ce sens que la moule a été sélectionnée pour évaluer à la fois l'état de pollution des côtes sénégalaises et dans l'évaluation des risques liés à sa consommation par les populations locales qui en consomment en grande quantité.

Le long de la côte sénégalaise, la répartition de cette espèce est limitée. On la rencontre uniquement au niveau des zones rocheuses de la côte. L'étude de cette espèce n'a concerné que les sites où elle est présente.



Figure 2.5 : *Perna perna* montrant des particules adhésives sur ses coquilles (Moule prélevée à Hann en janvier 2013).

La crevette tigrée

La crevette tigrée *Penaeus kerathurus* (Forsk., 1775) ou crevette camerote en France est une espèce qui vit dans les eaux peu profondes. Cette espèce est souvent rencontrée en Méditerranée et en Atlantique oriental, depuis le sud de l'Angleterre jusqu'à l'Angola avec une forte abondance tout le long de la côte Ouest africaine.

P. kerathurus préfère les fonds sableux vaseux riches en débris de végétaux et en matières organiques du plateau continental depuis la côte jusqu'à des profondeurs de 50 et plus rarement 75 mètres. Peu d'études ont utilisé les crevettes comme bioindicateurs de la pollution marine (Olgunoglu et al., 2015) et quelques rares ont concerné *P. kerathurus* (Turkmen, 2012). Le choix de cette crevette se justifie par le fait qu'elle est largement consommée par la population et qu'elle constitue l'espèce de crevette la plus exportée du Sénégal vers les pays européens.

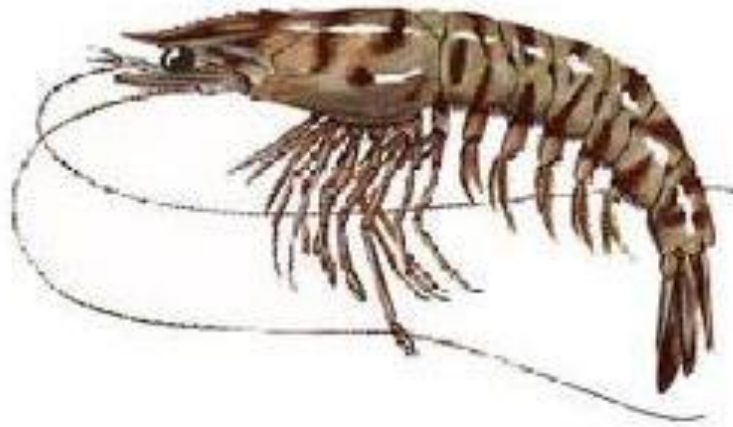


Figure 2.6: La crevette tigrée *Penaeus kerathurus* (Forsk., 1775)

La sole sénégalaise

La sole sénégalaise, *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) est un poisson plat présent dans l'Atlantique du golfe de Gascogne jusqu'aux côtes sénégalaises. Elle est moins présente dans la partie occidentale de la Méditerranée (Cabral et Costa, 1999 ; Jager et al., 1993).

C'est une espèce benthique vivant dans les fonds sableux ou vaseux de la zone côtière. Elle se nourrit d'invertébrés benthiques comme les larves des polychètes et de mollusques bivalves et de petits crustacés.

Dans cette étude, la sole sénégalaise a été sélectionnée comme modèle du fait de son comportement benthique (en contact avec les sédiments où s'accumulent les polluants) associé à ses déplacements limités (Walker et Emerson, 1990) qui font que c'est un organisme qui intègre les modifications de

son milieu de vie par accumulation de contaminant. Elle a été utilisée dans de nombreuses études pour évaluer la qualité du milieu (Oliva et al., 2012 ; Oliva et al., 2010).

Au Sénégal, cette espèce n'est pas très consommée du fait de sa cherté. Elle est très souvent exportée.



Figure 2.7: La sole sénégalaise, *Solea senegalensis* (Kaup, 1858)

Le mullet

Le mullet jaune *Mugil cephalus* (Linnaeus 1758) ou mullet cabot est une espèce de la famille des Mugilidae du genre *Mugil*.

C'est une espèce benthopélagique cosmopolite présente dans les eaux côtières des zones tropicales, subtropicales et tempérées de toutes les mers du globe. On la retrouve dans la Méditerranée, depuis la côte atlantique de la Bretagne au Maroc. Les individus pénètrent les lagunes saumâtres et les estuaires et possèdent une bonne tolérance aux eaux douces. Les adultes peuplent habituellement les bancs à fonds sableux ou boueux entre 0 et 10 m. Les mullets sont essentiellement herbivores et détritivores, c'est-à-dire qu'ils avalent la vase et la tamisent grâce à un appareil branchial développé pour en extraire les particules organiques. C'est une espèce qui se situe à un bas niveau trophique.

Le mullet est une espèce consommée au Sénégal surtout dans les régions estuariennes comme Saint-Louis et les îles du Saloum. C'est une espèce qui est très utilisée dans l'évaluation de la qualité de l'environnement marin dans plusieurs zones (Pastor et al., 1996 ; Ferreira et al., 2005 ; Dural et al., 2006).



Figure 2.8 : *Mugil cephalus* (Linnaeus 1758)

Le tilapia

De son nom scientifique *Sarotherodon melanotheron* (Rüppell, 1852), le tilapia est un poisson osseux dulcicole d'Afrique et d'Asie Mineure, qui s'acclimate très bien aux environnements les plus divers. Les espèces de ce genre de poisson sont particulièrement adaptées aux eaux douces et saumâtres. Les individus peuvent coloniser divers types d'habitats permanents ou temporaires, différents types de cours d'eau, de lacs, d'estuaires et de lagunes (Trewavas, 1982). *S. melanotheron* est l'une des espèces de Cichlidae la plus abondante dans les lagunes et les estuaires en Afrique de l'Ouest (Falk et al., 1999). Elle a une origine estuarienne et peut coloniser les milieux marins côtiers, les eaux douces, saumâtres ou hyperhalines (Panfili et al., 2004; Tine et al., 2007).

C'est une espèce omnivore qui se nourrit de phytoplancton, de zooplancton, de détritiques organiques et d'algues (Kone et Teugels, 2003). Elle est capable d'adapter son mode d'alimentation en fonction des conditions de l'environnement (Kone et Teugels, 2003).

Espèce sédentaire (Diouf et al., 2006), *le tilapia* est utilisé comme une espèce sentinelle dans de nombreux travaux en écotoxicologie pour évaluer la qualité des milieux (Matos et al., 2007 ; Peixoto et al., 2006). L'avantage de l'utilisation de cette espèce est qu'elle est présente dans la majorité des écosystèmes aquatiques.

Elle a été utilisée dans cette étude du fait de sa présence tout le long du littoral sénégalais et même dans les eaux douces et saumâtres du pays. Elle fait partie de l'alimentation des populations locales surtout celles qui habitent à proximité des estuaires et des lagunes.



Figure 2.9 : Le tilapia *Sarotherodon melanotheron* (Rüppell, 1852) (Source, Fishbase)

La sardinelle ronde

La sardinelle ronde, *Sardinella aurita* (Valenciennes, 1847) est un poisson marin qui fréquente les zones côtières de l'Atlantique tropicale (Diouf et al., 2010). Deux espèces du genre sont présentes le long des côtes sénégalaises : *Sardinella aurita* et *Sardinella maderensis* (Deme et al., 2012). *S. aurita* se distingue de *S. maderensis* ou sardinelle plate par un corps allongé, plus arrondi et par une carène ventrale moins aiguë. Ces deux espèces peuvent se distinguer par le nombre de rayons de la nageoire pelvienne (9 chez la *Sardinelle ronde* et 8 chez la *Sardinelle plate*) et par leur coloration (Diouf et al., 2010). Elle se rencontre sur le plateau continental où elle préfère les eaux salées (salinité > 35‰), non turbides et de température inférieure à 24°C (Boely et Champagnat, 1967 ; Fréon, 1988). Elle se nourrit du zooplancton et spécialement des copépodes avec la présence des euphausiides et des larves de cirripèdes et cladocères. La sardinelle ronde est une espèce migratrice. Les poissons sont distribués en novembre plus près de la côte qu'en juin. Le long des côtes sénégalaises, la migration s'effectue vers les côtes marocaines durant les mois de décembre et de novembre. Les poissons commencent à revenir vers le Sénégal via les eaux mauritaniennes à partir d'octobre (Deme, 2012). Du fait de son caractère migrateur, cette espèce n'a fait l'objet que de peu d'études écotoxicologiques pour l'évaluation de la qualité des milieux marins. Néanmoins dans cette étude, elle a été choisie par le fait qu'elle constitue l'espèce la plus consommée au Sénégal. Cela se justifie par son abondance très importante, sa bonne qualité nutritionnelle et son coût très bas (Julie, 2014).



Figure 2.10: Sardinelle ronde *Sardinella aurita* (Valenciennes, 1847)

II.2.3. Echantillonnage

Les campagnes d'échantillonnage ont été réalisées en janvier 2013 et en août 2013 au niveau des 5 sites. Au Sénégal le mois de janvier correspond au milieu de la saison sèche et le mois d'août correspond à une période de fortes pluies. Pour chaque site et pour chaque saison, environ 500 mg d'algues et 10 individus de chaque espèce décrite précédemment ont été prélevés pour le dosage des métaux. Pour le dosage des contaminants organiques, c'est seulement la saison sèche qui a été considérée et environ 500 mg d'algues et 10 individus de chaque espèce ont été prélevés dans les trois sites de Dakar. Pour s'affranchir de la variabilité de la concentration des contaminants en fonction de la taille, des individus de la même taille pour chaque espèce ont été échantillonnés au niveau de chaque site. Ainsi, des échantillons de moules (Longueur Totale, LT: $6,5 \pm 1,1$ cm; poids: P: $20,9 \pm 2,3$ g), de crevettes (LT: $14,3 \pm 2,2$ cm; P: $21,3 \pm 2,3$ g), de soles (LT: $28,8 \pm 3,5$ cm; P: 220 ± 75 g), de mulets (LT: $30,5 \pm 4,6$ cm; P: 257 ± 12 g), de tilapias (LT: $20,1 \pm 5,2$ cm; P: 163 ± 9 g) et de sardinelles (LT: $30,6 \pm 1,2$ cm; P: 272 ± 35 g) ont été prélevés.

Les échantillons ont été ensuite préparés en fonction du type de contaminants que l'on veut doser (éléments traces ou les contaminants organiques HAPs et PCBs). Pour les poissons, les foies ont été utilisés pour évaluer la qualité du milieu et les échantillons de muscles ont été considérés que pour l'évaluation de la qualité en termes de sécurité sanitaire.

II.3. Méthodes de préparation et de dosages des contaminants chimiques

Les poissons et les crevettes ont été capturés par des pêcheurs artisanaux au niveau de chaque site et pour chaque saison. Les algues et les moules ont été prélevées dans la zone intertidale à marée basse puis lavées avec l'eau de mer du lieu de prélèvement. Les sites de Saint-Louis et de Joal étant des côtes sableuses, nous n'avons pas pu échantillonner des moules au niveau de ces deux sites. Juste après les prélèvements, les échantillons ont été transportés au laboratoire dans des glacières dont la température a été maintenue à environ 4 °C avec des packs de glace. Une fois au laboratoire, chaque individu a été mesuré, pesé, sexé et disséqué. Les crevettes ont été décortiquées et les moules décoquillées. Pour les poissons, le foie et une partie du muscle dorsolatéral gauche ont été prélevés. Pour le dosage des contaminants par les éléments-traces, les échantillons ont été conservés dans des sacs plastiques et congelés rapidement à -20°C.

Pour le dosage des contaminants organiques, les échantillons ont été séchés à l'étuve dans du papier aluminium à 40°C pendant 72h puis congelés à -20°C jusqu'au jour des analyses.

II.3.1 Dosage des éléments-traces dans les échantillons biologiques

A l'exception du mercure, tous les éléments (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, V, Zn) ont été analysés après une minéralisation totale des échantillons biologiques.

Le matériel destiné aux différentes manipulations était composé de flacons en PEHD (polyéthylène haute densité), des pinces en Nylon blanc, des seringues en polyéthylène et des béciers en PTFE (polytétrafluoroéthylène). Afin de réduire les risques de contaminations des échantillons, le matériel utilisé est au préalable lavé au détergent de laboratoire, trempé successivement deux semaines dans deux bains acides (mélange molaire d'acides nitrique et chlorhydrique qualité PA « Pour Analyses », Merck) et rincé abondamment à l'eau déminéralisée et puis à l'eau ultrapure Milli-Q (18,2 MΩ.cm, Millipore Corporation). Le matériel était ensuite séché sous hotte à flux laminaire (Norme « Federal Standard » n° 209a, classe 100) avant d'être stocké dans des sachets en polyéthylène. Toutes les manipulations ont été réalisées sous hotte à flux laminaire. Pour chaque série d'échantillons, des blancs de réactifs et de manipulations ont été analysés.

Minéralisation des échantillons

Avant minéralisation, les échantillons ont été lyophilisés jusqu'à poids constant à -108°C et ensuite broyés manuellement à l'aide d'un pilon et d'un mortier en Agate. Tous les échantillons de moules,

de crevettes ainsi que les foies et les muscles des poissons ont été analysés individuellement et les algues ont été poulées avant analyses

Afin d'obtenir des concentrations en éléments traces détectables par spectrométrie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (ICP) et respecter les conditions préconisées (c'est-à-dire des solutions ne dépassant pas 2 g.l^{-1} et acidifiée à 2% en HNO_3), une proportion d'attaque de 100 mg de matière par ml d'acide nitrique (65 %, suprapur) a été retenue. Les échantillons ont été laissés 24 h à température ambiante puis chauffés à 100°C sur une plaque chauffante pendant 4 h. Par dilution avec de l'eau Milli-Q, ils ont été ramenés dans un premier temps à 12 % d' HNO_3 . Les flacons ont été ensuite remis à chauffer pendant 2 h pour bien homogénéiser la solution avant d'être filtrés sur seringue équipée d'une membrane en acétate de cellulose à $0,2 \mu\text{m}$. Les échantillons étaient récupérés dans des flacons de 20 ml en PEHD. Chaque échantillon est à nouveau dilué pour être au maximum concentré à 2% d' HNO_3 avant analyse à l'ICP-AES ou à l'ICP-MS.

Le protocole de minéralisation a été validé en utilisant des échantillons de référence: DORM-3 et DOLT-4 commercialisés par le NRCC (National Research Council of Canada). Le DORM-3 a été préparé à partir d'un mélange homogénéisé de protéines de poissons et le DOLT-4 à partir de foie de chien-de-mer.

Comme tous les échantillons ne pouvaient pas être analysés dans un seul laboratoire, les échantillons des foies et des muscles des sardinelles et des soles ont été analysés au Centre Commun de Mesure (CCM) de l'université du littoral. Les autres échantillons (algues, moules, crevettes et foies de tilapias et mulets) ont été analysés au Centre Universitaire de Mesure et d'Analyse (CUMA) de l'université Lille 2. Au CCM les éléments majeurs (As, Cu, Fe, Mn et Zn) ont été analysés par ICP-AES tandis que les autres éléments (Cd, Cr, Ni, Pb, Se et V) ont été dosés par ICP-MS. Au CUMA, tous les échantillons ont été analysés en ICP-MS.

Analyse en ICP-AES

Le dosage des éléments majeurs contenus dans les échantillons de foie et de muscle des sardinelles et des soles a été réalisé après minéralisation par spectrométrie d'émission atomique couplée à un plasma inductif (ICP-AES; Thermo, ICAP 6300 DUO) au Centre Commun de Mesure de l'Université du Littoral. L'ICP-AES est une méthode spectroscopique qui utilise comme source d'ionisation un plasma d'argon. Les échantillons analysés en ICP-AES doivent toujours être en solution. L'échantillon est amené vers le spectromètre par des tuyaux grâce à une pompe péristaltique. L'échantillon arrive jusqu'à un nébuliseur qui fait passer l'échantillon liquide sous la forme d'un aérosol de taille inférieure à dix micromètres. Seules les fines gouttes (les grosses étant

éliminées par un drain) sont entraînées par de l'argon au centre de la torche à plasma elle-même alimentée par de l'argon. Les atomes et ions portés à un état énergétique supérieur émettent avant de retomber à leur état fondamental un rayonnement dont le spectre comporte des raies caractéristiques des éléments présents dans l'échantillon et utilisables en analyse quantitative. Les principaux avantages de cette technique sont outre l'analyse multiélémentaire, une minimisation des effets de matrice comparée aux autres méthodes spectroscopiques et une grande plage de linéarité (du $\mu\text{g.l}^{-1}$ à la centaine de mg.l^{-1}). L'appareil donne une réponse en nombre d'impulsions coups/seconde qui sera traduite en concentration grâce à une gamme d'étalonnage établie. La gamme d'étalon a été établie à partir d'une solution multiélémentaire contenant les éléments à doser. La gamme d'étalonnage a été effectuée entre $20 \mu\text{g.l}^{-1}$ et $500 \mu\text{g.l}^{-1}$.

Dosage en ICP-MS

Le spectromètre de masse par plasma à couplage inductif (ICP-MS) utilisé pour les dosages des éléments-traces au CCM et au CUMA sont du même modèle 820-MS VARIAN. La spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif est basée sur le même principe que l'ICP-AES, mais diffère de la méthode de détection optique, car les ions générés dans le plasma sont séparés par un spectromètre de masse quadripolaire en fonction de leur rapport masse/charge. L'ICP-MS est une technique reposant sur la séparation, l'identification et la quantification des éléments contenus dans un échantillon en fonction de leur rapport masse/charge (figure 2.11). L'échantillon en solution introduit est amené jusqu'à la torche à plasma par une pompe péristaltique.

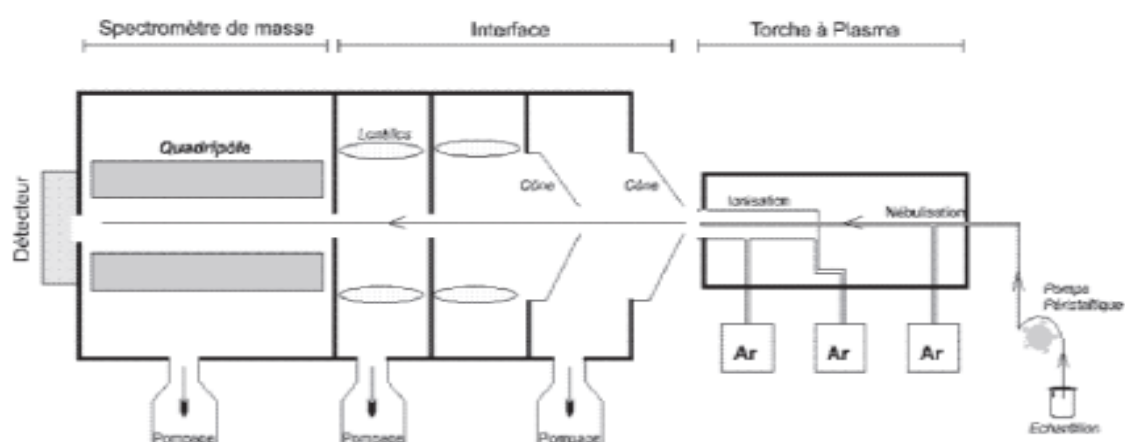


Figure 2.11 : Schéma de principe d'un spectromètre de masse par plasma à couplage inductif.

L'échantillon est nébulisé puis atomisé à très haute température (entre 6000 et 8000 K) dans un plasma. Une partie de ce plasma est échantillonnée par un premier orifice de 1 mm de diamètre

environ au sommet d'un cône en nickel ou en platine («le sampler»), puis se détend sous l'effet du vide modéré (12 mbar) qui règne dans une chambre de pompage différentiel et passe ensuite dans un deuxième orifice («le skimmer»). Ce système de vide différentiel accélère les ions du plasma vers un ensemble de lentilles électrostatiques qui extrait les ions chargés positivement et les transportent vers un filtre de masse quadripolaire où ils sont séparés en fonction du rapport de leur masse atomique sur leur charge. La sélection s'effectue en fonction de la fréquence appliquée sur le filtre. Un détecteur qui est un multiplicateur d'électrons à dynodes discrètes permet de quantifier l'intensité du signal pour chaque masse qui se traduit en nombre d'impulsions (nombre de coups). Pour un isotope donné, le nombre d'ions mesurés permet de calculer directement la concentration de l'élément analysé. Les nombres de coups sont convertis en concentrations après calibration. Les températures pour l'ionisation des échantillons dans le plasma sont très élevées ce qui favorise malheureusement des combinaisons par exemple entre l'argon de masse 40 et des atomes de la matrice biologique, le chlore de masse 35 et/ou le carbone de masse 12 pour donner des molécules de masse respective 75 et 52 impactant les mesures d'As et de Cr dont les masses atomiques sont 75 et 52. De même, le système de séparation quadripolaire est capable de séparer deux masses voisines de 0,5 à 1 amu (unité de masse) mais cela n'est pas suffisant pour séparer des constituants comme $^{56}\text{Fe}^+$ et $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$.

La détermination en trace de ces éléments en ICP-MS dans des matrices complexes reste de ce fait délicate. Pour gérer les interférences poly-atomiques, le modèle utilisé pour le dosage des éléments-traces possède pour la gestion de ces interférences le mode CRI (Interface Collision/Réaction) qui permet d'injecter dans l'interface CRI constituée des deux cônes les gaz de collision et/ou de réactions tels que l'hélium et l'hydrogène directement dans le plasma pendant qu'il traverse l'orifice des cônes. Cette technique permet de minimiser les interférences polyatomiques.

Pour s'affranchir le plus possible des interférences et des effets de matrices liés à la nature des échantillons, on a utilisé deux méthodes différentes lors de nos analyses au CCM ou au CUMA. Au CCM, on a utilisé la méthode des ajouts dosés à mode sans gaz. C'est une technique qui consiste à faire des répliquats de l'échantillon à analyser, en ajoutant à chacun d'eux des concentrations croissantes de l'élément à doser. Une gamme de calibration croissante, de même matrice et à volume final constant, est ainsi obtenue. L'échantillon à analyser était divisé en 4 parties dont une sans ajout et les trois avec des ajouts croissants permet d'établir une droite d'étalonnage : I (intensité de l'élément dosé) = $f(C$: concentration de l'élément). La concentration de l'élément dans l'échantillon correspond au point d'intersection de la droite d'étalonnage à l'axe des abscisses. Cette méthode

était utilisée uniquement pour les dosages du Cd, Cr, Ni, Pb et V contenus dans les échantillons de foie et de muscle de sardinelles et de soles. Les autres éléments contenus dans ces échantillons ont été dosés avec l'ICP-AES comme décrit un peu plus haut. Au CUMA, on a utilisé la méthode CRI en mode gaz (hydrogène) et en ajoutant dans l'échantillon à analyser et dans chaque point de la gamme d'étalon une concentration connue en étalons internes (Yttrium, Rhodium, Scandium).

La solution d'étalon interne était préparée dans une solution appelée diluant constituée de l'eau milli-Q (18 M Ω .cm, millipore corporation) acidifié à 2% avec du HNO₃ ultra pur (qualité Merk), 0,05% d'or (Au), 0,2% de butanol (?) et 0,1% de triton (C₄H₁₀O). Des solutions ultrapures de ces étalons internes ont été ensuite ajoutées au diluant pour qu'il soit concentré à 100 μ g.l⁻¹ d'yttrium, 100 μ g.l⁻¹ de scandium et 100 μ g.l⁻¹ de rhodium. Ensuite 100 μ l de diluant ont été ajoutés dans 2,9 ml d'échantillon et dans chaque point de gamme (2,9 ml).

La méthode CRI a été utilisée uniquement pour le dosage du Cd, Cr, Ni, Pb et V des échantillons d'algues, de moules, de crevettes et des foies et des muscles des mulots et des tilapias. L'identification et la quantification des autres éléments étaient faites par calibration externe avec des dilutions variables selon les éléments (dilution x 400 pour le Fe, dilution x 200 pour l'As, Cu, Mn et Zn).

La précision et l'exactitude des deux méthodes ont été étudiées en faisant des mesures de triplicats (faits toutes les 25 analyses) et l'analyse des matériaux de référence DOLT-4 et DORM-3.

Pour tous les éléments, le signal des blancs reste inférieur à 1% de celui des échantillons, donc aucune correction n'a été effectuée. Les pourcentages des coefficients de variation de tous les échantillons analysés en triplicats étaient tous inférieurs à 10%.

La comparaison des deux méthodes était faite en analysant les mêmes échantillons de DORM-3 et de DOLT-4 dans les 2 laboratoires (CCM et CUMA). La figure 2.12 donne les pourcentages de récupération des matériaux de référence analysés au CCM et au CUMA. Les pourcentages de recouvrement ont été calculés sur chaque élément donné à partir de chaque échantillon de référence analysé dans chacun des labos. Pour les DOLT-4 les résultats des pourcentages de recouvrement montrent que pour l'As calculé au CUMA, le Ni calculé dans les deux labo et le Se calculé au CUMA sont inférieurs à 70%. Pour les DORM-3, les pourcentages de recouvrement de l'As, du Mn et du Se calculés au CUMA sont tous inférieurs à 70%. De ce fait, pour comparer les valeurs de ces trois éléments (As, Mn, Se) analysés dans les échantillons, un facteur de correction a été établi pour chaque élément (CCM = 2 x CUMA pour l'As et le Mn et CCM = 3 CUMA pour le Se). Tous les autres éléments des deux labos sont comparables.

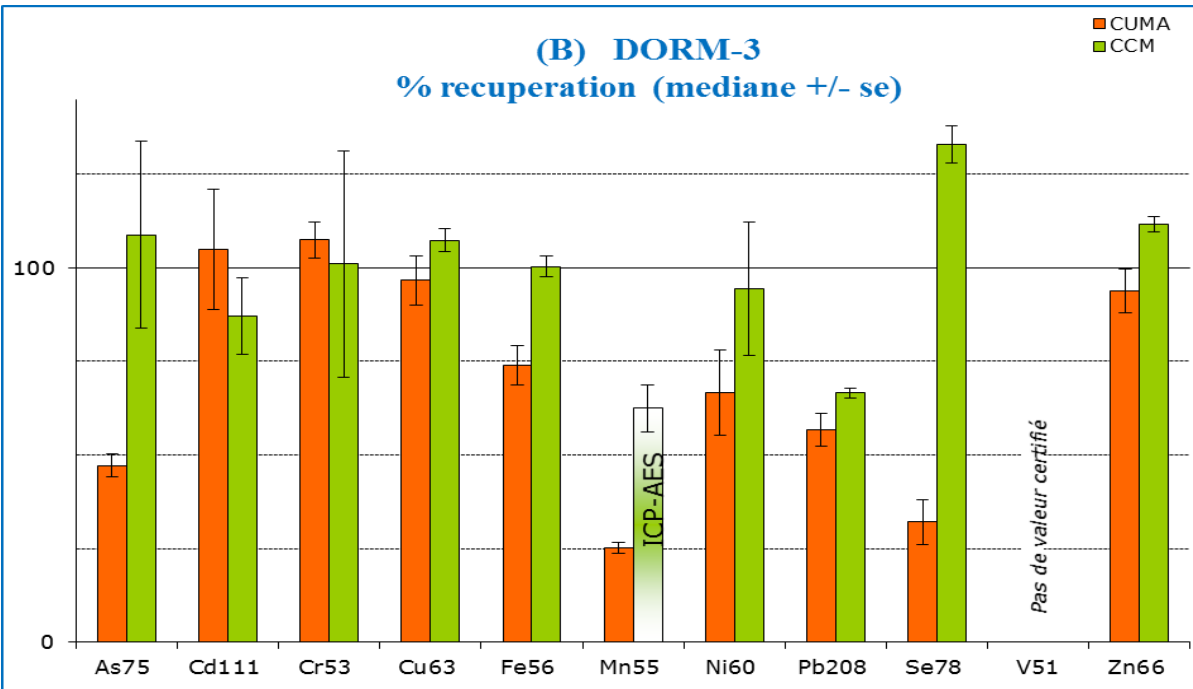
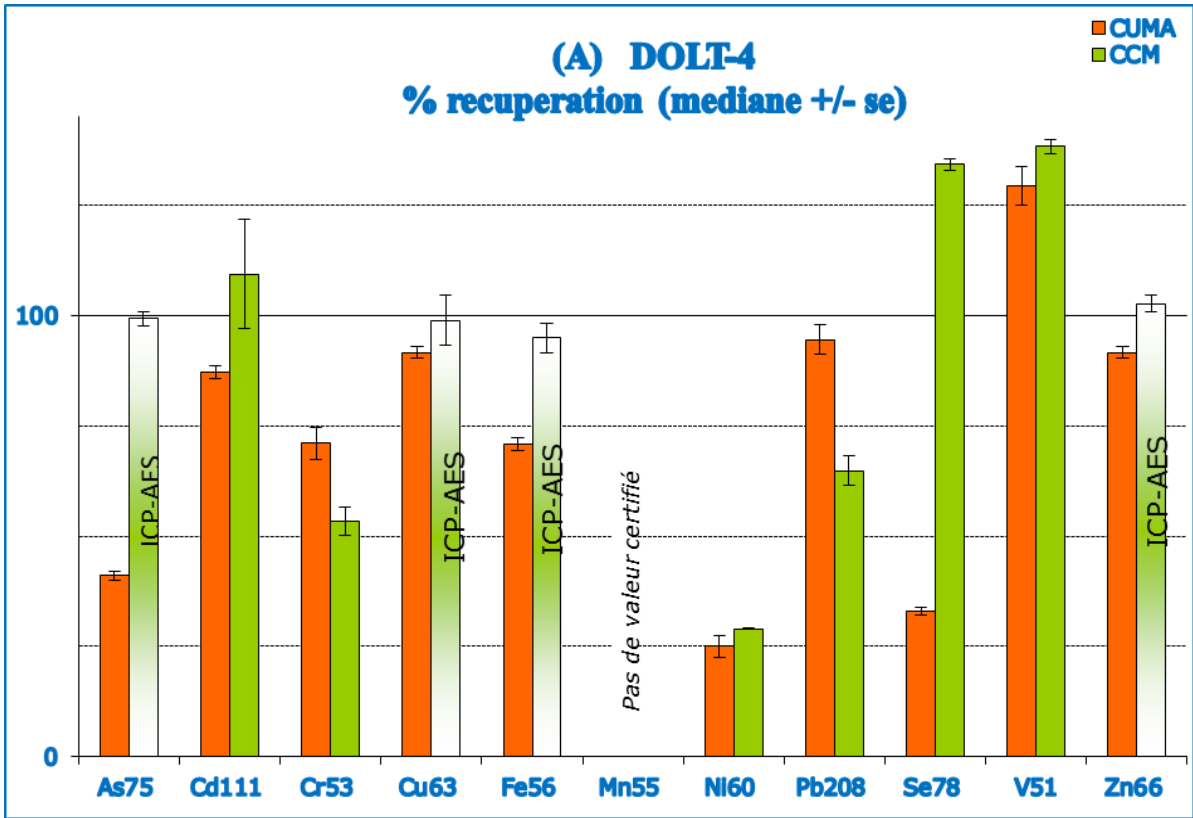


Figure 2.12 : Variation des pourcentages de récupération du DOLT-4 (A) et du DORM-3 (B) analysés au CUMA et au CCM.

II.3.2 Dosage des micro-contaminants organiques

II.3.2.1 Micropolluants organiques d'intérêts

Dans ce travail, les 16 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) classés dans la liste prioritaire de l'Agence de Protection de l'Environnement des Etats-Unis (US-EPA ou United State-Environmental Protection Agency), 18 homologues méthylés de HAP ou le Me-HAP et 28 polychlorobiphényles (PCB) ont été étudiés. Parmi ces 28 congénères de PCB, 12 sont de type dioxine (PCB-Dioxin-Like ou PCB-DL) et 7 PCB indicateurs. En effet, sur le plan de la toxicité, il est possible de distinguer deux types de PCB selon leur mécanisme d'action. (i) Les PCB « Dioxin-Like » ou PCB-DL ont la particularité, en raison de leur structure plane, de pouvoir se lier au même récepteur cellulaire que les dioxines. Ils sont communément mesurés dans le biote. (ii) Les PCB « Non Dioxin-Like » présentent quant à eux un mécanisme d'action qui diffère de celui des dioxines. Parmi l'ensemble des PCB, sept molécules sont particulièrement retrouvées dans l'environnement et dans les produits contaminés et constituent bien souvent près de la moitié des PCB retrouvés dans les milieux aquatiques. Ces composés sont qualifiés de PCB indicateurs (PCBi). Au total, 62 micropolluants organiques ont été analysés dans les sédiments, les algues, les moules et dans le foie et les muscles des poissons prélevés au niveau des 3 sites de Dakar (Soumbédioune, Rufisque et Hann). La figure 2.13 ci-dessous présente les structures chimiques et les abréviations des différentes molécules étudiées.

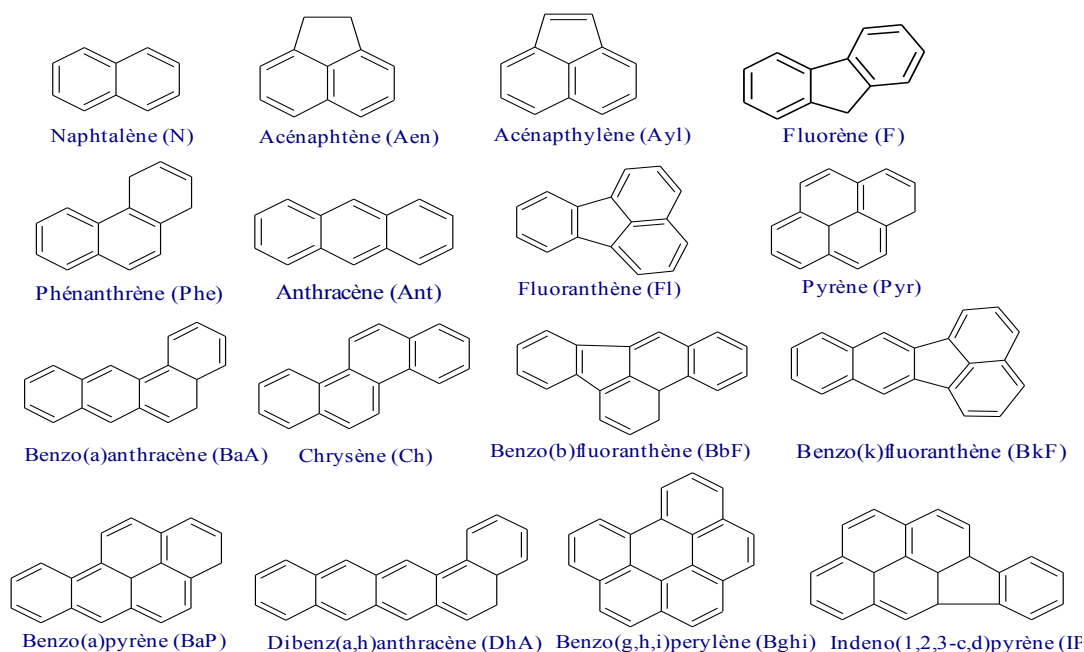


Figure 2.13 : Structures chimiques des 16 HAP classés dans la liste prioritaire de l'US-EPA.

Les 7 congénères de PCB qualifiés d'indicateurs (PCBi) sont PCB 28, 52, 101, 118, 138, 153 et 180. Les 12 congénères de PCB « Dioxin-Like » ou PCB-DL sont les PCBs 77, 81, 105, 114, 118, 123, 126, 156, 157, 167, 169 et 189. A noter que le PCB 118 est à la fois un PCB-DL et un PCBi.

II.3.2.2 Matériels et réactifs

Les polluants étant dosés à l'état de traces, la préparation du matériel et des échantillons a été faite de manière à éviter toute contamination extérieure. Avant chaque utilisation, la verrerie a été nettoyée et séchée comme suit : (i) lavage à l'acétone, (ii) bain dans un détergent basique (Decon®), (iii) rinçage à l'eau ultrapure (mQ), (iv) bain dans une solution acide (HCl, 1 M), (v) nouveau rinçage à l'eau ultrapure puis (vi) calcination à 480°C ou chauffé 120°C suivi par un rinçage à nouveau à l'acétone. L'ensemble des produits chimiques utilisés sont compatibles avec l'analyse de composés présents à l'état de traces et les solvants utilisés sont de qualité HPLC.

Les solutions mixtes de standards des HAPs et des Me-HAPs utilisées dans cette étude proviennent de Restek Corp (Bellefonte, PA, États-Unis) et les solutions de standards des PCBs proviennent d'Accustandard, Inc. (New Haven, CT, États-Unis). Le tétrachloronaphtalène (TCN), le 2,3,3',5,6-tétrachlorobiphényle (PCB112) et l'octachloronaphtalène (OCN) utilisés comme étalons internes pour la quantification des PCBs proviennent de Dr Ehrenstorfer (Augsburg, Allemagne). Les étalons internes deutérés utilisés pour la quantification des HAPs et Me-HAPs étaient l'acénaphthène-d10 (A-d10), le naphtalène-d8 (N-d8), le pérylène-d12 (Per-d12), le phénanthrène-d10 (Phe-d10) et le

pyrène-d10 (Pyr-d10). Ils proviennent de LGC-Promochem (Middlesex, Angleterre). Les solvants (l'hexane, le dichlorométhane, le méthanol et l'acétone) utilisés étaient tous de qualité HPLC et ils proviennent de Dislab (France). L'eau milli-Q était produite par un appareil millipore avec 18 M Ω /cm de résistivité. Le gel de silice 60 (70-230 mesh ASTM) était activé à 450 °C puis conservé à 120°C pendant 12h avant l'utilisation.

II.3.2.3 Préparation des échantillons

Avant l'extraction des composés organiques, les échantillons ont été séchés à l'étuve à 40°C jusqu'à l'obtention de poids constants selon la norme ISO 11464. Ils ont ensuite été broyés mécaniquement avec un pilon et un mortier en agate puis manuellement avec un pilon et un mortier en céramique puis tamisés. Ces procédures ont été effectuées sous une hotte. Les échantillons sont conservés dans le congélateur jusqu'à l'extraction.

II.3.2.4 Extraction

Les HAP, Me-HAP et PCB ont été extraits à l'aide d'un extracteur accéléré par solvant ou ASE (ASE 200, Dionex Corp., USA). La méthode ASE est une technique d'extraction de composés organiques par solvants. L'appareillage ASE 200 (Dionex, USA) permet de chauffer l'échantillon afin de faciliter l'extraction notamment par la diminution de la viscosité des composés présents dans les sédiments, mais aussi par une meilleure pénétration dans les sédiments. Il permet aussi d'appliquer une pression pour que le solvant reste à l'état liquide lors de l'extraction quand on induit un chauffage. L'ASE présente des avantages en comparaison aux autres techniques d'extraction telle que le soxhlet par exemple. En effet, l'effet combiné d'une température relativement élevée et de la pression avec des solvants classiques permet d'une part d'augmenter l'efficacité du processus d'extraction tout en réduisant le temps d'extraction. Il en résulte que cette technique est plus économique en solvant et plus rapide ce qui induit un coût d'utilisation plus faible. Figure 2.14 présente un schéma simplifié de l'extracteur ASE et un exemple de remplissage de cellule ASE pour le cas de sédiments.

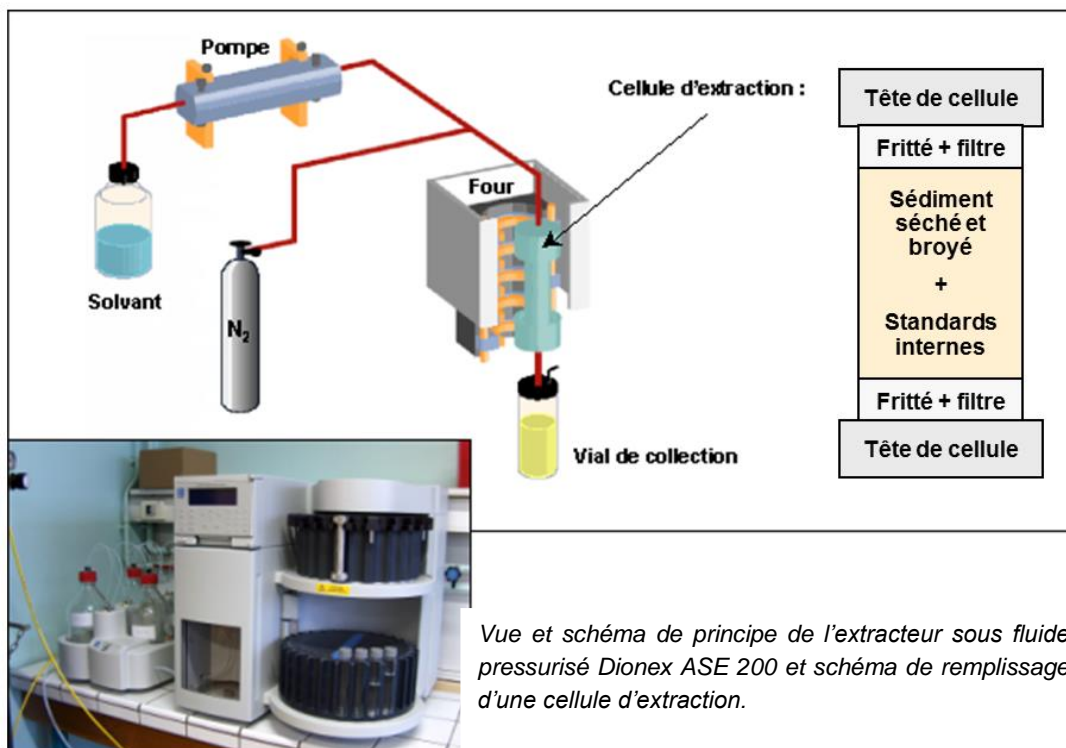


Figure 2.14 : Un schéma simplifié de l'extracteur ASE et un exemple de remplissage de cellule ASE pour le cas de sédiments.

Pour l'extraction, une masse connue de l'échantillon (5-15g) a été mise dans la cellule d'ASE en inox. Ensuite, des quantités connues de solutions d'étalon interne (EI), spécifiques pour la quantification des HAP, Me-HAP et PCB, ont été ajoutées dans la cellule. Des billes de verre propres, préalablement calcinées et rincées avec du solvant, sont également ajoutées dans la cellule ASE pour réduire les espaces vides dans la cellule d'extraction. Les cellules préparées sont ensuite laissées au repos pendant une nuit pour l'équilibration. Après équilibration, chaque échantillon a été extrait selon la méthode de Tronczynski et al. (2005). En effet, le protocole d'extraction correspond à une succession automatisée et programmable d'étapes. Dans un premier temps, la cellule d'extraction est chargée dans le four puis remplie avec le solvant ou le mélange de solvants choisi. La cellule est chauffée et mise sous pression pendant une durée permettant d'atteindre un équilibre thermique. La phase d'extraction proprement dite se déroule ensuite lors du cycle statique d'une durée fixée. A l'issue de ce cycle, la solution extraite est recueillie dans un vial. Le flush, qui correspond au volume de solvant servant au rinçage de la cellule, est également recueilli dans le vial de collection. Ce volume de flush est exprimé par la suite en pourcentage du volume total de la cellule. La cellule est ensuite déchargée et le système est remis à pression atmosphérique et rincé avant l'échantillon suivant. Les conditions d'extraction étaient : préchauffage à 0 minute, chauffage

5 minutes à 100°C, 2 minutes d'extraction avec 5 cycles, pression à 138 bars et 3 minutes de purge avec 35 %. Après l'extraction, le système est purgé avec de l'azote de haute pureté.

L'extrait obtenu est un mélange complexe de composés organiques qui sont co-extraits avec les molécules d'intérêts (HAP, Me-HAP et PCB). Ces produits co-extraits peuvent interférer avec eux lors de l'analyse chromatographique, gêner leur quantification voire même endommager les colonnes chromatographiques et les détecteurs. Une étape de purification et de fractionnement des extraits organiques est donc nécessaire.

II.3.2.5 Purification et séparation sur gel de silice des extraits

Dans un premier temps, des copeaux de cuivre activé sont ajoutés aux extraits afin d'oxyder le soufre moléculaire S₈ sous la forme d'un précipité noir de CuS, d'après la réaction suivante : $8 \text{ Cu} + \text{S}_8 \rightarrow 8 \text{ CuS}$.

Les extraits organiques sont ensuite transférés dans des tubes en pointe en verre puis concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif puis sous flux d'azote. Dans certains cas, les composés ont résolubilisé dans un peu de solvant organique à l'aide d'un bain à ultrasons.

Les extraits contiennent un grand nombre de molécules organiques diverses de par leur poids moléculaire et la nature de leurs fonctions chimiques (e.g. alcool, aldéhyde, cétone, amine, acide carboxylique) (Jeanneau, 2007). Afin de faciliter l'analyse qualitative et quantitative des composés d'intérêts (HAP, Me-HAP et PCB), une séparation des différentes familles des extraits a été effectuée par chromatographie liquide dont le principe repose sur une séparation des molécules en fonction de leur affinité vis-à-vis d'une phase stationnaire (silice) et d'une phase mobile. Les composés sont ainsi séparés selon un gradient polarité. L'extrait organique est déposé en tête d'une colonne remplie par la phase stationnaire puis élué avec une phase mobile.

Une première élution est réalisée en utilisant 20 mL d'hexane comme phase mobile afin de séparer et récupérer les PCB. La fraction F1 est ainsi récupérée. La deuxième élution utilise comme phase mobile un mélange d'hexane et de dichlorométhane. 15 mL d'un mélange d'hexane dichlorométhane 3/1 v/v sont élués puis 10 mL puis le même mélange est utilisé dans des proportions 1/1 v/v (Fraction 2). Cette fraction F2 comporte les HAP et les Me-HAP.

Les deux fractions ont été recueillies ensemble pour s'assurer la quantification totale des concentrations de molécules d'intérêt de chaque échantillon. Chaque extrait a été ensuite évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif et puis sous flux d'azote pour obtenir un volume de 50-200 µL recueilli dans un micro vial en verre de 250 µL et le tout a été placé dans un vial ambré de 1,5 mL. L'extrait final a été conservé dans le réfrigérateur jusqu'à l'analyse.

Cette procédure analytique a été développée et validée initialement par Tronczynski et al. (2005). Dans cette étude, la procédure a été modifiée dans l'étape de fractionnement sur colonne en silice. Les taux de recouvrement ont été étudiés et validés dans ce travail. Le pourcentage de recouvrements obtenus était >79% pour les HAP, >73% pour les HAP méthylés et >75% pour les PCB. Les limites de quantification (LOQ) étaient les suivants : 0,8 µg/kg ps pour les PCB, à l'exception de PCB180 qui était 2 µg/kg de poids sec ; 0,1-2 µg/kg ps pour les HAP et 0,2-0,4 µg/kg ps pour les Me-HAP.

II.3.2.6 Analyse en GC-MS

Chaque extrait a été analysé en chromatographie en phase gazeuse (GC, Varian 3900) couplée avec un spectromètre de masse (MS, Saturn 2000) ou GC-MS. Les conditions opératoires utilisées lors des analyses des molécules d'intérêt sont rassemblées dans le tableau 1 ci-dessous.

Les HAP, Me-HAP et PCB sont identifiés à l'aide de leur temps de rétention (TR) sur le chromatogramme et leurs fragments caractéristiques (m/z) sur le spectre de masse, obtenu lors d'analyses en mode full scan (FS) d'une solution standard. Ces caractéristiques permettent alors de créer une méthode quantitative en mode SIS (Selected Ion Storage) pour des meilleures sélectivités et précisions. En effet, avec le détecteur MS de la trappe d'ion, l'analyse peut se faire en plusieurs modes :

FS : le détecteur détecte toutes les molécules et à tout moment. Cela permet de déterminer les temps de rétention et les spectres de masses relatifs aux composés que nous voulons étudier.

SIS : Une méthode SIS peut être créée seulement lorsque l'on connaît préalablement les fragments caractéristiques et le TR de chaque molécule obtenue lors d'acquisitions en mode FS. Le mode SIS permet de stocker dans la trappe ou d'éjecter un ou plusieurs ion(s) ou une gamme d'ions spécifiques. Les ions matriciels indésirables sont ainsi éliminés ce qui permet de réduire le bruit de fond et d'augmenter la sensibilité pour des échantillons complexes. Ce mode sélectif est plus adapté à l'analyse quantitative des HAP, des Me-HAP et des PCB dans les extraits.

Tableau 2.1: Conditions opératoires utilisées pour l'analyse de HAP, Me-HAP et PCB en GC-MS.

GC-MS	Paramètres opératoires
Chromatographe Varian 3900	Passeur d'échantillons CP-8400
Injecteur	Type « Splitless »
Volume injecté	1 µL
Température d'injection	280 °C

Colonne capillaire silice fondue	ZB-XLB Phenomenex	
Phase	si-arylene	
Longueur	60 m	
Diamètre interne	0,25 mm	
Epaisseur du film	0,25 µm	
Colonne de protection	Oui (en silice fondue 5 m, 0,25 mm diamètre interne)	
Gaz vecteur	Hélium	
Débit	1 mL/min	
HAP et Me-HAP	Programmation du four	
	Température initiale de four	70 °C pendant 1 min
	1 ^{ère} vitesse de programmation	10 °C/min
	1 ^{er} palier de température	170 °C
	2 ^{ème} vitesse de programmation	4 °C/min
	2 ^{ème} palier de température	230 °C
	3 ^{ème} vitesse de programmation	3 °C/min
	3 ^{ème} palier : température finale, isotherme	300 °C pendant 13 min
PCB	Programmation du four	
	Température initiale de four	80 °C pendant 1 min
	1 ^{ère} vitesse de programmation	10 °C/min
	1 ^{er} palier de température	170 °C
	2 ^{ème} vitesse de programmation	4 °C/min
	2 ^{ème} palier de température	230 °C
	3 ^{ème} vitesse de programmation	3 °C/min
	3 ^{ème} palier : température finale, isotherme	300 °C pendant 19 min
Spectromètre de masse Saturn 2000	Quadripôle	
Température de la trappe d'ion	220 °C	
Température de la ligne de transfert	280 °C	

L'identification des analytes d'intérêt dans les échantillons se fait en comparant le temps de rétention et les fragments caractéristiques (m/z) des pics dans le chromatogramme des échantillons avec celui dans les solutions standards pures. La figure 2.15 montre un exemple de chromatogramme du standard d'un mélange de 18 Me-HAP de concentration 0,5 µg/mL et un exemple de spectre de masse (m/z) caractéristique.

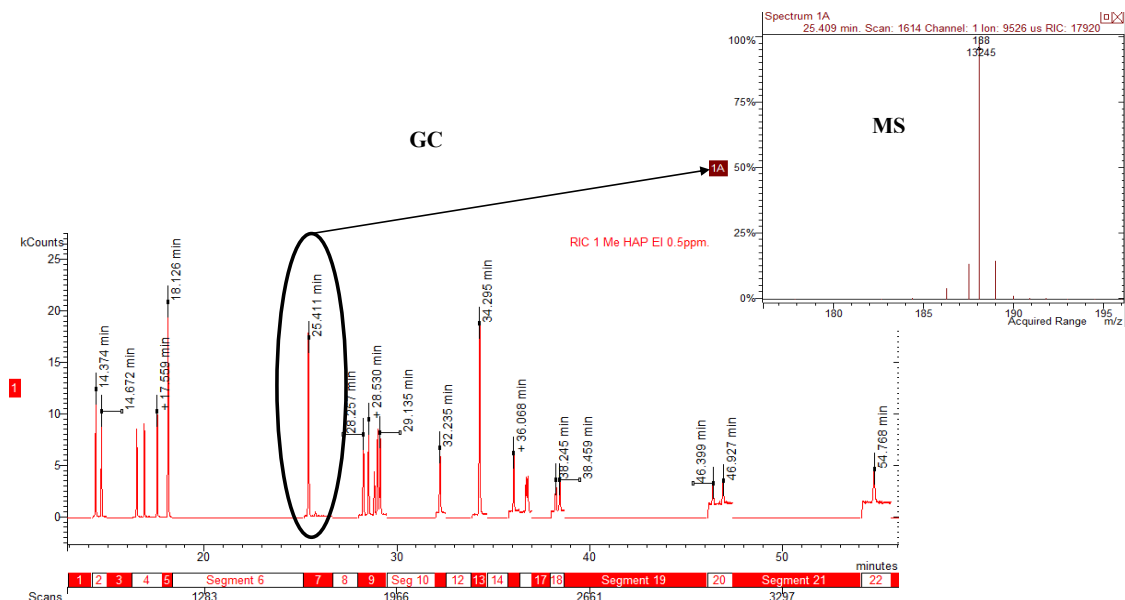


Figure 2.15: Exemple de chromatogramme de mélange de standards contenant 18 Me-HAP à 0.15ppm ainsi que les fragments m/z pour la molécule à TR 25.41 mn.

II.3.2.7 Quantification des HAPs, Me-HAPs et PCBs

Dans cette étude, le principe d'étalonnage interne a été employé. Il s'agit d'ajouter une/des molécule(s) de références ou étalon(s) interne(s) dans l'échantillon et aussi dans les gammes d'étalons. Un étalon interne ne doit pas exister initialement dans l'échantillon, il doit posséder des propriétés physico-chimiques proches des analytes (HAP, Me-HAP ou PCB) et il ne doit pas interférer les processus d'extraction ou d'analyse. Ce principe a été utilisé dans le but de corriger les éventuelles pertes ou erreurs expérimentales de types aléatoires et/ou systématiques (Skoog et al., 2003). Dans un premier temps, des gammes d'étalons de concentration croissante en HAP, Me-HAP et PCB allant de 0,1 à 5 µg/L sont préparés à partir de standards commerciaux. Ensuite, à ces gammes d'étalons, les étalons internes sont dopés avec une quantité connue de chaque étalon interne. Ensuite, chaque gamme de concentration a été analysée en GC-MS avec les mêmes conditions que pour les échantillons. L'appareil fournit ainsi des signaux (chromatogrammes) sous forme des pics chromatographiques en fonction de leur temps de rétention. Chaque pic correspond à une molécule d'intérêt. Chacune des molécules d'intérêts à un temps de rétention (TR) et des fragments (m/z) caractéristiques différents. L'étalonnage permet alors d'obtenir l'équation de régression linéaire qui suit :

$$\frac{A_i}{A_{ei}} = a \frac{C_i}{C_{ei}} + b$$

Où : A_i = Aire du pic du composé i , A_{ei} = Aire du pic d'étalon interne, C_i = Concentration connue dans la solution commerciale, C_{ei} = Concentration en étalon interne.

Après détermination des droites de régression, on peut alors déterminer la concentration d'un composé dans un échantillon par :

$$C_i = \left(\frac{A_i}{A_{ei}} - b \right) * \frac{C_{ei}}{a}$$

Pour chaque extrait, on détermine alors la concentration de chaque composé présent et quantifiable. On fait ensuite la somme des concentrations de tous les composés afin d'obtenir la concentration totale des composés organiques extraits pour chaque expérience. Enfin, la concentration dans l'extrait a été ensuite rapportée à la masse de l'échantillon pesé pour l'extraction correspondante pour avoir une réponse en μg ou mg/kg de poids sec (ps).

Partie II : Méthodes d'étude sur la qualité fraîcheur et sur la différenciation entre un filet frais à un filet décongelé

Nous avons travaillé simultanément sur une lignée fibroblastique et sur des filets de daurade royale (*Sparus aurata*). Comme nous l'avons décrit dans le chapitre précédent, la perte de fraîcheur est associée à l'autolyse des organites cellulaires aboutissant à la lyse des membranes cellulaires et provoquant une libération d'enzymes intracellulaires dans le milieu extracellulaire. Nous avons utilisé deux approches pour évaluer le niveau d'autolyse. La première est une approche enzymatique basée sur la libération d'une enzyme intracytoplasmique : la lactate déshydrogénase. La seconde méthode est fondée sur la mesure de la perméabilité des cellules à des marqueurs de fluorescence. Ce travail nous a permis de faire une corrélation entre le niveau d'autolyse et l'état de fraîcheur des filets de poisson

Ce travail a également consisté à regarder si ces marqueurs pouvaient être utiles à la différenciation d'un filet frais et d'un filet décongelé.

Les cellules SAF-1

Les cellules SAF-1 (*Sparus aurata* fibroblaste) utilisées dans cette étude proviennent de ECACC (European Collection of Cell Culture, United Kingdom). Ce sont des cellules fibroblastiques issues de la nageoire caudale de la daurade royale *Sparus aurata*. Les cellules SAF-1 ont été mises dans des conditions optimales de croissance (i.e 25°C avec 5% CO₂) dans des flasques T75 contenant 15 ml de RPMI (Roswell Park Memorial Institute medium) supplémenté avec 1% L-glutamine, 1% pénicilline/streptomycine, 10% de sérum de veau foetal (SVF) (D. Dutscher, Brumath, France) et 30mM de NaCl. Les cellules ont étéensemencées à 8000 cellules/cm² dans des flasques T75 puis laissées en culture jusqu'à une confluence de 90%.

Les filets de daurade

Les échantillons de dorade (*Sparus aurata*) utilisés dans cette étude proviennent de la ferme aquacole d'Aquanord de Gravelines (France). Les poissons ont été élevés dans des tanks contenant 45 000 dorades à une concentration maximale de 30 kg/m³. Les tanks sont connectés à un système de recirculation d'eau marine dans des conditions strictement contrôlées : température 18 ± 6 °C, pH 8.2, ammonium total < 30 µmol/l, taux d'oxygène dissous supérieur à 99% (v/v) avec une saturation (7 ppm). Au jour J0, 8 à 10 individus (masse moyenne de 500 ± 120 g) ont été prélevés et sacrifiés par asphyxie hypothermique (immersion dans de l'eau glacée avec un ratio poisson : glace (3 : 1)). Les poissons ont été ensuite mis dans des glaciaires contenant de la glace et transportés jusqu'au laboratoire. Les poissons ont été dépecés puis filetés rapidement par le CFPMT Centre de Formation des Produits de la Mer et de la Terre (Boulogne-sur-Mer). Les filets de poissons ont été

ensuite protégés dans des films plastiques et stockés dans des boîtes en polystyrène contenant de la glace puis transportés jusqu'au laboratoire. Tous les processus de traitement, de stockage et de réfrigération ont été faits dans des conditions typiques d'une usine de transformation de poisson.

Pour l'évaluation de la fraîcheur, les filets ont été stockés à 4 °C sur une période de 8 jours (J0, J2, J4, J6, et J8 après la mort). Au cours du stockage, les filets de poisson frais ont été disposés sur un lit de glace renouvelé quotidiennement. La mesure de l'état des adipocytes a été effectuée sur les filets à différents temps.

Les filets ont été utilisés aussi pour la différenciation entre un filet frais à un filet décongelé.

III.1 Mesure de la fraîcheur dans les filets de daurade

La première partie du travail a consisté à mesurer l'altération de la membrane plasmique des cellules d'une lignée fibroblastique de daurade dans des conditions artificielles de déplétion en énergie (température de 4°C en absence de nutriments). La perméabilisation des membranes a été mesurée par la libération d'une enzyme intracytoplasmique, la lactate déshydrogénase (LDH) (Lobner, 2000) et par des techniques de fluorescence (PI et DAPI) (Warnes, 2015). Ces marqueurs ont été étudiés par la suite dans l'évaluation de la fraîcheur des filets de daurade royale.

III.1.1 Mesure de l'altération sur cellules SAF-1

III.1.1.1 Induction de Stress nutritif et thermique

Pour pouvoir simuler l'état de stress des cellules de poisson après la mort, nous avons exposé les cellules SAF-1 au milieu PBS (Phosphate Buffered Saline) où elles sont privées de nutriments puis nous les avons placées à 4°C. Le tampon phosphate a été préparé avec 450 ml d'eau pure stérile (PAN-BIOTECH, Dutscher, France), 50 ml de PBS 10X (Steril PBS buffer) (Biosolve Chimie, Dieuze, France) et 30 mM de NaCl. On aensemencé des flasques T 175 contenant chacune une densité exacte de cellules de 8000 cellules/cm² dans du milieu RPMI. Les flasques sont ensuite mises en culture à 25°C sous 5 % de CO₂ pendant 48h. Après 48h de culture, le milieu a été prélevé et remplacé avec 40 ml de PBS et les flasques sont conservées à 4°C. Après 2 h de conservation, une flasque de culture a été prélevée et tout le contenu de la flasque a été transvasé dans un tube de 50 ml. Les cellules ont été culotées par centrifugation (4°C, 1200 rpm, 5 min) et le surnageant qui contient la LDH libre (LDH diffuse) a été pris dans un tube de 50 ml puis conservé à 4°C. Les cellules ont été reprises dans 100 µl de tampon phosphate puis dénombrées sur cellule de Malassez.

Les cellules ont été ensuite utilisées pour : i) mesurer la perméabilisation de leur membrane par coloration au propidium iodide ; ii) mesurer l'intégrité de leur noyau par coloration au DAPI.

Chaque jour, de J0 jusqu'à J7, trois flasques de culture ont été prélevés, les cellules de chaque flasque dénombrées et colorées et le surnageant conservé à 4°C. Au dernier jour tous les tubes ont été sortis et centrifugés (4°C, 1500 rpm, 5 min) et les surnageants ont été pris. La LDH libérée par les cellules à ces différents temps de conservation a été mesurée à 490 nm avec un lecteur de microplaque.

III.1.1.1.2 Test de stabilité et dosage de la LDH

Test de stabilité de la LDH à 4°C et dosage

Afin de s'assurer que la LDH en solution résiste aux actions protéolytiques des enzymes lorsqu'elle est conservée à 4°C durant tout le temps de suivi, nous avons dans un premier temps testé sa stabilité en solution dans du PBS à +4°C à différents temps (J0, J1, J5, J14) de conservation. A chaque temps, $1,4 \cdot 10^6$ cellules qui étaient en culture dans une flasque contenant 40 ml de RPMI et placée dans une étuve réglée à 25°C avec 5% CO₂ ont été considérées. Les cellules ont été reprises dans 5 ml de PBS après centrifugation (4°C, 1200 rpm, 5 min) dans un tube de 15 ml. La LDH totale contenue dans les cellules a été récupérée après sonication des cellules (1 min, 0,5 s par impulsion, 100W, 24 kHz) suivies d'une centrifugation (4°C, 5 min, 1200 rpm). Le surnageant qui contient la LDH a été transvasé dans un nouveau tube. Le tube est ensuite bien fermé et conservé à 4°C. L'activité de la LDH aux différents temps de conservation (J14 correspond à la conservation de la LDH durant 14 jours à 4°C) a été dosée à J0 (la LDH a été conservée pendant 2h à 4°C).

La mesure de la stabilité de la LDH (figure 2.16) montre que l'activité de la LDH (conservé à 4°C en solution) diminue à partir du quatorzième jour. C'est ainsi que nous avons décidé de conserver la LDH, contenue dans les cellules SAF-1 et dans les filets de daurade, dans du PBS à 4°C sur une période ne dépassant pas 8 jours. L'intérêt de tester la stabilité de la LDH était de pouvoir analyser tous les échantillons d'une même cinétique (cinétiques sur 8 jours) simultanément pour pallier aux variations des facteurs physico-chimiques (température, la lumière et la pression).

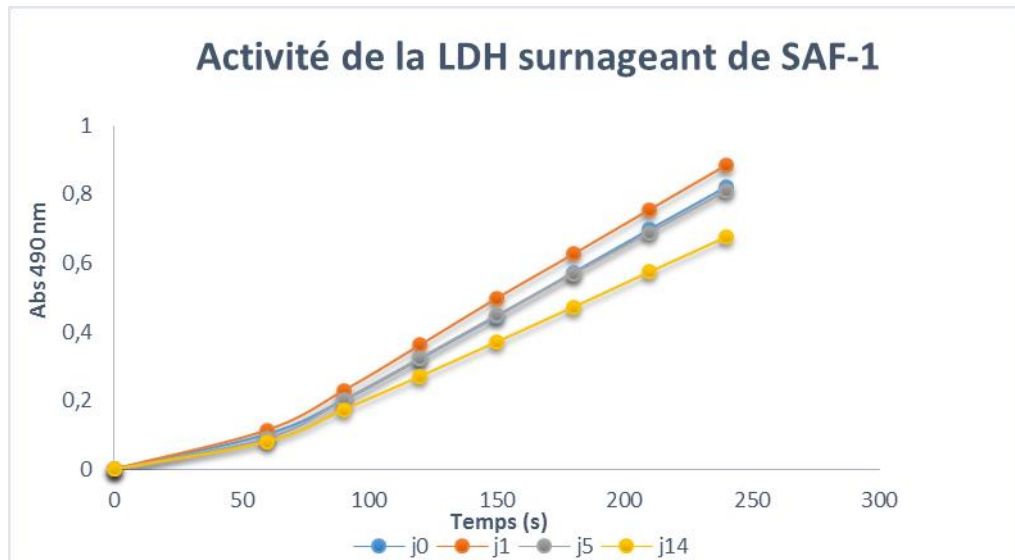


Figure 2.16 : Stabilité de la LDH maintenue dans du PBS et conservé à 4°C a différents temps.

Dosage de la LDH.

La lactate déshydrogénase (LDH) ou déshydrogénase lactique est une enzyme intracellulaire présente dans une diversité d'organismes aussi bien animaux que végétaux. C'est une enzyme qui catalyse la formation du lactate en pyruvate. Le NAD⁺ est le cofacteur le plus fréquent de la lactate déshydrogénase. Il est converti en NADH durant la glycolyse (figure 2.17).

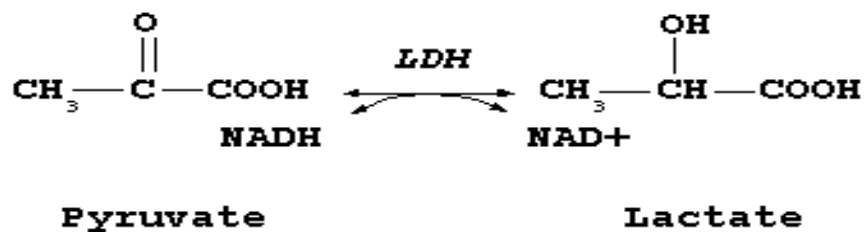


Figure 2.17: Transformation du lactate en pyruvate par la LDH

En cas de lyse des membranes des cellules, la LDH passe dans le milieu extracellulaire.

Elle est dosée à partir du kit « Cytotoxicity Detection Kit (LDH) » commercialisé par la société Roche. Le kit contient un sel de tétrazolium (composé rouge) qui se transforme en Formazan lorsque la LDH est présente dans le milieu (figure 2.18). La quantité de formazan formée est directement proportionnelle à la quantité de LDH libérée et donc au taux de lyse cellulaire. Une analyse spectrophotométrique permet alors de mesurer l'intensité de la réaction.

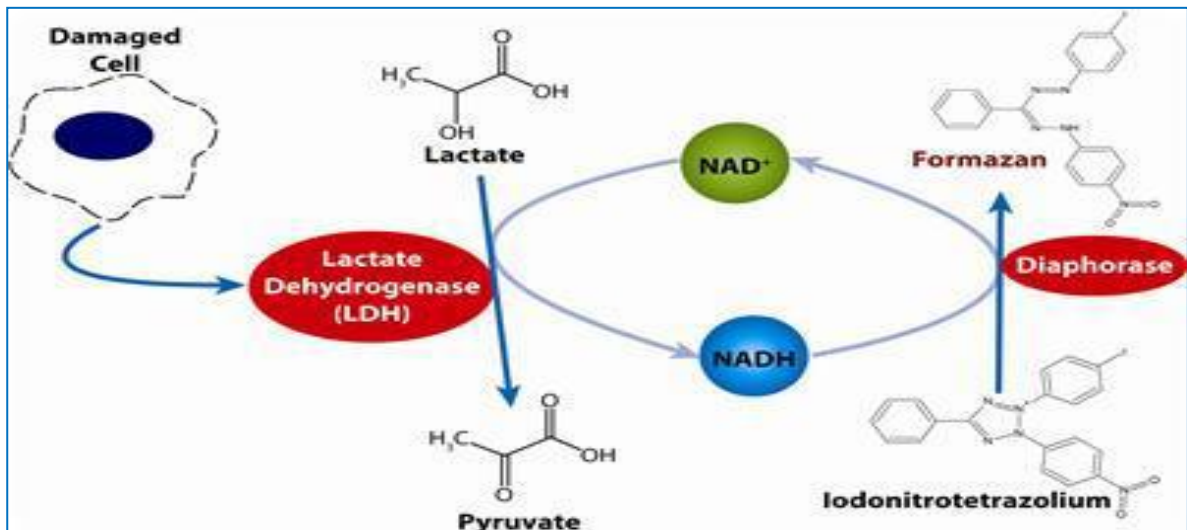


Figure 2.18 : Principe de dosage de la LDH (EC 1.1.1.27) avec le kit « Cytotoxicity Detection » (Roche).

Le dosage s'est effectué en mettant 100 µl de surnageant par puits d'une MP (100 µl de PBS par puits pour le blanc) et en ajoutant dans chaque puits 100 µl de réactif LDH. La MP est maintenue à l'abri de la lumière à la température ambiante durant 5 min et la réaction est stoppée en ajoutant 50 µl de HCl 1M par puits. L'absorbance a été lue à une longueur de 490 nm.

III.1.1.3 Marqueurs de fluorescence étudiés

Les marqueurs de fluorescence sont aujourd'hui largement utilisés pour suivre la mortalité cellulaire. La fluorescence est la propriété que certains corps ou molécules ont à émettre une lumière après avoir été excités avec une lumière d'énergie supérieure. Chaque fluorophore est caractérisé par sa longueur d'onde d'excitation et par sa longueur d'onde d'émission. La perforation des membranes cellulaires (coloration au PI), la désintégration de l'ADN cellulaire (coloration au DAPI) et la détermination de la perte du potentiel mitochondrial (coloration à la rhodamine) ont été effectuées à l'aide d'un microscope à fluorescence du modèle Axioscop 50 (Carl Zeiss Germany) mis à disposition par la PMOI (Université Lille 2). Ce microscope possède une gamme de filtres qui permet de sélectionner la longueur d'onde d'excitation et d'émission désirée. Il est connecté à un ordinateur qui permet à la visualisation et au traitement des images.

Coloration au Propidium Iodide (PI)

Le Propidium Iodide est un agent intercalant de l'ADN. Il est incapable de passer à travers les membranes plasmiques intègres mais il est capable de colorer les cellules perméabilisées (atteint l'ADN des cellules lorsque la membrane plasmique devient perméable (Ozdemir, 2011)). Sa longueur d'onde d'excitation est de

538 nm et sa longueur d'onde d'émission est de 617 nm. Il marque l'ADN en rouge. Le PI est utilisé en environnement pour évaluer la mortalité des bactéries liée aux facteurs environnementaux (Shi et al., 2007). Il est utilisé dans cette étude pour suivre l'effet de la déplétion en énergie sur la lyse membranaire des cellules SAF-1 afin de l'appliquer dans des cellules particulières des filets de daurade que sont : les adipocytes. Le Propidium Iodide utilisé est contenu dans le kit « Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit » commercialisé par la société Sigma-Aldrich.

Pour la coloration au PI, on a préparé 3 tubes Eppendorf contenant chacun 600 000 cellules SAF-1. Dans chaque tube, 10 µl de Propidium Iodide ont été ajoutés. Ensuite, les tubes ont été laissés à l'obscurité pendant 10 minutes puis les échantillons ont été analysés en microscopie par fluorescence avec un filtre d'excitation dont la gamme de longueur d'onde inclue 538 nm et un filtre d'émission dont la gamme de longueur d'onde inclue 617 nm.

Coloration au DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole)

C'est une molécule qui marque l'ADN en bleu en se liant fortement aux bases thymines et adénines. Sa longueur d'onde d'excitation est de 350 nm, et sa longueur d'onde d'émission est de 470 nm. En absorbant la lumière ultraviolette, le DAPI émet une lumière bleue fluorescente qui peut être visualisée avec un microscope à fluorescence. Il passe à travers les membranes plasmiques et permet d'identifier la totalité des cellules. Il est très utile car il permet d'identifier l'état d'intégrité de l'ADN des cellules. Pour la coloration au DAPI, chaque jour 3 tubes Eppendorf contenant chacun 600 000 cellules SAF-1 ont été considérés et trois tubes contenant chacun 20µl d'adipocytes. Dans chaque tube, ajouter 2 µl de DAPI (3mg / ml) à 100 µl de l'échantillon à analyser ensuite, laisser agir pendant 10 minutes à l'obscurité.

Analyser les cellules en microscopie par fluorescence avec un filtre d'excitation dont la gamme de longueur d'onde inclue 350 nm, et un filtre d'émission dont la gamme de longueur d'onde inclue 470 nm.

III.1.2 Mesure de l'autolyse des filets de daurade

III.1.2.1 Dosage de la LDH

A J0, trois filets de poissons ont été pris. Pour s'affranchir de la variabilité de la teneur en LDH en fonction des zones du filet, 3 cubes de 500mg ont été prélevés par filets dans 3 zones différentes (tête, dos, queue). Les cubes ont été placés dans des tubes de 50 ml. 15 ml de PBS (30 mM NaCl) ont été ajoutés dans chaque tube. Les tubes ont été placés sous agitation (4°C, 400 rpm, 1h) puis centrifugés (4°C, 1500 rpm, 5 min). Dans chaque tube, 1 ml de surnageant a été pris et conservé à 4°C pour le dosage de la LDH diffuse (i.e LDH libérée dans le milieu après autolyse des cellules

du filet). Le reste des tubes a été utilisé pour récupérer la LDH totale (i.e la LDH diffuse et la celle contenue dans les cellules non lysées). Les tubes ont été passés à l'Ultra Turrax (Labo moderne, Paris, France) muni d'un disperseur T-10 (10 mm de base), durant 1 min à 24 000 rpm pour bien broyer les échantillons. Les échantillons ont été passés à la sonication (1 min 100W, 24 kHz) pour libérer toute la LDH. Les tubes ont de nouveau été centrifugés (4°C, 3400 rpm, 5min) et 2 ml du surnageant ont été prélevés et placés dans un tube eppendorf et conservés à +4°C jusqu'à J7 pour le dosage de la LDH totale. Chaque jour, jusqu'à J7, trois filets de poissons ont été pris et 3 cubes ont été prélevés par filet. La LDH diffuse et la LDH totale ont été prélevées et conservées à 4°C. A J7, tous les échantillons ont été dilués au quatre vingtième avant la mesure de la LDH diffuse et de la LDH totale. Le rapport LDH diffuse/sur LDH totale a été utilisé pour évaluer l'état de fraîcheur des filets de poisson.

III.1.2.2 Autolyse des adipocytes des filets de daurade

Les adipocytes sont les constituants principaux du tissu adipeux. Les adipocytes se présentent sous des formes plus ou moins sphériques avec des diamètres d'environ 80 µm (Comley et Fleck, 2010) présentant un cytoplasme occupé pour la plupart par une ou deux grosses gouttelettes lipidiques constituées principalement de triglycérides et un noyau excentré. Ces volumineuses cellules sont séparées par une mince couche de matrice extracellulaire (MEC) contenant quelques fibres de collagène et de nombreux capillaires sanguins. Les adipocytes sont des cellules incolores groupées souvent en amas ou dispersées dans le tissu conjonctif banal lâche. Ils siègent principalement chez les poissons sous la peau et entre les myomères (masses musculaires métamérisées). Les adipocytes sont des cellules facilement extractibles à cause de leur localisation (facile d'accès) et de la nature de leur constituant (flottent en surface lorsqu'ils sont en solution). Par ailleurs, les adipocytes sont des cellules très fragiles qui s'éclatent lorsqu'elles sont soumises à des stress. Nous avons utilisé ces propriétés des adipocytes d'une part pour les extraire et d'autre part pour les colorer avec des marqueurs de fluorescence notamment au DAPI et au PI pour mesurer l'état de fraîcheur des filets de daurade.

L'extraction des adipocytes du filet va nous permettre d'obtenir un échantillon de cellules sur lesquelles nous allons étudier les marqueurs vus précédemment. A terme, les analyses pourront s'effectuer en cytométrie de flux comme l'ont montré Majka et al., (2014) et permettra de donner un résultat sur l'état de fraîcheur dans un délai relativement court.

Extraction et coloration des adipocytes

L'extraction des adipocytes est effectuée sur les filets de dorade stockés à 4°C. Chaque jour, trois filets ont été utilisés et les adipocytes ont été extraits dans la musculature dorsale en contact avec la peau puis ils ont été colorés au DAPI et au PI pour suivre le degré d'altération des poissons.

Pour extraire les adipocytes, un échantillon du muscle de chaque filet a été prélevé et coupé en petits morceaux d'environ 1 mm³. 3 g de muscle (mélange de trois filets) ont été pesé dans un tube de 15 ml auquel on ajoute 5 ml de tampon d'extraction (PBS contenant 3 mg/ml de collagénase et 0,3 % de SAB (Sérumalbumine bovine). Les tubes ont été agités à 100 secousses/min dans un bain-marie à 37°C pendant 1h. L'action de la collagénase a été neutralisée en ajoutant 10ml de RPMI dans chaque tube. Le tube a été centrifugé (4°C, 1200 rpm, 5 min) et le surnageant contenant le voile blanc est transvasé dans un nouveau tube. Le tube est à nouveau centrifugé (4°C, 1200 rpm, 5 min) et la partie superficielle (voile blanc contenant les adipocytes) a été prélevée et placée dans un nouveau tube. Afin de disposer des adipocytes propres et bien séparés, 10 ml de milieu RPMI ont été ajoutés dans le tube. Le tube est à nouveau centrifugé (4°C, 1200 rpm, 5 min) et le voile blanc prélevé est placé dans un nouveau tube. Ce processus de lavage est effectué 5 fois. A la fin du cinquième lavage, les adipocytes ont été repris dans 100 µl de tampon PBS dans un tube eppendorf placés dans de la glace pour coloration.

Les adipocytes ont été ensuite colorés au PI et au DAPI comme décrit précédemment.

III.2 Différenciation entre un filet frais à un filet décongelé

Expérience sur cellules SAF-1

Pour cette expérience, les cellules ont été placées sous trois conditions physiologiques différentes ; (i) lysats cellulaires, (ii) cellules en suspension dans du PBS, (iii) culots cellulaires. Pour chaque condition, 6 flasques de cultures contenant chacune exactement $1,6 \cdot 10^6$ cellules ont été considérées. Les cellules ont été mises en culture dans 40ml RPMI supplémenté avec 2% L-glutamine, 1% pénicilline/streptomycine, 10% de sérum de veau fœtal et 30mM de NaCl puis placées dans l'étuve (25°C avec 5% CO₂) pendant 48h. A J0, toutes les flasques ont été sorties de l'étuve, et les cellules de chaque flasque ont été culotées dans un tube de 50 ml par centrifugation (4°C, 1200 rpm, 5 min). Le surnageant de chaque tube a été jeté et les cellules de chaque tube ont été récupérées dans un nouveau tube de 15ml pour faciliter la conservation. Pour la condition (i), 5 ml de PBS ont été ajoutés dans chaque tube. Les cellules ont été mises en suspension par simple agitation et le contenu enzymatique de toutes les cellules a été mis en suspension dans du PBS après une lyse totale des

cellules par sonication (1 min 100W, 24 kHz) suivie d'une centrifugation. Après centrifugation, le surnageant de chaque tube (lysats cellulaires) a été récupéré dans un nouveau tube et les débris cellulaires (culot) jetés. Ensuite, trois des tubes ont été congelés rapidement (-2°C/min) puis conservés -20°C pendant 24h et les trois autres tubes restants (témoin positif) a été conservé à 4°C pendant 24h. Pour la condition (ii), les cellules ont été remises en suspension dans 5 ml de PBS et les tubes ont été congelés rapidement (-2°C/min) puis conservés -20°C pendant 24h. Pour la condition (iii), les culots cellulaires ont été congelés directement dans les tubes sans ajout de PBS. Après 24h de conservation à -20°C, tous les tubes des différentes conditions sont sortis et décongelés totalement à la température ambiante. Pour la condition (iii), après décongélation totale du culot à la température ambiante, les cellules ont été mises en suspension dans 5 ml de PBS. Les tubes des conditions (ii) et (iii) ont été soniqués (1 min 100W, 24 kHz) pour libérer toutes les enzymes contenues dans les cellules puis centrifuger (4°C, 1200 rpm, 5 min). Les surnageants ont été récupérés dans de nouveaux tubes pour le dosage de la LDH totale de l'AGLUC.

Le dosage de la LDH suit le même protocole que précédemment et le dosage de l'AGLUC a été effectué sur les surnageants en suivant la méthode décrite par Nilsson et Ekstrand (1993) et modifiée par Benjakul et Bauer (2001). Le protocole de dosage de l'AGLUC ne sera pas développé ici.

Expérience sur les filets de daurade

Pour cette expérience, les filets de daurade ont été divisés en deux lots. Un premier lot a été conservé à 4°C pendant 24h. Le deuxième lot a été congelé rapidement (-2°C/min) puis conservé -20°C pendant 24h puis décongelé totalement à la température ambiante. Pour chaque lot de filet, différents cubes de masses variables ont été découpés (100 mg à 1000mg) puis placés dans des tubes de 50ml. Dans chaque tube, 15 ml de PBS (30mM de NaCl) ont été ajoutés. Pour récupérer la LDH et l'AGLUC libres (celles contenues entre les espaces cellulaires) les tubes ont été agités (4°C, 400 rpm, 1h) puis centrifugés (4°C, 1200 rpm, 5 min). Pour le dosage de la LDH et l'AGLUC diffuses, dans chaque tube, 1ml de surnageant a été prélevé et mis dans un tube Eppendorf puis conservé à 4°C jusqu'aux dosages. Le reste des tubes a été broyé à l'Ultra Turax (1 min, 24 000 rpm) puis soniqués (1 min 100W, 24 kHz) pour libérer toutes les enzymes contenues dans les cellules musculaires. Les tubes ont été par la suite centrifugés à 3400 rpm pendant 5 min à 4°C. 1 ml de surnageant de chaque tube a été prélevé pour le dosage de l'activité de la LDH totale et l'AGLUC totale.

L'activité relative de la LDH correspond à l'activité de la LDH diffuse sur l'activité de la LDH totale. Cette relation a été utilisée dans les filets frais et dans les filets décongelés pour différencier un filet frais d'un filet décongelé. Pour les dosages enzymatiques, les échantillons ont été dilués au quatre vingtième.

Chapitre II

Niveaux de contamination métalliques et organiques du littoral sénégalais

Résumé

Le littoral sénégalais à l'instar de la plus part des côtes du globe subissent de sérieux problèmes environnementaux liés à une densification de la population dans les villes côtières et une forte concentration des usines le long des côtes les utilisant pour la plus part comme dépotoirs. Cette forte anthropisation se traduit par la présence de toutes sortes de contaminants dans la zone côtière avec des effets possibles pour la faune, la flore et pour la population.

Cette partie du travail avait pour objectif de faire une évaluation spatiale et saisonnière des niveaux de contamination par les polluants métalliques et organiques (hydrocarbures aromatiques polycycliques et polychlorobiphényles benzènes) des zones côtières du Sénégal. Pour cela, nous avons dosés les contaminants métalliques (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, V et Zn) dans 7 espèces dont une espèce d'algue (*Ulva lactuca*), une espèce de mollusques (*Perna perna*), une espèce de crevette (*Penaeus kerathurus*) et quatre espèces de poisson (*Solea senegalensis*, *Mugil cephalus*, *Sarotherodon melanotheron* et *Sardinella aurita*) prélevées au niveau de 5 sites présentant des degrés d'anthropisations différents durant la saison sèche et durant la saison humide. Pour les contaminants organiques (HAPs, Me-HAPs et PCBs), les dosages ont été réalisés au niveau de 3 sites de Dakar durant la saison sèche.

Une variation de concentration de ces contaminants a été observée entre les espèces justifiant l'intérêt d'utiliser plusieurs espèces pour évaluer la pollution chimique du littoral. Les facteurs de bioaccumulations et de bioconcentrations calculés pour chaque espèce montrent que certaines espèces accumulent plus de contaminants que d'autres en fonction de la nature du contaminant, de son niveau trophique et de sa capacité à métaboliser et à éliminer le contaminant. Une différence de concentration des contaminants a été observée aussi entre les organes d'une même espèce. Le foie des poissons étant l'organe qui accumule plus de contaminant, a été utilisé dans l'évaluation de la pollution chimique du milieu tandis que le muscle a été choisi pour évaluer les risques associés à la consommation de

Une variation saisonnière et spatiale a été observée sur la concentration de ces contaminants dans les espèces étudiées. C'est généralement durant la saison humide que les fortes concentrations ont été mesurées. Cette saison semble donc plus appropriée pour le suivi de la contamination des organismes marins. Des variations inter-sites de la teneur en contaminants chimiques dans les organismes marins du littoral sénégalais ont été observées. Les sites les plus anthropisés comme Soumbédioune et Rufisque sont ceux qui présentent les teneurs les plus élevées.

La comparaison des teneurs en contaminants trouvées dans les organismes du littoral sénégalais avec celles trouvées dans les mêmes espèces dans les autres parties du monde montre que Les

niveaux de contamination métalliques et organiques dans les organismes marins du littoral sénégalais sont inférieurs ou du même ordre de grandeur que ceux mesurés dans d'autres régions d'Afrique de l'Ouest ou dans d'autres régions du monde.

Ces résultats sont présentés et discutés dans ce chapitre. Ce chapitre est présenté sous forme de publications et est divisé en quatre parties.

La première partie du chapitre concerne la contamination métallique de deux espèces de poissons: un poisson pélagique: la sardinelle et un poisson benthique : la sole. Les résultats ont été publiés dans la revue *Chemosphere*:

Mamadou Diop, Michael Howsam, Cheikh Diop, Fabrice Cazier, Jean F Goossens, Amadou Diouf, and Rachid Amara. 2016. Spatial and Seasonal Variations of Trace Elements Concentrations in Liver and Muscle of Round Sardinelle (*Sardinella Aurita*) and Senegalese Sole (*Solea Senegalensis*) along the Senegalese Coast. *Chemosphere* 2016; 144:758–66.

La deuxième partie concerne la contamination métallique de différentes espèces représentatives des différents niveaux trophiques (macroalgue, moule, crustacé, poisson). Les résultats ont été publiés dans la revue *Marine Pollution Bulletin*.

Mamadou DIOP, Michael Hawsam, Cheikh Diop, Fabrice Cazier, Jean F Goossens, Amadou Diouf, Rachid Amara. 2016. Assessment of trace element contamination and bioaccumulation in algae (*Ulva lactuca*), mussels (*Perna perna*), shrimp (*Penaeus kerathurus*), and fish (*Mugil cephalus*, *Saratherondon melanotheron*) along the Senegalese coast. *Journal Marine Pollution bulletin*: 2016, 103: 339-343.

La troisième partie traite de la contamination au mercure du réseau trophique. Les résultats ont été publié dans la revue *ournal Environmental Science and Pollution Researchournal Environmental Science and Pollution Research*.

Mamadou DIOP, Rachid Amara, 2016. Mercury concentrations in the coastal marine food web along the Senegalese coasts. *Journal Environmental Science and Pollution Research* : DOI 10.1007/s11356-016-6386-x

La dernière partie de ce chapitre s'intéresse à la contamination organique (HAPs, PCB) du réseau trophique. Les résultats ont été publiés dans la revue *Int. J. Environ. Research*.

Sopheak NET, Françoise Henry, Suzanah Rabodonirina, Mamadou Diop, Dima Merhaby, Celine Mahfouz, Rachid Amara, Baghdad Ouddane, 2015. Accumulation of PAHs, Me-PAHs, PCBs and total mercury in sediments and marine species in coastal areas of Dakar, Senegal: Contamination level and impact. *Int. J. Environ. Research* 2015; 9:419–32

Mamadou Diop, Michael Howsam, Cheikh Diop, Fabrice Cazier, Jean F Goossens, Amadou Diouf, and Rachid Amara, 2016. Spatial and seasonal variations of trace elements concentrations in liver and muscle of round sardinelle (*Sardinella aurita*) and Senegalese sole (*Solea senegalensis*) along the Senegalese coast. *Chemosphere* 2016; 144:758–66.

Spatial and seasonal variations in trace elements concentrations in liver and muscle of round Sardinelle (*Sardinella aurita*) and Senegalese sole (*Solea senegalensis*) along the Senegalese coast.

Mamadou DIOP^{1,2}, Michael HOWSAM³, Cheikh DIOP², Fabrice CAZIER⁴, Jean F. GOOSSENS³, Amadou DIOUF², Rachid AMARA¹

¹ *Laboratoire d'Océanologie et de Géosciences (LOG), ULCO, 62930 Wimereux, France*

² *Laboratoire de Toxicologie et d'Hydrologie (LTH), UCAD, 5005 Dakar, Sénégal*

³ *Centre Universitaire de Mesure et d'Analyse (CUMA), Université de Lille, 59006 France*

⁴ *Centre Commun de Mesure (CCM), ULCO, 59140 Dunkerque, France*

Abstract

Concentrations of 11 elements (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, V and Zn) were quantified in liver and muscle from two commercially important fish species from the Senegalese coast. The fish, a small pelagic species (the round sardinella) and a benthic species (the Senegalese sole) were collected from five sites during the dry and wet seasons in 2013. For both species, elements were more concentrated in liver than in muscle. There was no clear seasonal pattern in concentration of elements, however inter-site differences were observed. We found significant differences in element concentrations between the two studied species, likely associated with their behavior, feeding and habitat use. The concentrations of Cd, Fe, and Pb were significantly higher in sardinella whereas concentration of As, Cu, Cr, Mn and Se were highest in sole. The concentration of cadmium was particularly high in the liver of sardinella (from 0.9 to 56 mg kg⁻¹, with a mean ± sd of 17.2 ± 11.5 mg kg⁻¹) and may be related to anthropogenic pressure such as the phosphate industry but also to the upwelling current which brings dissolved elements to the surface that are taken up by plankton. The results showed that concentrations of Cd and Pb were below the limit values established by the European Community and pose no threat to public health.

Keywords: elements, pollution, Sardinella, Solea, Senegal.

Research highlights

- Sardinella and sole sampled along the Senegalese coast were analyzed for trace elements
- Differences in element concentrations were found between the two species
- Spatial and seasonal variation in element concentrations were recorded
- Cd and Pb concentration were below the limit values for edible fish

1. Introduction

In many countries, substantial development of urban and industrial activities in coastal areas and on lakesides and/or inadequate wastewater treatment, results in significant inputs of chemical contaminants to aquatic environments. Knowledge of the pollution sources and impacts on ecosystems is important, not only for a better understanding of the ecosystems responses to pollutants, but also for developing sustainable management and conservation of the existing fisheries and aquatic resources. Marine organisms, among them fish, accumulate contaminants from the environment and have been extensively used in marine pollution monitoring programs (e.g. Uthe et al., 1991). Two main objectives are generally pursued in these programs: (i) to determine contaminant concentrations in fish muscle tissue in order to assess the health risk for humans; and, (ii) to use fish as environmental indicators of aquatic ecosystems' quality (Adams, 2002).

Among the large variety of pollutants found in marine environment, metals have been most studied in recent decades. They tend to accumulate in aquatic organism such as fish. Current European Union regulations (EC, 2006; 2014 and 2015) have established several maximum levels for Cd, Pb and Hg in fish and other seafood products. Although arsenic may influence human health, this element is not so far governed so far under these regulations. Indeed, several investigations have shown that especially in seafood most of the arsenic is present in organic forms that are less toxic (EFSA, 2009). From a toxicological point of view the amount of inorganic arsenic is considered the most important.

The Senegalese coast, with the Canary Current upwelling ecosystem (CanC), constitutes one of the four main eastern boundary upwelling ecosystems (EBUEs) of the world, which gives rise to highly productive ecosystems and fisheries (Pauly and Christensen, 1995). The fisheries sector, with catches of 400,000 tons per year, provides 75% of protein needs in coastal areas, and employment to 51,931 people (FAO, 2006). About 50% (3.45 million people) of the total population in Senegal live in coastal areas. Dakar, the capital city is home to over 25% of the Senegalese population and more than 80% of its industries (Dumont and Kanté, 2009). At present, few studies on marine pollution or risk assessment for human consumption have been undertaken along the Senegal coast. The main objective of this work was to evaluate the contamination status of elements in Senegalese coastal fish. The levels of 11 elements (arsenic, As; cadmium, Cd; chromium, Cr; copper, Cu; iron, Fe; manganese, Mn; nickel, Ni; lead, Pb; selenium, Se; vanadium, V and zinc, Zn) were studied in two fish species, *Sardinella aurita* and *Solea senegalensis*, and samples were taken in both dry and wet seasons. These two species are widely distributed along the coast, are among the most important harvested species in Senegal and constitute the main protein resources for local population.

Elements were determined in both muscle tissue and livers with the latter chosen as a target organ for comparing element accumulation between sites and seasons. This study also aimed to determine whether Pb and Cd concentrations in these widely consumed fish species exceed the EC's maximum level for human consumption.



Figure1. Map showing the sampling sites along the Senegalese coast.

2. Material and methods

2.1. Study area and fish sampling

The study area is located along the Senegalese coast in the extreme west of the African continent (Fig. 1). Five sampling sites were selected to represent the Senegalese coast and that differed in terms of anthropogenic pressure (Fig.1). Site 1 (Saint Louis) is located away from important human anthropogenic pressure but near the Senegal River. Three sites located near Dakar are characterized by strong urban activity and high domestic waste and/or industrial discharge: Soumbédioune (Site 2); Hann (Site 3) and Rufisque (Site 4). Site 2 is dominated by discharges of domestic and hospital wastewater and road run-off, being located only a few hundred meters from downtown Dakar and receiving all waste water from surrounding neighborhoods. Site 3 is in the Hann Bay and characterized by permanent discharges of a mixture of urban and food industry wastewater, directly discharged to the sea without any treatment. Apart from the presence of sewage and garbage, site 4 was also selected due to the presence of an oil refinery and a cement factory. Site 5 (Joal), is located in the south and distant from significant anthropogenic influences.

Two commercial fish species widely distributed along the Senegalese coast and consumed by the local population were selected: a small pelagic species, the round sardinella, *Sardinella aurita*; and a benthic species, the Senegalese sole, *Solea senegalensis*. *S. aurita* feed mainly on phytoplankton and migrate between Senegal and Morocco to reproduce. *S. senegalensis* is a coastal fish species particularly sensitive to the effects of pollution since they feed on benthic organisms and live in close association with the bottom sediments where many contaminants accumulate (Amara et al., 2009).

At each site and for each season (dry season of January 2013 or wet season of August 2013), ten fish samples of sardinella and ten fish samples of solea were taken. Samples of fish were caught by fishermen's nets in the coastal areas. Each fish was measured for total length (TL, to the nearest 1mm) and weighed (W, to the nearest 0.1 g). Fish within a limited size range were chosen for chemical analyses in order to reduce the effect of any differences in fish size between sites. For Sardinella, fish of total length 30.6 ± 1.2 cm and weight 272 ± 35 g were analyzed. For Sole, fish with total length 28.8 ± 3.5 cm and weight 220 ± 75 g were analyzed. These fish sizes were the most frequently observed in our sampling at the different sites. Fish were dissected using stainless steel scalpels and Teflon forceps using a laminar flow bench (Class 100, US Federal Standard 209a). A part of the muscle (dorsal left fillet without skin) and the whole liver were removed and transferred to polypropylene vials and stored immediately at -20 °C. The muscle tissue was analyzed only in

season 2 (wet season) and for sole only in fish from four of the stations (no sole were caught at Saint Louis during the wet season).

2.2. Element analysis in muscles and livers

For each fish muscle tissue and livers were individually lyophilized for 48 h at -100 °C until constant weight, then ground to a powder manually with an agate mortar and pestle. An aliquot of 100 mg from each material was digested in a concentrated solution of nitric acid (65%, Suprapur, Merck) at room temperature for 24h and then at 100 °C for 4h. Concentrations of As, Cu, Fe, Mn, Zn were determined by an Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer (ICP-AES, Thermo Scientific iCAP 6500) and Cd, Cr, Ni, Pb, Se and V by an Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer (ICP-MS, Varian 820-MS). Element concentrations are reported below in mg kg⁻¹ dry weight (dw), unless stated otherwise. Limits of quantification (LOQ) were 0.2 mg kg⁻¹ for As and Cu, 0.4 mg kg⁻¹ for Fe and Zn and 0.02 mg kg⁻¹ for Mn (ICP-AES); the LOQ was 0.01 mg kg⁻¹ for Cd, Cr, Ni, Pb and V and 0.13 mg kg⁻¹ for Se (ICP-MS).

The accuracy and precision of the analyses were assessed using procedural blanks, replicated analyses (done every 25 analysis) and analyses of standard reference material DOLT-4 (dogfish liver, National Research Council, Canada) and DORM-3 (fish protein, National Research Council, Canada). Procedural blanks were less than 2% of the signal and the coefficient of deviation of 3 replicate measurements was consistently below 10% (data not shown). For most elements, except for Ni, the recovery percentages for the DOLT-4 and DORM-3 references materials resulted in ranges from 65% to 110% (Supporting information S 1).

2.3. Statistical analysis

Statistics were performed with “XLSTAT- Pro” 2014 (Addinsoft). Inter-species and spatial differences in element concentrations between fish from the five sites were analyzed with a one-way ANOVA, followed by post-hoc Tukey tests. If data did not comply with the parametric assumption of normality and homogeneity of variance, the non-parametric Kruskal Wallis test and Mann Whitney U test for post hoc pair-wise comparisons was used. Principal component analyses (PCA) was used to explore relationships between sites and fish liver element concentrations.

3. Results and discussion

The concentrations (expressed as mg kg⁻¹ dry weight) of 11 elements (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, V and Zn) measured in liver and muscle tissues are reported for each species and each sampling location and season in Tables 1 and 2 (view also supporting information S2 and S3).

Table 1: Mean (\pm SD) element concentration (mg.kg^{-1}) dry weight in liver and muscle of *Sardinella* sampled in 5 sites along the Senegalese coasts and their seasonal variations (S1: dry season; S2: wet season).

Elements	Tissus	Saint Louis		Soumbédioune		Hann		Rufisque		Joal	
		S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2
As	Liver	10.6 \pm 2.79	12.1 \pm 2.9	6.53 \pm 0.35	8.41 \pm 1.21	7.56 \pm 2.15 ^e	13.7 \pm 4.0	6.18 \pm 0.64 ^a	12.3 \pm 3.9	3.19 \pm 0.67 ^a	9.82 \pm 2.90
	Muscle		11.2 \pm 4.5		8.61 \pm 1.59		11.0 \pm 2.6		11.3 \pm 3.0		11.5 \pm 1.6
Cu	Liver	11.4 \pm 4.89 ^{b,c,d}	18.4 \pm 6.6	37.9 \pm 0.6	11.0 \pm 0.9 ^{a,c}	24.3 \pm 3.8	17.4 \pm 2.5	23.8 \pm 5.3	12.7 \pm 2.4 ^c	11.9 \pm 3.5 ^{b,c}	13.1 \pm 1.2
	Muscle		4.02 \pm 1.51		3.38 \pm 1.18 ^{d,e}		4.25 \pm 1.43		6.60 \pm 2.72		6.55 \pm 1.57
Fe	Liver	135 \pm 46 ^{b,c,d}	474 \pm 56 ^b	1434 \pm 33	864 \pm 187	504 \pm 77	484 \pm 140 ^b	557 \pm 140	567 \pm 166 ^b	426 \pm 98 ^b	553 \pm 160 ^b
	Muscle		60.4 \pm 28.7		49.0 \pm 14.0 ^{d,e}		59.0 \pm 16.5		102 \pm 51		91.1 \pm 20.0
Mn	Liver	1.19 \pm 0.19 ^{b,c,d}	5.72 \pm 1.09	8.53 \pm 0.26	2.77 \pm 1.23 ^a	3.88 \pm 0.50 ^b	2.80 \pm 0.55 ^a	4.65 \pm 0.32	3.00 \pm 0.72	3.60 \pm 0.49 ^b	2.33 \pm 0.71 ^a
	Muscle		1.49 \pm 0.42 ^c		1.99 \pm 0.65		2.44 \pm 0.77		1.53 \pm 0.38 ^c		1.91 \pm 0.43
Zn	Liver	59.4 \pm 21.9 ^{b,d}	92.8 \pm 23.1	133 \pm 1	78.4 \pm 4.8	103 \pm 9 ^d	79.4 \pm 7.2	147 \pm 10	55.8 \pm 5.6 ^{a,b,c}	88.7 \pm 17.9 ^{b,d}	64.8 \pm 18.2
	Muscle		18.6 \pm 6.1 ^e		22.0 \pm 2.4		21.2 \pm 2.8		19.0 \pm 3.6 ^e		23.8 \pm 1.8
V	Liver	0.46 \pm 0.11 ^b	3.47 \pm 1.53	2.30 \pm 0.04	0.46 \pm 0.07 ^a	0.59 \pm 0.30 ^b	0.62 \pm 0.12 ^a	0.55 \pm 0.33 ^b	0.61 \pm 0.17 ^a	0.42 \pm 0.08 ^b	1.09 \pm 0.39
	Muscle		0.17 \pm 0.05		0.14 \pm 0.04		0.35 \pm 0.27		0.21 \pm 0.13		0.23 \pm 0.11
Cr	Liver	1.33 \pm 0.42	1.07 \pm 0.04 ^b	2.00 \pm 0.10	1.52 \pm 0.52	1.12 \pm 0.09 ^b	1.10 \pm 0.14 ^b	1.08 \pm 0.15 ^b	1.10 \pm 0.10	1.07 \pm 0.17 ^b	1.05 \pm 0.0 ^b
	Muscle		0.20 \pm 0.03 ^{c,e}		0.24 \pm 0.02		0.30 \pm 0.04		0.23 \pm 0.02 ^c		0.27 \pm 0.03
Ni	Liver	0.29 \pm 0.09	0.64 \pm 0.47	1.14 \pm 0.02	0.23 \pm 0.03 ^a	0.22 \pm 0.01 ^b	0.35 \pm 0.04	0.28 \pm 0.11 ^b	0.22 \pm 0.04 ^{a,c}	0.26 \pm 0.09 ^b	0.31 \pm 01 ^a
	Muscle		0.11 \pm 0.03		0.14 \pm 0.04		0.16 \pm 0.05		0.10 \pm 0.03		0.12 \pm 0.04
Se	Liver	12.9 \pm 6.0	10.4 \pm 3.2	16.48 \pm 1.60	16.3 \pm 3.2	8.34 \pm 3.19 ^b	12.1 \pm 1.1 ^b	8.03 \pm 1.00	11.4 \pm 2.8	4.63 \pm 1.75 ^{a,b,d}	15.8 \pm 4.9
	Muscle		2.46 \pm 0.83		2.71 \pm 0.56		3.04 \pm 0.41		2.90 \pm 1.04		3.33 \pm 0.28
Cd	Liver	2.51 \pm 1.65 ^{b,d}	18.6 \pm 7.1	38.4 \pm 2.6	4.67 \pm 1.15 ^{a,c,d,e}	28.5 \pm 9.12	16.0 \pm 4.1	21.7 \pm 4.5	18.8 \pm 7.9	16.89 \pm 4.4 ^d	15.1 \pm 7.6
	Muscle		0.07 \pm 0.02		0.035 \pm 0.006 ^a		0.04 \pm 0.01 ^a		0.06 \pm 0.01		0.05 \pm 0.02
Pb	Liver	0.11 \pm 0.06 ^b	0.19 \pm 0.06 ^b	0.46 \pm 0.03	0.69 \pm 0.22	0.14 \pm 0.03 ^b	0.15 \pm 0.02 ^b	0.19 \pm 0.04	0.22 \pm 0.03	0.15 \pm 0.05 ^b	0.19 \pm 0.09 ^b
	Muscle		0.022 \pm 0.003		0.022 \pm 0.006		0.021 \pm 0.002		0.022 \pm 0.003		0.028 \pm 0.011

a Significant decrease (Kruskall Wallis and MannWhitney U test for post hoc pairwise comparisons; $p < 0.05$) compared to Saint Louis

b Significant decrease (Kruskall Wallis and MannWhitney U test for post hoc pairwise comparisons; $p < 0.05$) compared toSoumbédioum

c Significant decrease (Kruskall Wallis and MannWhitney U test for post hoc pairwise comparisons; $p < 0.05$) compared to Hann

d Significant decrease (Kruskall Wallis and MannWhitney U test for post hoc pairwise comparisons; $p < 0.05$) compared to Rufisque

e Significant decrease (Kruskall Wallis and MannWhitney U test for post hoc pairwise comparisons; $p < 0.05$) compared to Joal

Table 2: Mean (\pm SD) element concentration (mg.kg⁻¹) dry weight in liver and muscle of sole sampled in 5 sites along the Senegalese c (S1: dry season; S2: wet season). LD: limit of detection; notation a,b,c,d,e as in table 1.

Elements	Tissus	Saint Louis		Soubédioune		Hann		Rufisque		Joal	
		S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2
As	Liver	5.87 \pm 1.47 ^{bc,de}		14.1 \pm 5.4	16.1 \pm 3.3	13.8 \pm 4.25	11.4 \pm 2.6	37.1 \pm 7.6	17.3 \pm 3.7	15.4 \pm 7.2	13.9 \pm 1.9
	Muscle				59.2 \pm 17.0		23.47 \pm 7.94 ^b		36.9 \pm 23.3		21.48 \pm 8.76 ^b
Cu	Liver	416 \pm 125		475 \pm 164	409 \pm 111	225 \pm 200 ^b	465 \pm 118	383 \pm 154	445 \pm 73	302 \pm 254	387 \pm 86
	Muscle				0.71 \pm 0.06		0.42 \pm 0.04 ^b		0.45 \pm 0.03 ^b		0.38 \pm 0.05 ^b
Fe	Liver	708 \pm 87 ^b		1623 \pm 743	744 \pm 222 ^e	504 \pm 247 ^{bd}	865 \pm 185	1172 \pm 251	861 \pm 176	796 \pm 288 ^b	1058 \pm 182
	Muscle				5.58 \pm 0.84		3.59 \pm 0.69 ^b		3.56 \pm 0.62 ^b		2.86 \pm 0.24 ^b
Mn	Liver	10.7 \pm 2.2		5.12 \pm 1.71 ^a	2.75 \pm 0.75 ^{de}	4.21 \pm 1.05 ^{ae}	3.81 \pm 1.52	5.77 \pm 1.30 ^a	4.86 \pm 1.32	6.95 \pm 1.80	5.04 \pm 2.07
	Muscle				0.45 \pm 0.04 ^e		0.54 \pm 0.08		0.51 \pm 0.09 ^e		0.65 \pm 0.10
Zn	Liver	91.3 \pm 18.5		72.6 \pm 25.9 ^{de}	52.5 \pm 13.4 ^d	75.0 \pm 17.2 ^{de}	88.8 \pm 11.2	111 \pm 15	95.5 \pm 12.4	129 \pm 21	75.4 \pm 21.9
	Muscle				20.9 \pm 1.2		16.29 \pm 0.88 ^b		16.58 \pm 1.80 ^b		16.0 \pm 0.3 ^b
V	Liver	1.15 \pm 0.51		1.75 \pm 1.39	0.72 \pm 0.35	0.71 \pm 0.11 ^b	0.69 \pm 0.15	1.31 \pm 0.81	0.64 \pm 0.14	0.64 \pm 0.05 ^{a,b,d}	0.71 \pm 0.18
	Muscle				0.08 \pm 0.02		0.05 \pm 0.01 ^b		0.06 \pm 0.01		0.05 \pm 0.01
Cr	Liver	1.52 \pm 0.33		1.66 \pm 0.10	2.76 \pm 0.64	1.71 \pm 0.13	1.88 \pm 0.23 ^{bd}	1.68 \pm 0.06	3.32 \pm 0.32	1.57 \pm 0.06	2.57 \pm 0.24 ^d
	Muscle				0.39 \pm 0.04		0.16 \pm 0.02 ^b		0.16 \pm 0.01 ^b		0.16 \pm 0.02 ^b
Ni	Liver	0.22 \pm 0.06 ^b		0.72 \pm 0.28	0.35 \pm 0.17	0.27 \pm 0.27 ^{be}	0.26 \pm 0.10	0.28 \pm 0.10 ^b	0.31 \pm 0.13	0.44 \pm 02	0.42 \pm 0.04
	Muscle				0.09 \pm 0.03		<LD		<LD		<LD
Se	Liver	27.8 \pm 11.0		25.9 \pm 8.1	30.5 \pm 28.3	14.4 \pm 10.1	26.9 \pm 14.4	32.9 \pm 20.6	24.7 \pm 4.9	17.7 \pm 11.2	18.4 \pm 3.9
	Muscle				2.90 \pm 0.84		1.68 \pm 0.46 ^{be}		2.25 \pm 0.40		2.50 \pm 0.31
Cd	Liver	0.10 \pm 0.02 ^{bd}		1.57 \pm 0.55	1.03 \pm 0.53	0.156 \pm 0.19 ^{bd}	0.46 \pm 0.17 ^e	1.16 \pm 0.77	0.24 \pm 0.05 ^e	0.37 \pm 0.21	1.04 \pm 0.34
	Muscle				0.03 \pm 0.01		<LD		<LD		<LD
Pb	Liver	0.10 \pm 0.04		0.12 \pm 0.04	0.072 \pm 0.04 ^{cd}	0.15 \pm 0.08	0.256 \pm 0.079	0.22 \pm 0.135	0.166 \pm 0.053	0.09 \pm 0.05 ^d	0.071 \pm 0.030 ^{cd}
	Muscle				0.02 \pm 0.00		<LD		<LD		<LD

Whatever the species, elements were more concentrated in liver than in muscle tissue as described in others studies (Henry et al., 2004). Organs with higher metabolic activities, like the liver, accumulate more elements than organs with lower metabolic activities, such as muscle (e.g. Ploetz et al., 2007). Due to the presence of metal-binding proteins in some tissues, such as metallothioneins in the liver, they can accumulate significantly higher element concentrations than the muscle tissue (Roesijadi, 1996; Jarić et al., 2011).

For both species, the hierarchy of concentrations of the elements analyzed in this study is as follows, Fe>Zn>Cu>As>Se>Mn>Cd>Cr>V>Ni>Pb. We found significant variation in the element concentrations in liver between the two studied species (t-test, $p<0.05$). The concentration of Fe, Cd and Pb were significantly higher in sardinella whereas concentration of As, Cu, Mn, Cr, Se were highest in sole. Sardinella accumulated more elements in muscle. The concentration of Cu, Fe, Mn, Zn, V and Se were significantly higher in sardinella muscle whereas the As concentration was higher in sole muscle. Differences in element concentrations between species may be related to habitat, fish mobility, diet and trophic level, or to other characteristic behaviour (e.g. Roméo et al., 1999; Velusamy et al., 2014). Sardinella is a pelagic species feeding mainly on phytoplankton and undertaking important reproductive migration between Senegal and Morocco (Ter Hofstede et al., 2007). Sole live in close association with sediments in which they bury and from where they mainly feed. Although benthic species such as sole are thought to be most exposed to sediment-associated contamination (Roméo et al., 1999; Kerambrun et al., 2012), the concentrations of most elements in the present study were highest in sardinella. This may be explained by the fact that elements are generally found at higher concentrations in oily fish feeding mainly on plankton than in lean fish (Julshamn et al., 2004). The inter-species variability in bioaccumulation patterns of elements may also be due to differences in assimilation efficiencies or in species ability to produce metallothionein (Amiar et al., 2006).

Element concentrations in the liver and muscle of sardinella and sole were of the same order of magnitude as those reported in marine fish species in other West African coastal areas (e.g. Mauritanian coast, Roméo et al., 1999; Nigeria, Kakulu et al., 1987; Ghana, Bandowe et al., 2014; Togo, Gnandi et al., 2011) but higher than Cd and Pb concentration recorded in different fish species from Morocco (Chahid et al., 2014). The concentration of cadmium was particularly high in the liver of sardinella (from 0.9 to 56.0 mg kg⁻¹, with a mean \pm sd of 17.2 \pm 11.5 mg kg⁻¹). Data from the literature generally reported cadmium concentrations in the liver of various species to be less

than 10 mg kg^{-1} dry wt, and more often less than 1 mg kg^{-1} (Henry et al., 2004; Velusamy et al., 2014; Perugini et al., 2014). High levels of cadmium have already been found in the livers of different fish species and in molluscs from West African coastal areas such as the Mauritanian waters (Roméo et al., 1999; Sidoumou et al., 2005) or Senegalese coast (Sidoumou et al., 2006; Bodin et al., 2013). These levels of Cd were attributed to natural origins, such as the upwelling of deep waters which takes place along the Western Atlantic coast (Roméo et al., 1999). In this region, a recent study (Auger et al., 2015) estimated coastal upwelling as the main natural source of Cd while the most important anthropogenic source to marine ecosystems is the phosphate industry. Cadmium is one of the trace elements highly enriched in phosphate rock (Mar and Okazaki, 2012). Phosphate mining (particularly to the north of Dakar) may be one of the causes of the high Cd concentration in coastal areas. However, wind-driven upwelling takes place all along the NW African coast and some elements (e.g. dissolved Cd) are re-injected in the surface water layer by upwelling (Auger et al., 2015). The authors showed that the potential phytoplankton Cd-uptake and Cd-bioaccumulation in the phytoplankton trophic level match the upwelling enrichment and dispersion patterns in water. Such phenomena may explain the higher concentration of Cd found in sardinella which feed directly on plankton. Metal bioaccumulation factors (BAFs) and bioconcentration factors (BCFs) were calculated respectively from the previously published data on element concentration in seawater (Diop et al., 2014) and in sediments (Diop et al., 2015). For both species, the highest BAF values were obtained for Cd and Cu and the highest BCF values were obtained for Cd, Cu and Zn. In sardinella, very high BAFs and BCFs (655 and 25, respectively) were obtained for Cd compared to sole (36 and 0.83, respectively) confirming the importance of natural upwelling-Cd input in this area.

High concentration of arsenic in the liver and muscle of both sole and sardinella (mean \pm sd of $11.22 \pm 5.52 \text{ mg kg}^{-1}$ and $21.7 \pm 18.68 \text{ mg kg}^{-1}$ respectively for liver and muscle) were also recorded. The highest concentration was found in the muscle, in agreement with the literature. Mormede and Davies (2001) concluded that arsenic seemed to be mainly accumulating in muscle, with some accumulation in other organs. Arsenic is a ubiquitous but potentially toxic element (especially in its inorganic form), widespread in the environment because of anthropogenic and natural sources (mainly volcanoes). Arsenic is also naturally present in the environment especially in rocks and sediments and has a considerable tendency to accumulate in bottom sediments (Smedley and Kinniburgh, 2002). This fact could explain the relative lower contamination load in pelagic fish (sardinella) compared with benthic species (sole) (Tables 1 and 2) as previously

observed (Perugini et al., 2014; Gnandi et al., 2011). The As found in this study may have both anthropogenic and natural sources and, the levels recorded generally agree with the literature. Concentration as high as 54.8 and 71.0 mg kg⁻¹ were reported in fish from the Mediterranean sea (Perugini et al., 2014) and as high as 38.0 mg kg⁻¹ in benthic fish species from coastal Togo (Gnandi et al., 2011). Total As concentrations have been found to be very high even in fish from remote areas of the Barents Sea with little known pollution (Julshamn et al., 2012). These authors found very low inorganic arsenic concentrations which indicate that it is mostly arsenobetaine (a non-toxic form) that dominates in fish.

Table 3: Mean (\pm) ecartype metal concentration mg.kg⁻¹ wet weight in muscles of *Sardinella* and *Solea* sampled in 5 sites along the Senegalese coasts at wet season

Sites	Sardinella		Solea	
	Cd	Pb	Cd	Pb
Saint Louis	0.0202 \pm 0.0061	0.0064 \pm 0.0009	NS	NS
Soumbédioune	0.0100 \pm 0.0019	0.0067 \pm 0.0018	0.0069 \pm 0.0032	0.0044 \pm 0.0010
Hann	0.0108 \pm 0.0028	0.006 \pm 0.0007	<LOQ	<LOQ
Rufisque	0.0153 \pm 0.0029	0.0063 \pm 0.0007	<LOQ	<LOQ
Joal	0.0138 \pm 0.0057	0.0080 \pm 0.0042	<LOQ	<LOQ

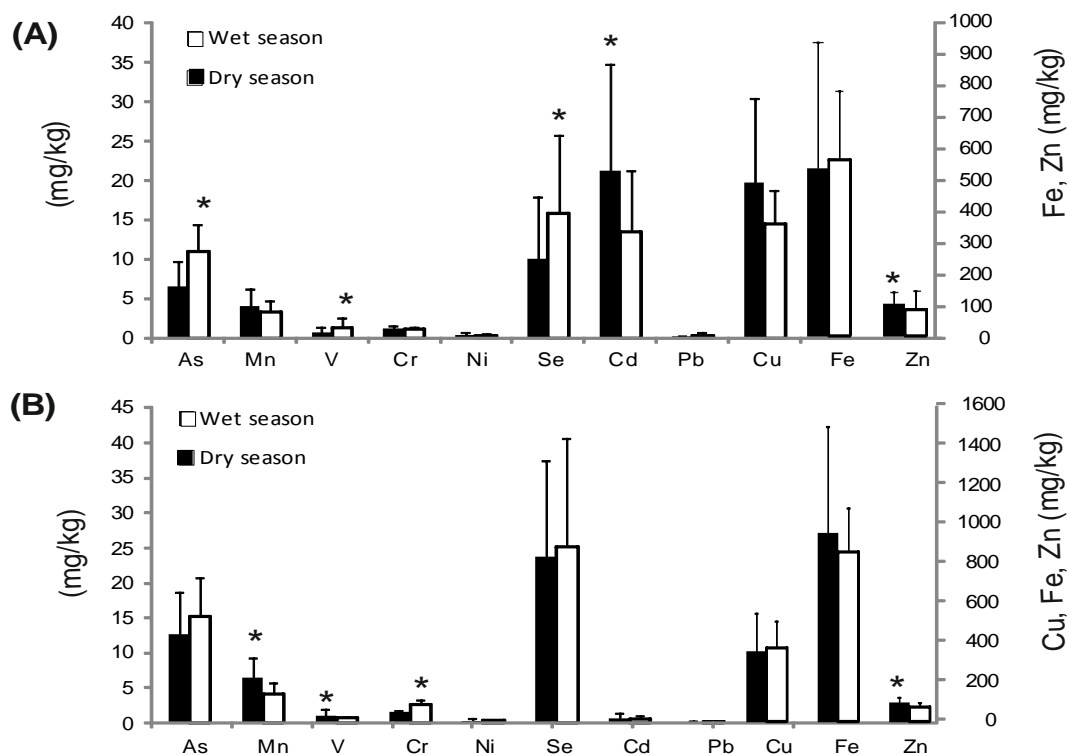
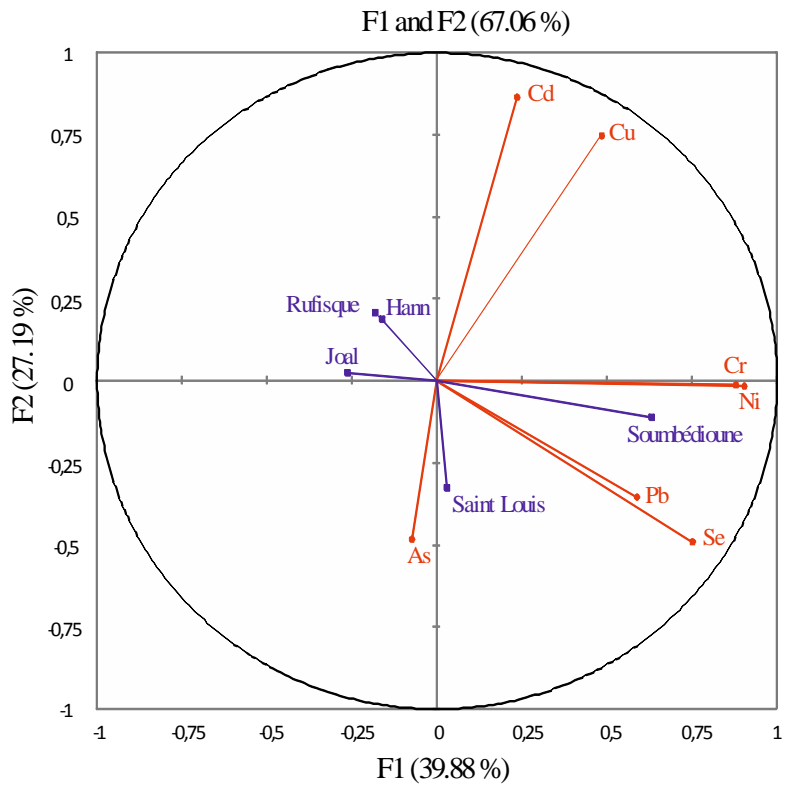


Figure 2: Seasonal variation in mean element concentration (\pm standard deviation) in liver of the round sardinella, *Sardinella aurita* (A) and the Senegalese sole, *Solea senegalensis* (B). Asterisks denote significant differences between seasons.

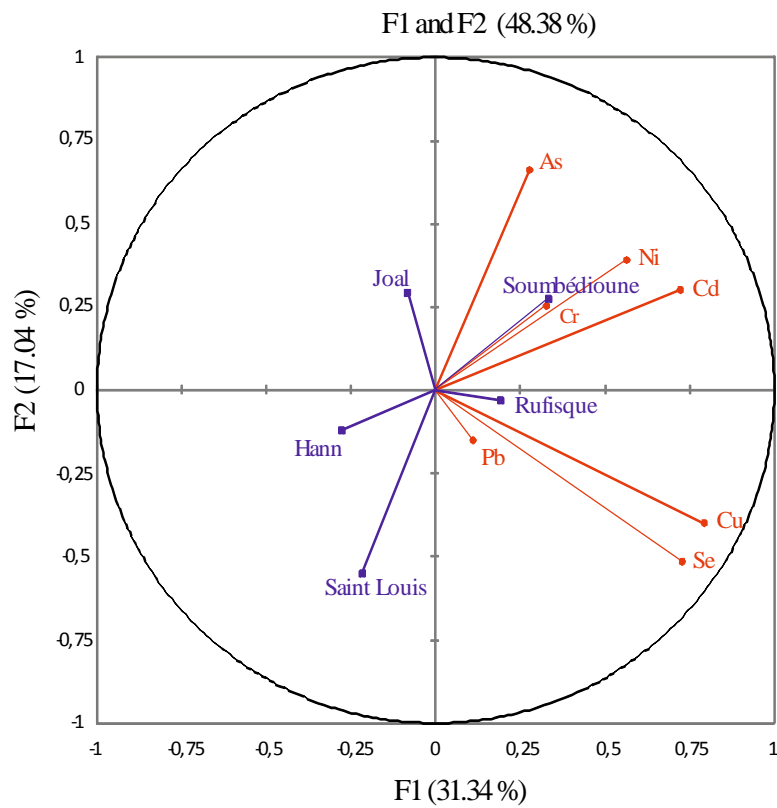
Elements like Cr, Cu, Fe, Mn, Se and Zn have useful biological functions and are therefore essential at low concentrations; however, others like Cd and Pb have virtually no known biological function and can be toxic even at very low concentrations. Due to their high toxicity, persistency and bioaccumulation capacities, the concentration of Cd and Pb have been widely studied in marine organism in order to evaluate the quality of edible species. Muscle tissue is the main edible part of fish and any contamination within can directly influence human health. The Cd and Pb concentrations obtained in dry weight ($\text{mg kg}^{-1} \text{ dw}$) were converted into mg kg^{-1} wet weight (w.w.) in order to compare with the guideline values. According to the weighed mass before and after drying, the following factors were applied to obtain the concentrations in wet weight: 0.29 for sardinella and 0.22 for sole. The Cd concentrations in muscle samples ranged from <0.001 to $0.026 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$, with a mean \pm sd of $0.013 \pm 0.005 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ (Table 3). The EC's maximum level for Cd in fish such as sole for human consumption is 0.05 mg kg^{-1} and $0.25 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ for sardinella (EC, 488/2014). None of the sole or sardinella had a Cd concentration exceeding this value. These results differ with those for molluscs where the threshold limit for Cd was exceeded at other locations along the Senegal coast (Sidoumou et al., 2006; Bodin et al., 2013). The Pb concentrations in muscle samples in our study ranged from <0.001 to $0.014 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ with a mean \pm sd of $0.006 \pm 0.002 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ (Table 3). The concentrations of Pb were thus well below the EC's maximum level for human consumption of $0.30 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ (EC, 2015/1005).

3.1. Seasonal and spatial concentration patterns

Since concentration of elements in fish tissues can be used as indicators of environmental element contamination (Kerambrun et al., 2012) we compared the seasonal (dry and wet season) and spatial concentration patterns. Livers were chosen as target organs for assessing element accumulation between sites and seasons as it is often recommended as a target tissue when monitoring metal concentrations in aquatic environments (Ploetz et al., 2007; Jarić et al., 2011). There was no clear seasonal pattern in metals concentrations (Tables 1, 2; Fig. 2). For sardinella, concentrations of As, Se and V were significantly higher ($p < 0.05$) during the dry season whereas Cd and Zn were significantly higher ($p < 0.05$) during the wet season. For sole, concentrations of Mn, V and Zn were significantly higher ($p < 0.05$) during the wet season whereas Cr were significantly higher during the dry season (Fig. 2). No significant differences were observed for the other elements studied here.



(A)



(B)

Figure 3: PCA showing elements distribution between sites considering non-essential element for all season for the round sardinella, *Sardinella aurita* (A) and the Senegalese sole, *Solea senegalensis* (B).

There were significant differences in element concentrations between fish from the five sites (Tables 1 and 2). The differences concern mainly Saint Louis and Soumbédioune. For most elements (except for As), the concentrations were highest at Soumbédioune (particularly during the wet season) and lowest at Joal. In a recent study of element contamination levels and toxicity of sediments from coastal areas of Senegal (Diop et al., 2015), significant pollution by Cd, Cr, Cu and Pb derived from anthropogenic sources was reported. From an ecotoxicological point of view, the concentration of these elements was above the effects range low threshold limit of the sediment quality guidelines for adverse biological effects (Diop et al., 2015). Therefore, for the spatial analysis we have retained only the elements that are relevant as pollutants and that may have adverse biological effects (As, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb and Se). The results of the PCA (Fig. 3) indicated that the element concentrations significantly explained 67.06% of the sardinella spatial variations. Sardinella from Soumbédioune were characterized by high concentrations of Cr, Ni, Se, Pb and Cu (Fig. 3a). Saint Louis was associated with high As concentrations, whereas Joal, Rufisque and Hann seem to be less contaminated. The same results were observed in sole with a few exceptions (Fig. 3b). Sole from Soumbédioune had the highest concentrations of Cr, Ni, Se, Cd, As, while sole from Rufisque were closely related to Cu, Se, and Pb. Unlike sardinella, sole from Saint Louis were characterized by lower As concentrations. Such differences in element concentration patterns between sardinella and sole may be due to their different behaviour, feeding and habitat use (pelagic vs benthic) which exposed them to different contamination sources. These results are in accordance with those obtained from previous studies of element contamination in sediments (Bodin et al., 2013; Diop et al., 2015). Element concentrations in sediments were highest at Soumbédioune and lowest at Joal. Soumbédioune is characterized by discharges of domestic and hospital wastewaters and road runoff, is located only a few hundred meters from downtown Dakar, and receives all waste water from surrounding neighborhoods. Joal, in contrast, is located in the south of the Senegal coast and far from significant anthropogenic activity.

4. Conclusion

Although the literature dealing with contamination of commercially exploited fish in West Africa is still insufficient, the comparison of available data with the present results revealed trace element concentrations in fish from Senegal of the same order of magnitude as observed in the other African countries and more generally in coastal marine areas. There was no clear seasonal pattern in concentration of elements, however inter-sites differences were observed. Spatial differences may be the result of the presence of coastal anthropogenic sources but the higher concentration of

cadmium in pelagic fish feeding on plankton (sardinella) may be related to the upwelling which delivers dissolved elements to the surface that are subsequently taken up by plankton. The fish considered in this study are among the most important harvested species in Senegal and constitute the main protein resources for the local population. The results showed that concentrations of Cd and Pb in sardinella and sole were below the limit values established by the European Community (EC, 2014; 2015) and pose no threat to public health. High concentrations of arsenic in the liver and muscle of both sole and sardinella were recorded but EC Regulations do not provide a legal limit for this element. The contribution of inorganic arsenic to total arsenic in fish species require further research to better evaluate any health risks related to dietary arsenic exposure.

Due to the ever increasing environmental pressure on the Senegal coast ecosystem, a regular monitoring of element levels in marine fish is necessary to assess any further environmental deterioration. Such monitoring will be of major importance to resource managers and public health officials.

Acknowledgements

This work was in part supported by IREPSE. A doctoral grant was funded by M. Diop by Bourses de Coopération et d'action culturelle de l'ambassade de France à Dakar and ERASMUS ANGLE grant.

References

- Adams, S., Hill, W., Peterson, M., Ryon, M., Smith, J., Stewart, A., 2002. Assessing recovery in a stream ecosystem: applying multiple chemical and biological endpoints. *Ecological Applications*, 12(5), 1510–1527.
- Amara, R., Selleslagh, J., Billon, G., Minier, C., 2009. Growth and condition of 0-group European flounder, *Platichthys flesus* as indicator of estuarine habitat quality. *Hydrobiologia*, 627(1), 87–98.
- Amiard, J.C., Amiard-Triquet, C., Barka S., Pellerin, J., Rainbow, P.S., 2006. Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 76, 160–202.
- Auger, P., Machu, E., Gorgues, T., Grima, N., Waeles, M., 2015. Comparative study of potential transfer of natural and anthropogenic cadmium to plankton communities in the North-West African upwelling. *Science of The Total Environment*, 505, 870–888.
- Bandowe, B. A. M., Bigalke, M., Boamah, L., Nyarko, E., Saalia, F. K., Wilcke, W., 2014. Polycyclic aromatic compounds (PAHs and oxygenated PAHs) and trace metals in fish species from Ghana (West Africa): Bioaccumulation and health risk assessment. *Environment International*, 65, 135–146.
- Birch, G., Taylor, S., Matthai, C., 2001. Small-scale spatial and temporal variance in the concentration of heavy metals in aquatic sediments: a review and some new concepts. *Environmental Pollution*, 113(3), 357–372.

- Bodin, N., N’Gom-Kâ, R., Kâ, S., Thiaw, O., De Morais, L. T., Le Loc’h, F., ... Chiffolleau, J.-F., 2013. Assessment of trace metal contamination in mangrove ecosystems from Senegal, West Africa. *Chemosphere*, 90(2), 150–157.
- Braham, C. B., Fréon, P., Laurec, A., Demarcq, H., Bez, N., 2014. New insights in the spatial dynamics of sardinella stocks off Mauritania (North-West Africa) based on logbook data analysis. *Fisheries Research*, 154, 195-204.
- Chahid, A., Hilali, M., Benlhachimi, A., Bouzid, T., 2014. Contents of cadmium, mercury and lead in fish from the Atlantic sea (Morocco) determined by atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, 147, 357–360.
- Diop, C., Dewaelé, D., Cazier, F., Diouf, A., Ouddane, B., 2015. Assessment of trace metals contamination level, bioavailability and toxicity in sediments from Dakar coast and Saint Louis estuary in Senegal, West Africa. *Chemosphere*.
- Diop, C., Dewaelé, D., Diop, M., Touré, A., Cabral, M., Cazier, F., ... Ouddane, B., 2014. Assessment of contamination, distribution and chemical speciation of trace metals in water column in the Dakar coast and the Saint Louis estuary from Senegal, West Africa. *Marine Pollution Bulletin*, 86(1), 539–546.
- Dumont, G.-F., Kanté, S., 2009. *Le Sénégal: une géopolitique exceptionnelle en Afrique géostratégiques N°25*. 28 pages.
- EC, 2006. No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal. European.*, 364 (2006), pp. 5–24.
- EC, 2014. No 488/2014 of 12 May 2014 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards the maximum levels for cadmium in foodstuffs *Official Journal. European.*, L 138/75 (2014), pp. 5.
- EC, 2015. No 2015/1005 of 25 June 2015 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards the maximum levels for lead in foodstuffs. *Official Journal. European.*, L 161/9 (2015), pp. 5.
- EFSA, 2009. Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on Arsenic in Food. *EFSA Journal* 2009; 7(10):1351. [199 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2009.1351. Available online: www.efsa.europa.eu.
- FAO, 2006. Report of the FAO Working Group on the assessment of small pelagic fish off Northwest Africa. Banjul, Gambia, 2–11 May 2006. *FAO Fisheries Report* 811, 192 pp.
- Gnandi, K., Han, S., Rezaie-Boroon, M. H., Porrachia, M., Deheyn, D. D., 2011. Increased bioavailability of mercury in the Lagoons of Lomé, Togo: the possible role of dredging. *Ambio*, 40(1), 26–42.
- Henry, F., Amara, R., Courcot, L., Lacouture, D., Bertho, M.-L., 2004. Heavy metals in four fish species from the French coast of the Eastern English Channel and Southern Bight of the North Sea. *Environment International*, 30(5), 675–683.
- Jarić, I., Višnjić-Jeftić, Ž., Cvijanović, G., Gačić, Z., Jovanović, L., Skorić, S., Lenhardt, M., 2011. Determination of differential heavy metal and trace element accumulation in liver, gills, intestine and muscle of sterlet (*Acipenser ruthenus*) from the Danube River in Serbia by ICP-OES. *Microchemical Journal*, 98(1), 77-81.
- Julshamn, K., Lundebye, A. K., Heggstad, K., Berntssen, M., Boe, B., 2004. Norwegian monitoring programme on the inorganic and organic contaminants in fish caught in the Barents Sea, Norwegian Sea and North Sea, 1994–2001. *Food Additives and Contaminants*, 21(4), 365–376.
- Julshamn, K., Nilsen, B.M., Frantzen, S., Valdernesnes, S., Maage, A., Nedreaas, K., Sloth, J.J., 2012. Total and inorganic arsenic in fish samples from Norwegian waters. *Food Additives and Contaminants Part B-Surveillance* 5, 229-235.
- Kakulu, S., Osibanjo, O., Ajayi, S., 1987. Trace metal content of fish and shellfishes of the Niger delta area of Nigeria. *Environment International*, 13(3), 247–251.

- Kerambrun, E., Henry, F., Marechal, A., Sanchez, W., Minier, C., Filipuci, I., Amara, R., 2012. A multibiomarker approach in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus*, exposed to contaminated sediments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80, 45–53.
- Mar, S. S., Okazaki, M., 2012. Investigation of Cd contents in several phosphate rocks used for the production of fertilizer. *Microchemical Journal*, 104, 17-21.
- Mormede, S., Davies, I., 2001. Heavy metal concentrations in commercial deep-sea fish from the Rockall Trough. *Continental Shelf Research*, 21(8), 899–916.
- Pauly, D., Christensen, V., 1995. Primary production required to sustain global fisheries. *Nature* 374, 255.
- Perugini, M., Visciano, P., Manera, M., Zaccaroni, A., Olivieri, V., Amorena, M., 2014. Heavy metal (As, Cd, Hg, Pb, Cu, Zn, Se) concentrations in muscle and bone of four commercial fish caught in the central Adriatic Sea, Italy. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(4), 2205–2213.
- Ploetz, M., Fitts, B.E., Rice, T.M., 2007. Differential accumulation of heavy metals in muscle and liver of a marine fish, (King Mackerel, *Scomberomorus cavalla* Cuvier) from the Northern Gulf of Mexico, USA. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 78, 124–127.
- Roesijadi, G., 1996. Metallothionein and its role in toxic metal regulation. *Comp Biochemical Physiology C*, 113 (2), 117–123.
- Roméo, M., Siau, Y., Sidoumou, Z., Gnassia-Barelli, M., 1999. Heavy metal distribution in different fish species from the Mauritania coast. *Science of the Total Environment*, 232(3), 169–175.
- Sidoumou, Z., Gnassia-Barelli, M., Siau, Y., Morton, V., Roméo, M., 2005. Distribution and concentration of trace metals in tissues of different fish species from the Atlantic Coast of Western Africa. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 74(5), 988–995.
- Sidoumou, Z., Gnassia-Barelli, M., Siau, Y., Morton, V., Romeo, M., 2006. Heavy metal concentrations in molluscs from the Senegal coast. *Environment International*, 32(3), 384–387.
- Smedley, P., Kinniburgh, D., 2002. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*, 17(5), 517–568.
- Ter Hofstede, R., Dickey-Collas, M., Mantingh, I. T., Wague, A., 2007. The link between migration, the reproductive cycle and condition of *Sardinella aurita* off Mauritania, north-west Africa. *Journal of Fish Biology*, 71(5), 1293-1302.
- Uthe, J. F., Chou, C., Misra, R., Yeats, P., Loring, D., Musial, C., Cofino, W., 1991. Temporal trend monitoring: introduction to the study of contaminant levels in marine biota. N° 14. International Council for the Exploration of the Sea.
- Velusamy, A., Kumar, P. S., Ram, A., Chinnadurai, S., 2014. Bioaccumulation of heavy metals in commercially important marine fishes from Mumbai Harbor, India. *Marine pollution bulletin*, 81(1), 218-224.

Mamadou DIOP, Michael Hawsam, Cheikh Diop, Fabrice Cazier, Jean F Goossens, Amadou Diouf, Rachid Amara. **Assessment of trace element contamination and bioaccumulation in algae (*Ulva lactuca*), mussels (*Perna perna*), shrimp (*Penaeus kerathurus*), and fish (*Mugil cephalus*, *Saratherondon melanotheron*) along the Senegalese coast.** *Journal Marine Pollution bulletin*: 2016, 103: 339-343.

Assessment of trace element contamination and bioaccumulation in algae (*Ulva lactuca*), mussels (*Perna perna*), shrimp (*Penaeus kerathurus*), and fish (*Mugil cephalus*, *Saratherondon melanotheron*) along the Senegalese coast.

Mamadou DIOP^{1,2}, Michael HOWSAM³, Cheikh DIOP², Jean F. GOOSSENS³, Amadou DIOUF², Rachid AMARA¹

¹ *Laboratoire d'Océanologie et de Géosciences (LOG), ULCO, 62930 Wimereux, France*

² *Laboratoire de Toxicologie et d'Hydrologie (LTH), UCAD, 5005 Dakar, Sénégal*

³ *Centre Universitaire de Mesure et d'Analyse (CUMA), Université de Lille, 59006 France*

Corresponding author: Rachid AMARA (rachid.amara@univ-littoral.fr)

Abstract

Concentrations of 11 elements were quantified in five relevant marine species from different trophic levels of a food web (algae, mussel, shrimp and fish), representative for shallow waters of the Senegalese coast. Strong differences of element concentration and bioaccumulation in biota were demonstrated, revealing the utility of employing a suite of organisms as bioindicators of monitor metal contamination in coastal areas. There was no clear seasonal pattern in concentration of elements, however inter-site differences were observed. The values of the transfer factors for all the studied elements showed transfer factors from water were greater than those from sediments. For shrimp and mussel, the concentrations of Pb and Cd were below the EU's maximum level for human consumption. However, high concentrations of arsenic in shrimp were recorded at all sites.

Keywords: elements, pollution, bioaccumulation, marine organisms, Senegal.

The west African coast, including the Senegalese coast, are among the most marine productive ecosystems due to the presence of the Canary Current upwelling (Romeo et al., 1999) and, more than 400 000 tons of seafood are landed annually in Senegal (FAO, 2006). Senegal is a developing country, highly reliant on its coastal zone resources, where consumption of marine fish, mollusks and shellfish provides 75% of the protein needs of the population (FAO, 2006) as well as representing an important economic activity. However, the substantial development of urban and industrial activities along Senegalese coast and the lack of adequate wastewater treatment result in increasing inputs of chemical contaminants in the marine environment (Diop et al., 2014). While it is known that element concentrations in water and sediment do not necessarily predict the levels of these contaminants in biota (Wang et al., 2010), their evaluation using species from different taxonomic groups with distinct ecological niches or feeding trophic levels enables a fuller assessment of environmental health and the extent of any contamination (Pérez et al., 2004). Among the large variety of pollutants found in the marine environment, metals represent a key type because they can be easily assimilated and accumulated in living tissues and food webs. The bioaccumulation and biomagnification of metals in fish and other seafood products may influence human health (Copat et al., 2013). Currently, the regulations of the European Union (EC, 2006; 2014 and 2015) have established several maximum levels for Cd, Pb and Hg in fish and other seafood products.

The objective of this study was to evaluate the contamination status of elements in five relevant marine species from different trophic levels of a food web, representative for shallow waters of the Senegalese coast: the green algae (*Ulva lactuca*), the brown mussel (*Perna perna*), shrimps (*Penaeus kerathurus*) and two fish species, namely flathead mullet (*Mugil cephalus*) and tilapia (*Sarotherodon melanotheron*). The concentrations of 11 elements (arsenic, As; cadmium, Cd; chromium, Cr; copper, Cu; iron, Fe; manganese, Mn; nickel, Ni; lead, Pb; selenium, Se; vanadium, V and zinc, Zn) were measured in samples taken during 2013 from 5 sites in both dry and wet seasons. Previous results on sediment and water trace metals contamination (Diop et al., 2014 and 2015) were used to calculate the transfer factor (TF) from water and sediment.

The study area is located along the Senegalese coast in the extreme west of the African continent (Fig. 1). Five sampling sites were selected to represent the Senegalese coast and that differed in terms of anthropogenic pressure (see Diop et al 2016). Site 1 (Saint Louis) is located away from important human anthropogenic pressure but near the Senegal River which carries numerous pollutants (Diop et al., 2014). Three sites located near Dakar town are characterized by high urban activity and domestic waste and/or industrial discharge: Soumbédioune (Site 2); Hann (Site 3) and

Rufisque (Site 4). Site 5 (Joal) is located in the south of the country and at some distance from significant anthropogenic influences.

In this work, five marine species were chosen to gain an overall picture of the elemental pollution along this coast, and encompass macroalgae, bivalves, crustaceans and two fish species. The choice was based on the frequent consumption of these species by the population inhabiting the Senegalese coast, but also provided good coverage of several trophic levels and the opportunity to evaluate elements' spatial distribution.

At each site and for each season (dry season in January or wet season in August during a typical rainfall year of 2013), 500 mg of algae, ten samples of mussel (taken only at the Dakar sites), and ten samples of shrimp, mullet and tilapia were taken. All the samples were immediately transported to the laboratory on ice. Each mussel, shrimp and fish were measured for total length (nearest 1mm) and weighed (nearest 0.1g) in order to standardize samples' size between sites. Mussel and shrimp soft tissues and fish livers were removed by stainless steel scalpel and Teflon forceps at a laminar flow bench (Class 100, US Federal Standard 209a) and then stored individually in polypropylene bags previously labeled at -20°C until analysis.

Samples were prepared for the chemical analysis by the procedure described by Diop et al. (2016). Concentrations of elements were determined by an Inductively Coupled Plasma with a Mass Spectrometer detector (ICP-MS, Varian 820-MS). The accuracy and precision of the analyses were assessed using procedural blanks, replicate analyses (one for every 25 analysis) and analyses of two standard reference materials: DOLT-4 (dogfish liver) and DORM-3 (fish protein, National Research Council, Canada). Procedural blanks were less than 2% of the signal and the coefficient of deviation of 3 replicate measurements was consistently below 10% (data not shown).

The transfer factor (TF), defined as the ratio between the concentration of a given element in an organism and its concentration in sediment or seawater, was calculated as follows (Rashed 2001):

$$TF_w = C_{o_i} / C_{w_i}$$

$$TF_s = C_{o_i} / C_{s_i}$$

where C_{o_i} , C_{w_i} and C_{s_i} is the element concentrations in an organism (mg g^{-1} dw), the seawater (mg l^{-1}) and the sediment (mg g^{-1} dw), respectively.

A TF was calculated only for the wet season samples, since concentrations of elements in water and sediment were available only for this season (Diop et al., 2014 and 2015). Any bioaccumulation of an element is confirmed when the TF is higher than 1 (Vrhovnik et al., 2013).



Figure 1: Map showing the sampling sites along the Senegalese coast.

Statistics were performed with “XLSTAT- Pro” 2014 (Addinsoft). Inter-species and spatial differences in metal concentrations between samples from the five sites were analyzed with a one-

way ANOVA, followed by post-hoc Tukey tests. If data did not comply with the parametric assumption of normality and homogeneity of variance, the non-parametric Kruskal Wallis test and Mann Whitney U test for post hoc, pair-wise comparisons was used. A t-test, was used to observe the significant differences in element concentrations between the wet and dry season. In all tests, the significance level for differences in critical values was set at $p < 0.05$. Principal component analyses (PCA) was used to explore relationships between sites and element concentrations in biota. The data were normalized by subtracting their mean and then dividing by their standard deviation. The relative contributions of the various elements to the overall differences between species and sites were examined in vector plots.

Table 1 present the concentration of the elements measured in algae, in the soft tissue of mussel and shrimp, and in the liver of two fish species for both of the seasons studied. The main accumulated element in the biota were Fe in algae, Fe and Zn in mussel and Zn in shrimp accounting respectively for 91.5%, 94% and 60% of the total concentrations of the elements measured. For fish, the main elements accumulated were Fe and Cu, accounting for 94% of the total elements measured. Differences observed in elements' accumulation among the marine organisms in the present study may be due to the different biokinetics and assimilation efficiencies in these organisms or to differences in their ability to make metallothionein, but may also be a result of the different feeding habits and trophic levels of the organisms (Amiar et al., 2006).

There was no clear seasonal pattern in metals concentrations. Results for the elements concentration in the various species at the different sampling sites and season are shown in Supporting information S 1. When significant differences were detected for some elements in some species, the highest concentrations were mainly found during the wet season (Table 1).

In a recent study of elements contamination level and toxicity of sediments and water from coastal areas of Senegal (Diop et al., 2014 and 2015), significant pollution by Cd, Cr, Cu and Pb derived from anthropogenic sources was reported. From an ecotoxicological point of view, the concentration of these elements was above the effects range low threshold limit of the sediment quality guidelines for adverse biological effects (Diop et al., 2015). Therefore, for the spatial analysis we have retained only the elements that are relevant as pollutants and that may have adverse biological effects (As, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb and Se). Some species were not analysed at all sites because they were absent. This is the case for *P. perna* which lives attached to rocks by its

Table 1: Mean \pm SD of trace elements concentration mg kg⁻¹ dw in marine organisms sampled in dry (S1) and wet (S2) seasons. LOQ: Limits of quantification. * indicate significant differences at p<0.05.

Species	Season	As	Cd	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	Pb	Se	V	Zn
<i>U. lactuca</i>	S1	2.29 \pm 1.82	0.34 \pm 0.25	1.91 \pm 2.51	2.32 \pm 1.47	448 \pm 583	2.89 \pm 0.86	1.67 \pm 1.67	0.79 \pm 1.02	0.2 \pm 0.08*	9.24 \pm 14.49	7.72 \pm 6.86
	S2	2.06 \pm 0.70	0.30 \pm 0.29	1.37 \pm 1.16	6.23 \pm 6.55	362 \pm 385	8.78 \pm 8.85*	1.06 \pm 0.32	2.64 \pm 3.45*	0.13 \pm 0.06	6.97 \pm 5.73	14.7 \pm 15.1
<i>P. perna</i>	S1	7.38 \pm 2.39	3.03 \pm 3.83*	1.00 \pm 0.46	9.39 \pm 2.65	180 \pm 67	2.59 \pm 1.32	6.93 \pm 5.17	1.37 \pm 1.21*	0.93 \pm 0.27*	1.97 \pm 2.06	156 \pm 41*
	S2	7.11 \pm 2.52	0.68 \pm 0.62	1.67 \pm 1.80	8.70 \pm 1.39	532 \pm 688*	2.45 \pm 1.17	3.33 \pm 2.26*	0.37 \pm 0.19	0.67 \pm 0.26	5.99 \pm 5.61*	86.5 \pm 21.6
<i>P. kerathurus</i>	S1	7.52 \pm 3.59	0.05 \pm 0.05	0.20 \pm 0.10*	18.5 \pm 7.5	6.83 \pm 4.13	0.19 \pm 0.06	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01	0.66 \pm 0.23	<LOQ	44.0 \pm 4.4
	S2	11.7 \pm 4.8*	0.19 \pm 0.21*	0.13 \pm 0.07	24.3 \pm 10.4	16.3 \pm 17.3	0.37 \pm 0.24*	0.06 \pm 0.02*	0.01 \pm 0.01	0.80 \pm 0.34	0.03 \pm 0.03	60.1 \pm 11.2*
<i>S. melanotheron</i>	S1	1.93 \pm 1.88	0.77 \pm 0.93	0.19 \pm 0.15	935 \pm 1407	860 \pm 612	1.07 \pm 1.03	0.45 \pm 0.41	1.43 \pm 1.65	4.25 \pm 3.31	0.8 \pm 1.31	82.2 \pm 21.8
	S2	1.91 \pm 1.57	1.18 \pm 1.94	0.64 \pm 0.47	657 \pm 895	665 \pm 513	4.20 \pm 6.61*	0.38 \pm 0.30	0.57 \pm 0.43	5.90 \pm 3.34	8.41 \pm 19.24	80.9 \pm 25.4
<i>M. cephalus</i>	S1	5.99 \pm 2.68	2.31 \pm 3.39	0.35 \pm 0.04	180 \pm 179	601 \pm 512	1.29 \pm 0.79	0.22 \pm 0.19	0.08 \pm 0.08	4.39 \pm 2.06	1.31 \pm 2.00	98.0 \pm 37.4
	S2	9.37 \pm 4.51*	1.79 \pm 2.66	0.49 \pm 0.18*	373 \pm 438	751 \pm 423	1.47 \pm 0.84	0.44 \pm 0.32*	0.39 \pm 0.44	10.98 \pm 8.36*	2.18 \pm 2.05	160 \pm 86*

byssus, and hence was not found at the muddy coastal sites such as Saint Louis and Joal. The results of the principal component analyses (Fig. 2) indicated that the element concentrations significantly explained 62.56% of the species' spatial variations. Saint Louis (site 1) was characterized by high concentrations of Cd, Cu and Se in the fish species; Hann (site 2) was associated with high concentrations of Cr, Pb, V and Ni in *U. lactuca*. Soumbédioune and Rufisque (sites 3 and 4, respectively) exhibited the same degree of pollution of most elements, but were more contaminated by Ni and As in, respectively, *P. perna* and *P. kerathurus*. Joal (site 5) was less contaminated than the other sites by all the elements studied here. Our results on spatial concentrations of element in biota agree with those obtained in sediments (Bodin et al., 2013; Diop et al., 2015).

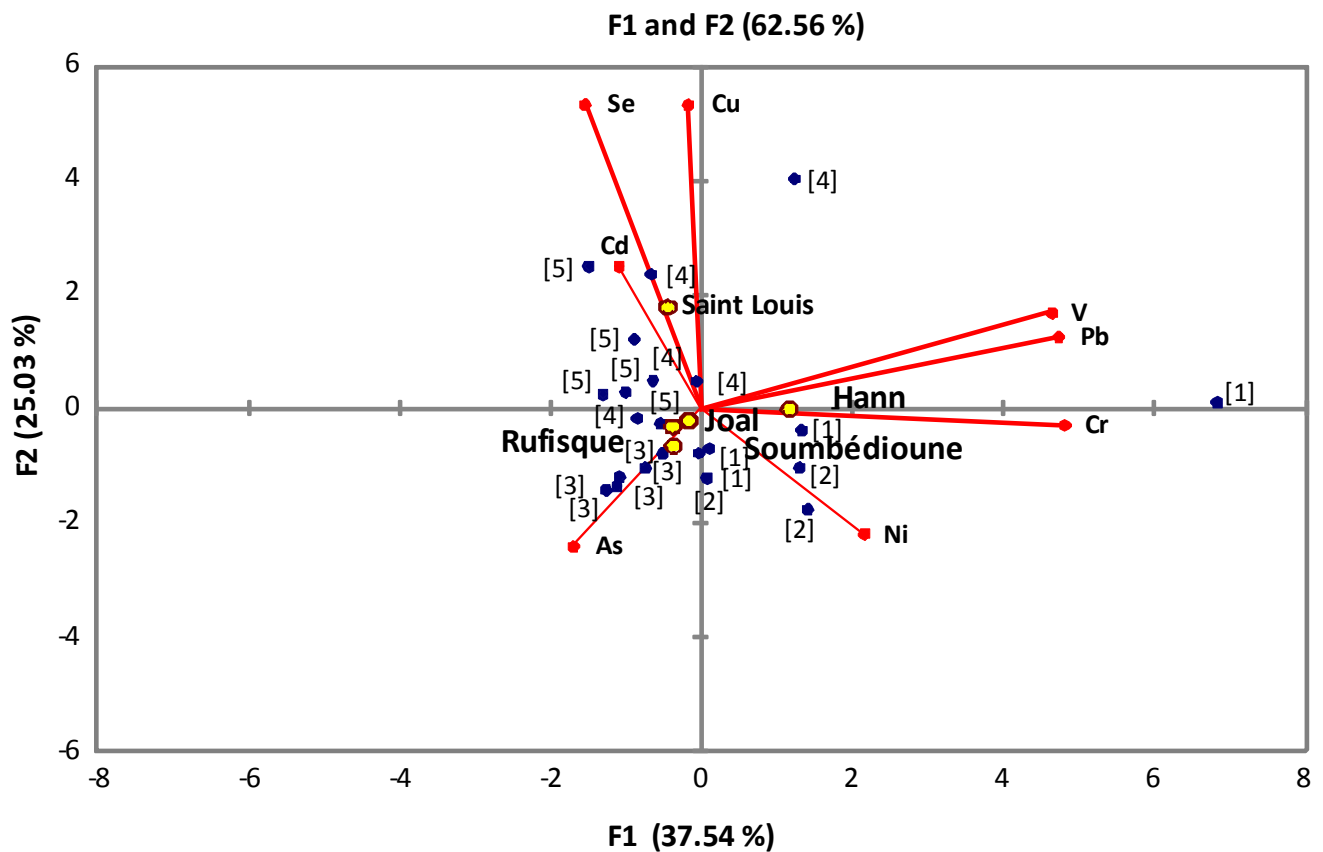


Figure 2: PCA showing trace elements distribution between sites considering only the elements that are relevant as pollutants (As, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb and Se) for all season for the five species analysed: [1] *U. lactuca*; [2] *P. perna*; [3] *P. kerathurus*; [4] *S. melanotheron*; [5] *M. cephalus*;

In order to assess the level of contamination of the Senegalese coastal water, the levels found in this study were compared with results from the same species in studies performed in similar coastal waters. *U. lactuca* is fast growing and can withstand a wide range of ecophysiological conditions and high pollution levels, and for these reasons the species is frequently chosen as a sentinel of pollution (Turner et al., 2012). Although this had the highest concentrations of Cr, Mn, Pb and V compared with the other species studied here (Table 1), these concentrations were in the range of those measured in others coastal areas along the NW African coast (Kaimoussi et al., 2004), the Mediterranean Sea (Conti and Cecchetti, 2003) or in the Gulf San Jorge on the Southern Atlantic coast (Muse et al., 2006). However for Cd, the concentrations found here in *U. lactuca* were higher compared to the data of Conti and Cecchetti (2003). When compared to other mollusk bivalves such as *Mytilus galloprovincialis* in the Mediterranean Sea, element concentrations (except for Cd) in *P. perna* in our study are generally of the same order of magnitude as those reported in others studies (e.g. Conti and Cecchetti, 2003). However, the concentrations of Cd and Cu in *P. perna* were higher than those found in other West African coastal areas (Morocco, Banaoui et al., 2004; Mauritania, Sidoumou et al., 1999). Sidoumou et al. (2006) also recorded a relatively high level of Cd in *P. perna* sampled in Dakar, but this value is lower than that measured in our study in Dakar. As suggested by these authors, increasing Cd concentrations from Morocco to Senegal imply that cadmium sources in sea-water originate from the South and, more especially from Senegal. The phosphate mining industry (particularly in the north of Dakar) may be one of the causes of the high Cd concentration in Senegal coastal areas. Few studies have analysed element concentrations in *P. kerathurus*, particularly on the west African coast, but the concentrations found in this study are in the range of those observed in other areas (Kontas, 2012; Turkmen, 2012). Element concentrations in the livers of fish were of the same order of magnitude as those reported in marine fish species in other West African coastal areas (e.g. Mauritanian coast, Romeo et al., 1999; Ghana, Bandowe et al., 2014; Togo, Gnandi et al., 2011; Senegal, Diop et al., 2016).

The values of the transfer factors (TF) for all the studied elements (Tables 2 and 3) showed transfer factors from water (TF_w) were greater than those from sediments (TF_s). The species examined here accumulate concentrations of Cd, Cu, Mn and Zn ten or hundred times those measured in water (Table 2). The TF_w (biota/water ratio) exceeded 1 for all elements at most sites, confirming a bioaccumulation of these elements from water for the species studied (Table 2).

Table 2: Biota-water-transfert factor during the wet season at the different sites along the Senegalese coasts.

Species	Sites	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
---------	-------	----	----	----	----	----	----	----

<i>U. lactuca</i>	1	–	–	–	–	–	–	–
<i>U. lactuca</i>	2	17.56	0.84	2.72	5.94	1.56	6.51	0.35
<i>U. lactuca</i>	3	3.93	8.23	23.47	38.51	3.83	43.36	2.19
<i>U. lactuca</i>	4	2.43	1.28	60.92	11.98	1.52	0.94	0.28
<i>U. lactuca</i>	5	23.66	0.06	0.76	0.21	0.38	0.41	0.82
<i>P. perna</i>	1	–	–	–	–	–	–	–
<i>P. perna</i>	2	115.62	1.79	10.26	3.26	8.06	0.99	3.06
<i>P. perna</i>	3	8.61	1.19	13.85	2.80	4.45	1.98	5.07
<i>P. perna</i>	4	9.43	11.32	9.03	12.70	7.02	3.15	3.75
<i>P. perna</i>	5	15.22	0.01	10.04	0.02	0.02	0.01	14.02
<i>P. kerathurus</i>	1	1.33	0.29	14.45	1.14	0.05	0.01	1.27
<i>P. kerathurus</i>	2	19.89	0.60	19.88	0.78	0.12	0.10	2.24
<i>P. kerathurus</i>	3	7.51	0.17	44.30	0.21	0.12	0.00	2.99
<i>P. kerathurus</i>	4	1.03	0.21	25.34	0.72	0.09	0.00	2.44
<i>P. kerathurus</i>	5	15.22	0.01	10.04	0.02	0.02	0.01	14.02
<i>S. melanotheron</i>	1	233.32	2.50	1753.51	32.51	0.45	3.39	2.02
<i>S. melanotheron</i>	2	18.27	2.04	908.50	1.57	0.56	4.89	2.29
<i>S. melanotheron</i>	3	10.09	1.20	526.31	2.60	0.80	2.60	4.28
<i>S. melanotheron</i>	4	3.73	1.24	177.84	3.96	0.82	1.64	3.06
<i>S. melanotheron</i>	5	42.34	0.01	56.16	0.06	0.08	0.18	21.24
<i>M. cephalus</i>	1	23.08	0.92	723.92	4.08	0.22	1.29	3.75
<i>M. cephalus</i>	2	312.22	1.19	272.07	2.98	1.39	3.89	3.06
<i>M. cephalus</i>	3	149.73	1.70	163.55	2.65	0.77	3.56	6.60
<i>M. cephalus</i>	4	28.05	1.14	488.24	3.45	0.00	0.57	13.17
<i>M. cephalus</i>	5	18.52	0.02	74.58	0.04	0.02	0.04	25.42

However, for shrimps and fish we must remember that these observations are not necessarily limited to a transfer from water alone. Concentrations observed in their tissues may also depend on feeding behavior and may thus be derived from elements in benthic organisms living in the sediment. With the exception of Cu, Cd and Zn, the TFs for biota/sediment was lower than 1, suggesting limited bioaccumulation from sediment, despite marine sediment being often regarded as the ultimate sink for many pollutants including trace elements.

Due to their high capacity for heavy metals bioaccumulation, algae are often used in assessment of marine ecosystems, being considered good bio-indicators (Doshi et al., 2008). The value of the bioaccumulation factors in this study showed that *U. lactuca* were good accumulators for Cd, Cu, Mn and Pb (TFw = 11.8; 21.9; 14.1 and 12.8) as depicted in Table 2. Other studies have also showed that *Ulva* spp. may accumulate high concentrations of Cu and Pb (Jitar et al., 2015). The mollusk *P. perna* had the highest TFw for Cr and Ni compared with the other species, while the shrimp *P. kerathurus* accumulated mainly Cu, but had the lowest TFw for all the elements compared with the

other species (Tables 2 and 3). The two fish species had the highest TFw for Cd, Cu and Zn, while TF for fish from either water or sediment were particularly high for Cd and Cu.

Table 3: Biota – sediments - transfert factor during the wet season at the different sites along the Senegalese coasts.

Species	Sites	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
<i>U. lactuca</i>	1	–	–	–	–	–	–	–
<i>U. lactuca</i>	2	0.31	0.00	0.05	0.12	0.14	0.05	0.41
<i>U. lactuca</i>	3	0.08	0.03	0.75	0.41	0.54	0.56	1.21
<i>U. lactuca</i>	4	0.29	0.01	2.91	0.09	0.74	0.01	0.52
<i>P. perna</i>	1	–	–	–	–	–	–	–
<i>P. perna</i>	2	2.06	0.01	0.18	0.07	0.72	0.01	3.66
<i>P. perna</i>	3	0.18	0.00	0.44	0.03	0.63	0.03	2.80
<i>P. perna</i>	4	1.13	0.05	0.43	0.09	3.44	0.05	6.86
<i>P. kerathurus</i>	1	0.04	0.00	0.66	0.02	0.01	0.00	3.61
<i>P. kerathurus</i>	2	0.35	0.00	0.35	0.02	0.01	0.00	2.69
<i>P. kerathurus</i>	3	0.16	0.00	1.41	0.00	0.02	0.00	1.65
<i>P. kerathurus</i>	4	0.12	0.00	1.21	0.01	0.04	0.00	4.47
<i>S. melanotheron</i>	1	7.55	0.01	80.43	0.47	0.11	0.01	5.76
<i>S. melanotheron</i>	2	0.33	0.01	15.98	0.03	0.05	0.04	2.74
<i>S. melanotheron</i>	3	0.22	0.00	16.72	0.03	0.11	0.03	2.36
<i>S. melanotheron</i>	4	0.45	0.01	8.49	0.03	0.40	0.03	5.59
<i>M. cephalus</i>	1	0.75	0.00	33.20	0.06	0.06	0.00	10.66
<i>M. cephalus</i>	2	5.57	0.01	4.78	0.06	0.12	0.03	3.67
<i>M. cephalus</i>	3	3.21	0.01	5.20	0.03	0.11	0.05	3.65
<i>M. cephalus</i>	4	3.36	0.00	23.32	0.03	0.00	0.01	24.09

In a recent study, the calculated geoaccumulation Index (I_{geo}) and Enrichment Factor (EF) of trace metals for sediments from coastal Senegalese coast showed that they are strongly polluted with Cd and Pb (Diop et al., 2015). The concentration of Pb and Cd in the mussel *P. perna* and the shrimp *P. kerathurus* were compared we recent EU's maximum levels for human seafood consumption (EC, 2015/1005 and EC, 2014/488) (Table 4). The Pb concentrations in *P. perna* were well below the EU's maximum levels whereas for Cd, only five mussel (14% of the individuals) collected during S1, all from site 2 (Soumbédioum), were above the EU's maximum level of Cd. In the shrimp, the concentrations of Cd and Pb in all individuals analysed were well below the EU's maximum levels of 0.50 mg kg⁻¹ ww.

Table 4. Concentrations (mg kg^{-1} ww) of Pb and Cd in the mussel *P. perna* and the shrimp *P. kerathurus* compared to EU's maximum levels for human consumption (EC, 2015/1005 and EC, 2014/488).

	<i>P. perna</i>	EU's levels	<i>P. kerathurus</i>	EU's levels	In
Pb	0.02 - 0.84 (0.023 \pm 0.824)	1.50	0 - 0.12 (0.003 \pm 0.003)	0.50	
Cd	0.019 - 2.12 (0.384 \pm 0.634)	1.00	0.01 - 0.25 (0.033 \pm 0.045)	0.50	

conclusion, our study provides the first database of the element concentrations in relevant marine species from different trophic levels from Senegalese coasts and constitutes a baseline for future studies. Strong differences of element concentrations and bioaccumulation by biota were demonstrated, revealing the utility of employing a suite of organism bioindicators to monitor contamination in coastal areas. Except for Cd, element concentrations were generally of the same order of magnitude as those reported in others studies in the West African or Mediterranean coasts. The concentrations of Pb and Cd in the shrimp and mussel were below the EU's maximum level for human consumption. However, concerning Cd, some mussels were above the EU's maximum level of Cd for human consumption and high concentrations of As in the shrimp were recorded (though EC Regulations do not provide a legal limit for this element). Because of the increase in development of urban and industrial activities along Senegalese coast, the amounts of heavy metals and particularly added to the marine environment are expected to increase. This is particularly the case for Cd as phosphate mining industry production is expected to triple from 2016 (Senegalase Ministry of industry and mining, <http://www.dirmingeol.sn>). Results obtained during this work, suggest the need for the development of an industrial valorization of the phosphogypsum (the main waste in the phosphate industry), or to remove some toxic elements from it. Since fish and shellfish consumption remain the major sources of protein for Senegalese people, important monitoring program should be undertaken and further research is necessary to better evaluate any health risks related to this dietary As and Cd exposure.

Competing financial interest declaration

The authors declare no competing financial interests.

Acknowledgements

A doctoral grant was funded by M. Diop by Bourses de Coopération et d'action culturelle de l'ambassade de France à Dakar and ERASMUS ANGLE grant.

References

- Amiard JC, Amiard-Triquet C, Barka S et al (2006). Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquat. Toxicol* 76: 160–202.
- Anderson MB, Palla R, Janet EP et al (1997) Metal accumulation in crayfish, *Procambarus clarkii*, exposed to a petroleum-contaminated Bayou in Louisiana. *Ecotoxicol. Environ. Saf* 37: 267–72.
- Banaoui A, Chiffolleau JF, Moukrim et al (2004). Trace metal distribution in the mussel *Perna perna* along the Moroccan coast. *Mar. Pollut. Bull.* 48: 385–90.
- Bandowe B, Bigalke M, Boamah L et al (2014) Polycyclic aromatic compounds (PAHs and oxygenated PAHs) and trace metals in fish species from Ghana (West Africa): bioaccumulation and health risk assessment. *Environ. Int* 65: 135–46.
- Bodin N, N’Gom-Kâ R, Kâ S et al (2013). Assessment of trace metal contamination in mangrove ecosystems from Senegal, West Africa. *Chemosphere* 90: 150–157.
- Conti ME, Gaetano C (2003) A biomonitoring study: trace metals in algae and molluscs from Tyrrhenian coastal areas. *Environ. Res* 93: 99–112.
- Diop C, Dewaelé D, Diop M et al (2014). Assessment of contamination, distribution and chemical speciation of trace metals in water column in the Dakar coast and the Saint Louis estuary from Senegal, west Africa. *Mar. pollut. Bull* 86: 539–46.
- Diop C, Dewaelé D, Cazier, F et al (2015). Assessment of trace metals contamination level, bioavailability and toxicity in sediments from Dakar coast and Saint Louis estuary in Senegal, West Africa. *Chemosphere* 138: 980-987.
- Diop M, Howsam M, Diop C et al (2016a). Spatial and seasonal variations of trace elements concentrations in liver and muscle of round sardinelle (*Sardinella Aurita*) and senegalese sole (*Solea Senegalensis*) along the Senegalese coast. *Chemosphere* 144: 758–66.
- Doshi H, Seth C, Ray A, Kothari IL (2008). Bioaccumulation of heavy metals by green algae. *Curr Microbiol* 56(3): 246-255.
- EC (2014) No 488/2014 of 12 May 2014 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards the maximum levels for cadmium in foodstuffs Official. *J. European* 138/75, 5 pages.
- EC (2015) No 2015/1005 of 25 June 2015 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards the maximum levels for lead in foodstuffs. Official. *J. European* 161/9, 5 pages.
- FAO (2006). Report of the FAO Working Group on the assessment of small pelagic fish off Northwest Africa. Banjul, Gambia, 2–11 May 2006. *FAO Fish. Report* 811: 192 pages.
- Gnandi K, Ba MB, Deheyn DD et al (2011). Polycyclic aromatic hydrocarbons and trace metal contamination of coastal sediment and biota from Togo. *J. Environ. Monit* 13.7: 2033-2041.
- Islam MS, Tanaka M (2004). Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis. *Mar. Pollut. Bull* 48: 624–49.
- Jitar O, Teodosiu C, Oros A et al (2015). Bioaccumulation of heavy metals in marine organisms from the Romanian sector of the Black sea. *New Biotechnol.* 32: 369–78.
- Kaimoussi A, Mouzdahir A, Saih A (2004). Variations saisonnières des teneurs en métaux (Cd, Cu, Fe, Mn et Zn) chez l’algue *Ulva lactuca* prélevée au niveau du littoral de la ville d’El Jadida (Maroc). *Comptes rendus biologiques* 327: 361–69.

- Kontas A (2012). A case study of trace metals in suspended particulate matter and biota before wastewater treatment plant from the Izmir bay, turkey. *Environ. Monit. Assess* 184: 2605–16.
- Muse JO, Carducci CN, Stripeikis JD et al (2006). A link between lead and cadmium kinetic speciation in seawater and accumulation by the green alga *Ulva lactuca*. *Environ. Pollut* 141(1): 126-130.
- Otchere FA, Joiris CR, Holsbeek L (2003). Mercury in the bivalves *Anadara (senilia) senilis*, *Perna perna* and *Crassostrea tulipa* from Ghana. *Sci. Total. Environ* 304: 369–75.
- Pérez-Cadahía B, Laffon B, Pásaro E, Méndez J (2004). Evaluation of PAH bioaccumulation and DNA damage in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) exposed to spilled prestige crude oil. Comparative biochemistry and physiology part C: Toxicol. Pharmacol 138: 453–60.
- Rashed MN (2001) Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environ. Int* 27: 27–33.
- Romeo M, Siau Y, Sidoumou, Z, Gnassia-Barelli M (1999). Heavy metal distribution in different fish species from the Mauritania coast. *Sci. Total. Environ* 232: 169–75.
- Salem ZB, Capelli N, Laffray X (2014). Seasonal variation of heavy metals in water, sediment and roach tissues in a landfill draining system pond (Etueffont, France). *Ecol. Eng* 69: 25–37.
- Sidoumou Z, Gnassia-Barelli M, Siau Y et al (2006) Heavy metal concentrations in molluscs from the Senegal coast. *Environ. Int* 32: 384–87.
- Sidoumou Z, Gnassia-Barelli M, Siau Y et al (1999). Etude des métaux lourds chez deux mollusques prélevés sur la côte mauritanienne, *Crassostrea gigas* et *Perna perna*. *J. Res. Oceanol* 24: 13–18.
- Turkmen G (2012). Seasonal variation of heavy metals in shrimp *Penaeus kerathurus* (Forsk., 1775) from Izmir bay, Turkey. *J. Anim. Vet. Adv* 11: 2839–44.
- Turner A, Furniss O (2012). An evaluation of the toxicity and bioaccumulation of thallium in the coastal marine environment using the macroalga, *Ulva lactuca*. *Mar. Pollut. Bull* 64(12): 2720-2724.
- Vrhovnik P, Arrebola JP, Serafimovski T et al (2013). Potentially toxic contamination of sediments, water and two animal species in lake Kalimanci, Fyr Macedonia: relevance to human health. *Environ. Pollut* 180: 92–100.
- Wang Y, Chen P, Cui R et al (2010). Heavy metal concentrations in water, sediment, and tissues of two fish species (*Triplophysa pappenheimi*, *Gobio hwanghensis*) from the Lanzhou section of the Yellow River, China. *Environ. Monit. Assess* 165: 97–102.

Mamadou DIOP, Rachid Amara, 2016. *Mercury concentrations in the coastal marine food web along the Senegalese coast. Journal Environmental Science and Pollution Research.* DOI 10.1007/s11356-016-6386-x

Mercury concentrations in the coastal marine food web along the Senegalese coast.

Mamadou DIOP^{1,2} and Rachid AMARA¹

¹ *University of Littoral (ULCO), Laboratoire d'Océanologie et de Géosciences, 62930 Wimereux, France*

² *Laboratoire de Toxicologie et d'Hydrologie (LTH), UCAD, 5005 Dakar, Sénégal*

Corresponding author: Rachid AMARA (rachid.amara@univ-littoral.fr)

Abstract

This paper presents the results of seasonal (wet and dry seasons) and spatial (five sites) variation of mercury concentration in seven marine organism representatives for shallow Senegalese coastal waters, and including species of commercial importance. Total mercury levels were recorded in the green algae (*Ulva lactuca*), the brown mussel (*Perna perna*), the Caramote prawn (*Penaeus kerathurus*) and in the liver and muscles of fish, *Solea senegalensis*, *Mugil cephalus*, *Saratherondon melanotheron* and *Sardinella aurita*. The total selenium (Se) contents were determined only in the edible part of *P. perna*, *P. kerathurus* and in the muscles of *S. aurita* and *S. senegalensis*. Hg concentration in fish species was higher in liver compared to the muscle. Between species differences in Hg concentrations were recorded with the highest concentration found in fish and the lowest in algae. The spatio-temporal study showed that there was no clear seasonal pattern in Hg concentrations in biota, but spatial differences existed with highest concentrations in sites located near important anthropogenic pressure. For shrimp, mussel and the muscles of sardine and sole, Hg concentrations were below the health safety limits for human consumption as defined by the European Union. The Se:Hg molar ratio were always higher than one whatever the species or location suggesting a protection of Se against Hg potential adverse effect.

Keywords: Mercury; pollution; Se:Hg molar ratio; marine organisms; Senegal.

Introduction

Mercury (Hg) is a global threat for marine ecosystems. The most important anthropogenic sources of mercury pollution in the environment are urban discharges, agricultural materials, mining and combustion and industrial discharges (Zhang and Wong 2007). Atmospheric depositions are the primary mechanisms of Hg introduction into aquatic ecosystems (U.S. EPA 2008). Mercury is usually found in the aquatic environment in the form of inorganic salts (iHg) and organomercurics (Methylmercury). Methylmercury is considered to be the most toxic form and it is also the most abundant Hg species (75-100% of total Hg) in fish meat (Burger and Gochfeld 2004). It is the main form of mercury that bioaccumulates in organisms (Henriques et al. 2013).

Consumption of fish and seafood products is the main source of Hg exposure for humans (Driscoll et al. 2013). Effects resulting in Hg consumption through fish include neurodevelopmental deficits (Crump et al. 1998, 2009), postnatal development from problems prenatal exposure cardiovascular diseases (Stringari et al. 2008), and locomotory deficits (Hightower and Moore 2003). The European limits for allowable levels of Hg in fish and seafood are 0.5 mg/kg for fish in general, but grow to 1.0 for some larger predatory species including shark, swordfish, marlin, tuna and some bonyfish such as mullet, poor cod and seabream, (EC 1881/2006 and amendments 629/2008, 420/2011).

Unlike mercury, selenium (Se) is an essential trace element and represents a natural methylmercury and inorganic mercury antagonist, which potentially contracts or eliminates symptoms of toxicity that would otherwise accompany high mercury exposures (Squadrone et al. 2015). Many authors have suggested that the excess of Se protects against Hg toxicity and that Se:Hg molar ratio above one is protective for adverse effects due to mercury consumption (Peterson et al. 2009; Squadrone et al. 2015). In contrast, Se:Hg molar ratio below 1 is at a higher risk of mercury toxicity.

In Senegal, the main source of animal protein for the population comes from fishery products. Fishes, mollusks and shellfish provide 75% of the protein needs of the population (FAO 2006). The availability of these products is due to the fact that the Senegalese coast is among the richest fishing coastlines in the world resulting from the presence of the Canary Current upwelling (Cropper et al. 2014). Every year, more than 400 000 tons of seafood are landed in Senegal (FAO 2006). Part of it is exported to the African, American, Asian and European markets and the rest is consumed locally. Despite this rather favorable situation, the Senegalese coast, like most of the

world's coastal areas, is subject to serious environmental problems related to the densification of the population in coastal cities steadily growing, and to the concentration along the coasts of all kinds of industries. 80 % of the industries are sited in Dakar, the capital city, which is home to more than 25 % of the total population.

In sub-Saharan African countries, environmental and health effects of Hg pollution have been reported from artisanal small-scale gold mining (Donkor et al. 2010; Ouédraogo and Amyot, 2013). In Senegal, along the Gambia river impacted by the use of Hg in the gold amalgamation in small artisanal gold mining, total mercury (THg) concentrations in fish were below the European guideline of 0.5 mg.kg⁻¹ wet weight but 100% of the mussels were above the safety limit (Niane et al. 2015). High THg concentrations (1.5 mg.kg⁻¹) were found in the hair of the local population consuming fish and mussels from Gambia River, exceeding the concentration of Hg in hair (1 mg.kg⁻¹). Previous studies have measured THg concentrations in marine species but have been focused on well-defined areas of the Senegalese coast (Dakar) and do not give an overview of the status of pollution along the coast (Birame et al. 2015; Net et al. 2015). These studies carried out only during one season (dry season) showed that THg contents in mussels and fish species were always lower than the European legislation limits for fish and seafood products apart from large predator fish such as swordfish and sharks (Gras and Mondain, 1982). The Senegal climate is characterized by two major seasons: a rainy season from June/July to October and a long dry period between November and May. Because rain and runoff but also rivers seem to be important sources of Hg input to coastal marine waters, it was important to complete the investigation during the two seasons and at other sites along the Senegalese coast an particularly near the outlets of rivers.

The objective of this study was to evaluate the Hg contamination status of seven relevant marine species from different trophic levels of a food web, representative for shallow waters of the Senegalese coast: the green algae (*Ulva lactuca*), the brown mussel (*Perna perna*), shrimp (*Penaeus kerathurus*) and four fish species, namely the Senegalese sole (*Solea senegalensis*), the flathead mullet (*Mugil cephalus*), tilapia (*Saratherondon melanotheron*) and the round sardine (*Sardinella aurita*). The concentrations of total mercury were measured in samples taken from 5 sites in both dry and wet seasons to assess the possible health risk linked to with their consumption. We also report selenium contents in the marine species and discuss its potential role in Hg detoxification.

Material and methods

Study area and sampling

The study area is located along the Senegalese coast in the extreme west of the African continent (Fig. 1). Five sampling sites that differed in terms of anthropogenic pressure were selected to represent the Senegalese coast. Site 1 (Saint Louis) is located away from important human anthropogenic pressure but near the Senegal River which carries numerous pollutants (Diop et al. 2015). Three sites located near Dakar town are characterized by strong urban activity and high domestic waste and/or industrial discharge: Soumbedioune (Site 2); Hann (Site 3) and Rufisque (Site 4). Site 2 is dominated by discharges of domestic and hospital wastewaters and road run-off, being located only a few hundred meters from downtown Dakar and receiving all waste water from surrounding neighborhoods. Site 3 is in the Hann Bay and characterized by permanent discharges of a mixture of urban and food industry wastewaters, directly discharged to the sea without any treatment. Except for the presence of raw sewage outlets and a refuse site, site 4 was mainly selected because of the presence of an oil refinery and a cement factory. Site 5 (Joal) is located in the south of the country and at some distance from significant anthropogenic influences. In this work, seven marine species were chosen to gain an overall picture of the mercury pollution along this coast, and encompass macro algae, bivalves, crustaceans and four fish species. The choice was based on the frequent consumption of these species by the population inhabiting the Senegalese coast, and it provided good coverage of several trophic levels and the opportunity to evaluate most elements' spatial distribution. Their main characteristics are as follows: (i) Macroalgae - *U. lactuca* provide qualitative information about the contamination level and environmental quality in an ecosystem due to their sedentary lifestyle and abundance in coastal seawater; (ii) Mussels - *P. perna* is the only mussel of this genus in the Western coast of Africa and mussels are sedentary filtering organisms, which have been widely used as environmental sentinels for contamination studies; (iii) Crustaceans - *P. kerathurus* is commercially one of the most important shrimp species in the Senegalese fishery and is also a target species for local fishermen using trammel nets; (iv) Four commercial coastal fish species widely distributed along the Senegalese coast and consumed by the local population were selected: a benthic fish species, the Senegalese sole *S. senegalensis*; two benthopelagic fish species, flathead mullet *M. cephalus* and tilapia *S. melanotheron*, and one pelagic fish species, the round sardine *S. aurita*. They are cosmopolitan fish species and occupy a wide variety of marine, estuarine and freshwater environments in tropical, subtropical and temperate coastal waters. *S. senegalensis* with a

practically sedentary life lives in sandy or muddy bottoms in coastal areas and feeds on benthic invertebrates such as larvae of polychaetes, bivalve mollusks and small crustaceans. The benthopelagic fish species, strongly euryhaline, are omnivorous and their diet consists mainly of zooplankton, benthic organisms and detritus. *S. aurita* is a small pelagic fish feeding on plankton. This fat fish is the most often consumed species in Senegal.



Figure 1: Map showing the sampling sites along the Senegalese coast.

At each site and for each season (dry season of January 2013 or wet season of August 2013), 500 mg of algae, ten samples of mussel (taken only at the Dakar sites), ten samples of shrimp, ten samples of sole, ten samples of mullet, ten samples of tilapia and ten samples of sardinella were taken. Algae and mussels were collected in the subtidal zone at low tide and washed with water from their sampling location, while samples of crustaceans and fish were caught by local fishermen in the coastal areas. All the samples were immediately transported to the laboratory on ice. Each mussel, shrimp and fish were measured for total length (nearest 1mm) and weighed (nearest 0.1g) in order to standardize samples' size among sites. Mussel and shrimp soft tissues, livers for all fish species and the left dorsolateral muscle of fish species were removed with

stainless steel scalpel and Teflon forceps at a laminar flow bench (Class 100, US Federal Standard 209a) and then stored individually in polypropylene labeled bags at -20°C until analysis.

Table 1 : Mean (\pm SD) length (cm) and weight (g) of the studied marine organisms.

		<i>P. Perna</i>	<i>P. kerathurus</i>	<i>S. senegalensis</i>	<i>M. cephalus</i>	<i>S. melanotheron</i>	<i>S. aurita</i>
Length (cm)	Range	5.1 ; 8.5	11.3 ; 18.9	23.6 ; 35.1	24.9 ; 43.4	11.4 ; 26.3	20.6 ; 33.2
	Mean \pm SD	6.5 \pm 1.1	14.3 \pm 2.2	28.8 \pm 3.5	30.5 \pm 4.6	20.1 \pm 5.2	30.6 \pm 1.2
Weight (g)	Range	8.6 ; 31.8	8.6 ; 37.8	120 ; 379	140 ; 679	33.8 ; 390	71.9 ; 332
	Mean \pm SD	20.9 \pm 2.3	21.3 \pm 2.3	220 \pm 75	257 \pm 12	163 \pm 9	272 \pm 35

Mercury analysis

About 250 mg of algae per site and per season, a total of 36 mussels, 45 shrimps, 50 sardinella, 45 mullet, 50 tilapia and 45 sole were analyzed (Table 1). Samples were individually lyophilized for 48 hours at -100°C until constant weight, and then manually ground to a powder with an agate mortar and pestle.

An AMA-254 Direct Analyzer (Altec) was employed to determine the concentration of total mercury (reported as mg of Hg on kg of dry weight, dw). A lyophilized sample (in the range of 0.010-0.050 g) was directly analyzed. The AMA-254 Direct Mercury Analyzer performs thermal decomposition, catalytic reduction, amalgamation, desorption and atomic absorption spectroscopy to rapidly treat and analyze solid or liquid samples for mercury, with an output result for mercury content in about 5 min (per sample) with no pre-treatments required and no waste generation used. The limit of quantification (LOQ) for detection of Hg by means of this method was 0.001 mg kg⁻¹ dw.

Selenium analysis

An aliquot of 100 mg from each material was digested in a concentrated solution of nitric acid (65% Suprapur, Merck) at room temperature for 24h and then at 100°C for 4h. Concentrations of Se were determined by an Inductively Coupled Plasma with a Mass Spectrometer detector (ICP-MS, Varian 820-MS). A collision reaction interface (similar to a collision cell) and internal standards (indium (In), rhodium (Rh) and scandium (Sc)) were used to resolve the matrix effects for the determination of Se. Element concentrations are reported below in mg kg⁻¹ dw, unless stated otherwise. The limit of quantification (LOQ) was 0.13 mg kg⁻¹ for Se.

The accuracy and precision of the analyses were assessed using procedural blanks, replicate analyses (one for every 25 analysis) and analyses of two standard reference materials: DOLT-4

(dogfish liver, National Research Council, Canada) and DORM-3 (fish protein, National Research Council, Canada). Procedural blanks were below 2% of the signal and the coefficient of deviation of 3 replicate measurements was consistently below 10%. For both elements, 54 CRM samples of DOLT-4 and DORM-3 reference materials were analyzed and the recovery percentages resulted in ranges from 88% to 110% and showed that the results were in good agreement with the certified values.

Data treatment and statistical analysis

The Se:Hg molar ratio was calculated from the total Se and the total Hg levels by dividing the concentration (in mg/kg) by the molecular weight (mean values: 200.59 for Hg and 78.96 for Se). Statistics were performed with “XLSTAT- Pro” 2014 (Addinsoft). Inter-species and spatial differences in Hg concentrations among samples from the five sites were analyzed with a one-way ANOVA, followed by post-hoc Tukey tests. If the data did not comply with the parametric assumption of normality and homogeneity of variance, the non-parametric Kruskal Wallis test and Mann Whitney U test for post hoc, pair-wise comparisons were used. A t-test, was used to observe the significant differences in Hg concentrations between the wet and dry seasons. In all tests, the significant level for differences in critical values was set at $p < 0.05$. Principal component analysis (PCA) was used to explore relationships between sites and Hg concentrations in the different species. The data were normalized by subtracting their mean and then dividing it by their standard deviation. The relative contributions of Hg to the overall differences between species and sites were examined in vector plots.

Results and discussion

Interspecific variability of Hg concentration

The mercury concentrations measured in algae, in the soft tissue of mussel and shrimp, and in the liver and muscle of fish species are presented for each species at each of the five sampling locations and for both studied seasons (Tables 2 and 3). Some species were not analyzed at all sites because they were absent. This is the case of mussel *P. perna* which lives attached to the rock by its byssus and hence was not found at muddy coastal sites such as Saint Louis and Joal. Species differences in Hg concentration were recorded with higher concentration found in fish liver (ranging from 0.006 to 0.681 mg kg⁻¹ dw) and the lowest in algae (ranging from 0.005 to 0.014 mg kg⁻¹ dw). *P. perna* and *P. kerathurus* also showed low Hg concentration ranging from 0.020 to 0.100 and from 0.012 to 0.122 mg kg⁻¹ dw respectively. In fish, the highest concentration

was in the liver of the benthopelagic fish *M. cephalus* ($0.242 \pm 0.16 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dw}$). Such species specific differences in Hg concentration highlight the complexity of Hg bioaccumulation in marine organisms, as well as the utility of employing a multi-species approach in the evaluation of mercury contamination. Hg concentration in fish is heavily dependent on their diet (Hall et al. 1997; Trudel and Rasmussen 2001; Staudinger 2011), trophic level of the organism (Amiard et al. 2006) and habitat (Staudinger, 2011; Vieira et al. 2011; Cresson et al. 2014). In the present study, the Hg concentration in the pelagic fish muscle (*Sardinella*: $0.075 \pm 0.048 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dw}$) is in the same magnitude as the one in the benthic species (*sole*: $0.074 \pm 0.050 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dw}$). *Sardinella* is an omnivorous fish feeding on pelagic zooplankton containing copepods and euphausiids (Gushchin and Corten 2015) whereas *sole* is a carnivorous benthic species feeding on worms and small crustaceans that live in close association with sediment (Vinagre et al. 2006).

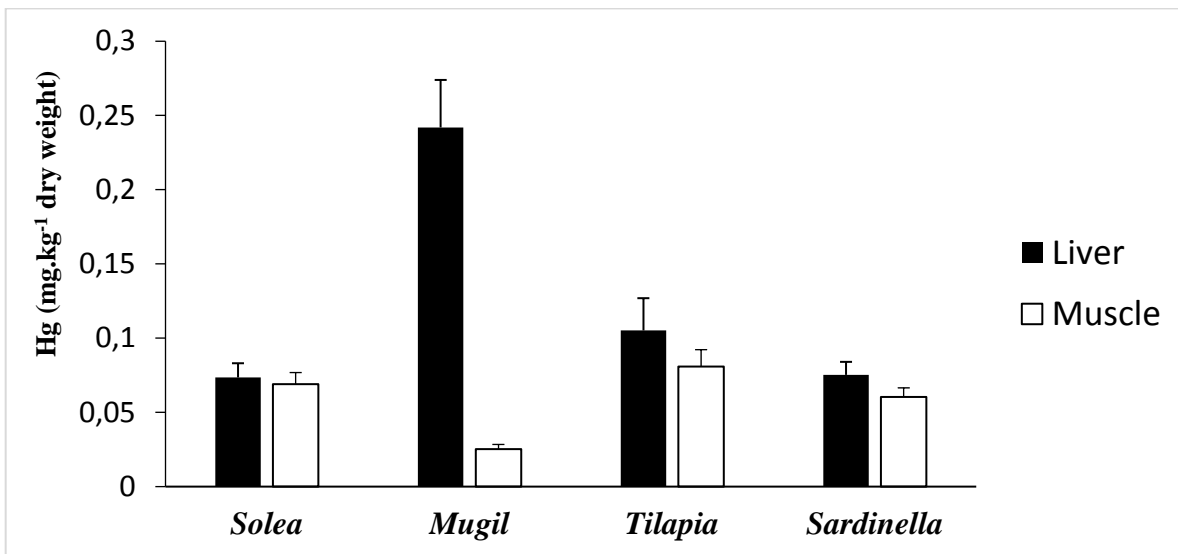


Figure 2: Variation in mercury contents (mg.kg^{-1} dry weight) in liver and muscle of different fish species. Asterisk denote significant difference ($p < 0.05$).

For fish species, differences in accumulation of Hg were recorded in liver and muscle (Figure 2). Mercury was more concentrated in liver than in muscle tissue in all fish species but only *M. cephalus* presented significantly higher concentration in liver (t-test, $p < 0.001$). The ratio of Hg between liver and muscle was 1.1, 1.2, 1.3 and 9.6 respectively for sole, sardinella, tilapia and mullet. Our results are in contradiction with those of Hajeb et al. (2009), where muscles presented higher concentration of Hg than liver in different fish species but in agreement with many other

studies (Joiris et al. 1999; Romeo et al. 1999; Agusa et al. 2005; Yamashita et al. 2005). Organs with higher metabolic activities, like the liver, accumulate more metals than organs with lower metabolic activities, such as muscle (Kalay et al. 1999). Liver stores metals for detoxification by producing metallothioneins (Hogstrand and Haux 1991). Thus, liver and gill are more often recommended as environmental indicator organs of water pollution than other fish organs.

Marine organisms used in this study are all species widely used to evaluate chemical contamination in many parts in the world since measures of element concentrations in water and sediment do not fully reflect the levels of contaminants in biota (Wang et al. 2010; Ali et al. 2013; Diop et al. 2014). In order to assess the level of contamination of the Senegalese coastal waters, the levels of Hg found in the biota were compared with results from the same species in studies performed in similar coastal waters knowing that species Hg levels vary according to individuals' size. Hg levels measured in fish were in the same order of magnitude or lower than those previously reported for the same species. Hg levels measured in *S. aurita* were in the same order of magnitude as the concentration values reported for the same species collected along the coast of Mauritania ($0.090 \pm 0.080 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dw}$, Romeo et al. 1999) but six times lower than those reported in *S. aurita* (mean Hg concentration = $0.50 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dw}$) from Tunisia (Joiris et al. 1999). Positive relationships have often been reported in the literature regarding mercury levels and fish size and age (Joiris et al. 1999; Vieira et al. 2011; Squadrone et al. 2015). We also found weak positive relationships in Hg concentrations with fish size but only *S. senegalensis* presented a significant relationship ($\text{Hg} = 0,0098 \times \text{TL} - 0,212$; $R^2 = 0.33$; $p = 0.002$). The absence of significant relationships in the other fish species may result from the narrow size range of the fish analyzed in the present study. Indeed, as we explored inter sites contamination, our sampling strategy was to analyze fish of the same size range from the different sites.

It is generally considered that Hg bioaccumulation occurs all along the fish life because Hg uptake in fish tissue is higher than their rate of excretion, thus larger and older fish display higher Hg concentrations. The individuals of sardinella used in the present study were larger (20.6 to 33.2 cm) and hence older than those analyzed in Tunisia (17.3 to 20.1cm) by Joiris et al. (1999). This suggests that Tunisian coastal waters are more contaminated by Hg than our study area when considering only sardinella.

The Hg levels found in *M. cephalus* in our study are higher than those found in the same species in South Africa (Net et al. 2015) but fish size differences of individuals analyzed in the two studies make the comparison difficult. The green algae *U. lactuca* is fast growing and can withstand a wide range of ecophysiological conditions and high pollution levels. A relationship between

concentrations of several heavy metals in water and algae was shown in many studies (Costa et al., 2011; Henriques et al. 2015). Henriques et al. (2015) have shown that *U. lactuca* is efficient at taking up mercury in ambient water. For these reasons the species is frequently chosen as a sentinel of pollution (Costa et al., 2011; Turner et al. 2012). However, we found that this species had the lowest Hg concentration compared with the other species studied. The concentrations measured in *U. lactuca* are in the same range as those recorded in Spain (Schuhmacher et al. 1993) and ten times lower than those found in South Africa (Misheer et al. 2006).

It was shown that Hg content in the mussel *P. perna* is correlated with their concentration in the surface sediment (Belabed et al. 2013). Hg levels measured in *P. perna* in this study are in the same range as those found in North African coast (Belabed et al. 2013) but lower than those found in Ghana (values range from 0.11 to 0.76 mg kg⁻¹ dw) (Joiris et al. 2000).

Few studies have analyzed element concentrations in *P. kerathurus*, particularly in the West African coast, but the Hg concentrations found in this study are in the range of those observed in other areas (Turkmen 2012).

Table 2: Mean (\pm SD) mercury concentration (mg.kg⁻¹) dry weight in the dry (S1) and wet (S2) season in liver and muscle of fish: *S. senegalensis*; *S. aurita*; *M. cephalus* and *S. melanotheron*.

Seasonal and spatial variation of mercury content

Sites	S1		S2	
	Liver	Muscle	Liver	Muscle
<i>S. senegalensis</i>				
Saint Louis	0.046 ± 0.014	0.09 ± 0.024	NA	
Soumbédioune	0.167 ± 0.064	0.147 ± 0.057	0.091 ± 0.016	0.072 ± 0.021
Hann	0.013 ± 0.008 ^{b,e}	0.019 ± 0.014	0.062 ± 0.034	0.046 ± 0.026
Rufisque	0.072 ± 0.051	0.068 ± 0.022	0.081 ± 0.012	0.063 ± 0.015
Joal	0.087 ± 0.036	0.071 ± 0.026	0.061 ± 0.031	0.044 ± 0.01
<i>S. aurita</i>				
Saint Louis	0.022 ± 0.008 ^{b,d}	0.029 ± 0.006	0.183 ± 0.111	0.045 ± 0.027
Soumbédioune	0.128 ± 0.005	0.11 ± 0.000	0.053 ± 0.015	0.058 ± 0.045
Hann	0.059 ± 0.002 ^b	0.097 ± 0.064	0.078 ± 0.01	0.054 ± 0.013
Rufisque	0.098 ± 0.045	0.044 ± 0.012	0.056 ± 0.014	0.046 ± 0.012
Joal	0.048 ± 0.003 ^b	0.065 ± 0.018	0.076 ± 0.011	0.056 ± 0.008
<i>M. cephalus</i>				
Saint Louis	0.356 ± 0.282	0.036 ± 0.01	0.338 ± 0.017	0.022 ± 0.001
Soumbédioune	0.157 ± 0.041	0.029 ± 0.021	0.300 ± 0.237	0.052 ± 0.011
Hann	0.146 ± 0.057	0.016 ± 0.001	0.463 ± 0.113	0.036 ± 0.019
Rufisque	0.089 ± 0.014	0.015 ± 0.002	0.133 ± 0.06	0.011 ± 0.004
Joal	NA		0.290 ± 0.055	0.011 ± 0.002
<i>S. melanotheron</i>				
Saint Louis	0.080 ± 0.040	0.074 ± 0.031	0.345 ± 0.291	0.053 ± 0.015
Soumbédioune	0.128 ± 0.019	0.124 ± 0.033	0.111 ± 0.085	0.193 ± 0.121
Hann	0.047 ± 0.02 ^b	0.018 ± 0.008	0.022 ± 0.006 ^{a,d,e}	0.015 ± 0.005
Rufisque	0.078 ± 0.021	0.125 ± 0.034	0.102 ± 0.033	0.154 ± 0.041
Joal	0.057 ± 0.019 ^b	0.064 ± 0.01	0.080 ± 0.016	0.031 ± 0.018

a Significant decrease (Kruskall Wallis and MannWhitney U test for post hoc pairwise comparisons; $p < 0.05$) compared to Saint Louis

b Significant decrease (Kruskall Wallis and MannWhitney U test for post hoc pairwise comparisons; $p < 0.05$) compared to Soumbédioune

c Significant decrease (Kruskall Wallis and MannWhitney U test for post hoc pairwise comparisons; $p < 0.05$) compared to Hann

d Significant decrease (Kruskall Wallis and MannWhitney U test for post hoc pairwise comparisons; $p < 0.05$) compared to Rufisque

e Significant decrease (Kruskall Wallis and MannWhitney U test for post hoc pairwise comparisons; $p < 0.05$) compared to Joal

Variation of Hg content in marine organisms between the dry (S1) and wet (S2) seasons is shown in Figure 3. Values represented correspond to the mean Hg in all individuals of the same species sampled in the five locations at each season. In all species studied, except for *P. perna* and *S. senegalensis* which concentrated more Hg in the dry season, highest Hg concentrations were recorded in the wet season. There was only significant seasonal differences (t-test, $p < 0.05$) for *P. kerathurus*, *M. cephalus* and *S. melanotheron*. Seasonal variation in Hg concentrations may be affected by seasonal species differences in physiology (feeding and reproduction) (Belabed et al. 2013; Staudinger 2011). As water temperature increased, so do organisms' metabolic rate and

feeding activity, resulting in an increase in metal uptake and accumulation in tissues (Obasohan and Eguavoen, 2008). Behavior differences (spatial migration) can expose species to different Hg concentrations. *M. cephalus* and *S. melanotheron* are two fish species that migrate to fresh and brackish water. Seasonal variations of Hg may also be related to environmental changes such as rainfall leading to varying runoff from land and rivers, upwelling intensity, and the water circulation along the coast. In the West African area, upwelling intensity is greater during the dry season and lower during the wet season (Braham et al. 2014).

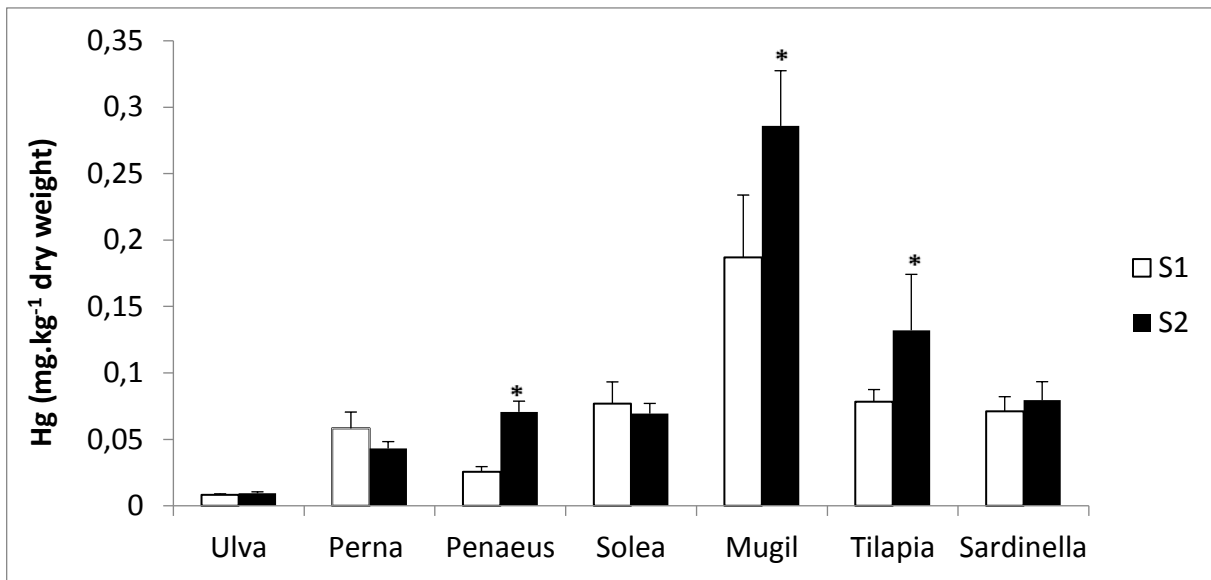


Figure 3: Variation of mercury content in marine organisms between the dry (S1) and wet (S2) seasons. Asterisk denote significant difference ($p < 0.05$).

Hg levels are known to increase according to individuals' size (Branco et al. 2007; Vieira et al. 2011; Squadrone et al. 2015). To prevent any size influence on the concentration of Hg, for each species, same-sized individuals were selected from the different sites in order to evaluate the spatial variation of Hg pollution. The results of the principal component analyses (PCA) indicated that Hg concentrations in the species analyzed explained 54% of the spatial variations (Figure. 4). Saint Louis (site 1) is characterized by significantly higher levels of Hg in the liver of *M. cephalus*. Since this species migrates in estuaries, specimens analyzed from Saint Louis have probably been exposed to the pollution of this estuary. Soumbédioune (site 2) was characterized by species such as sole, tilapia, mussels and algae with highest Hg concentrations compared with the other sites. Rufisque (site 4) is characterized by high Hg concentration in sardinella. These two later sites,

located near Dakar city and harbour are affected by directly discharged mixed urban and industrial wastewaters. Hann (site 3) and Joal (site 5) are less contaminated by Hg. Joal is located in the south of the Senegal coast far from significant anthropogenic activity.

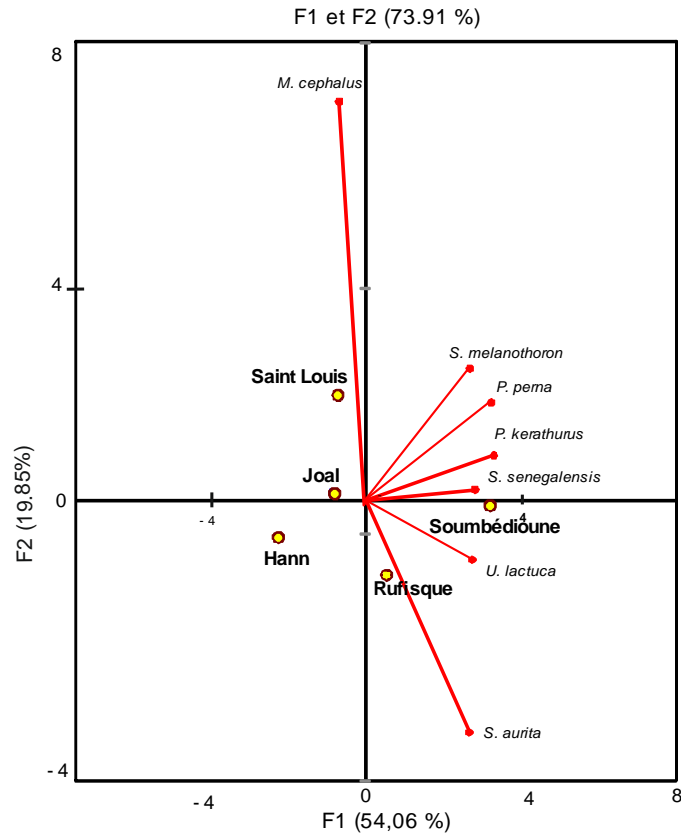


Figure 4: PCA showing relationships between sites and the highest Hg concentrations recorded in the different species.

Table 3: Mean (\pm SD) mercury concentration (mg.kg^{-1}) dry weight in the dry (S1) and wet (S2) season in the mussel *P. perna*, the shrimp *P. kerathurus* and the green algae *U. lactuca*.

Sites	S1	S2
<i>P. perna</i>		
Soumbédioune	0.094 ± 0.009	0.052 ± 0.005
Hann	0.029 ± 0.006 ^{b,d}	0.024 ± 0.003 ^{b,d}
Rufisque	0.052 ± 0.013	0.054 ± 0.007
<i>P. kerathurus</i>		
Saint Louis	0.038 ± 0.004	0.035 ± 0.003 ^{c,d,e}
Soumbédioune	0.028 ± 0.009	0.036 ± 0.005 ^{c,d,e}
Hann	0.012 ± 0.001 ^a	0.092 ± 0.011
Rufisque	NA	0.089 ± 0.01
Joal	0.024 ± 0.006	0.102 ± 0.017
<i>U. lactuca</i>		
Soumbédioune	0.010 ± 0.001	0.008 ± 0.001 ^c
Hann	0.006 ± 0.001 ^{b,d}	0.014 ± 0.001
Rufisque	0.011 ± 0.003	0.005 ± 0.001 ^{c,e}
Joal	0.007 ± 0.001	0.011 ± 0.002

Risk for human health

a Significant decrease (Kruskall Wallis and MannWhitney U test for post hoc pairwise comparisons; $p < 0.05$) compared to Saint Louis

b Significant decrease (Kruskall Wallis and MannWhitney U test for post hoc pairwise comparisons; $p < 0.05$) compared to Soumbédioune

c Significant decrease (Kruskall Wallis and MannWhitney U test for post hoc pairwise comparisons; $p < 0.05$) compared to Hann

d Significant decrease (Kruskall Wallis and MannWhitney U test for post hoc pairwise comparisons; $p < 0.05$) compared to Rufisque

e Significant decrease (Kruskall Wallis and MannWhitney U test for post hoc pairwise comparisons; $p < 0.05$) compared to Joal

Because of the presence of higher Hg content in marine organisms during the wet season (S2), possible health risk associated with their consumption was assessed during this season. Analyses concerned only mussels, shrimp, sardine and sole. If some of these species are highly consumed by the local population, others such as shrimp and sole are among the most exported species to the European Union.

The Hg and Se concentrations obtained in dry weight (mg kg^{-1} dw) in these species were converted into mg kg^{-1} wet weight (ww) in order to compare them with published guideline values for seafood destined for human consumption and to compare them with other studies. According to the weighed mass before and after drying, the following factors were applied to obtain the concentrations in wet weight: 0.22 for *P. perna* and *S. senegalensis*, 0.26 for *P. kerathurus* and 0.30 for *S. aurita*.

The levels of Hg in mussels ($0.011 \pm 0.005 \text{ mg kg}^{-1}$ ww), shrimp ($0.014 \pm 0.008 \text{ mg kg}^{-1}$ ww), sole ($0.016 \pm 0.009 \text{ mg kg}^{-1}$ ww) and sardinella ($0.018 \pm 0.009 \text{ mg kg}^{-1}$ ww) (Table 4) were well below the legal limit of 0.5 mg kg^{-1} ww fixed by the European Union for fish and seafood (EC 1881/2006 and amendments 629/2008, 420/2011). The World Health Organization (WHO)

assumes that foods with mercury concentrations of 0.5 mg kg⁻¹ (ww) or higher are improper for human consumption (WHO, 1996).

No significant differences were observed in Hg concentrations in edible parts of the marine organisms analyzed. Total Hg content in this study was low or in the same amount of magnitude when compared to other areas in West Africa (e.g. Biney and Ameyibor 1992; Romeo et al. 1999; see also the review of Bosch et al. 2016)

The Se contents in mussels (0.163 ± 0.073 mg kg⁻¹ ww), shrimp (0.211 ± 0.085 mg kg⁻¹ ww), sole (0.549 ± 0.188 mg kg⁻¹ ww) and sardinella (0.839 ± 0.187 mg kg⁻¹ ww) (Table 4) were quite low but no limits were fixed for this element, and there are fewer data for comparison on Se content in marine organisms from Africa. There were no differences (ANOVA, p<0.05) in Se content in the muscles of the fish species analyzed but they were significantly higher than in mussels and shrimp. In all species, the Se levels are higher than Hg levels (Table 4).

The concentrations of Hg and Se in marine organisms have been the subject of intense study in recent years due to their antagonistic effect. As recently suggested by many authors, the Se:Hg molar ratio above one can protect fish against mercury toxicity, although the actual ratio that provides protection is unclear, because of the variability in toxicokinetics (Watanabe, 2002; Squadrone et al., 2015). The molar ratio explains the number of Se atoms versus Hg atoms present or consumed. The Se:Hg molar ratios in this study are high and differed significantly among the species examined (Table 4). Mean Se:Hg values were 37, 37, 88 and 117 respectively for *P. perna*, *P. kerathurus*, *S. senegalensis* and *S. aurita*. Ralston and Raymond (2010) demonstrated that selenium lowers the toxicity of methylmercury when the Se:Hg molar ratio is higher than 1:1. Due to the high affinity of Se to Hg. Se is thought to sequester methylmercury, and reduce its bioavailability in organisms (Sormo et al. 2011). The Se:Hg molar ratio largely greater to one in all species analyzed suggest that the potential effect of Se excess protects humans consuming these marine organisms by reducing Hg toxicity.

Table 4: Total mercury and total selenium (mean ±SD; mg.kg⁻¹ wet weight) and the Se:Hg molar ratio (mean ± SD and range values) in the edible part of *P. perna*, *P. kerathurus* and in the muscle of *S. senegalensis* and *S. aurita*.

Species	Hg (mean ± SD)	Se (mean ± SD)	Hg μmol/g	Se μmol/g	Se:Hg molar ratio (mean ±SD)	Se:Hg molar ratio (min; max)

<i>P. perna</i>	0.011 ± 0.005	0.163 ± 0.073	0.056	2.06	37 ± 12	26 - 55
<i>P. kerathurus</i>	0.014 ± 0.009	0.211 ± 0.085	0.071	2.67	37 ± 18	14 - 69
<i>S. senegalensis</i>	0.016 ± 0.009	0.549 ± 0.188	0.079	6.95	88 ± 22	58 - 165
<i>S. aurita</i>	0.018 ± 0.010	0.839 ± 0.197	0.090	10.6	118 ± 32	65 - 125

Conclusion

Our results confirm the low concentrations of Hg found in marine species of the Senegalese coast (Gras and Mondain, 1982; Birame et al. 2015; Net et al. 2015). In this area, high Hg concentration have been reported only in large predator fish such as swordfish and sharks (Gras and Mondain, 1982). Results indicate that Hg concentrations in fish and other marine organisms (algae, mussels and shrimps) from the Senegalese coast are lower or in the same order as observed in the other African countries and more generally in marine coastal areas. These low concentrations of Hg but also other pollutants (Net et al. 2015; Diop et al. 2016a, b) may be due to the very high marine dynamics off the coast of Senegal favoring the dispersion of pollutants seaward and their low accumulation in the study area.

Strong differences of Hg concentrations by biota were demonstrated, revealing the utility of employing a suite of organism bioindicators to monitor contamination in coastal areas. There was no clear seasonal pattern in Hg concentrations in biota but spatial differences exist with highest concentrations in sites located near important anthropogenic pressure.

Research on heavy metal concentrations in commonly consumed fish species and seafood is still needed, especially in Africa, where the average contribution of fish protein to the total animal protein supply is about 20% (FAO, <http://www.fao.org/fishery/sofia/en>). Fish and shellfish consumption remain the major sources of protein for Senegalese people, particularly in the coastal areas. Hg contents in the edible parts of species analyzed were well below the EU's recommended maximum level of Hg for human consumption. Moreover, the Se:Hg molar ratio were always higher than one whatever the species or location suggesting a protection of Se against Hg potential adverse effect.

Due to the ever increasing environmental pressure on the Senegal coast ecosystem, a regular monitoring of element levels in marine fish, particularly in large predator fish such as swordfish and sharks, is necessary to assess any further environmental deterioration. Such monitoring will be of major importance to resource managers and public health officials.

Acknowledgments

A doctoral grant was funded for M. Diop by Bourses de Coopération et d'Action Culturelle de l'ambassade de France à Dakar and ERASMUS ANGLE grant. The authors sincerely thank Drs. Michael Howsam and Lucie Courco for their assistance with the Hg and Se analyses.

Figure and table captions

Figure 1: Map showing the sampling sites along the Senegalese coast.

Figure 2: Variation in mercury contents (mg.kg^{-1} dry weight) in liver and muscle of different fish species. Asterisk denote significant differences between season ($p < 0.05$).

Figure 3: Variation of mercury content in marine organisms between the dry (S1) and wet (S2) seasons. Asterisk denote significant difference ($p < 0.05$).

Figure 4: PCA showing relationships between sites and the highest Hg concentrations recorded in the different species.

Table 1 : Mean (\pm SD) length (cm) and weight (g) of the studied marine organisms.

Table 2: Mean (\pm SD) mercury concentration (mg.kg^{-1} dry weight) in the dry (S1) and wet (S2) season in liver and muscle of fish: *S. senegalensis*; *S. aurita*; *M. cephalus* and *S. melanotheron*.

Table 3: Mean (\pm SD) mercury concentration (mg.kg^{-1} dry weight) in the dry (S1) and wet (S2) season in the mussel *P. perna*, the shrimp *P. kerathurus* and the green algae *U. lactuca*.

Table 4: Total mercury and total selenium (mean \pm SD; mg.kg^{-1} wet weight) and the Se:Hg molar ratio (mean \pm SD and range values) in the edible part of *P. perna*, *P. kerathurus* and in the muscle of *S. senegalensis* and *S. aurita*.

References

- Agusa T, Kunito T, Iwata H et al (2005). Mercury contamination in human hair and fish from Cambodia: levels, specific accumulation and risk assessment. *Environ Poll* 134(1): 79–86.
- Ali H, Khan E, Sajad MA (2013). Phytoremediation of heavy metals concepts and applications. *Chemosphere* 91(7): 869–881.
- Amiard JC, Amiard-Triquet C, Barka S et al (2006). Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquat Toxicol* 76: 160–202.
- Belabed BE, Laffray X, Dhib A et al (2013) Factors contributing to heavy metal accumulation in sediments and in the intertidal mussel *Perna perna* in the Gulf of Annaba (Algeria). *Mar Pollut Bull* 74(1): 477–489.

- Birame N, Momar N, Abdoulaye D et al (2015). Determination of methyl mercury in biological samples from Dakar coast using CV-AAS and a simple ultrasound method. *Res J Chem Env* 19: 1-7.
- Biney CA, Ameyibor E (1992). Trace metal concentrations in the pink shrimp *Penaeus notialis* from the coast of Ghana. *Water, Air, and Soil Pollution* 63(3-4): 273-279.
- Bosch AC, O'Neill B, Sigge G. O et al (2016) Heavy metals in marine fish meat and consumer health: a review. *J Sci Food Agr* 96(1): 32-48.
- Braham CB, Fréon P, Laurec A et al (2014). New insights in the spatial dynamics of sardinella stocks off Mauritania (North-West Africa) based on logbook data analysis. *Fish Res* 154: 195–204.
- Branco V, Vale C, Canário J et al (2007). Mercury and selenium in blue shark (*Prionace glauca*, L. 1758) and swordfish (*Xiphias gladius*, L. 1758) from two areas of the Atlantic Ocean. *Environ Pollut* 150(3): 373–380.
- Burger J, Gochfeld M (2004). Mercury in canned tuna: white versus light and temporal variation. *Environ Res* 96(3): 239–249.
- Cresson P, Fabri MC, Bouchoucha M et al (2014). Mercury in organisms from the Northwestern Mediterranean slope: Importance of food sources. *Sci. Total. Environ* 497: 229-238.
- Costa S, Crespo D, Henriques BMG (2011) Kinetics of mercury accumulation and its effects on *Ulva lactuca* growth rate at two salinities and exposure conditions, *Water Air Soil Pollut* 217: 689-699.
- Cropper TE, Hanna E, Bigg GR (2014). Spatial and temporal seasonal trends in coastal upwelling off Northwest Africa, 1981–2012. *Deep Sea Res Pt I*: 86: 94-111.
- Crump KL, Trudeau VL (2009). Mercury-induced reproductive impairment in fish. *Environ Toxicol Chem* 28(5): 895–907.
- Crump KS, Kjellström T, Shipp AM et al (1998). Influence of prenatal mercury exposure upon scholastic and psychological test performance: benchmark analysis of a New Zealand cohort. *Risk Analysis*, 18(6): 701–713.
- Diop C, Dewaelé D, Diop M et al (2014). Assessment of contamination, distribution and chemical speciation of trace metals in water column in the Dakar coast and the Saint Louis estuary from Senegal, west Africa. *Mar pollut Bull* 86: 539–46.
- Diop C, Dewaelé D, Cazier, F et al (2015) Assessment of trace metals contamination level, bioavailability and toxicity in sediments from Dakar coast and Saint Louis estuary in Senegal, West Africa. *Chemosphere* 138: 980-987.
- Diop M, Howsam M, Diop C et al (2016a). Spatial and seasonal variations of trace elements concentrations in liver and muscle of round sardinelle (*Sardinella Aurita*) and senegalese sole (*Solea Senegalensis*) along the Senegalese coast. *Chemosphere* 144: 758–66.
- Diop, M., Howsam, M., Diop, C et al (2016b). Assessment of trace element contamination and bioaccumulation in algae (*Ulva lactuca*), mussels (*Perna perna*), shrimp (*Penaeus kerathurus*), and fish (*Mugil cephalus*, *Saratherondon melanotheron*) along the Senegalese coast. *Mar pollut bull.* in press.
- Donkor AK, Bonzongo JC, Nartey VK et al (2006). Mercury in different environmental compartments of the Pra River Basin, Ghana. *Sci Total Environ* 368(1): 164-176.
- Doshi H, Seth C, Ray A et al (2008). Bioaccumulation of heavy metals by green algae. *Cur Microbiol* 56(3): 246–255.
- Driscoll CT, Mason RP, Chan HM et al (2013). Mercury as a Global Pollutant: Sources, Pathways, and Effects. *Environ Sci Technol* 47 (10): 4967–83.
- EC (2006) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official. J European* 364: 5–24.

- EC (2008) No 629/2008 of 2 July 2008 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official. J. European 173/6, 4 pages.
- FAO (2006). Report of the FAO Working Group on the assessment of small pelagic fish off Northwest Africa. Banjul, Gambia, 2–11 May 2006. FAO Fish. Report 811, 192 pages.
- Gras G, Mondain J (1982). Rapport methylmercure/mercure total dans difgerentes espèces de poissons pêchés sur les côtes de l'Afrique de l'Ouest. Toxicological European Research 4 : 191-195.
- Gushchin A, Corten A (2015). Feeding of pelagic fish in waters of Mauritania: 1. European anchovy *Engraulis encrasicolus*, European sardine *Sardina pilchardus*, round sardinella *Sardinella aurita*, and flat sardinella *S. maderensis*. J Ichthyol, 55: 77–85.
- Hajeb P, Jinap S, Ismail A et al (2009). Assessment of mercury level in commonly consumed marine fishes in Malaysia. Food Control, 20(1): 79–84.
- Hall B, Bodaly R, Fudge R et al (1997). Food as the dominant pathway of methylmercury uptake by fish. Water, Air, and Soil Pollut, 100(1-2): 13–24.
- Henriques B, Rocha LS, Lopes CB (2015). Study on bioaccumulation and biosorption of mercury by living marine macroalgae: Prospecting for a new remediation biotechnology applied to saline waters. Chem Eng J 281: 759–770.
- Henriques B, Rodrigues S, Coelho C et al (2013). Risks associated with the transfer of toxic organo-metallic mercury from soils into the terrestrial feed chain. Environ. Int 59: 408–417.
- Hightower JM, Moore D (2003) Mercury levels in high-end consumers of fish. Environmental Health Perspectives, 111(4): 604.
- Hogstrand C, Haux C (1991). Binding and detoxification of heavy metals in lower vertebrates with reference to metallothionein. Comp Biochem Phys C 100(1): 137–141.
- Joiris CR, Holsbeek L (1999). Total and methylmercury in sardines *Sardinella aurita* and *Sardina pilchardus* from Tunisia. Mar Pollut Bull,38(3): 188–192.
- Joiris CR, Holsbeek L, Otchere FA (2000) Mercury in the Bivalves *Crassostrea Tulipa* and *Perna Perna* from Ghana. Mar Pollut Bull 40,: 457–60.
- Kalay M, Ay Ö, Canli M (1999). Heavy metal concentrations in fish tissues from the Northeast Mediterranean Sea. B Environ Contam Tox 63(5): 673–681.
- Misheer N, Kindness A, Jonnalagadda S (2006). Seaweeds along KwaZulu-Natal coast of South Africa—3: elemental uptake by *Ulva lactuca* (sea lettuce). J Environ Sci and Heal C 41(6): 1249–1259.
- Niane B, Guédron S, Moritz R, Cosio C et al (2015). Human exposure to mercury in artisanal small-scale gold mining areas of Kedougou region, Senegal, as a function of occupational activity and fish consumption. Environ Sci Pollut R 22(9): 7101-7111.
- Net S, Henry F, Rabodonirina S et al (2015). Accumulation of PAHs, Me-PAHs, PCBs and total Mercury in sediments and Marine Species in Coastal Areas of Dakar, Senegal: Contamination level and impact. Int J Environ Res 9(2): 419–432.
- Obasohan E, Eguavo O (2008). Seasonal variations of bioaccumulation of heavy metals in a freshwater fish (*Erpetoichthys calabaricus*) from Ogba River, Benin City, Nigeria. Afr J General Agr 4(3): 153–163.
- Ouédraogo O, Amyot M (2013). Mercury, arsenic and selenium concentrations in water and fish from sub-Saharan semi-arid freshwater reservoirs (Burkina Faso). Sci. Total. Environ 444: 243-254.
- Peterson SA, Ralston NV, Peck DV et al (2009). How might selenium moderate the toxic effects of mercury in stream fish of the western US? Envir Sci Tech Lib 43(10): 3919–3925.
- Ralston NVC, Raymond LJ (2010) Dietary selenium's protective effects against methylmercury toxicity. Toxicology 278: 112-123.

- Romeo M, Siau Y, Sidoumou, Z, Gnassia-Barelli M (1999). Heavy metal distribution in different fish species from the Mauritania coast. *Sci Total Environ* 232: 169–75.
- Schuhmacher M, Domingo J, Llobet J et al (1993). Chromium, copper, and zinc concentrations in edible vegetables grown in Tarragona Province, Spain. *Bull Environ Contam Tox* 50(4): 514–521.
- Sormo EG, Tomasz MC, Ida BØ et al (2011). Selenium Moderates Mercury Toxicity in Free-Ranging Freshwater Fish. *Environ Sci Technol* 45: 15 6561–66.
- Squadrone S, Benedetto A, Brizio P et al (2015). Mercury and selenium in European catfish (*Silurus glanis*) from Northern Italian Rivers: Can molar ratio be a predictive factor for mercury toxicity in a top predator? *Chemosphere* 119: 24–30.
- Staudinger MD (2011). Species- and size-specific variability of mercury concentrations in four commercially important finfish and their prey from the northwest Atlantic. *Mar Pollut Bull* 62(4): 734–740.
- Stringari J, Nunes AK, Franco JL et al (2008). Prenatal methylmercury exposure hampers glutathione antioxidant system ontogenesis and causes long-lasting oxidative stress in the mouse brain. *Toxicol Appl Pharm* 227(1): 147–154.
- Trudel M, Rasmussen JB (2001). Predicting mercury concentration in fish using mass balance models. *Ecol App* 11(2): 517–529.
- Turkmen G (2012). Seasonal variation of heavy metals in shrimp *Penaeus kerathurus* (forsk., 1775) from Izmir bay, Turkey. *J Anim Vet Adv* 11: 2839–2844.
- Turner A, Furniss O (2012). An evaluation of the toxicity and bioaccumulation of thallium in the coastal marine environment using the macroalga, *Ulva lactuca*. *Mar Pollut Bull* 64(12): 2720–2724.
- U.S. EPA (2008). Model-based analysis and tracking of airborne mercury emissions to assist in watershed planning.
- Vieira C, Morais S, Ramos S et al. (2011). Mercury, cadmium, lead and arsenic levels in three pelagic fish species from the Atlantic Ocean: intra- and inter-specific variability and human health risks for consumption. *Food Chem Toxicol* 49(4): 923–932.
- Vinagre C, Fonseca V, Cabral H et al. (2006). Habitat suitability index models for the juvenile soles, *Solea solea* and *Solea senegalensis*, in the Tagus estuary: Defining variables for species management. *Fish Res* 82(1): 140–149.
- Wang Y, Chen P, Cui R, et al. (2010). Heavy metal concentrations in water, sediment, and tissues of two fish species (*Triplohyas pappenheimi*, *Gobio hwanghensis*) from the Lanzhou section of the Yellow River, China. *Environ Monit Assess* 165(1–4): 97–102.
- Watanabe C. (2002). Modification of Mercury Toxicity by Selenium: Practical Importance? *Tohoku J Exp Med* 196 (2): 71–77.
- WHO (World Health Organization) (1996). Health criteria other supporting information. In *Guidelines for drinking water Quality* (Vol. 2, pp. 31–388), 3rd ed. Geneva.
- Yamashita Y, Omura Y, Okazaki E (2005). Total mercury and methylmercury levels in commercially important fishes in Japan. *Fish Sci*, 71(5): 1029–1035.
- Zhang L, Wong M (2007). Environmental mercury contamination in China: sources and impacts. *Environ Int* 33(1): 108–121.

Sopheak NET, Françoise Henry, Suzanah Rabodonirina, Mamadou Diop, Dima Merhaby, Celine Mahfouz, Rachid Amara, Baghdad Ouddane. *Accumulation of PAHs, Me-PAHs, PCBs and total mercury in sediments and marine species in coastal areas of Dakar, Senegal: Contamination level and impact. Int. J. Environ. Research* 2015; 9:419–32

ABSTRACT

Persistent organic pollutants (POPs) have widely aroused public concern due to their ubiquity, environmental persistence, long-range transportability, bioaccumulation capacities and potentially adverse effects on living organisms. Dakar is located in the industrial zone of Senegal (80% of industrial activities) and inhabits 25% of Senegalese population leading to an ideal sink of these persistent organic pollutants. In the present paper, polychlorinated biphenyls (PCBs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) were analyzed in sediments and marine organisms. The contamination level of PAHs, Me-PAHs and PCBs in surface sediment and aquatic organisms (one macroalgae, two invertebrate species, four fish species and macroalgae) were determined. The concentration levels in the sediment were detected from 2 to 636 $\mu\text{g}/\text{kg dw}$ for $\Sigma_{16}\text{PAHs}$, from 3 to 31 $\mu\text{g}/\text{kg dw}$ for $\Sigma_{18}\text{Me-PAHs}$ and from 4 to 333 $\mu\text{g}/\text{kg dw}$ for $\Sigma_{28}\text{PCBs}$ for the selected stations in Dakar coastal area. PAHs concentrations determined in edible tissues were lower than sediment samples. Tilapia species present the highest mean levels of PAHs and Me-PAHs at 92 ± 54 and $183 \pm 39 \mu\text{g}/\text{kg dw}$ respectively. For PCBs, the highest level was determined in *Perna perna* species (up to 1228 $\mu\text{g}/\text{kg dw}$) and the lowest level was found in *Panaeus kerathurus* species. At the base of the food chain, *Ulvalactula* species displayed low PCB concentrations detected at $7 \pm 6 \mu\text{g}/\text{kg dw}$. The total mercury concentration was also reported in this paper in order to complete the background of pollution degree and to study the potential processes of biomagnification and/or bioaccumulation of contaminants in marine food chain. Mercury concentration was detected in the sediment ranging from 5 to 95 $\mu\text{g}/\text{kg dw}$. For marine species, considering all organisms, the mean concentration of mercury varies between 5 and 442 $\mu\text{g}/\text{kg dw}$. Pyrogenic process was the predominant source of PAHs contamination in our sampling sites. Based on Sediments Quality Guidelines (ERM–ERL/TEL–PEL approaches) rare biological adverse effects of total mercury, PCBs and PAHs on aquatic ecosystems were expected in Dakar coastal area. Finally, in the context of human health, the edible marine species qualities obtained from three stations of Dakar coastal areas have been also evaluated. Based on the European Union legislation, the selected species present good quality for human consumption based on PCBs, PAHs and mercury.

Keywords: PAHs, PCBs, mercury, sediment and marine organisms, Dakar

INTRODUCTION

The environmental impact of organic pollutants and metallic trace elements in coastal environment is serious. In order to better understand the potential impact of these pollutants on the ecosystem functioning as well as human health, an increasing attention has been implemented not only on the contamination level of contaminants in water or sediment but also on their accumulation level in aquatic organism (Boon, 1985; Naes et al., 1995; Neff 2002; Borgå et al., 2004; Francioni, 2005; Bastami et al., 2013). Senegalese coast is one of the most productive areas in the world due to the presence of coastal upwelling of deep waters rich in nutrients (Romeo et al., 1999). Even if industrialization did not reach a very high level compared to the developed countries, pollution of coastal aquatic habitats seems to be an inevitable problem mainly in the peninsula of Dakar which concentrates more than 80 % of the industries and inhabits more than 25 % of the population of the country (OIS 2010). Indeed, most of domestic and industrial waste waters are discharged directly into the sea. These permanent anthropogenic discharges can contribute to environmental and ecological degradation of Dakar coastal zones. Consequently, particular attention must be paid to the chemical quality of edible marine organisms consumed by local human populations. Fish and invertebrates consumption remain the major source of protein for the residents in Dakar. However, to date, only few studies were carried out on the trace metals and organic contamination levels in mollusk and fish species sampled from this aquatic ecosystem (Simoudou et al., 2006; Ndiaye et al., 2012).

Among the large variety of organic pollutants, polychlorinated biphenyls (PCBs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are two classes of pollutants intensively monitored and regulated due to their toxicity, persistence and wide diffusion in the environment. PCBs were widely used in industries until their hazards to the environment and human health became evident. These contaminants have been reported to cause cancer in animals and humans (Bertrand et al., 2010; Kramer et al., 2012; Bräuner et al., 2012; EPA, 2013). PCBs have primarily been used as dielectric fluids of transformers and capacitors; other applications included their use in paints, inks and pesticides; they are extremely stable compounds under environmental conditions (Bennett, 1983; WHO, 1993). Due to their toxicity, persistency and bioaccumulation capacities, these substances have been classified as persistent organic pollutants. Their production was banned by the United States Congress in 1979 and by the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants in 2001 (Porta and Zumeta, 2002). However, PCBs are still present in water and sediment (Turrio-Baldassarri et al., 2005; Dumoulin et al., 2013; Net et al., 2014a) and continue to affect aquatic organisms from the base of food chain (plankton, algae) to predator organisms (fish, birds, marine

mammals) and consequently human health through the diet (Sun et al., 2002). Another class of organic contaminants is represented by the aromatic hydrocarbons group including PAHs and Me-PAHs. These contaminants are widely disseminated in the environment. High level of hydrocarbons represents a serious threat to the ecosystem functioning and human health via food chain and water resources. Their sources can be both natural and anthropogenic (Yunker et al., 2002; Wang et al., 2007; Mostert et al., 2010; Net et al., 2014a,b). Hydrocarbons are highly lipophilic compounds, ubiquitous in coastal, estuarine and river water column, as well as sediments in which they tend to accumulate (Chiou et al., 1998; Ko and Baker, 1995; Manodori et al., 2006; Cailleaud et al., 2007; Gaspare et al., 2009; Yunker et al., 2012; Net et al., 2014b). Recent studies have reported that marine organisms are prone to bioaccumulate these substances, particularly in lipid-rich tissues (Neff, 2002; Francioni et al., 2005; Dugan et al., 2005). Due to their toxic, carcinogenic and mutagenic effects (Straif et al., 2005; IARC, 2010; US Department of Health and Human Services, 2011), sixteen PAHs have been classified as priority substances by the United States Environmental Protection Agency (US EPA, 2002). Among toxic metals, mercury is an element of special concern because it is known to particularly biomagnify as it moves up the aquatic food chain (Carrasco et al., 2011) and thus to bioaccumulate in higher trophic level consumers (Cossa et al., 1990).

The aim of the present study was to assess the impact of anthropogenic discharges on the ecological ecosystem of Dakar coastal zones. Predominant organic compound (PCBs, PAHs and Me-PAHs) were quantified in one macro algae species (*Ulvalactuca*), two invertebrate species (mussel: *Perna perna* and shrimp: *Penaeus kerathurus*) and four fish species (grey mullets: *Mugilcephalus*, tilapia *Sarotherodon melanotheron*, flatfish *Soleasenegalensis* and round sardinella *Sardinella aurita*). These two invertebrate and four fish species have been selected because they represent a great economic and ecological importance in these coastal zones. In addition, a toxic metal such as mercury has been also considered in this paper in order to complete the background of contamination level and to study their potential biomagnification and/or bioaccumulation processes in marine food chain.

MATERIALS AND METHODS

Sampling site: Dakar is located in the west of Senegal, in the industrial zone (80% of industrial activities) and inhabits 25% of the Senegalese population which is an ideal sink of these persistent

organic pollutants. The sampling campaign was conducted in the south of Dakar on February 2013 during dry season in three sampling sites along the South coast of the peninsula of Dakar, noted A, B and C on the Figure 1. Classical parameters such as pH, temperature, salinity and dissolved oxygen have been also measured simultaneously. The values of pH, temperature, salinity and dissolved oxygen were respectively at 7.43, 21.8°C, 36.9 PSU and 7.42 mg/L for Soumbédioune station, 7.61, 23.4°C, 40.3 PSU and 6.19 mg/L for Yarakh station and 7.64, 23.1°C, 35.8 PSU and 7.02 mg/L for Rufisque station.

Surface sediment and marine species have been selected in order to understand the potential impact of micro pollutants from urban and industrial discharges on ecosystem functioning and on human health. Seven marine species were considered in this work starting from macroalgae, bivalve, crustacean and four species of fish. The choice was based on the frequent consumption of these species by the population inhabiting the Senegalese coast. The main characteristics of marine organisms selected in this study are briefly presented as following: (i) Macroalgae: *Ulva lactuca* provide qualitative information about the contamination level and environmental quality in an ecosystem due to their lifestyle sedentary and abundance in coastal seawater (Rainbow and Phillips, 1993). (ii) Mussel: *Perna perna* is the only mussel of this genus in the Western coast of Africa (Sidoumou et al., 2006). Mussels are sedentary filtering organisms, which have been widely used as environmental sentinel for the contamination. (iii) Crustacean: *Penaeus kerathurus* is commercially one of the most important shrimp species in fishery in Senegal. It is also a target species for fishermen using trammel nets in Dakar bays. (iv) Fish species: *Sardinella aurita* is a small pelagic fish feeding on plankton. These fat fish are the more often consumed species in Senegal. In this study, *Sardinella aurita* presents from 228 to 337 cm length with mean average of 309 ± 37 cm and from 110 to 396 g with mean average of 304 ± 91 g wet weight. *Flathead mullet* *Mugilcephalus* is cosmopolitan and occupies a wide variety of marine, estuarine and freshwater environment in tropical, subtropical and temperate coastal waters. This benthopelagic species is omnivorous which diet consists mainly of zooplankton, benthic organisms and detritus for larger juveniles and adult stages. In this word, *Mugilcephalus* collected were from 318 to 362 cm length with mean average of 343 ± 19 cm and from 282 to 426 g wet weight with mean average of 334 ± 57 g wet weight. *Sarotheroron melanotheron*: As *Mugilcephalus*, *Sarotheroron melanotheron* are tolerant to a broad range of environmental conditions and natural populations were found in many different habitats from freshwater to hypersaline waters (Panfili et al., 2003). This species has an

omnivorous diet and can change its diet in function of the environment. Tilapia is a fast-growing fish which has been an essential source of protein food. Therefore, this fish species show an increasing demand in many developed countries. *Sarotheroron melanotheon* collected were from 141 to 253 cm length with mean average of 196 ± 58 cm and from 85 to 342 g with mean average of 206 ± 129 g wet weight. *Soleasenegalensis* is one of the most abundant and representative species of the Atlantic coasts. This flat benthic fish with a practically sedentary life lives in sandy or muddy bottoms in coastal areas and feeds on benthic invertebrates such as larvae of polychaets, bivalve mollusks and small crustaceans. This species is well adapted to warm climates and have been used in field and laboratory toxicity assays because of its sensitive character to pollutants (Costa et al., 2009). *Soleasenegalensis* collected were from 269 to 371 cm length with mean average of 311 ± 40 cm and from 178 to 445 g with mean average of 279 ± 97 g wet weight

These three sampling sites were chosen due to their locations near the waste discharge channels into the sea. Zone A (Soumbedioune) is dominated by discharges of domestic wastewater, hospital discharges and road traffics. Zones B (Yarakh) and C (Rufisque) are located in the Hann Bay: Yarakh is surrounded with industrial activities with the predominance of food industries while Rufisque is close to the Refining African society and cement factory. For each station, five superficial sediment samples were collected at low tide. Similarly, macroalgae and mussels were handpicked from substratum of intertidal zone. After collection, samples were transported to the laboratory in icebox and biota samples were rinsed with pure water. The whole soft body of mussels was collected for chemical analysis. Samples of fish and shrimp were caught by fishermen's nets and the fishing zones were indicated approximately in the figure 1. Species were purchased from the local fishermen in the same day of capture and brought to laboratory on ice immediately. Before collecting muscle tissues, fish length and weight were measured.

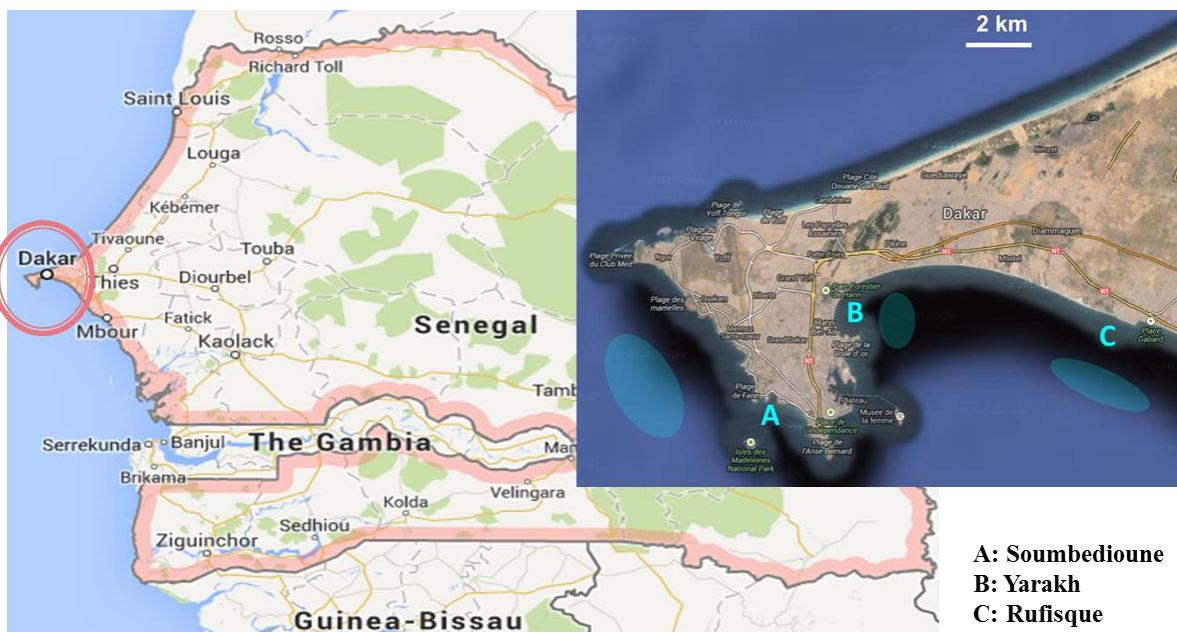


Figure 1: Location of sampling sites from Dakar coastal zone, in Senegal.

All samples were dried in an oven at 40°C to constant weight and were stored in individual aluminum foils at -20°C until further treatments and analysis. Dried sediment and biota samples were ground mechanically with an agate mortar and manually with a ceramic mortar and pestle, respectively.

Mixed standard solutions of PAHs and Me-PAHs were purchased from Restek Corp (Bellefonte, PA, USA). PCBs standard solution was obtained from Accustandard, Inc. (New Haven, CT, USA). Tetrachloronaphtalene (TCN), 2,3,3',5,6-tetrachlorobiphenyl (PCB112) and octachloronaphtalene (OCN), used as internal standard for PCBs quantification, were purchased from Dr Ehrenstorfer (Augsburg, Germany). Deuterated internal standards for PAHs and Me-PAHs quantification were acenaphthene-d10 (A-d10), naphtalene-d8 (N-d8), perylene-d12 (Per-d12), phenanthrene-d10 (Phe-d10) and pyrene-d10 (Pyr-d10) and they were provided by LGC-Promochem (Middlesex, UK). HPLC-grade solvents (hexane, dichloromethane, methanol and acetone) were purchased from Dislab (France). Ultrapure water (Milli-Q) was produced by a Millipore apparatus with 18.2 MΩ/cm resistivity. Merck silica gel 60 (70-230 mesh ASTM) activated at 450 °C was stored at 120°C for 12h prior to use. Glassware was systematically washed with detergent (Decon, East Sussex, UK), rinsed with ultrapure water and acetone and finally dried at 120 °C prior to use.

In this work, 16 PAHs, 18 Me-PAHs and 28 PCBs including 12 dioxin-like PCBs (dl-PCBs) and 7 PCB indicators (PCBi) were analyzed as follow:

PAHs (16 PAHs) : naphthalene (N), acenaphthylene (Acy), acenaphtene (Acn), fluorene (F), anthracene (An), fluoranthene (Fl), benzo[*a*]anthracene (BaA), chrysene (Chr), benzo[*a*]pyrene (BaP), phenanthrene (Pn), benzo[*b*]fluoranthene (BbF), benzo[*k*]fluoranthene (BkF), benzo[*ghi*]perylene (Bghi), dibenzo[*a,h*]anthracene (DhA), indeno[*1,2,3-cd*]pyrene (IP), pyrene (Py).

Me-PAHs (18 Me-PAHs) : 1-methylnaphthalene (1M-Na), 2-methylnaphthalene (2M-Na), 1,2-dimethylnaphthalene (1,2DM-Na), 1,6-dimethylnaphthalene (1,6DM-Na), 2,6-dimethylnaphthalene (2,6DM-Na), 1-methylphenanthrene (1M-Pn), 2-methylphenanthrene (2M-Pn), 3-methylphenanthrene (3M-Pn), 9-methylphenanthrene (9M-Pn), 2-methylantracene (2M-An), 1,7-dimethylphenanthrene (1,7DM-Pn), retene, 1-methylfluoranthene (1M-Fl), 3-methylfluoranthene (3M-Fl), 1-methylpyrene (1M-Py), 4-methylpyrene (4M-Py), 3-methylchrysene (3M-Ch), 6-methylchrysene (6M-Ch).

PCBs No. (28 PCBs): 8, 18, 28, 44, 52, 66, 77, 81, 101, 105, 114, 118, 123, 126, 128, 138, 153, 156, 157, 167, 169, 170, 180, 187, 189, 195, 206 and 209.

Mercury: Total mercury.

PAHs, Me-PAHs and PCBs determination: Sieved powder samples were spiked with deuterated internal standards A-d10, N-d10, Per-d12, Phe-d10 and Pyr-d10 for PAHs and Me-PAHs analyses and with TCN, PCB112 and OCN for PCBs analysis. After a delay of equilibration, samples were then extracted using an accelerated solvent extraction (ASE 200, Dionex Corp., USA). The extraction conditions were: heat 5 min, temperature 100°C, static solvent extraction time 2 min with 5 static cycles, pressure 138 bars, purge 3 min and 35 % flush according to the method developed by Tronczynski et al. (2005). High purity nitrogen was employed as the purge gas.

Molecular sulfur was removed from the extract by addition of activated metallic copper (Blumer, 1997) to the extracts. The extracts were concentrated, solvent-exchanged to hexane, and then purified and fractioned by liquid chromatography on a silica column to eliminate organic interferences (Jeanneau, 2007). PCBs were recovered by elution with hexane (Fraction 1), and aromatic hydrocarbons (PAHs and Me-PAHs) were recovered with hexane/dichloromethane mixtures (3/1 v/v) followed by hexane/dichloromethane mixture (1/1 v/v) (Fraction 2). Each

fraction was concentrated using a rotary evaporator followed by a slight stream of nitrogen to a final volume of 200 μ L.

Targeted compounds were analyzed using a Varian 3900 gas chromatograph (GC) equipped with a deactivated fused-silica guard column (5 m, 0.25 mm i.d.) and a fused-silica low polarity silylene ZB-XLB capillary column (60 m length, 0.25 mm i.d., 0.25 μ m film thickness, Phenomenex) and coupled with a Varian Ion Trap Saturn 2000 Mass Spectrometer (MS). The carrier gas was helium held at a constant flow rate of 1 mL/min. Each group of organic compounds was analyzed separately. Temperature of the GC oven was programmed as follow: from 70 °C (1 min) to 170 °C at 10 °C/min, then to 230 °C at 4 °C/min, and then to 300 °C at 3 °C/min (13 min) for HAPs and Me-HAPs and from 80 °C (1 min) to 170 °C at 10 °C/min, then to 230 °C at 4 °C/min, and then to 300 °C at 3 °C/min (19 min) for PCBs. Samples were injected in the splitless mode at 280 °C and the injector was purged with helium after 1 min. The transfer line and the ion trap were held at 280 °C and 220 °C, respectively. Identification of each compound was done on the basis of the retention time and the mass spectrum from chromatograph of standard solutions acquired in full scan mode. Quantification was then performed in the single ion storage (SIS) mode for better selectivity. Response factors were determined relative to the internal standards previously chosen to better fit to the properties of each compounds. No significant amount of analytes was detected in procedural blanks. Thus, the data did not need the blank corrected. The recovery rates of the analytical procedure for extraction of PAHs and PCBs have been previously studied and validated by Tronczynski et al. (2005). The procedure have been slightly modified for fractionation on a silica column step. The recovery rates have been studied and validated in the laboratory by spiking the targeted compounds into the natural sediment. The recovery rates obtained were more than 79% for PAHs, more than 73% for Me-PAHs and more than 75% for PCBs in algae and sediment samples. The limit of quantification of individual PCBs, PAHs and Me-PAHs were 0.8 μ g/kg dw (except for PCB180 which was 2 μ g/kg dw), 0.1-2 μ g/kg dw and 0.2-0.4 μ g/kg dw, respectively.

Mercury analyses: Total mercury analysis was carried out with an Advanced Mercury Analyser (Altec, AMA 254) on powder samples without treatment at least three replicates for each sample. For a known amount of dried sample (10-40 mg), the metal was evaporated by progressive heating up to 800 °C under oxygen atmosphere and finally amalgamated on a gold-sand trap. Afterwards,

the amalgamator was heated to liberate the collected mercury, which was finally measured by atomic absorption spectrophotometry. Certified reference materials (MESS-3 and DORM-3, National Research Council Canada) were used to assess the accuracy and precision of the analyses. Mean recovery for total mercury was more than 86 % and the limit of quantification was 5 µg/kg dried weight (dw).

RESULTS AND DISCUSSIONS

Contamination levels in sediment: The mean contaminant levels of total mercury, total PAHs (Σ_{16} PAHs), total Me-PAHs (Σ_{18} Me-PAHs) and total PCBs (Σ_{28} PCBs) measured in surface sediment were at 22 ± 22 µg/kg dw with the range of 5-95 (n=15), 197 ± 240 with the range of 2-636 (n=15), 11 ± 8 with the range of 3-31 (n=15) and 58 ± 81 µg/kg dw with the range of 4-333 µg/kg dw (n=15) respectively. Mean \pm S.D (standard deviation) of individual concentration of targeted compounds were presented in Table 1. Individual concentration of PAH and Me-PAH detected in Soumbédioune station were one order of magnitude lower compared to previous study reported by Ndiaye et al. (2012) for the same station. Individual concentration of PCB were also detected at lower concentration. However, there is no data on organic contamination reported for two other sites selected in this study. Among these three sampling sites, Yarakh was the less contaminated by PAHs and PCBs. Our results showed that the distribution of PAH, Me-PAH, PCB and mercury was not homogenous. The concentration varied strongly from one sampling point or site to another (Table 1). Despite a large range between the minimum and maximum for contaminant levels, Σ_{16} PAHs showed a relatively high contamination level, around 9 times higher than mercury concentration, 3 times higher than Σ_{28} PCBs concentration and 18 times higher than Σ_{18} Me-PAHs concentration.

The PAHs ranged between 2 and 636 µg/kg dw and the highest PAHs concentrations were obtained in sediments collected at Rufisque station and sampled from a zone close to the Refining African society and cement factory. The mean concentration of Σ_{16} PAHs was 396 ± 326 µg/kg dw (Figure 2). Our results of PAHs was at least an order of magnitude lower, compared to concentrations measured in superficial sediment collected in the Soumbédioune station (Hann Bay) during the dry season (Ndiaye et al., 2012). Abdolapur Monikh et al. (2014) have performed the study on PAHs contamination in Persian Gulf. The authors have reported the concentrations of total PAHs in sediment varied from 310.76 µg/kg dw at Boshehr province to 1106 µg/kg dw at Tangestan estuary; thus two order of magnitude higher than our results obtained from Dakar

coastal. Ndiaye et al. (2012) reported a concentration level of 19 $\mu\text{g}/\text{kg dw}$ for PCBs indicator in a sediment sample from Hann Bay. The levels of PCBs indicator ($\Sigma_7\text{PCBs}$) were similar in Rufisque station and lower than literature data for the two other stations (Figure 2). Similarly, surface sediments from two Senegalese stations (100 – 150 km South from Dakar) exhibited $\Sigma_7\text{PCB}$ concentrations ranging between 0.3 and 19.1 $\mu\text{g}/\text{kg dw}$ (Bodin et al., 2011). Sediments from Yarakh and Soumbédioune displayed levels of POPs lower than those from Rufisque station (Figure 2). Yarakh station seems to be the less contaminated compared to other ones. The location of Rufisque station near the Refining African society and cement factory could explain the highest level of organic pollutants found at this station and more particularly the PAH compounds. Mercury concentrations ranged between 5 and 95 $\mu\text{g}/\text{kg dw}$ and sediments from Rufisque station were the less enriched in this element. To our knowledge, no data for mercury concentration in sediments from this area or along the Senegalese coast were reported.

Table 1: Means \pm S.D of individual concentration of targeted compounds (16PAHs, 18Me-PAHs, 28PCBs and total mercury) analyzed in sediment and marine organisms collected from three sampling stations in the Dakar coastal area: invertebrate species (soft body) and fish species (muscle). *nd* = level not detected (<LOQ) and *na* = not analysis. ($n \geq 3$ replicate).

Compound	Sediment	<i>Ulvalactula</i> (green algae)	<i>Perna perna</i> (mussel, mollusks)	<i>Penaeus kerathurus</i> (shrimp, crustaceans)	<i>Sardinella aurita</i> (sardine, pelagic fish)	<i>Mugilcephalus</i> (mullet, benthic-pelagic fish)	<i>Sarotheroron melanotheron</i> (tilapia, benthic-pelagic fish)	<i>Soleasenegalensis</i> (sole, benthic fish)
Soumbédioune								
PAHs ($\mu\text{g}/\text{kg dw}$)								
N	3.4 \pm 6.3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Acy	6.7 \pm 8.9	0.5 \pm 0.0	1.9 \pm 1.4	1.9 \pm 0.3	1.3	0.5 \pm 0.3	6.5 \pm 0.9	0.8 \pm 0.1

Acn	nd		nd	nd	nd	nd	nd	nd
F	4.2±5.7	0.4±0.2	1.5±2.0	0.3±0.2	0.9	nd	1.1±0.3	nd
An	25.7±35.1		1.4±2.8	0.2±0.4	nd	nd	1.5±1.8	nd
Fl	3.2±7.1	0.5±0.7	3.7±5.7	nd	nd	nd	8.9±8.4	nd
BaA	63.3±86.8	0.3±0.0	22.7±9.2	35.2±6.1	24.2	9.6±3.5	4.7±2.2	6.3±9.6
Chr	6.4±12.9	0.3±0.0	5.4±4.7	4.3±0.7	2.9	1.2±0.4	6.9±3.1	1.3±0.9
BaP	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Pn	1.6±3.6	1.8±0.6	3.1±1.7	0.2±0.2	nd	nd	5.4±5.1	nd
BbF	33.7±35.5	0.3±0.0	11.6±16.7	nd	nd	nd	32.2±28.1	0.3±0.2
BkF	24.5±33.4	0.3±0.0	1.5±3.3	nd	nd	nd	11.8±15.0	0.3±0.2
Bghi	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
DhA	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
IP	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Py	4.5±5.5	0.9±0.6	5.6±7.4	1.6±0.2	0.7	0.3±0.1	13.1±4.2	0.6±0.3
Me-PAHs (µg/kg dw)								
1M-Na	2.9±2.6	3.9±3.6	6.9±6.3	17.6±9.1	nd	4.0±5.7	28.2±31.9	nd
2M-Na	1.0±1.1	2.8±3.0	3.1±5.2	4.1±7.7	nd	0.1±0.1	38.4±30.7	nd
1,2-DM-Na	2.4±1.7	4.4±4.0	9.6±3.5	17.6±8.7	nd	6.2±1.9	27.5±31.0	9.5±1.2
1,6-DM-Na	2.7±2.0	5.8±6.8	7.1±11.4	8.4±17.3	nd	0.7±0.3	84.7±69.4	0.6±0.3
2,6DM-Na	0.9±1.0	1.2±0.0	1.6±1.1	0.6±1.0	nd	0.4±0.5	4.7±2.2	0.7±0.4
1M-Pn	nd	0.7±0.2	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2M-Pn	1.2±2.7	1.8±0.5	nd	nd	nd	nd	nd	nd
3M-Pn	nd	2.1±0.4	nd	nd	nd	nd	nd	nd
9M-	1.4±3.1	1.3±0.6	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Pn+2Me-An								
1,7DM-Pn	1.7±3.8	0.9±1.3	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Retene	0.8±1.8	nd	11.9±22.7	1.6±1.0	nd	nd	nd	nd
1M-Fl	nd	nd	1.2±2.7	nd	nd	nd	nd	nd
3M-Fl	nd	nd	5.5±12.3	nd	nd	nd	nd	nd
1M-Py	nd	nd	6.6±14.7	nd	nd	nd	nd	nd
4M-Py	nd	nd	3.6±8.2	nd	nd	nd	nd	nd
3M-Ch	nd	nd	3.9±8.6	nd	nd	nd	nd	nd
6M-Ch	nd	nd	6.1±13.5	nd	nd	nd	nd	nd
PCBs n° (µg/kg dw)								
8	8.1±5.3	4.1±1.2	nd	nd	nd	nd	nd	nd
18	3.4±5.7	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
28	0.8±1.2	0.9±0.2	nd	nd	nd	nd	5.5±5.5	nd
44	nd	nd	0.9±1.1	nd	nd	nd	1.6±2.7	0.9±1.0
52	nd	nd	7.4±7.6	nd	nd	nd	2.0±3.5	nd
66	6.4±14.1	nd	4.1±6.1	nd	nd	nd	nd	2.3±4.0
77	nd	nd	42.4±94.8	nd	nd	nd	nd	15.0±18.2
81	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
101	nd	nd	14.4±21.9	nd	nd	4.7±6.7	12.5±12.4	0.8±1.4
105	2.7±3.5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
114	nd	nd	88.3±197.4	nd	nd	13.3±5.4	44.3±76.7	nd
118	1.2±2.4	nd	5.6±8.0	nd	nd	nd	nd	nd
123	2.5±5.3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
126	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
128	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
138	0.8±1.5	4.0±1.1	54.4±116.8	nd	nd	35.3±42.8	nd	8.8±7.6
153	1.4±0.6	nd	42.1±61.1	nd	nd	27.0±19.3	7.7±13.4	1.0±8.5
156	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
157	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
167	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
169	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
170	nd	nd	23.7±37.5	nd	nd	2.4±3.3	nd	4.5±4.1
180	nd	nd	5.7±5.5	nd	nd	24.3±19.3	nd	nd
187	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
189	2.7±6.0	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
195	2.3±4.2	4.1±0.7	nd	nd	nd	2.9±4.1	17.0±29.5	3.2±5.4
206	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
209	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Total mercury (µg/kg dw)								
Mecury	32.0±35.0	36.0±15.0	58.8±11.3	37.6±9.2	128.0±0.0	58.7±17.1	119.7±9.3	393.7±55.5

Continue table 1

Compound	Sediment	<i>Ulvalactula</i> (green algae)	<i>Perna perna</i> (mussel, mollusks)	<i>Penaeus kerathurus</i> (shrimp, crustaceans)	<i>Sardinella aurita</i> (sardine, pelagicfish)	<i>Mugilcephalus</i> (mullet, benthopelagic fish)	<i>Sarotheroron melanothonon</i> (tilapia, benthopelagic fish)	<i>Soleasenegalensis</i> (sole, benthic fish)
Rufisque								
PAHs (µg/kg dw)								
N	2.8±1.7	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
Acy	10.9±8.8	0.4±0.1	0.7±0.1	na	3.7±1.6	0.4±0.4	na	1.3±0.0
Acn	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
F	7.6±6.1	0.3±0.1	0.3±0.2	na	1.9±2.2	0.3±0.1	na	0.1±0.0
An	76.2±76.3	0.1±0.2	2.1±0.1	na	9.6±6.2	0.5±0.7	na	0.7±1.1
Fl	1.4±1.9	0.4±0.7	0.9±0.6	na	3.1±5.3	nd	na	nd
BaA	117.0±95.0	7.2±2.2	13.3±1.3	na	68.0±30.2	11.3±1.2	na	0.8±0.2
Chr	0.1±0.2	0.9±0.3	1.6±0.4	na	8.3±3.7	1.4±0.1	na	0.8±0.2
BaP	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
Pn	83.3±186.3	2.2±0.6	2.9±1.5	na	7.6±7.6	1.5±1.5	na	nd

BbF	68.9±46.3	nd	nd	na	nd	nd	na	0.7±0.0
BkF	47.9±32.2	1.0±1.8	nd	na	nd	nd	na	0.7±0.0
Bghi	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
DhA	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
IP	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
Py	3.6±3.1	1.0±0.7	0.4±0.1	na	5.1±5.7	0.6±0.2	na	1.1±0.2
Me-PAHs (µg/kg dw)								
1M-Na	2.2±1.3	7.2±7.5	8.6±0.8	na	35.9±43.3	7.5±0.4	na	10.8±6.9
2M-Na	0.1±0.1	2.9±2.5	0.4±0.2	na	12.9±12.7	0.4±0.1	na	4.3±6.6
1,2-DM-Na	2.4±1.4	35.4±5.5	8.0±0.9	na	33.8±40.3	7.2±0.5	na	5.8±7.0
1,6-DM-Na	0.2±0.2	6.8±5.6	2.1±0.5	na	26.6±32.5	0.5±0.1	na	9.2±15.3
2,6DM-Na	nd	2.5±2.2	1.4±0.3	na	5.4±0.3	0.8±0.3	na	0.6±0.7
1M-Pn	nd	nd	nd	na	3.6±5.0	nd	na	nd
2M-Pn	nd	nd	nd	na	5.0±7.1	nd	na	nd
3M-Pn	nd	nd	nd	na	6.8±9.6	nd	na	nd
9M-Pn	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
Pn+2Me-An	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
Retene	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
1,7DM-Pn	0.6±1.4	0.2±0.4	nd	na	nd	nd	na	nd
1M-Fl	0.1±0.1	nd	nd	na	2.4±3.4	nd	na	nd
3M-Fl	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
1M-Py	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
4M-Py	0.1±0.1	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
3M-Ch	nd	nd	nd	na	nd	0.7±1.2	na	nd
6M-Ch	nd	nd	nd	na	nd	0.4±0.6	na	nd
PCBs N° (µg/kg dw)								
8	15.8±9.3	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
18	1.5±2.9	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
28	2.0±2.3	nd	nd	na	nd	nd	na	0.8±1.1
44	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
52	nd	nd	nd	na	nd	0.9±0.9	na	nd
66	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
77	nd	4.4±6.2	nd	na	nd	nd	na	nd
81	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
101	5.3±6.0	nd	nd	na	nd	1.0±0.9	na	1.5±1.9
105	5.5±9.2	nd	nd	na	nd	1.1±1.9	na	nd
114	3.4±5.5	0.8±0.6	6.8±9.6	na	nd	nd	na	nd
118	3.2±3.0	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
123	2.0±1.3	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
126	4.9±8.2	nd	6.7±9.5	na	nd	nd	na	nd
128	1.0±2.1	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
138	1.0±2.2	nd	nd	na	nd	3.4±0.7	na	10.8±16.3
153	0.2±0.3	nd	1.5±2.1	na	nd	3.4±1.2	na	3.8±5.4
156	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
157	2.4±5.4	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
167	31.0±69.3	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
169	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
170	1.0±1.4	nd	nd	na	nd	nd	na	1.7±2.6
180	6.3±11.6	nd	nd	na	nd	0.9±0.8	na	12.1±24.1
187	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
189	32.8±42.4	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
195	7.6±11.0	nd	nd	na	13.7±23.8	nd	na	0.8±1.6
206	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
209	nd	nd	nd	na	nd	nd	na	nd
Total mercury (µg/kg dw)								
Mercury	10.0±5.0	5.6±1.4	39.0±8.0	na	49.7±9.3	17.0±1.0	na	38.7±16.8

Continue table 1

Compound	Sediment	<i>Ulvalactula</i> (green algae)	<i>Perna perna</i> (mussel, mollusks)	<i>Penaeus kerathurus</i> (shrimp, crustaceans)	<i>Sardinella aurita</i> (sardine, pelagic fish)	<i>Mugilcephalus</i> (mullet, benthopelagic fish)	<i>Sarotheroron melanotheron</i> (tilapia, benthopelagic fish)	<i>Soleasenegalensis</i> (sole, benthic fish)
Yarakh								
PAHs (µg/kg dw)								
N	nd	na	na	na	na	na	na	na
Acy	0.2±0.0	na	na	na	na	na	na	na
Acn	1.2±1.8	na	na	na	na	na	na	na
F	nd	na	na	na	na	na	na	na
An	nd	na	na	na	na	na	na	na
Fl	5.38±11.7	na	na	na	na	na	na	na
BaA	1.3±2.6	na	na	na	na	na	na	na
Chr	1.7±2.5	na	na	na	na	na	na	na
BaP	nd	na	na	na	na	na	na	na
Pn	0.9±0.8	na	na	na	na	na	na	na
BbF	0.7±1.0	na	na	na	na	na	na	na
BkF	nd	na	na	na	na	na	na	na
Bghi	nd	na	na	na	na	na	na	na
DhA	nd	na	na	na	na	na	na	na
IP	nd	na	na	na	na	na	na	na
Py	6.8±14.2	na	na	na	na	na	na	na
Me-PAHs (µg/kg dw)								
1M-Na	1.7±1.4	na	na	na	na	na	na	na
2M-Na	0.9±1.4	na	na	na	na	na	na	na
1,2-DM-Na	1.7±1.1	na	na	na	na	na	na	na
1,6-DM-Na	3.1±2.7	na	na	na	na	na	na	na
2,6DM-Na	0.7±0.9	na	na	na	na	na	na	na
1M-Pn	0.6±1.2	na	na	na	na	na	na	na
2M-Pn	0.2±0.2	na	na	na	na	na	na	na
3M-Pn	0.4±0.6	na	na	na	na	na	na	na
9M-Pn+2Me-An	1.7±1.6	na	na	na	na	na	na	na
Retene	nd	na	na	na	na	na	na	na
1,7DM-Pn	nd	na	na	na	na	na	na	na
1M-Fl	nd	na	na	na	na	na	na	na
3M-Fl	nd	na	na	na	na	na	na	na
1M-Py	1.4±3.1	na	na	na	na	na	na	na
4M-Py	0.3±1.0	na	na	na	na	na	na	na
3M-Ch	nd	na	na	na	na	na	na	na
6M-Ch	nd	na	na	na	na	na	na	na
PCBs n° (µg/kg dw)								
8	2.4±5.4	na	na	na	na	na	na	na
18	0.8±0.5	na	na	na	na	na	na	na
28	nd	na	na	na	na	na	na	na
44	nd	na	na	na	na	na	na	na
52	nd	na	na	na	na	na	na	na
66	nd	na	na	na	na	na	na	na
77	3.2±3.6	na	na	na	na	na	na	na
81	nd	na	na	na	na	na	na	na
101	1.6±1.8	na	na	na	na	na	na	na
105	nd	na	na	na	na	na	na	na
114	nd	na	na	na	na	na	na	na
118	1.0±2.2	na	na	na	na	na	na	na
123	nd	na	na	na	na	na	na	na
126	nd	na	na	na	na	na	na	na
128	nd	na	na	na	na	na	na	na
138	0.9±0.9	na	na	na	na	na	na	na
153	1.5±1.3	na	na	na	na	na	na	na
156	nd	na	na	na	na	na	na	na
157	nd	na	na	na	na	na	na	na
167	nd	na	na	na	na	na	na	na
169	nd	na	na	na	na	na	na	na
170	0.8±0.7	na	na	na	na	na	na	na
180	nd	na	na	na	na	na	na	na
187	nd	na	na	na	na	na	na	na
189	nd	na	na	na	na	na	na	na
195	nd	na	na	na	na	na	na	na
206	nd	na	na	na	na	na	na	na
209	nd	na	na	na	na	na	na	na
Total mercury (µg/kg dw)								
Mercury	26.0±11.0	40.7±5.6	49.0±0.0	31.0±0.0	71.6±23.3	21.7±6.0	71.3±28.0	15.7±3.0

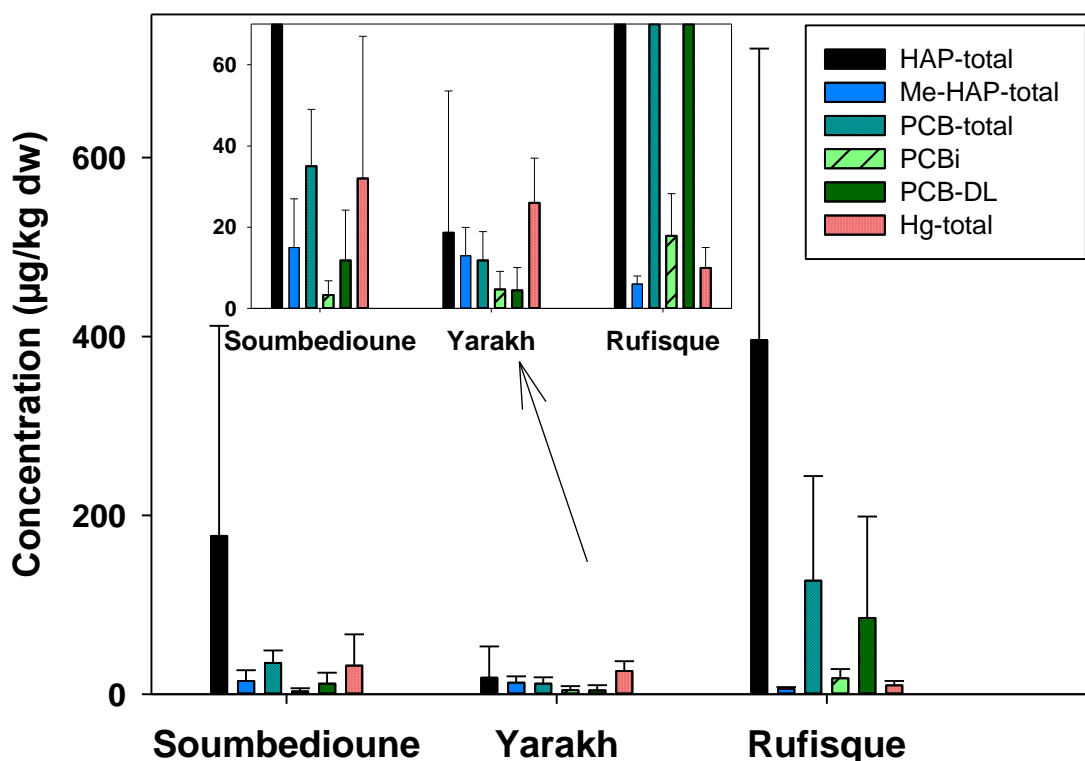


Figure 2: Mean (\pm S.D.) of total PAH, Me-PAH, PCB and mercury concentrations ($\mu\text{g}/\text{kg dw}$) obtained in surface sediments collected at Soumbédioune, Yarakh and Rufisque stations. Levels of PCB indicators (PCBi) and dioxin-like PCBs (PCB-DL) are also indicated. n =five replicates.

Source appointments: In general, the contamination levels of pollutions are strongly conditioned by their origin. Numerous methods could be used to identify the origin of PAHs contaminations (De Lucas 2005; Gogou et al., 1996; Simo et al., 1997; Yunker et al., 2002; Yunker and Macdonald, 1995; Dickhut et al., 2000; Zhang et al., 2005). However, to our knowledge, there is no specific method to identify the origin of PCBs and mercury. In this work, PAHs origin for the sediment samples was characterized by using the ratio of low molecular weight and high molecular weight (LMW/HMW, the sum of (2-3) / (4-6) aromatic rings). This ratios allow to distinguish the petrogenic (LMW/HMW > 1) from pyrolytic origins (LMW/HMW < 1) (De Lucas, 2005). Our results on LMW/HMW ratios revealed values less than 1, thus suggesting that combustion should be the dominant source of PAHs in the studied areas. In addition, ratios of molecular masses 178 and 228 are commonly used to distinguish combustion from petroleum sources. For the mass 178, $\text{Ant}/(\text{Ant} + \text{Phe}) < 0.10$ suggests pollution of petroleum origin, while a ratio > 0.10 indicates a dominance of combustion (Budzinski et al., 1997; Yunker et al., 2002; Liu

et al., 2008). For the mass 228, BaA/ (BaA + Ch) suggests that a ratio <0.20 indicates petroleum inputs, a ratio between 0.20 and 0.35 indicates a mixed sources (either petroleum or combustion), and a ratio >0.35 indicates combustion sources (Yunker et al., 2002). Our results obtained from isomers ratios of molecular masses 178 and 228 reinforce the combustion process as the major source of PAHs contamination in these three sampling sites. Moreover, such high Ant/(Ant+Phe) and BaA/(BaA+Ch) ratios involve high proportions of anthracene and benz[a]anthracene that are both among the most photoreactive PAHs (Gogou et al., 1996). Considering a combustion/transport/deposition process, it can be admitted that no significant photolysis degradation occurred in this case study. These ratios can also imply close contamination sources that can be attributed to the nearby industrial activities or vehicle emissions of Dakar city.

However, there is no natural source of PCBs. Atmospheric depositions, runoff from the land, wood burning and food chain transport have been regarded as the major sources of PCBs in aquatic environment (Totten et al., 2006). PCBs are mainly produced by pyrogenic process due to the combustion of organic matter (Pereira et al., 1980; Kjeller and Rappe, 1995; Rose and Rippey, 2002; Rose et al., 2004; Pandelova et al., 2009). PCBs detected in Dakar coastal area could be originated from unintentionally atmospheric deposition, released from equipment, generators, ships, vehicles and trucks exhaust in the surrounding zone but the their origin could not be determined.

Similarly, the specific origin of mercury could not identified. It is a global pollutant that is ubiquitous in the environment from both natural and anthropogenic sources reaching the ocean through river inputs and atmospheric deposition (Fitzgerald et al., 2007). However, given their relatively low concentration of mercury detected, the domestic and industrial wastes discharged directly into Dakar Bay have not yet produced environmental mercury contamination in this coastal zone. Contrarily, two other toxic metals such as cadmium and lead present at high concentrations level in sediment of Dakar coastal (Diop et al., 2012).

Ecotoxicological risk: For the ecotoxicological risk assessment, concentrations of total PCBs or Σ_{28} PCBs, sum of 12 PAHs or Σ_{12} PAHs (Aen, Ayl, An, F, N, Pn, BaA, BaP, Ch, DhA, Fl, Py) and total mercury were calculated. The mean concentrations of Σ_{12} PAHs were 279 (6 - 507), 119 (2 - 298) and 18 (1.2 - 80) $\mu\text{g}/\text{kg dw}$ for Rufisque, Soumbédioune and Yarakh respectively. While Σ_{28} PCBs mean concentrations detected in the sediments from Rufisque, Soumbédioune and Yarakh were 127 (57 - 332), 34 (16 - 47) and 12 (4 - 22) $\mu\text{g}/\text{kg dw}$ respectively. Total mercury

concentrations did not exceed 95 $\mu\text{g}/\text{kg dw}$. Total mercury, $\Sigma_{12}\text{PAHs}$ and $\Sigma_{28}\text{PCBs}$ concentrations were compared to Sediment Quality Guidelines (SQGs) which provide a valuable tool to evaluate the potential biological adverse effect on aquatic organism caused by contaminated sediments (Long et al. 1995). The ERL/ERM (Effect range low/Effect range median) developed by Long and Morgan (1990) and the TEL/PEL (threshold effect level/Probable effect level) developed by Macdonald et al., (1996) are two based approaches which can be used to assess the ecological toxicity of total PAHs and PCBs concentrations ($\Sigma_{12}\text{PAHs}$ and $\Sigma_{28}\text{PCBs}$) in sediments collected from Dakar coastal in Senegal. According to SQGs, the classification of biological adverse effects are rarely expected ($<\text{ERL/TEL}$) with minimal-effects range, occasionally ($\geq\text{ERL/TEL}$ and $<\text{ERM/PEL}$) with possible-effects range, and frequently ($\geq\text{ERM/PEL}$) with a probable-effects range (Long et al., 1995; Cardellicchio et al., 2007). TEL-PEL values were 655-6676 and 22-189 $\mu\text{g}/\text{kg dw}$ for the ΣPAHs and ΣPCB , respectively (Macdonald et al., 1996). While ERL-ERM were 4022-44792, 23-180 and 150-710 $\mu\text{g}/\text{kg dw}$ for the ΣPAHs , ΣPCBs and mercury, respectively (Long and Morgan, 1990). Our results showed that Dakar coastal sediments have rarely to occasionally biological adverse effects for mercury, PCBs and PAHs in Dakar aquatic ecosystems. Overall, even if there is a strong influence of urban and industrial activities in this coastal zone, sediment contamination by PAHs, Me-PAHs, PCBs, and mercury were detected at moderate levels. This is probably due to the tide which is responsible to the rapid renewal of sea water, therefore sedimentation processes are not preferred. Indeed, the coastline around Dakar is called microtidal, the tidal range which varies between 0.5 m (neap period) and 1.6 m (during spring tides) (Ruffman et al., 1977). This suggests that urban and industrial waste discharged into Dakar coastal zones could be diluted or transported rapidly seaward.

Concentration in marine organism species: Due to their high toxicity, persistency and bioaccumulation capacities, the concentration of these contaminants have been also studied in marine organism in order to evaluate the quality of edible species.

Contaminant levels: Mean \pm S.D of individual concentration of PAH, Me-PAH and PCB and mercury determined in biota samples from all sampling stations of the Dakar coastal area are shown in Table 1. Comparisons of targeted compounds were significantly different between the stations and between species. Considering all organisms, the mean concentration of mercury varies between 5 and 442 $\mu\text{g}/\text{kg dw}$. Generally, muscle tissues of fishes exhibited the highest concentrations of Hg compared to macroalgae and invertebrate species. The highest levels of mercury were detected in *Soleasenegalensis* from Soumbédioune station (Figure 3). Mercury

levels measured in *Sardinella aurita* were in the same order of magnitude compared to the mean concentration values reported for the same species collected along the coast of Mauritania in a previous study at $90 \pm 80 \mu\text{g/kg dw}$ (Romeo et al., 1999).

For PCBs concentrations, the highest level was determined in *Perna perna* species (up to $1228 \mu\text{g/kg dw}$) and the lowest level was found in *Penaeus kerathurus* species. At the base of the food chain, *Ulvalactula* species displayed low PCB concentrations ($7 \pm 6 \mu\text{g/kg dw}$) while fish species exhibited mean values ranging between $10 \pm 20 \mu\text{g/kg dw}$ for *Sardinella aurita* and $95 \pm 32 \mu\text{g/kg dw}$ for *Sarotheroron melanotheron*. Except for *Perna perna*, *Penaeus kerathurus* and *Sardinella aurita*, PCB concentrations were in the same range between organisms and sediments while mercury concentrations were higher in biota than sediment samples. Whereas, PAH concentrations determined in edible tissues were lower than sediment samples. This may be due to a rapid transformation of PAHs into more hydrophilic metabolites. Therefore, marine organisms exposed to these compounds indicate only trace quantities of PAHs in their tissues (Vuorinen et al., 2006). The concentration level in marine organisms varied from species to species (Table 1 and Figure 3). This may be translated by behavioral patterns of organisms such as feeding habit, the rate of movement and reproduction status (Vuorinen et al., 2006).

The highest mean levels of PAHs and Me-PAHs (92 ± 54 and $183 \pm 39 \mu\text{g/kg dw}$ respectively) were detected in the tilapia species, therefore the present study supports the idea to use this species as a sentinel in order to monitor chemical pollutants (Ndiaye et al., 2012; Harrison and Whitfield, 2006). Our results showed moderate accumulations of PAHs and Me-PAHs in *Mugilcephalus* and *Soleasenegalensis*. For these two families of organic compounds, similar concentrations were determined in biota samples collected from Soumbédioune and Rufisque stations (Figure 3). Rose et al. (2012) have reported the concentration of ΣPAHs in *Tilapia guineensis* obtained from Lagos Lagoon of Nigeria at the same order level of $62.24 \mu\text{g/kg dw}$. This result was in the same order of magnitude as the concentration of ΣPAHs in *Tilapia* obtained in our study. Compared to other species of fish, *Mullus barbatus* and *Serranus cabrilla* collected from Tarragona of Mediterranean accumulated ΣPAHs at the levels of 164.9 and $62.9 \mu\text{g/kg dw}$ respectively (Escartin and Porte, 1999). Amodio-Cocchieri et al., (1993) reported the concentration of ΣPAHs in *Engralis enchrasicholus* collected from the Bay of Naples of Italy at the level of $965 \mu\text{g/kg dw}$. The highest concentration in fish have reported by McGill et al. (1987) in *Limanda limanda* collected from the British North Sea at the level of $2345 \mu\text{g/kg dw}$. This concentration was much higher than ΣPAHs concentration detected in four species selected in our study. More recently, Abdolahpur

Monikh et al. (2014) have also reported the concentration of PAHs in benthic, benthopelagic and pelagic fish species from the Persian Gulf much higher than our results.

Σ_{16} PAHs concentrations detected in targeted species were lower compared to concentrations in sediment. However, Σ_{16} PAHs concentrations were detected in all marine species selected in this work. Σ Me-PAHs was present at low levels in the sediment samples (Figure 2). However, their concentrations were detected at higher levels in most of marine species (Table 1; Figure 3). The results clearly showed that all species does not have the same affinity to each type of contaminant.

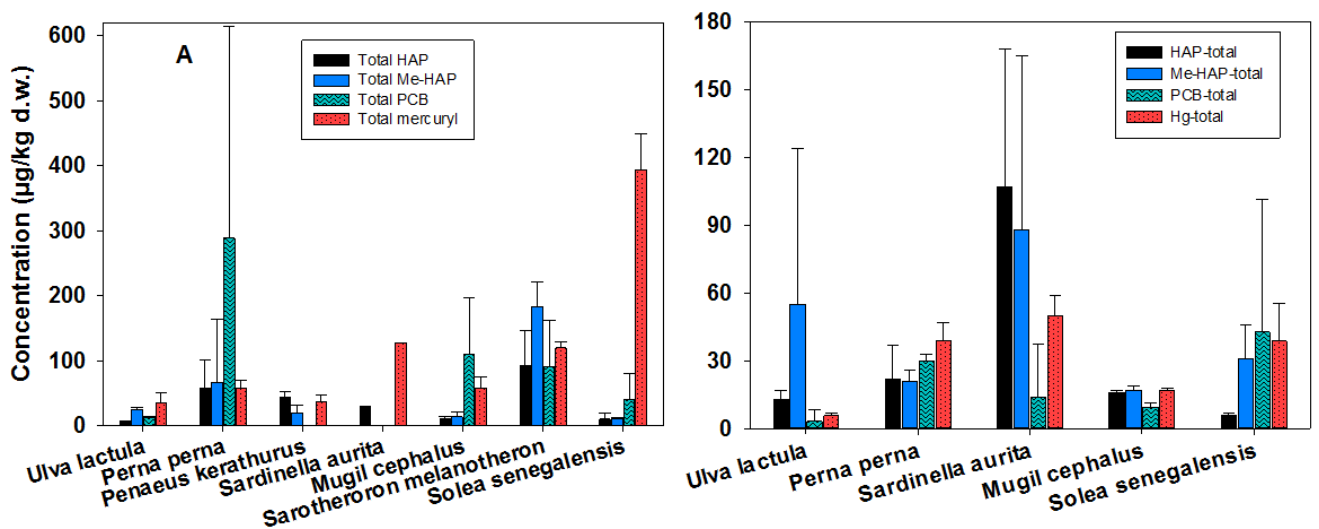


Figure 3: Mean (\pm S.D.) concentrations of total PCBs, PAHs, Me-PAHs and Hg in biota samples: A) Soumbédioune station and B) Rufisque station.

Generally, we observed the bioaccumulation of these contaminants in marine species. However, the bioaccumulation level varies strongly from one species to another (Table 1; Figure 3). Each species accumulates at least two types of pollutants. Among targeted species, both *Sarotheroron melanotheron* and *Perna perna* accumulated all type of contaminants (PAHs, Me-PAHs, PCBs and mercury). The contamination level of PCBs in *Sarinella aurita* and *Penaeus Kerathurus* were under the detection limits (Figure 3). For Yarakh station, all targeted compounds were quantified

in the sediments. However, only mercury was quantified in marine species. For marine species collected in Yarakh site, high levels of mercury were detected in *Sardinella aurita* ($71.6 \pm 23.3 \mu\text{g/kg dw}$) and *Sarotheroron melanotheon* ($71.3 \pm 28.0 \mu\text{g/kg dw}$). *Ulvalactula*, *Mugilcephalus*, *Perna perna*, *Penaeus Kerathurus* and *Solea senegalensis* species accumulated levels of total mercury at 40.7 ± 5.6 , 21.7 ± 6.0 , 49.0 , 31.0 , $15.7 \pm 3.0 \mu\text{g/kg dw}$ respectively.

Edible marine organism quality: To estimate the potential public health risks, the European Union legislation has established maximum allowed levels in aquatic products for different toxic compounds including some PAHs, PCBs and mercury (Table 2). PAHs, PCBs and mercury concentrations obtained in dry weight ($\mu\text{g/kg dw}$) were converted into $\mu\text{g/kg wet weight (w.w.)}$ in order to compare with the guideline values. According to the weighed mass before and after drying, the following factors were applied to obtain the concentrations in wet weight: 0.23 for muscle of *Mugilcephalus*, *Sarotherodon melanotheon*, *Solea senegalensis* and edible tissue of *Perna perna*, 0.30 for muscle of *Sardinella aurita* and 0.26 for *Penaeus kerathurus*.

Two limit values are listed for mercury depending on the type of mussel and fish (Table 2). For all species, mercury and PCBs levels do not show concentrations exceeding limits fixed by the European Union. In addition, the levels of these compounds in the investigated area were low compared with these threshold values. Concerning PAHs, the proposed limit values are for smoked products of fish and crustacean species because recently the European legislation (Official Journal of the European Union, 2011) abrogated the limit of PAHs in these fresh seafood because it has been shown that PAHs are quickly metabolized in these species (Storelli et al., 2013). In our study, limit level ($30 \mu\text{g/kg wet weight}$) was exceeded only in a *Sardinella aurita* sample with a muscle tissue concentration of $34 \mu\text{g/kg wet weight}$. Based on European legislation, the selected species present good quality for food based on PCBs, PAHs and mercury.

Table 2: Σ_4 PAHs, Σ_6 PCBs and total mercury detected in this work (range and mean values into brackets) compared to maximum admissible content expressed in $\mu\text{g/kg wet weight}$. *n.d.* = not detectable (<LOQ).

Compounds	Maximum admissible content ($\mu\text{g/kg wet weight}$)			
	Mussel	Fish	Crustacean	Reference
BaP, BaA, BbF, Chr	30	30*	30*	UE N° 835/2011

	3.4-20 (8)	0.2-4.3 (1.1) ¹ 8 – 34(19) ² 3.2-18 (10.1) ³ 1.8-3.2 (2.7) ⁴	8-12 (10)	This work
PCB: 28, 52, 101, 138, 153, 180	75	75	75	UE N° 1259/2011
	0.7-12 (6)	n.d-12 (5) ¹ n.d ² 7-10 (8.5) ³ n.d-27 (6) ⁴	nd	This work
Total mercury	100-500	500-1000	100-500	UE N° 466/2001/2006
	9-17 (12)	3-101 (34) ¹ 11-38 (21) ² 9-30 (22) ³ 4-18 (7) ⁴	7-12 (9)	This work

CONCLUSION

Our study provide a data base about the organic contamination levels of PCBs, PAHs, Me-PAHs and total mercury in sediments and marine organisms obtained from Dakar coastal zone. The distributions of PAHs and Me-PAHs suggested that their sources were mainly originated from pyrolytic origin of nearby activities. The evaluation of ecotoxicological risk based on SQGs suggested that the biological adverse effects of PAHs, PCBs and total mercury are expected from rarely to occasionally for marine organisms. However, even if the impact of this type of pollution is moderate, it is now urgent to adopt adequate pollution control strategies into this coastal area before the problem become irreversible given the high density of population in this zone and continuous discharges of domestic and industrial effluents for most case without any treatment. Indeed, most of domestic and industrial waste waters are rejected directly into the sea and these permanent anthropogenic discharges can produce environmental and ecological degradation in the coastal zones. Moreover, the tide is quiet important in this coastal zone leading to a significant transport process of pollutants out to the sea. Particular attention must be paid to the chemical levels in edible marine organisms consumed by local population. Fish and invertebrates consumption remain the major source of protein for the residents in Dakar area. The result on the contamination level of PCBs, PAHs, Me-PAHs and total mercury in marine comestible species showed rarely to occasionally impact on aquatic organisms and no significant impact on human

health by consuming targeted species namely mussel, crustacean, sole, sardine, tilapia, and mullet sampled from these coastal areas of Dakar. However, given the only few data available on the degree of contamination levels in these marine species and before making any final conclusion, it is strongly recommended to carry out complementary studies on these comestible species and others.

ACKNOWLEDGMENT

The authors are gratefully indebted to the IREPSE (Institut de Recherches Pluridisciplinaires en Sciences de l'Environnement) of Université Lille 1 for its financial support.

REFERENCES

- Abdolahpur Monikh, F., Hosseini, M., Kazemzadeh Khoei, J., and Ghasemi, A. F. (2014). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Levels in Sediment, Benthic, Benthopelagic and Pelagic Fish Species from the Persian Gulf. *International Journal of Environmental Research*, **8(3)**, 839-848.
- Amodio-Cocchieri, R., Del Prete, U., Arnese, A., Giuliano, M. and Roncioni, A. (1993). Heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in marine organisms from the Ionian Sea (Italy). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **50**, 618-625.
- Bastami, K. D., Afkhami, M., Ehsanpour, M., Kazaali, A., Mohammadzadeh, M., Haghparast, S., Soltani, F., Zanjani, S. A., Ghorghani, N. F., Pourzare, R. (2013). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the coastal water, surface sediment and mullet *Liza klunzingeri* from northern part of Hormuz strait (Persian Gulf). *Marine Pollution Bulletin*, **76**, 411-416.
- Bennett, B. G. (1983). (Staff member of the United Nations Environment Programme). *Science Total Environment*, **29**, 101.
- Bertrand, K. A., Spiegelman, D., Aster, J. C., Altshul, L. M., Korrick, S. A., Rodig, S. J., Zhang, S. M., Kurth, T., Laden, F. (2010). Plasma Organochlorine Levels and Risk of Non-Hodgkin Lymphoma in a Cohort of Men. *Epidemiology*, **21(2)**, 172-80.
- Blumer M (1957). Removal of elemental sulfur from hydrocarbon fractions. *Analytical Chemistry*, **29**, 1039-1041.
- Bodin, N., N'GomKa, R., Le Loc'h, F., Raffray, J., Budzinski, H., Peluhet, L., Tito de Morais, L. (2011). Are exploited mangrove molluscs exposed to Persistent Organic Pollutant contamination in Senegal, West Africa? *Chemosphere*, **84(3)**, 318-327.
- Boon, J. P. (1985). Processes determining the kinetics of PCB congeners in marine organisms: A comparison between laboratory and environmental studies. *Marine Environmental Research*, **17**, 301-305.
- Borgå, K., Fisk, A. T., Hoekstra, P. F., Muir, D. C. G. (2004) Biological and chemical factors of importance in the bioaccumulation and trophic transfer of persistent organochlorine contaminants in Arctic marine food webs. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **23**, 2367-238.

- Bräuner, E. V., Sørensen, M., Gaudreau, E., LeBlanc, A., Eriksen, K. T., Tjønneland, A., Overvad, K., Raaschou-Nielsen, O. (2012). A prospective study of organochlorines in adipose tissue and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Environmental Health Perspectives*, **120**(1), 105–111.
- Cailleaud, K., Forget-Leray, J., Souissi, S., Hilde, D., Le Menach, K., Budzinski, H. (2007). Seasonal variations of hydrophobic organic contaminant concentrations in the water-column of the Seine Estuary and their transfert to a planktonic species *Eurytemora affinis* (Calanoïda, copepoda). Part 1: PCBs and PAHs. *Chemosphere*, **70**, 270–280.
- Cardellicchio, N., Buccolieri, A., Giandomenico, S., Lopez, L., Pizzulli, F., Spada, L. (2007). Organic pollutants (PAHs, PCBs) in sediments from the Mar Piccolo in Taranto (Ionian Sea, Southern Italy). *Marine Pollution Bulletin*, **55**, 451–458.
- Chiou, C. T., McGroddy, S. E., Kile, D. E. (1998). Partition characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons on soils and sediment. *Environmental Science and Technology*, **32**, 264–269.
- Costa, P. M., Diniz, M. S., Caeiro, S., Lobo, J., Martins, M., Ferreira, A. M., Caetano, M., Vale, C., Del Valls, T. A., Costa, M. H. (2009). Histological biomarkers in liver and gills of juvenile *Solea senegalensis* exposed to contaminated estuarine sediments: a weighted indices approach. *Aquatic Toxicology*, **92**(3), 202–212.
- De Luca, G., Furesi, A., Micera, G., Panzanelli, A., Piu, P. C., Pilo, M. I., Spano, N., Sanna, G. (2005). Nature distribution and origin of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the sediments of Olbia Harbor (Northern Sardinia, Italy). *Marine Pollution Bulletin*, **50**, 1223–1232.
- Dickhut, R. M., Canuel, E. A., Gustafson, K. E., Liu, K., Arzayus, K. M., Walker, S. E., Edgecombe, G., Gaylor, M. O., MacDonald, E. H. (2000). Automotive sources of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons associated with particulate matter in the Chesapeake Bay region. *Environmental Science and Technology*, **34**, 4635–4640.
- Diop, C., Dewaele, D., Toure, A., Cabral, M., Cazier, F., Fall, M., Ouddane, B., Diouf, A. (2012). Étude de la contamination par les éléments traces métalliques des sédiments côtiers au niveau des points d'évacuation des eaux usées à Dakar (Sénégal). *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, **25**(3), 277–285.
- Dugan, J. E., Ichikawa, G., Stephenson, M., Crane, D.B., McCall, J., Regalado, K. (2005). Final report prepared for Central Coast Regional Water Quality Control Board, 38p.
- Dumoulin, D., Net, S., Ouddane, B. (2013). Etude de la contamination en PCB de la Somme rivière-Campagne 2012. Repportpublished by Agence de l'Eau Artois-Picardie, (<http://www.eauartois-picardie.fr/Etude-de-la-contamination-en-PCB.html>).
- Escartin, E. and Porte, C. (1999). Assessment of PAH Pollution in Coastal Areas from the NW Mediterranean through the Analysis of Fish Bile. *Mar. Pollut. Bull.*, **38**, 1200–1206.
- Fitzgerald, W. F., Lamborg, C. H., Hammerschmidt, C. R. (2007). Marine Biogeochemical Cycling of Mercury. *Chemical Reviews*, **107**(2), 641–662.
- Francioni, E. F., Wagener, A. L. R., Scofield, A. L., Cavalier, B. (2005). Biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbon in *Perna perna* from Guanabara Bay, Brazil. *Environmental Forensics*, **6**, 361–370.
- Gaspere, L., Machiw, a J. F., Mdachi, S. J. M., Streck, G., Brack, W. (2009). Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) contamination of surface sediments and oysters from the inter-tidal areas of Dar es Salaam, Tanzania. *Environmental Pollution*, **157**(1), 24–34.
- Gogou, A., Stratigakis, N., Kanakidou, M., Stephanou, E.G. (1996). Organic aerosols in eastern Mediterranean: Components source reconciliation by using molecular markers and atmospheric back trajectories. *Organic Geochemistry*, **25**, 79–96.

- Harrison, T. D., Whitfield, A. K. (2006). Temperature and salinity as primary determinants influencing the biogeography of fishes in South African estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **66**, 335–345
- Health Effects of PCBs. U. S. Environmental Protection Agency. January 31, 2013.
- IARC, (2010). Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures, International Agency for Research on Cancer, France.
- Jeanneau, L. (2007). Approche moléculaire quantitative appliquée à l'étude du transfert de micropolluants organiques à la confluence entre la Fensch et la Moselle (France). Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, France.
- Kjeller, L.O. and Rappe, C. (1995). Time trends in levels, patterns and profiles for polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls in a sediment core from the Baltic proper. *Environmental Science and Technology*, **29**, 346-355.
- Ko, F. C., Baker, J. E. (1995). Partitioning of hydrophobic organic contaminants to resuspended sediments and plankton in the mesohaline Chesapeake Bay. *Marine Chemistry*, **49**, 171-188.
- Kramer, S., Hikel, S. M., Adams, K., Hinds, D., Moon, K. (2012). Current Status of the Epidemiologic Evidence Linking Polychlorinated Biphenyls and Non-Hodgkin Lymphoma, and the Role of Immune Dysregulation. *Environmental Health Perspectives*, **120(8)**, 1067–1075.
- Long, E. R., Macdonald, D. D., Smith, S. L., Calder, F. D. (1995). Incidence of Adverse Biological Effects Within Ranges of Chemical Concentrations in Marine and Estuarine Sediments. *Environmental Management*, **19(1)**, 81-97.
- Long, E. R., Morgan, L. G. (1990). The potential for biological effects of sediment-associated contaminants tested in the National Status and Trends Program. NOAA Technical Memorandum NOS OMA 52, 220.
- Macdonald, D. D., Carr, R. S., Calder, F. D., Long, E. R., Ingersoll, C. G. (1996). Development and evaluation of sediment quality guidelines for Florida coastal waters. *Ecotoxicology*, **5**, 253–278.
- Manodori, L., Gambaro, A., Piazza, R., Ferrari, S., Stortini, A. M., Moret, I., Capodaglio, G. (2006). PCBs and PAHs in sea-surface microlayer and sub-surface water samples of the Venice Lagoon (Italy). *Marine Pollution Bulletin*, **52**, 184-192.
- McGill, A. S., Mackie, P. R., Howgate, P. and Mar, M. J. G. (1987). The flavour and chemical assessment of dabs (*Limanda limanda*) caught in the vicinity of the Beatrice oil platform. *Pollut. Bull.*, **18**, 186-189.
- Mostert, M. M. R., Ayoko, G. A., Kokot, S. (2010). Application of chemometrics to analysis of soil pollutants. *Trends Analytical Chemistry*, **29**, 430-435.
- Naes, K., Knutzen, J., Berglind, L. (1995). Occurrence of PAH in marine organisms and sediments from smelter discharge in Norway. *Science of Total Environment*, **24**, 93-106.
- Ndiaye, A., Sanchez, W., Durand, J. D., Budzinski, H., Palluel, O., Diouf, K., Ndiaye, P., Panfili, J. (2012). Multiparametric approach for assessing environmental quality variations in West African aquatic ecosystems using the black-chinned tilapia (*Sarotherodon melanocheilus*) as a sentinel species. *Environmental Science and Pollution Research*, **19**, 4133–4147.
- Neff, J. M. (2002). Bioaccumulation in marine organisms - effect of contaminants from oil well produced water, Elsevier, The Netherlands, 452.
- Net, S., Dumoulin, D., El-Osmani, R., Rabodonirina, S., Ouddane, B. (2014a). Case study of PAHs, Me-PAHs, PCBs, phthalates and pesticides contamination in the Somme River water, France. Accepted for publication in *International Journal of Environmental Research*.

- Net, S., Dumoulin, D., El-Osmani, R., Delcourt, V., Bigan, M., Ouddane, B. (2014b). Experimental design approach to the optimization of hydrocarbons extraction from the sediment: Method development and application. *Applied Geochemistry*, **40**, 126-134.
- OIS (Observatoire des Industries du Sénégal) (2010) Répartition régionale des industries en 2000. (<http://www.obs-industrie.sn>).
- Pandelova, M., Stanev, I., Henkelmann, B., Lenoir, D., Schramm, K. W. (2009). Correlation of PCDD/F and PCB at combustion experiments using wood and hospital waste. Influence of (NH₄)₂SO₄ as additive on PCDD/F and PCB emissions. *Chemosphere*, **75**, 685–691.
- Panfili, J., Mbow, A., Durand, J.D., Diop, K., Diouf, K., Thior, D., Ndiaye, P., Laë, R. (2004). Influence of salinity on the life-history traits of the West African black-chinned tilapia (*Sarotherodon melanotheron*): Comparison between the Gambia and Saloum estuaries. *Aquatic Living Resources*, **17(01)**, 65-74.
- Pereira, W. E., Rostad, C. E., Taylor, H. E. (1980). Mount St. Helens, Washington, 1980 volcanic eruption: characterization of organic compounds in ash samples. *Geophysical Research Letter*, **11**, 953–954.
- Porta, M., Zumeta, E. (2002). Implementing the Stockholm Treaty on Persistent Organic Pollutants. *Occupational and Environmental Medicine*, **10(59)**, 651-2.
- Rainbow, P.S., Phillips, D. J. H. (1993). Cosmopolitan biomonitors of trace metals. *Marine Pollution Bulletin*, **26(11)**, 593-601.
- Roméo, M., Siau, Y., Sidoumou, Z., Gnassia-Barelli, M. (1999). Heavy metal distribution in different fish species from the Mauritania coast. *Science of Total Environment*, **232(3)**, 169-175.
- Rose, A., Ken, D., Kehinde, O. and Babajide, A. (2012). Bioaccumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Fish and Invertebrates of Lagos Lagoon, Nigeria. *J. Emerging Trends Engineering Applied Sci.*, **3**, 287-296.
- Rose, N. L., Rippey, B. (2002). The historical record of PAH, PCB, trace metal and fly-ash particle deposition at a remote lake in north-west Scotland. *Environmental Pollution*, **117**, 121-132.
- Rose, N. L., Rose, C. L., Boyle, J. F., Appleby, P. G. (2004). Lake sediment evidence for local and remote sources of atmospherically deposited pollutants on Svalbard. *Journal of Paleolimnology*, **31**, 499–513.
- Ruffman, A., Meagher, L. J., Stewart, J. M. G. (1977). Bathymétrie du talus et du plateau continental du Sénégal et de la Gambie, Afrique de l'Ouest, in *Le Baffin. Levé au large. Sénégal et la Gambie*, vol. 1, Ministère des pêches et de l'environnement, Ottawa, pp. 23-90.
- Sidoumou, Z., Gnassia-Barelli, M., Siau, Y., Morton, V., Roméo, M. (2005). Distribution and Concentration of Trace Metals in Tissues of Different Fish Species from the Atlantic Coast of Western Africa. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **74(5)**, 988-995.
- Sidoumou, Z., Gnassia-Barelli, M., Siau, Y., Morton, V., Roméo, M. (2006). Heavy metal concentrations in molluscs from the Senegal coast. *Environmental International*, **32(3)**, 384-387.
- Simo, R., Grimalt, J. O., Albaigés, J. (1997). Loss of unburned-fuel hydrocarbons from combustion aerosols during atmospheric transport. *Environmental Science and Technology*, **31**, 2697-2700.
- Storelli, M. M., Barone, G., Perrone, V. G., Storelli, A. (2003). Risk characterization for polycyclic aromatic hydrocarbons and toxic metals associated with fish consumption. *Journal of Food Composition and Analysis*, **31**, 115–119
- Straif, K., Baan, R., Grosse, Y., Secretan, B., El Ghissassi, F., Coglianò, V. (2005). On behalf of the WHO International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. Carcinogenicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Lancet Oncology*, **6**, 931-932.

- Totten, L. A., Panangadan, M., Eisenreich, S. J., Cavallo, G. J., Fikslin, T. J. (2006). Direct and indirect atmospheric deposition of PCBs to the Delaware River Watershed. *Environmental Science and Technology*, **40**, 2171-2176.
- Tronczynski, J., Munsch, C., Héas-Moisan, K., Guiot, N., Truquet, I. (2005). Analyse de contaminants organiques (PCB, OCP, HAP) dans les sédiments marins, Ed. Ifremer. Méthodes d'analyse en milieu marin, 44p.
- Turrio-Baldassarri, L., Abballe, A., Casella, M., di Domenico, A., Iacovella, N., La Rocca, C. (2005). Analysis of 60 PCB congeners in drinkable water samples at 10–50 pg/L level. *Microchemical Journal*, **79**, 193-199.
- US EPA (Environmental Protection Agency) (2002) Priority Pollutants. <<http://www.epa.gov/NE/npdes/permits/generic/prioritypollutants.pdf>> (accessed 01.06.12).
- Vuorinen, P. J., Keinänen, M., Vuontisjärvi, H., Barsien, J., Broeg, K., Forlin, L., Gercken, J., Kopecka, J., Kohler, A., Parkkonen, J., Pempkowiak, J. and Schiedek, D. (2006). Use of biliary PAH metabolites as a biomarker of pollution in fish from the Baltic Sea. *Mar. Pollut. Bull.*, **53**, 479-487.
- Wang, Z., Chen, J., Yang, P., Qiao, X., Tian, F. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dalian soils: distribution and toxicity assessment. *Journal of Environmental Monitoring*, **9**(2), 199-204.
- WHO, World Health Organization, Environmental Health Criteria 140: Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls, Second edition, International Program on Chemical Safety (IPCS), Geneva, 1993, p. 21.
- Yunker, B., Perreault, A., Lowe, C. J. (2012). Source apportionment of elevated PAH concentrations in sediments near deep marine outfalls in Esquimalt and Victoria, BC, Canada: is coal from an 1891 shipwreck the source? *Org Geochemistry*, **46**, 12-37.
- Yunker, M. B., Macdonald, R. W. (1995). Composition and origin of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Mackenzie River and on the Beaufort Sea shelf. *Arctic*, **48**, 118-129.
- Yunker, M. B., Macdonald, R. W., Vingarzan, R., Mitchell, R. H., Goyette, D., Sylvestre, S. (2002). PAHs in the Fraser River basin: A critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*, **33**(4), 489-515.
- Zhang, X. L., Tao, S., Liu, W. X., Yang, Y., Zuo, Q., Liu, S. Z. (2005). Source diagnostics of polycyclic aromatic hydrocarbons based on species ratios: A multimedia approach. *Environmental Science and Technology*, **39**, 9109-9114.

Chapitre III

Concentrations and potential human health risks for regulated metals (Cd, Pb, Hg) and organic pollutants (PCBs, PAHs) in fish and seafood from the Senegalese coast

Publication qui sera prochainement soumise à la revue: Food and Chemical Toxicology

Résumé

Les polluants chimiques et organiques, une fois présents dans le milieu marin peuvent se concentrer dans les organismes vivants. Certains contaminants comme le Fe, le Mn, le Zn sont essentiels pour les organismes mais d'autres comme le Cd, le Hg, le Pb, les HAPs et les PCBs n'ont pas de rôles biologiques connus et sont toxiques, écotoxiques, cancérigènes et reprotoxiques pour la plus part (Cousin and Cachot, 2014 US Department of Health and Human Services, 2011 ; Crump et al. 1998, 2009 ; Stringari et al. 2008 Cousin). La consommation des poissons et des produits de la mer est la principale source d'exposition de ces contaminants pour la population (Driscoll et al. 2013). Cependant, les risques d'une telle exposition varient suivant les teneurs en contaminants présentes dans les parties comestibles des différents organismes et de la quantité de produits consommés.

L'objectif de ce chapitre était de faire une évaluation des risques liés à la consommation des poissons et des produits de la mer du littoral sénégalais sachant que la population locale est fortement tributaire de ces produits.

Dans cette étude, le Cd, le Hg et le Pb pour les métaux, le Benzo (a) pyrène (BaP), Benzo (a) fluoranthène (BaF), le chrysène (Chr) et le Benzo (a) anthracène (BaA), pour les HAPs, les 12 PCBs de type dioxine et les 7 PCB indicateurs réglementés ont été dosés dans les parties comestibles des moules, des crevettes et de quatre espèces de poisson (la sole sénégalaise, le mullet, le tilapia et la sardinelle ronde) prélevées dans cinq sites différents. Les teneurs trouvées ont été comparées aux normes établies par l'Union Européenne. Pour une meilleure évaluation des risques, plusieurs indices (THQ, TTHQ, CR) ont été calculés sur les différents contaminants en rapport avec la quantité de produits consommés par la population.

Les concentrations en contaminants mesurées dans les différentes espèces sont pour la plus part largement inférieures à la limite maximale admissible pour la consommation humaine (UE N° 488/2014, UE N° 1005/2015, UE N° 629/2008, UE N° 1327/2014, UE N° 704/2015). Cependant quelques dépassements ont été enregistrés et concernaient les concentrations en Cd dans les moules de Soubédioune et les concentrations en HAPs dans les sardinelles de Rufisque.

Les résultats du calcul pour le THQ montrent que la consommation des parties comestibles des moules, des crevettes et des muscles des soles, des mullets, des tilapias et des sardinelles ne posent aucun problème de santé en terme de contamination en Cd, Hg et en Pb. A l'exception des moules de Soubédioune et de Rufisque où les valeurs calculées avec le TTHQ sont supérieures à 1.

Les valeurs de risque de cancer (Cancer Risque CR) calculées sur les HAPs, les PCBi et sur les PCB-DL ont montré que 90 % des HAPs et 83,3 des PCBi ont des valeurs de CR supérieures à la limite admissible tandis que pour les PCB-DL toutes les valeurs sont largement inférieures à la norme. Sur toutes les espèces étudiées, *Sardinella aurita* à Rufisque montre les valeurs de CR, les plus élevées en HAPs et les moules *Perna perna* de Soumbédioune montrent les valeurs de CR les plus élevées en PCBi. Une étude plus approfondie est nécessaire pour ces deux sites pollués.

Concentrations and potential human health risks for regulated metals (Cd, Pb, Hg) and organic pollutants (PCBs, PAHs) in fish and seafood from the Senegalese coast.

M. Diop; S. Net; M. Howsman; P. Lencel; F. Henry; D. Watier; T. Grard; G. Duflos; A. Diouf and R. Amara

Abstract

The presence of Cd, Pb, Hg, PAHs and PCBs was investigated in the edible portion of six relevant marine species from different trophic levels of a food web, representative for shallow waters of the Senegalese coast: a bivalve species, the brown mussel (*Perna perna*), a shrimp species, the Caramote prawn (*Penaeus kerathurus*) and four fish species, the Senegalese sole *Solea senegalensis*, the round sardine *Sardinella aurita*, the flathead mullet *Mugil cephalus* and tilapia *Saratherondon melanotheron*. Samples were collected from five sites in 2013. Between species and sites variation in pollutant concentrations were recorded. The mussels concentrated more Cd ($0,394 \pm 0,634 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$) and Pb ($0,185 \pm 0,213 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$). The highest level of Hg was recorded in *S. melanotheron* ($0,019 \pm 0,014 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$) and *S. aurita* presented the highest level of PAHs ($0,019 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$). *S. aurita* and *P. perna* do not concentrate at all PCBs. In the other species, the concentrations of PCBs were generally low between 0.001 and $0.008 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$. For most species, sites located near important anthropogenic pressure presented the highest pollutant concentrations. Soumbédioune exhibited the highest level of Cd and PCBs whereas Rufisque showed the highest levels of Pb and PAHs. Health risks to human via dietary intake of seafood were assessed. For most species studied, the pollutant concentrations were below the health safety limits for human consumption defined by the European Union. However, at the polluted sites, 50% of the mussels from Soumbédioune presented value above the limit fixed for Cd ($1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$) and all sardinella from Rufisque concentrated PAHs above the guideline value ($0.03 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$). The target hazard quotients (TQH) for metals were <1 and did not indicate a danger to the local population except for mussels at polluted sites (Soumbédioune and Rufisque) where the total TQH values are slightly above 1. The calculation of the cancer risk (CR) indicated that for PAHs and for PCBs, 90% of CR values were in excess carcinogenic risk. For PCB-DL, all CR values are well below the guideline value. We suggest that the species analyzed must be eaten in moderation due to possible hazard and carcinogenic risks derived from PAHs and PCBs.

Key words: heavy metals, PAHs, PCBs, marine organisms, Senegal, risk assessment.

Introduction

Most of the coastal areas of the world have been reported to be damaged from pollution, significantly affecting marine ecosystems, biodiversity and fisheries. Chemical pollutants are produced by industrial societies, are released by complex human activities, and eventually end up in aquatic environments. Over the last few decades, there has been growing interest in determining chemical pollutants levels in the marine environment and attention was drawn to the measurement of contamination levels in public seafood supplies (Rose et al., 1999; Storelli, 2008; Stankovic and Jovic 2012; Bandowe et al., 2014). Seafood is an extremely important component of the human diet in many parts of the world and provide nutrients such as protein and omega-3 (n-3) fatty acids. At the same time, seafood consumption has been reported as an important route of human exposure to a variety of chemical contaminants (Storelli, 2008; Castro- Gonzalez and Mendez-Armenta, 2008). Many reported studies have confirmed that contamination of heavy metals and organic pollutants via the food chain can cause human health risk (Zweig et al. 1999; Taweel et al. 2013; Iqbal and Shah 2014) because of their toxicity, long persistence, bioaccumulation, and biomagnifications (Castro- Gonzalez and Mendez-Armenta, 2008). Several agencies and organizations such as the US Food and Drug Administration (US FDA), the European Union food regulation, the Food and Agriculture Organization (FAO), and the World Health Organization (WHO) have set maximum concentration limits of pollutants in seafood above which the health of humans who consume them is threatened.

The toxic effects of heavy metals particularly mercury (Hg), cadmium (Cd) and lead (Pb) have been broadly documented (Narvaes, 2002; Castro-Gonzalez and Mendez-Armenta, 2008). This is also the case for the organic pollutants such as polychlorinated biphenyls (PCBs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), two classes of pollutants intensively monitored and regulated due to their considerable environmental persistence, toxic potential, high levels of bioaccumulation and harmful biological effects, including their mutagenic and carcinogenic properties (Storelli, 2008; Oliva et al., 2010; US Department of Health and Human Services, 2011; Bandowe et al., 2014; Cousin and Cachot, 2014). If metals and PAHs derived from both anthropogenic and natural sources, the PCBs are originated only from anthropogenic sources (Forstner et al., 1989).

In order to limit the potential impact of these pollutants on human health, the regulations of the European Union have established currently, several maximum levels (EC, 488/2014; 1005/2015; 629/2008) for Cd, Pb and Hg respectively, for PAHs (EC, 1327/2014) and for PCBs (EC, 714/2015) in fish and other seafood products (Table 1). Thus monitoring heavy

metal and organic pollutant concentrations in seafood and their dietary intake is very important for assessing their risk to human health.

Table 1: Maximum levels for Cd, Pb Hg, PAHs and PCBs in fish and other seafood products according to European Union regulation.

<i>Compounds</i>		<i>Maximum admissible (wet weight)</i>						<i>References</i>
		<i>Penaesus</i>	<i>Perna</i>	<i>Sardinella</i>	<i>Solea</i>	<i>Mugil</i>	<i>Tilapia</i>	
Metals (mg/kg)	<i>Cd</i>	0,5	1	0,25	0,05	0,05	0,05	UE N° 488/2014
	<i>Pb</i>	0,5	1,5	0,3	0,3	0,3	0,3	UE N° 1005/2015
	<i>Hg</i>	0,5	0,5	0,5	0,5	1	0,5	UE N° 629/2008
PAHs (mg/kg)	<i>BaP, BaA, BbF, Chr</i>	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	UE N° 1327/2014
PCBs (mg/kg)	<i>28, 52, 101, 138, 153, 180</i>	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	UE N° 704/2015

Although several adverse health effects of chemical pollutants have been known for a long time, the exposure to these elements continues; moreover, it is even increasing in some parts of world, in particular in the less developed countries, though emissions have declined in most developed countries over the last 100 years (Jarup, 2003). In Senegal, a less developed country, the main source of animal protein for the population comes from fishery products. Due to the decline of the agriculture and livestock sectors, which are the traditional suppliers of animal proteins, the fisheries sector has become an essential contributor to the country's food security. Fishes, mollusks and shellfish provide 75% of the protein needs of the population (FAO, 2006). The availability of these products is due to the fact that the Senegalese coasts are among the richest fishing coastline in the world resulting to the presence of the Canaries Current upwelling (Cropper et al., 2014). Every year, more than 400 000 tons of seafood are landed in Senegal (FAO, 2006). Part of it is exported to the African, American, Asian and European markets and the rest is consumed locally. Despite this rather favorable situation, the Senegalese coast, like most of the world's coastal areas, is subject to serious environmental problems related to the densification of the population in coastal cities, that continue to grow, and to the concentration along the coasts of all kinds of industries. Dakar, the capital city, is where more than 80 % of the industries are sited and is home to more than 25 % of the total population.

The aims of the present study were 1) to evaluate the degree of concentration of heavy metals (Cd, Pb and Hg), polychlorinated biphenyls (PCBs-DL and PCBs indicators) and polycyclic aromatic hydrocarbons (BaP, BaF, chrysene and BaA) in edible part of two invertebrate species (the brown mussel, *Perna perna* and the Caramote prawn, *Penaeus kerathurus*) and four fish species (grey mullets, *Mugil cephalus*, tilapia, *Sarotherodon melanotheron*, Senegalese sole, *Solea senegalensis* and round sardinella, *Sardinella aurita*) sampled from five sites along the Senegalese coasts, 2) to evaluate the variation of the concentration of these contaminants between species and between sites and 3) to assess the possible health risk associated with their consumption.

Material and methods

Study area and sampling

The study area is located along the Senegalese coast in the extreme west of the African continent (Fig. 1). Five sampling sites were selected to represent the Senegalese coast and that differed in terms of anthropogenic pressure (Fig. 1). Site 1 (Saint Louis) is located away from important human anthropogenic pressure but near the Senegal River. Three sites located near Dakar are characterized by strong urban activity and high domestic waste and/or industrial discharge: Soumbédioune (Site 2); Hann (Site 3) and Rufisque (Site 4). Site 2 is dominated by discharges of domestic and hospital waste water and road run-off, being located only a few hundred meters from downtown Dakar and receiving all waste water from surrounding neighborhoods. Site 3 is in the Hann Bay and characterized by permanent discharges of a mixture of urban and food industry waste water, directly discharged to the sea without any treatment. Apart from the presence of sewage and garbage, site 4 was also selected due to the presence of an oil refinery and a cement factory. Site 5 (Joal), is located in the south and distant from significant anthropogenic influences. Six marine species were chosen to gain an overall picture of pollution along this coast, and encompass bivalves, crustaceans and four fish species. The choice was based on the frequent consumption of these species by the population inhabiting the Senegalese coast, but also provided good coverage of several trophic levels and the opportunity to evaluate elements' spatial distribution. Their main characteristics are as follows: (i) the brown mussels, *P. perna* is the only mussel of this genus in the Western coast of Africa and mussels are sedentary filtering organisms, which have been widely used as environmental sentinels for contamination studies; (ii) the Caramote prawn, *P. kerathurus* is one of the most important shrimp species in the Senegalese fishery and is also a target species for local fishermen using trammel nets; (iii) Four commercial coastal fish species widely distributed along the Senegalese

coast and largely consumed by the local population were selected: a benthic fish species, the Senegalese sole *S. senegalensis*; two benthopelagic fish species, the flathead mullet *M. cephalus* and tilapia *S. melanotheron*, and one pelagic fish species, the round sardina *S. aurita*.

At each site and for each species ten samples were taken. For mussel with lives attached to the rock by its byssus they were collected only at the Dakar sites since this species was not found at the muddy coastal sites such as Saint Louis and Joal. Mussels were collected in the subtidal zone at low tide and washed with water from their sampling location, while samples of crustaceans and fish were caught by local fishermen in the coastal areas. All the samples were immediately transported to the laboratory on ice. Each mussel, shrimp and fish were measured for total length (TL to the nearest 1mm) and weighed (W to the nearest 0.1g) in order to standardize samples' size between sites. A total of 36 mussels (TL: 6.5 ± 1.1 cm; W: 20.9 ± 2.3 g), 45 shrimps (TL: 14.3 ± 2.2 cm; W: 21.3 ± 2.3 g), 50 sardinella (TL: 30.6 ± 1.2 cm; W: 272 ± 35 g), 45 mullet (TL: 30.5 ± 4.6 cm; W: 257 ± 12 g), 50 tilapia (TL: 20.1 ± 5.2 cm; W: 163 ± 9 g) and 45 sole (TL: 28.8 ± 3.5 cm; W: 220 ± 75 g) were considered. Mussel and shrimp soft tissues and the left dorsolateral muscle of fish species were removed by stainless steel scalpel and Teflon forceps at a laminar flow bench (Class 100, US Federal Standard 209a). For metals analysis, the samples were stored individually in polypropylene bags previously labeled at -20°C until analysis. For organic compounds determination, samples were dried individually in an oven at 40°C for 72h in aluminum foil and then stored at -20°C until further treatments and analysis.



Figure 1: Map showing the sampling sites along the Senegalese coast.

Metals determination

For metal analysis, samples were individually lyophilized for 48h at -100°C until constant weight and then manually ground to a powder with an agate mortar and pestle.

Cadmium and lead analysis

Samples were individually lyophilized for 48 h at -100°C until constant weight, then ground to a powder manually with an agate mortar and pestle. An aliquot of 100 mg from each material was digested in a concentrated solution of nitric acid (65%, Suprapur, Merck) at room temperature for 24h and then at 100°C for 4h (See Diop et al., 2016 for analytical details). Concentrations of Cd and Pb were determined by an Inductively Coupled Plasma with a Mass Spectrometer detector (ICP-MS, Varian 820-MS). Element concentrations are reported below

in mg kg⁻¹ dry weight (dw), unless stated otherwise. Limit of quantification (LOQ) was 0.01 mg kg⁻¹ for Cd and Pb.

Mercury analysis

An AMA-254 Direct Analyzer (Altec) was employed to determine the concentration of total mercury (reported as mg of Hg on kg of dw). Sample lyophilized (in the range of 0.010-0.050 g) was directly analyzed. The AMA-254 Direct Mercury Analyzer performs thermal decomposition, catalytic reduction, amalgamation, desorption and atomic absorption spectroscopy to rapidly treat and analyze solid or liquid samples for mercury, with an output result for mercury content in about 5 min (per sample) with no pre-treatments required and no waste generation was used. The limit of quantification (LOQ) for detection of Hg by means of this method was 0.001 mg kg⁻¹ dw.

The accuracy and precision of the analyses were assessed using procedural blanks, replicate analyses (one for every 25 analysis) and analyses of two standard reference materials: DOLT-4 (dogfish liver, National Research Council, Canada) and DORM-3 (fish protein, National Research Council, Canada). Procedural blanks were less than 2% of the signal and the coefficient of deviation of 3 replicate measurements was consistently below 10%. For all elements, the recovery percentages for the DOLT-4 and DORM-3 references materials resulted in ranges from 88% to 110% proved that the results were in good agreement with the certified values.

PAHs and PCBs analysis

In this work, 4 PAHs (benzo[*a*]anthracene (BaA), chrysene (Chr), benzo[*a*]pyrene (BaP), benzo[*b*]fluoranthene (BbF)) and 18 PCBs (12 dioxin-like PCBs (dl-PCBs) and 6 PCB indicators (PCBi)) were analyzed.

MSieved powder samples were spiked with deuterated internal standards A-d10, N-d10, Per-d12, Phe-d10 and Pyr-d10 for PAHs and OCN for PCBs analysis. After a delay of equilibration, samples were then extracted using an accelerated solvent extraction (ASE 200, Dionex Corp., USA). Molecular sulfur was removed from the extract by addition of activated metallic copper (Blumer, 1997) to the extracts. The extracts were concentrated, solvent-exchanged to hexane, and then purified and fractionated by liquid chromatography on a silica column to eliminate organic interferences (Jeanneau, 2007). PCBs were recovered by elution with hexane (Fraction 1), and aromatic hydrocarbons (PAHs) were recovered with hexane/dichloromethane mixtures

(3/1 v/v) followed by hexane/dichloromethane mixture (1/1 v/v) (Fraction 2). Each fraction was concentrated using a rotary evaporator followed by a slight stream of nitrogen to a final volume of 200 μ L.

Targeted compounds were analyzed using a Varian 3900 gas chromatograph (GC) equipped with a deactivated fused-silica guard column (5 m, 0.25 mm i.d.) and a fused-silica low polarity si-arylene ZB-XLB capillary column (60 m length, 0.25 mm i.d., 0.25 μ m film thickness, Phenomenex) and coupled with a Varian Ion Trap Saturn 2000 Mass Spectrometer (MS). Further details of the analytical method are described in previous work (Net et al., 2015). The limit of quantification of individual PCBs and PAHs were 0.8 μ g/kg dw (except for PCB180 which was 2 μ g/kg dw), 0.1-2 μ g/kg dw and 0.2-0.4 μ g/kg dw, respectively.

Data treatment and statistical analysis

Data treatment

To estimate the potential public health risks, the European Union legislation has established maximum allowed levels in aquatic products for different toxic compounds including PAHs, PCBs, Cd, Pb and Hg. Most risk assessments and regulatory limits on trace metals, PAHs and PCBs in fish and seafood are based on their wet weight (ww) concentration. We therefore converted all our dry weight (dw) concentrations into mg kg⁻¹ ww. According to the weighed mass before and after drying, the following factors were applied to obtain the concentrations in wet weight: 0.30 for edible tissue of *P. perna* and 0.26 for *P. kerathurus*, 0.30 for muscle of *S. aurita* and 0.23 for muscle of *M. cephalus*, *S. melanotheron* and *S. senegalensis*. PAHs and PCBs were analyzed only in samples from the sites located in Dakar (Soumbédioume and Rufisque).

To compare the total content of metals at different sampling sites and between species, a metal pollution index (MPI) was calculated with equation (1) (Usero et al., 1996; Khillare et al., 2012)

$$\text{MPI} = (\text{C}_{\text{Cd}} \times \text{C}_{\text{Pb}} \times \text{C}_{\text{Hg}})^{1/3} \quad (1)$$

Where, C_{Cd} , C_{Pb} , C_{Hg} are respectively concentrations for Cd, Pb and Hg in the sample and 3 is the total number of metals considered.

Assessment of health risks

Two indices were calculated to assess the health risk

Target Hazard Quotient (THQ)

The health risk of the local population attributable to heavy metals ingested through fish and seafood consumption can be assessed by comparing target hazard quotients (THQ) with reference doses (RfDo, $\text{mg kg}^{-1}\text{day}^{-1}$): “the ratio of a single substance exposure level over a specified time period (e.g., subchronic) to a reference dose (RfD) for that substance derived from a similar exposure period”. The method used to determine the THQ was given by USEPA (2000) and reused by many authors (Yi et al., 2011, Bandowe et al., 2014). It is described by the following equation (2):

$$\text{THQ} = \frac{\text{Efr} \times \text{ED}_{\text{tot}} \times \text{W}_{\text{food}} \times \text{Ci}}{\text{RfDo} \times \text{Bw} \times \text{ATn}} \times 10^{-3} \quad (2)$$

Where EFr is exposure frequency ($365 \text{ days year}^{-1}$), the life expectancy (ED_{tot} , number of exposure years) is 63.45 years (UNICEF, 2015), C (mg kg^{-1}) metal concentration, W_{food} is the daily consumption rate of seafood products, ATn is averaging time for noncarcinogens ($365 \text{ days year}^{-1} \times \text{number of exposure years}$, assuming 63.45 years in the present study) and RfDo ($\text{mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$) the oral reference dose ($3.0 \times 10^{-4} \text{ mg/kg/day}$ for Hg, $1.0 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/day}$ for Cd and $4.0 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/day}$ for Pb) (US EPA, 1998, 2000). Bw is the average body weight (60 kg). A THQ below one indicates negligible effects to human health during lifetime while a THQ above one indicates possible adverse effects. For the risk assessment of multiple heavy metals contained in fish, a total hazard index (HI) was employed by summing all the calculated THQ values for the determined metals (Jian et al. 2013). Total THQ (TTHQ) of heavy metals for individual seafood is the sum of the follow composition: $\text{TTHQ (individual seafood)} = \text{THQ (toxicant 1)} + \text{THQ (toxicant 2)} + \text{THQ (toxicant n)}$.

Cancer risk assessment for PAHs and PCBs

Cancer risks are estimated as the incremental probability of an individual to develop cancer, over a lifetime, as a result of exposure to that potential carcinogen (i.e., incremental or excess individual lifetime cancer risk; USEPA, 1989). Acceptable risk levels for carcinogens range from 10^{-4} (risk of developing cancer over a human lifetime is 1 in 10,000) to 10^{-6} (risk of developing cancer over a human lifetime is 1 in 1,000,000). Cancer risk (CR) was calculated for PAHs and for PCBs. For PAHs and PCB-DL, the calculation was assessed including the toxicity equivalence factors (TEFs). Toxic equivalency factors (TEFs) are being developed to assess the potency of polyhalogenated aromatic hydrocarbons, including polychlorinated dibenzo-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs) and polychlorinated biphenyls (PCBs). The

levels are obtained by multiplying the mean of individual PAHs or PCB-DL compound founded in each species from each sites with their individual TEF and the sum (Σ PAHs, Σ PCB-DL and Σ PCBi) were considered in the calculation of EDI and THQ for PAHs, PCBi and PCB-DL.

The cancer risk (CR) induced by dietary exposure to PAHs, PCB-DL and PCBi via seafood consumption was assessed using the equation 3 (Bandowe et al., 2016; Xia et al., 2010; Yoon et al., 2007).

$$CR = \Sigma(C_i \times TEF_i) \times Q_i \times ED_{tot} \times W_{food} / (Bw \times ATn) \quad (3)$$

Where TEF_i is the toxic equivalency factor of individual PAH_i or $PCB-DL_i$. The TEF for PAHs were taken in Nisbet and Lagoy (1992)

Q_i is the cancer potency for HAP or PCB. It was assessed as $7.3 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ for BaP by the integrated risk information system of the USEPA (USEPA, 2000). For total PCB, Q was asessed to $2.0 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$.

Statistic

Statistics were performed with “XLSTAT- Pro” 2014 (Addinsoft). Inter-species and spatial differences in metals and organic compounds concentrations between samples from the five sites were analyzed with a one-way ANOVA, followed by post-hoc Tukey tests. If data did not comply with the parametric assumption of normality and homogeneity of variance, the non-parametric Kruskal Wallis test and Mann Whitney U test for post hoc, pair-wise comparisons was used. In all tests, the significance level for differences in critical values was set at $p < 0.05$.

Results and discussion

Heavy metals and organic pollutants in marine organisms

The concentrations of different heavy metals (Cd, Pb and Hg) in the edible portion of mussels, shrimps and fish are given in Table 2. For metals concentration, *P. perna* concentrate statistically ($p < 0.05$) more Cd and Pb than the other species. The Cd concentrations in soft tissue of *P. perna* ranged from 0.02 to $2.12 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ with a mean \pm sd of $0.39 \pm 0.63 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ and the Pb concentrations ranged from 0.02 to $0.84 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ with a mean \pm sd of $0.19 \pm 0.21 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$. The concentrations of Cd and Pb in *P. kerathurus* are low and in the same range of those found in *S. aurita* and in *S. senegalensis* (< 0.03 and $0.004 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$ respectively for Cd and Pb). For mercury, all species except *M. cephalus*, concentrated this metal in the same manner (Table 2). The highest level was registered in *S. melanotheron* ($0,019 \pm 0,014 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$) and the lowest in *M. cephalus* ($0,006 \pm 0,004 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$). For PAHs concentrations, the highest level was recorded in *S. aurita* (up to $0.019 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$) and the lowest levels were found in *S. senegalensis* ($0.001 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$). *S. aurita*

and *P. kerathurus* do not concentrate at all PCBs. The concentrations of PCBs in the other species were generally low ($<0.008 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$). These concentrations were lower or in the range of those measured in seafood from other coastal areas along the West African coast (e.g. for Pb, Cd and Hg: Kakulu et al., 1987; Romeo et al., 1999 ; Gnandi et al., 2011; Chahid et al., 2014 and for PAHs and PCBs : Soclo et al. , 2008; Gnandi et al., 2011; Bandowe et al., 2014). However, the concentrations of Cd in *P. perna* were higher than those found in other West African coastal areas (Morocco — Banaoui et al., 2004; Mauritania — Sidoumou et al., 2006). The concentrations in the edible tissues of the studied species were also in the medium range and comparable to other parts of the world (Storelli et al., 2003; Conti and Cecchetti, 2003; Storelli, 2008; Vieira et al., 2011; Kontas, 2012; Turkmen, 2012).

Table 2. Mean \pm SD concentration ($\text{mg kg}^{-1} \text{ dw}$) of Pb, Cd, Hg, PAHs, PCBi and PCB-DL in marine organisms. LOQ: Limits of quantification.

Species		Cd	Pb	Hg	PAHs	PCBi	PCB-DL
Penaeus	Min; max	0,01 ; 0,25	<LOQ ; 0,012	0,003 ; 0,032	0,008; 0,012	<LOQ	0
	Mean \pm SD	0,03 \pm 0,05	0,003 \pm 0,003	0,012 \pm 0,008	0,010	<LOQ	0
Perna	Min; max	0,019 ; 2,120	0,023 ; 0,842	0,004 ; 0,022	0,003 ; 0,020	0,001; 0,012	
	Mean \pm SD	0,394 \pm 0,634	0,185 \pm 0,213	0,011 \pm 0,006	0,008	0,006	0,017
Sardinella	Min; max	0,006 ; 0,03	0,005 ; 0,014	0,008 ; 0,032	0,008 ; 0,034	<LOQ	0
	Mean \pm SD	0,014 \pm 0,005	0,007 \pm 0,002	0,015 \pm 0,006	0,019	<LOQ	
Solea	Min; max	<LOQ ; 0,010	<LOQ ; 0,004	0,005 ; 0,021	0,0002 ; 0,0043	<LOQ ; 0,012	
	Mean \pm SD	0,007 \pm 0,003	0,004 \pm 0,001	0,012 \pm 0,005	0,001	0,005	0,003
Mugil	Min; max	NA	NA	0,002 ; 0,015	0,0018 ; 0,0032	<LOQ ; 0,027	
	Mean \pm SD	NA	NA	0,006 \pm 0,004	0,003	0,006	0,0016
Tilapia	Min; max	NA	NA	0,002 ; 0,064	0,0032 ; 0,018	0,007 ; 0,010	
	Mean \pm SD	NA	NA	0,019 \pm 0,014	0,010	0,0085	0,010

Trace metals and PACs in the aquatic environment can potentially bioaccumulate in marine organisms either by direct adsorption of dissolved compounds or through consumption of lower trophic level biota (Meador et al., 1995). Differences observed in elements' accumulation among the marine organisms in the present study highlights the important role of ecological and physiological factors in concentrating pollutants. These differences may be due to the

different biokinetics and assimilation efficiencies in the organisms studied here, and/or to differences in their ability to make metallothionein, but may also be a result of the different feeding habits and trophic levels of these organisms (Pastor et al., 1996; Amiard et al., 2006). It is well known that marine organisms have a tendency to accumulate heavy metals in a manner depending on their position in the food chain and their feeding habits (de Pinho et al. 2002).

Spatial concentration patterns

Inter-site differences of heavy metals and organic pollutants were observed (Figure 2). For mussels Soumbédioune (Site 2) was significantly ($p < 0.05$) the more contaminated by Cd ($1.021 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$) whereas Rufisque (Site 3) was significantly ($p < 0.05$) the more contaminated by Pb ($0.371 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$). These two sites were also characterized by the highest Hg concentration recorded in tilapia *S. melanotheron*. For the organic pollutants, Soumbédioune was more contaminated by PCBs whereas Rufisque exhibited higher levels of PAHs mainly in *S. aurita*. (Figure 2).

The metal pollution index (MPI) was calculated for each species and per site and were used to compare the total content of metals concentrated at different sampling sites (Table 3). Mean values of MPI considering all species were 0.0095; 0.0318; 0.0118; 0.0265; 0.0106 mg kg^{-1} respectively at Saint Louis (S1), Soumbédioune (S2), Hann (S3), Rufisque (S4) and Joal (S5). This allows us to establish the order of the most polluted to the less contaminated site as follows: $S2 > S4 > S3 > S5 > S1$ suggesting that Soumbédioune and Rufisque are the most contaminated sites and Joal and Saint Louis the less contaminated sites. Soumbédioune and Rufisque have the particularity to receive domestic waste waters from the surrounding downtown. Despite the domestic waste water, Soumbédioune receives the hospital wastewater and the fallout of atmospheric emission from road traffic. It is also marked by the presence of artisanal miners who might use mercury to extract gold. Rufisque is the seat of industrial wastewaters from the chemical industries of Senegal, the cement and the refinery plants. The location of Rufisque station near the Refining African society and cement factory

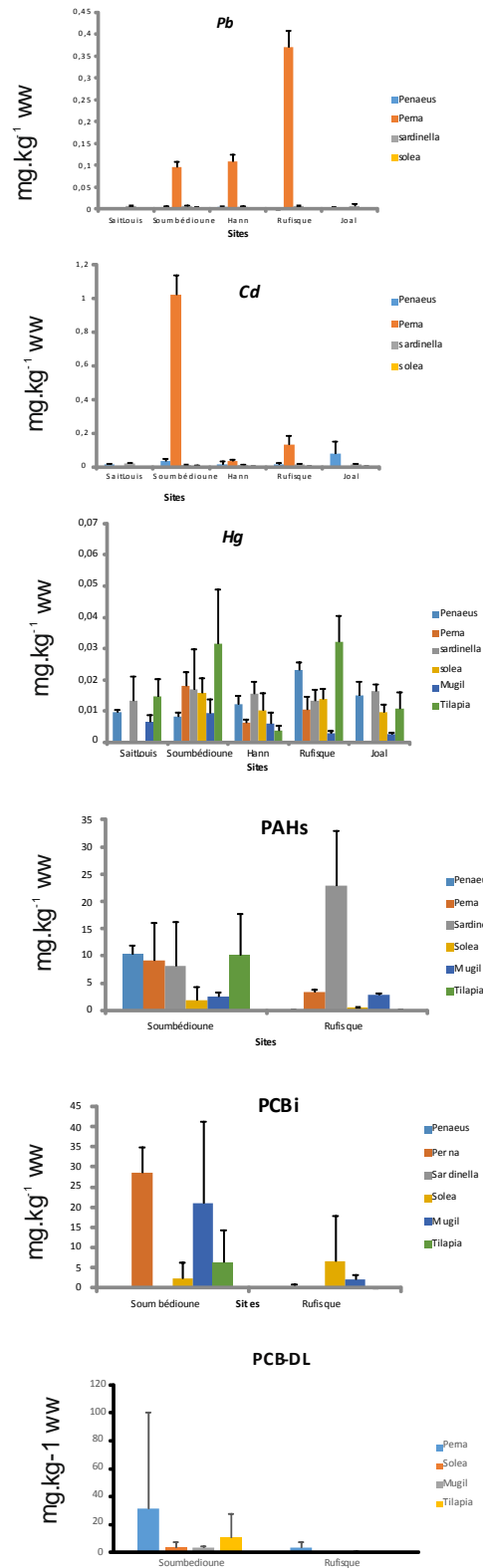


Figure 2. Mean \pm SD concentration (mg kg⁻¹ dw) of Pb, Cd, Hg, PAHs, PCBi and PCB-DL in marine organisms sampled at the different sites. LOQ: Limits of quantification;

could explain the highest level of organic pollutants found at this site and more particularly the PAH compounds. Net et al (2015) suggested that combustion should be the dominant source of PAHs in the studied areas.

Human health risk assessment

The accumulation of trace metals and HAPs and PCBs in marine organisms can negatively affect their health and productivity. Accordingly, it also affects the nutritional status and health of human populations who consume these seafood. Several countries as well as the WHO have therefore set maximum concentration limits of PAHs and trace metals in fish above which the health of humans who consume them is threatened. To assess the health risk associated with heavy metals and organic compound contaminants the mean concentration of each contaminant in each species was compared to the EU's guidelines values for human consumption (Table 1). For most species studied, the pollutant concentrations (Cd, Pb, Hg, Σ PAHs or Σ PCBs) were well below the EU's maximum level for human consumption (Table 4). However, at the polluted sites, 50% of the mussels from Soumbédioune presented value above the limit fixed for Cd ($1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$) and all sardinella from Rufisque concentrated PAHs above the guideline ($0.030 \text{ mg kg}^{-1} \text{ ww}$).

Several methods have been proposed for the assessment of the potential human health risks from chemical exposure. Current non-cancer risk assessment methods are typically based on the use of the target hazard quotient (THQ), a ratio between the estimated dose of a contaminant and the reference dose below which there will not be any appreciable risk (US EPA, 2000). If such ratio exceeds unity, there may be concern for potential health effects.

In this study, THQ indicated that health risks associated with heavy metal exposure via consumption of the fish's muscles or the edible tissues of mussels and shrimps were insignificant to human. Total TQH (TTQH) including Cd, Pb and Hg were <1 and did not indicate a danger to the local population except for mussels at polluted sites (Soumbédioune and Rufisque) where the total TQH values are slightly above 1 (Table 4). Except mussels from these two polluted sites, TTQH varied from 0.025 to 0.375.

Table 3: The metal pollution index (MPI) calculated for each species and per site.

Sites	Species	MPI
Saint Louis	Penaeus	0,0049
	sardinella	0,0120
	Mugil	0,0066
	Tilapia	0,0147
Soumbédioune	Penaeus	0,0102
	Perna	0,1214
	sardinella	0,0104
	solea	0,0078
	Mugil	0,0093
Hann	Tilapia	0,0314
	Penaeus	0,0101
	Perna	0,0288
	sardinella	0,0101
	solea	0,0101
Rufisque	Mugil	0,0060
	Tilapia	0,0038
	Penaeus	0,0032
	Perna	0,0832
	sardinella	0,0109
Joal	solea	0,0138
	Mugil	0,0030
	Tilapia	0,0321
	Penaeus	0,0169
	sardinella	0,0122
Joal	solea	0,0097
	Mugil	0,0025
	Tilapia	0,0109

The calculation of CR for each organic compounds in each species from each sites allows us to better understand the real cancer risk of PAHs and PCBs through seafood consumption. The CR resulting from lifetime exposure to the four more carcinogenic PAHs, 6 PCBi and the 12 PCB-DL via seafood consumption was calculated and compared to the acceptable guideline value of 1×10^{-6} set by the USEPA (Bandowe et al., 2014; Ding et al., 2012; Xia et al., 2012). The pollutants were measured only at the two main polluted sites (Sombédioune and Rufisque). The CR of organic pollutants via consumption of fish and seafood products ranged from 2.7×10^{-6} to 1.5×10^{-4} for PAHs, from 7×10^{-6} to 6×10^{-4} for PCBi and from 1.5×10^{-10} to 3.12×10^{-6} . for PCB-DL the results indicated that for PAHs and for PCBi, 90% and 83.3% of CR values respectively

have an excess carcinogenic risk (Table 5). For PCB-DL, all CR values are well below the guideline value. Similar results of PAHs CR were founded in Ghana by Bandowe et al., (2014). In all studied species, *Sardinella* from Rufisque showed the highest CR value of PAHs and *P. perna* from Soumbédioune showed the highest CR value of PCBs. Hence, particular attention may be taken in these two species from these areas. In addition, calculations necessarily underestimated the intakes and risks for children because they eat three to four times more food in proportion to their body size than do adults and therefore ingest larger amounts of chemical per unit of body mass (US EPA, 2008).

Table 4: Target hazard quotient (THQ) Total TQH (TTQH) calculated for each species and per site.

Sites	Species	Mean			THQ			TTHQ
		Cd	Pb	Hg	Cd	Pb	Hg	
Saint Louis	Penaeus	0,016	0,001	0,010	0,016	0,002	0,098	0,115
	sardinella	0,020	0,006	0,013	0,021	0,016	0,134	0,171
	Mugil	NA	NA	0,007			0,067	
	Tilapia	NA	NA	0,015			0,149	
Soumbédioune	Penaeus	0,033	0,004	0,008	0,033	0,010	0,085	0,128
	Perna	1,021	0,097	0,018	1,039	0,246	0,184	1,469
	sardinella	0,010	0,007	0,017	0,010	0,017	0,171	0,198
	solea	0,007	0,004	0,016	0,007	0,011	0,162	0,180
	Mugil	NA	NA	0,009			0,095	
	Tilapia	NA	NA	0,031			0,320	
Hann	Penaeus	0,017	0,005	0,012	0,017	0,013	0,123	0,153
	Perna	0,036	0,109	0,006	0,036	0,277	0,062	0,376
	sardinella	0,011	0,006	0,016	0,011	0,015	0,159	0,186
	solea	<LOQ	<LOQ	0,010			0,103	
	Mugil	NA	NA	0,006			0,061	
	Tilapia	NA	NA	0,004			0,039	
Rufisque	Penaeus	0,017	0,000	0,023	0,017	0,000	0,235	0,252
	Perna	0,132	0,371	0,010	0,134	0,943	0,106	1,184
	sardinella	0,015	0,006	0,013	0,016	0,016	0,136	0,168
	solea	<LOQ	<LOQ	0,014			0,141	0,141
	Mugil	NA	NA	0,003			0,030	0,030
	Tilapia	NA	NA	0,032			0,327	0,327
Joal	Penaeus	0,077	0,004	0,015	0,078	0,011	0,151	0,240
	sardinella	0,014	0,008	0,016	0,014	0,020	0,166	0,200
	solea	<LOQ	<LOQ	0,010			0,099	0,099
	Mugil	NA	NA	0,002			0,025	0,025
	Tilapia	NA	NA	0,011			0,111	0,111

Conclusion

This study provides the first database of heavy metals (Cd, Pb, Hg), PAHs and PCBs concentrations in relevant marine seafood species (mussels, shrimps and fish) from different trophic levels from the Senegalese coasts. Although the literature dealing with seafood contamination in West Africa is still insufficient, the comparison of available data with the present results revealed heavy metals, PAHs and PCBs concentrations in marine organisms from Senegal of the same order of magnitude as observed in the other African countries and even the more industrialized countries. The variation in levels of these contaminants between sites and among the different species, highlights the important role of the anthropogenic sources and the ecological and physiological factors in concentrating pollutants. Soumbédioune and Rufisque seem to be the most polluted sites. Soumbédioune was more contaminated by Cd and PCBs while Rufisque exhibited the highest levels of PAHs and Pb.

The concentrations of heavy metals, PAHs and PCBs in edible tissues of the studied marine seafood organisms analyzed were relatively low and below the limit values established by the European Community and pose no threat to public health. This confirms the results of previous studies on sediment contamination of the study area that showed that even if there is a strong influence of urban and industrial activities along the Senegalese coastal zone, sediment contamination by Cd, Pb, Hg and PAHs, PCBs were at moderate levels (Diop et al., 2014; Net et al., 2015). This is probably due to the tide which is responsible for the rapid renewal of sea water, therefore sedimentation processes are not preferred. This suggests that urban and industrial waste discharged into Dakar coastal zones could be diluted or transported rapidly seaward.

The target hazard quotient (THQ) indicated that health risks associated with heavy metal exposure via consumption of the fish's muscles or the edible tissues of mussels and shrimps were insignificant to human, except for mussels at polluted sites (Soumbédioune and Rufisque) where the total THQ values are slightly above 1. However, the calculation of the cancer risk (CR) indicated that for PAHs and for PCBs, 90% and 83.3% of CR values respectively have an excess carcinogenic risk. For PCB-DL, all CR values are well below the guideline value.

Senegalese people are large consumers of fish. The average consumption per capita of fish was 26 kg/person/year (FAO, 2005) and covered 70% of the need of animal protein. The risk assessment link to the consumption of heavy metals, PAHs and PCBs becomes more than a necessity. In terms of food safety, although mussels, shrimps and fish present contaminants amounts below the recommended legal limits established by the EU, this study suggests that

they must be eaten in moderation due to possible hazard and carcinogenic risks derived from PAHs and PCBi.

Table 5: The cancer risk (CR) calculated for each species and per site.

Sites		Concentration mg/kg ww			CR		
		HAPs	PCBi	PCB-DL	HAPs	PCBi	PCB-DL
Soumbédioune	Penaeus	10,27	0	0	6,8592E-05	0	0
	Perna	9,131	28,52	31,349	5,9332E-05	0,00057855	3,2926E-08
	Sardinella	8,13	0		5,4399E-05	0	0
	Solea	1,817	2,438	3,45	1,1461E-05	4,9457E-05	6,9986E-09
	Mugil	2,484	20,999	3,059	1,6553E-05	0,00042598	1,8616E-09
	Tilapia	10,074	6,371	10,189	6,4015E-05	0,00010358	6,2007E-09
Rufisque	Penaeus	0	0	3,105	0	0	0
	Perna	3,427	0,345		2,2922E-05	6,9986E-06	3,127E-06
	Sardinella	22,89	0	0	0,00015289	0	0
	Solea	0,529	6,67	0,253	2,6907E-06	0,00013157	0
	Mugil	2,921	2,208	0	1,9482E-05	4,4791E-05	1,5397E-10
	Tilapia	0	0	0	0	0	0

References

- Amiard JC, Amiard-Triquet C, Barka S et al (2006) Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquat Toxicol* 76: 160–202.
- Bandowe, B.A.M., Bigalke, M., Boamah, L., Nyarko, E., Saalia, F.K., Wilcke, W., 2014. Polycyclic aromatic compounds (PAHs and oxygenated PAHs) and trace metals in fish species from Ghana (West Africa): Bioaccumulation and health risk assessment. *Environment international* 65, 135–146.
- Blumer, Max. “Removal of Elemental Sulfur from Hydrocarbon Fractions.” *Analytical Chemistry* 29, no. 7 (1957): 1039–41.
- Castro-González, M., Méndez-Armenta, M., 2008. Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environmental toxicology and pharmacology* 26, 263–271.
- Chahid, A., Hilali, M., Benhachimi, A., Bouzid, T., 2014. Contents of cadmium, mercury and lead in fish from the Atlantic sea (Morocco) determined by atomic absorption spectrometry. *Food chemistry* 147, 357–360.
- Conti, M.E., Cecchetti, G., 2003. A biomonitoring study: trace metals in algae and molluscs from Tyrrhenian coastal areas. *Environmental Research* 93, 99–112.
- Cousin, X., Cachot, J., 2014. PAHs and fish-exposure monitoring and adverse effects-from molecular to individual level. *Environmental Science and Pollution Research* 21, 13685–13688.
- Cropper TE, Hanna E, Bigg GR (2014). Spatial and temporal seasonal trends in coastal upwelling off Northwest Africa, 1981–2012. *Deep Sea Res Pt I*: 86: 94-111.

- de Pinho, Alexandra Penedo, Jean Remy Davée Guimarães, Agnaldo S Martins, PAS Costa, G Olavo, and Jean Valentin. "Total Mercury in Muscle Tissue of Five Shark Species from Brazilian Offshore Waters: Effects of Feeding Habit, Sex, and Length." *Environmental Research* 89, no. 3 (2002): 250–58.
- Ding, L., Li, Y., Wang, P., Li, X., Zhao, Z., Zhang, Q., Tuan, T., Jiang, G., 2012. Seasonal trend of ambient PCDD/Fs in Tianjin City, northern China using active sampling strategy. *Journal of Environmental Sciences* 24, 1966–1971.
- Diop, C., Dewaelé, D., Diop, M., Touré, A., Cabral, M., Cazier, F., Fall, M., Diouf, A., Ouddane, B., 2014. Assessment of contamination, distribution and chemical speciation of trace metals in water column in the Dakar coast and the Saint Louis estuary from Senegal, West Africa. *Marine pollution bulletin* 86, 539–546.
- EC, 2015. No 2015/1005 of 25 June 2015 amending Regulation (EC) no 1881/2006 as regards the maximum levels for lead in foodstuffs. *Off. J. Eur. L* 58, L 161/9.
- EC, 2014. No 488/2014 of 12 May 2014 amending Regulation (EC) no 1881/2006 as regards the maximum levels for cadmium in foodstuffs. *Off. J. Eur. L* 57, L 138/75
- EC (2008) No 629/2008 of 2 July 2008 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official. J. European* 51, L 173/6, 4 pages.
- EC (2006) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official. J. European* 49, L 364: 5–24.
- FAO (2006) Report of the FAO Working Group on the assessment of small pelagic fish off Northwest Africa. Banjul, Gambia, 2–11 May 2006. *FAO Fish. Report* 811, 192 pages.
- Förstner, Ulrich, Michael Kersten, and Reinhard Wienberg. "Geochemical Processes in Landfills." In *The Landfill*, 39–81. Springer, 1989.
- Gnandi, K., Bandowe, B.A.M., Deheyn, D.D., Porrachia, M., Kersten, M., Wilcke, W., 2011. Polycyclic aromatic hydrocarbons and trace metal contamination of coastal sediment and biota from Togo. *Journal of Environmental Monitoring* 13, 2033–2041.
- Iqbal, J., Shah, M.H., 2014. Study of seasonal variations and health risk assessment of heavy metals in *Cyprinus carpio* from Rawal Lake, Pakistan. *Environmental monitoring and assessment* 186, 2025–2037.
- Jeanneau, Laurent. "Approche Moléculaire Quantitative Appliquée à L'étude Du Transfert de Micropolluants Organiques à La Confluence Entre La Fensch et La Moselle (France)," 2007.
- Kakulu, S., Osibanjo, O., Ajayi, S., 1987. Trace metal content of fish and shellfishes of the Niger delta area of Nigeria. *Environment international* 13, 247–251.
- Kontas, A., 2012. A case study of trace metals in suspended particulate matter and biota before wastewater treatment plant from the Izmir Bay, Turkey. *Environmental monitoring and assessment* 184, 2605–2616.
- Meador, JP, Edmundo Casillas, CA Sloan, and U Varanasi. "Comparative Bioaccumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Sediment by Two Infaunal Invertebrates." *Marine Ecology Progress Series. Oldendorf* 123, no. 1 (1995): 107–24.
- Narvaes, DM. "Human Exposure to Mercury in Fish in Mining Areas in the Philippines," 2002.
- Net, S., Henry, F., Rabodonirina, S., Diop, M., Merhaby, D., Mahfouz, C., Amara, R., Ouddane, B., 2015. Accumulation of PAHs, Me-PAHs, PCBs and total mercury in sediments and marine species in coastal areas of Dakar, Senegal: contamination level and impact. *Int. J. Environ. Res* 9, 419–432.
- Oliva, M., de Canales, M.G., Gravato, C., Guilhermino, L., Perales, J., 2010. Biochemical effects and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in senegal sole (*Solea senegalensis*) from a Huelva estuary (SW Spain). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73, 1842–1851.

- Pastor, D., Boix, J., Fernandez, V., Albaiges, J., 1996. Bioaccumulation of organochlorinated contaminants in three estuarine fish species (*Mullus barbatus*, *Mugil cephalus* and *Dicentrarchus labrax*). *Marine Pollution Bulletin* 32, 257–262.
- Romeo, M., Siau, Y., Sidoumou, Z., Gnassia-Barelli, M., 1999. Heavy metal distribution in different fish species from the Mauritania coast. *Science of the Total Environment* 232, 169–175.
- Rose, J., Hutcheson, M.S., West, C.R., Pancorbo, O., Hulme, K., Cooperman, A., Decesare, G., Isaac, R., Screpetis, A., 1999. Fish mercury distribution in Massachusetts, USA lakes. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18, 1370–1379.
- Sidoumou, Z., Gnassia-Barelli, M., Siau, Y., Morton, V., Romeo, M., 2006. Heavy metal concentrations in molluscs from the Senegal coast. *Environment international* 32, 384–387.
- Soclo, H., Budzinski, H., Garrigues, P., Matsuzawa, S., 2008. Biota accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in Benin coastal waters. *Polycyclic Aromatic Compounds* 28, 112–127.
- Storelli, M., 2008. Potential human health risks from metals (Hg, Cd, and Pb) and polychlorinated biphenyls (PCBs) via seafood consumption: estimation of target hazard quotients (THQs) and toxic equivalents (TEQs). *Food and Chemical Toxicology* 46, 2782–2788.
- Storelli, M., Ceci, E., Storelli, A., Marcotrigiano, G., 2003. Polychlorinated biphenyl, heavy metal and methylmercury residues in hammerhead sharks: contaminant status and assessment. *Marine Pollution Bulletin* 46, 1035–1039.
- Taweel, A., Shuhaimi-Othman, M., Ahmad, A., 2013. Assessment of heavy metals in tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) from the Langat River and Engineering Lake in Bangi, Malaysia, and evaluation of the health risk from tilapia consumption. *Ecotoxicology and environmental safety* 93, 45–51.
- Turkmen, G., 2012. Seasonal Variation of Heavy Metals in Shrimp *Penaeus kerathurus* (Forsk., 1775) from Izmir Bay, Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 11, 2839–2844.
- UNICEF, 2015. http://www.unicef.org/french/infobycountry/senegal_statistics.html (visité le 20/02/2016).
- USEPA, 1989. Risk Assessment Guidance for Superfund, Vol.I. Human Health Evaluation Manual, EPA/540/1-89/002. December
- U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA) (1997). *Special Report on Environmental Endocrine Disruption: An Effects Assessment and Analysis*. EPA/630/R-96/012.
- US EPA, 1998. Temporary suspension of toxicity characteristic rule for specified lead-based paint debris, EPA 40 CFR, Parts 260 and 261. Fed. Reg. 63, 28555–70249.
- US EPA (Environmental Protection Agency), 2000. Guidance for assessing chemical contaminant. Data for Use in Fish Advisories. Fish sampling and analysis, 3rd ed. Washington DC: Office of Water. [EPA 823-R-95-007].
- USEPA, 2008. IRIS Database for Risk Assessment. <http://www.epa.gov/iris>
- US EPA (Environmental Protection Agency), 2011. Priority Pollutants. <http://www.epa.gov/NE/npdes/permits/generic/prioritypollutants.pdf>.
- Vieira, C., Morais, S., Ramos, S., Delerue-Matos, C., Oliveira, M., 2011. Mercury, cadmium, lead and arsenic levels in three pelagic fish species from the Atlantic Ocean: intra- and inter-specific variability and human health risks for consumption. *Food and Chemical Toxicology* 49, 923–932.
- Xia, C., Lam, J.C., Wu, X., Xie, Z., Lam, P.K., 2012. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in marine fishes from China: Levels, distribution and risk assessment. *Chemosphere* 89, 944–949.

Yi, Yujun, Zhifeng Yang, and Shanghong Zhang. “Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in Sediment and Human Health Risk Assessment of Heavy Metals in Fishes in the Middle and Lower Reaches of the Yangtze River Basin.” *Environmental Pollution* 159, no. 10 (2011): 2575–85.

Zweig, R.D., Morton, J.D., Stewart, M.M., 1999. Source water quality for aquaculture: a guide for assessment.

Chapitre IV

Assessment of freshness and freeze-thawing of sea bream fillets

(*Sparus aurata*) by a cytosolic enzyme: lactate dehydrogenase

Food chemistry : (2016), 210 : 428-434

Résumé

Aujourd'hui on estime qu'une partie non négligeable du marché des produits aquatiques dit « frais » est alimenté par des produits congelés/décongelés. La directive européenne 2000/13/EC considère ces pratiques comme illégales. Cependant ces conduites frauduleuses n'arrivent toujours pas à être pénalisées en raison des faibles moyens techniques mis en œuvre pour distinguer les produits frais des produits décongelés. Il est donc utile pour la filière pêche de disposer dans un avenir proche, de moyens simples et fiables pour permettre la détection de telles pratiques.

Il existe aujourd'hui quelques méthodes permettant de faire la distinction entre poissons frais et poissons décongelés (Duflos et al., 2002) mais ces méthodes sont surtout applicables aux poissons entiers. Le travail qui va suivre s'intéresse à la mise au point d'une approche permettant de faire la distinction entre des filets frais et des filets congelés/décongelés de daurade royale.

Des travaux antérieurs au laboratoire ont permis de montrer que le choc congélation/décongélation entraînait une rupture des membranes plasmiques et intracytoplasmiques sur des filets de bar. Ethuin et al (2015) ont montré que la congélation conduisait à un enrichissement des exsudats de filets décongelés/décongelés en protéines et plus particulièrement en une protéine sarcoplasmique : la parvalbumine. La lyse cellulaire conduit à l'enrichissement des exsudats en divers composants cellulaires.

Un des objectifs de ce travail a été de quantifier cette lyse cellulaire pour mieux comprendre les phénomènes d'autolyse (lyse cellulaire associée au filet frais), de la lyse associée au choc congélation/décongélation. Le marqueur que nous avons retenu est la « lactate deshydrogénase ». C'est une enzyme ubiquitaire qui est couramment utilisée pour mesurer le niveau de lyse cellulaire d'une culture ou d'un tissu. Cette enzyme est intéressante à double titre car elle reflète le niveau de lyse cellulaire et elle est d'autre part sensible à la congélation. La première partie de ce travail a consisté à regarder si la LDH pouvait constituer un marqueur de lyse cellulaire fiable sur une lignée fibroblastique de dorade royale et sur filet de dorade. Nous avons regardé si le niveau de LDH dans le milieu extracellulaire corrélait avec le temps de conservation à 4°C et s'il pouvait constituer un marqueur de fraîcheur des filets de daurade royale.

La seconde partie du travail a consisté à étudier si la LDH pouvait constituer un marqueur de congélation/décongélation. La LDH étant sensible à la congélation (Carpenter et al., 1993 ; Izutsu et al., 1993 ; Jiang et Nail, 1997), nous avons étudié dans quels contextes cellulaires et tissulaires, la LDH était la plus vulnérable. Ce travail nous a permis de mieux appréhender les

phénomènes de lyse cellulaire associés au choc congélation/décongélation et de mieux cerner les limites d'utilisation de la LDH comme un marqueur de congélation.

***Assessment of freshness and freeze-thawing of sea bream fillets (*Sparus aurata*)
by a cytosolic enzyme: lactate dehydrogenase***

Short title: Assessment of freshness and freeze-thawing by lactate dehydrogenase

Mamadou Diop^{a,g}, Denis Watier^{b,c,d,e,f}, Pierre-Yves Masson^b, Amadou Diouf^g, Rachid Amara^a,
Thierry Grard^{b,c,d,e,f} §* and Philippe Lencel^{b,c,d,e,f} §

^a*Univ. Littoral Côte d'Opale, CNRS, Univ. Lille, UMR 8187, LOG, Laboratoire d'Océanologie
et de Géosciences, 32 Avenue Foch, Wimereux, France*

^b*Univ. Littoral Côte d'Opale, USC ANSES, EA 7394 – ICV – Institut Charles Viollette, F-62200
Boulogne sur Mer, France*

^c*Univ. Lille, F-59000 Lille, France*

^d*Univ. Artois, F-62000 Arras, France*

^e*INRA*

^f*ISA, F-59000 Lille, France*

^g*Université Cheikh Anta DIOP de Dakar, Laboratoire de Toxicologie et d'Hydrologie,
BP 5005, Dakar Sénégal*

§T. Grard and P. Lencel share co-authorship of this article.

*Corresponding author: Tel: +33 3 21 99 45 20; Fax: +33 3 21 99 45 08.

E-mail address: thierry.grard@univ-littoral.fr (T. Grard).

Abstract

The evaluation of freshness and freeze-thawing of fish fillets was carried out by assessment of autolysis of cells using a cytosolic enzyme lactate dehydrogenase. Autolysis plays an important role in spoilage of fish and postmortem changes in fish tissue are due to the breakdown of the cellular structures and release of cytoplasmic contents. The outflow of a cytosolic enzyme, lactate dehydrogenase, was studied in sea bream fillets and the *Sparus aurata* fibroblasts (SAF-1) cell-line during an 8 day storage period at +4°C. A significant increase of lactate dehydrogenase release was observed, especially after 5 days of storage. The ratio between the free and the total lactate dehydrogenase activity is a promising predictive marker to measure the quality of fresh fish fillets. The effect of freeze-thawing on cytosolic lactate dehydrogenase and lysosomal α -D-glucosidase activities was also tested. Despite the protecting effect of the tissue compared to the cell-line, a loss of lactate dehydrogenase activity, but not of Alpha-D-glucosidase, was observed. In conclusion, lactate dehydrogenase may be used as a marker to both assess freshness of fish and distinguish between fresh and frozen-thawed fish fillets.

Keywords: Lactate dehydrogenase, autolysis, sea bream (*Sparus aurata*), fish cell lines SAF-1, frozen-thawed, fish freshness

Highlights:

Lactate dehydrogenase is relatively stable over time.

Lactate dehydrogenase release is associated with autolysis.

Lactate dehydrogenase is sensitive to the freeze-thawing shock.

Lactate dehydrogenase could be a marker of fish freshness.

Chemical compounds used in this article:

L-glutamine (PubChem CID 5961); penicillin (PubChem CID 5904); streptomycin (PubChem CID 19649); disodium phosphate (PubChem CID 24203); monosodium phosphate (PubChem CID 23672064); sodium chloride (PubChem CID 5234); hydrochloric acid (PubChem CID 313); Iodonitrotetrazolium chloride (PubChem CID 64957)

1. Introduction

Freshness is a key factor determining the quality of fish for human consumption. The alterations in fish tissues begin rapidly post-mortem and proceed through biochemical, physicochemical and microbial mechanisms (Ahmed, Donkor, Street, & Vasiljevic, 2015; Ocaño-Higuera, Maeda-Martínez, Marquez-Ríos, Canizales-Rodríguez, Castillo-Yáñez, Ruíz-Bustos, et al., 2011). They depend considerably on species, age at the time of capture, slaughter methods, methods and temperature of storage (Álvarez, García García, Garrido, & Hernández, 2008) which is the most important factor in the shelf life of fresh fish (Heising, van Boekel, & Dekker, 2014).

An assessment of fish freshness can be based on sensory (Alasalvar, Taylor, Öksüz, Garthwaite, Alexis, & Grigorakis, 2001), physical, chemical, biochemical and microbiological methods (Ocaño-Higuera, et al., 2011; Olafsdóttir, Martinsdóttir, Oehlenschläger, Dalgaard, Jensen, Undeland, et al., 1997). Different methods have been developed to evaluate the state of fish freshness, such as detection of chemical changes (ATP degradation, proteolysis, lipid hydrolysis and oxidation) (Hernandez-Herrero, Duflos, Malle, & Bouquelet, 2003; Watanabe, Tamada, & Hamada-Sato, 2005; Yarnpakdee, Benjakul, Nalinanon, & Kristinsson, 2012), enzymatic methods (Volpe & Mascini, 1996) and spectrofluorimetric and spectroscopic methods (Hassoun & Karoui, 2015; Pérez-Esteve, Fuentes, Grau, Fernández-Segovia, Masot, Alcañiz, et al., 2014).

The spoilage of fish post-mortem can be divided into two categories: autolytic and bacterial spoilage (Aubourg, Quitral, Angélica Larraín, Rodríguez, Gómez, Maier, et al., 2007). The autolytic spoilage in fish is less perceptible than bacterial spoilage, but plays an important role in the first few days after fish slaughtering or fishing. While there is a breakdown of anabolic and biosynthetic processes after death, some catabolic and degrading reactions are still active in post-mortem fish muscle (Ahmed, Donkor, Street, & Vasiljevic, 2015; Mukundan, Antony, & Nair, 1986). Fish muscle lysosomes contain many enzymatic systems able to degrade fish cells (cell components such as carbohydrates, fatty acids, nucleic acids and proteins) (Ahmed, Donkor, Street, & Vasiljevic, 2015; Fowler & Park, 2015). All these enzymes are involved in making cell membranes permeable and so releasing intracellular components which are important for bacterial growth.

The act of freezing then thawing (freeze-thawing) leads to the breakdown of cells in fish tissue. Determining fish freshness and differentiating fresh from frozen-thawed fish, remain a challenge in the fishing and food industries, especially in the case of skinless fish fillets.

For several decades conservation methods have been developed for fresh fish products and freezing and super-chilling methods have emerged as promising to prolong shelf life (Erikson, Misimi, & Gallart-Jornet, 2011; Kaale & Eikevik, 2014). According to article 4 of EC Regulation (2000/13/EC) frozen fish sold as fresh fish is considered to be a “commercial fraud”. However, to date, there is no reliable method to detect this practice.

There are, nevertheless, several methods able to differentiate between fresh and frozen-thawed fish. The majority are relevant for whole fish, such as measurement of the opacity of fish eye lens (Alberio, Barbagallo, Todaro, Bono, & Spagna, 2014), determination of the hematocrit and enzyme activity from blood cells, or measurements of the bioelectrical impedance of tissues (Vidaček, Medić, Botka-Petrak, Nežak, & Petrak, 2008).

Ethuin, Marlard, Delosière, Carapito, Delalande, Van Dorsselaer, et al. (2015) developed a method to differentiate fresh from frozen-thawed fish based on the analysis of the fish fillet exudate composition, more or less rich in released proteins. The amount of release proteins increases during the storage time of fresh fish fillets. Moreover, during freezing, the formation of large ice crystals leads to high mechanical damage in cells (Acker & McGann, 2003). During thawing, the diluted external medium increases hydrostatic pressure in cells and induces the rupture of plasma membrane (Mazur, 2010; Takamatsu & Zawlodzka, 2006). The fish fillet exudate is then particularly enriched in intracellular enzymes. Many studies have analysed lysosomal enzymes as markers to verify the level of cellular degradation (Bahuaud, Mørkøre, Østbye, Veiseth-Kent, Thomassen, & Ofstad, 2010; Duflos, Lefur, Mulak, Becel, & Malle, 2002).

The cytosolic enzyme lactate dehydrogenase (LDH) is commonly used as a cell lysis marker in medical and toxicology domains (Bolwell, Pohlman, Kalaycio, Wise, Goormastic, & Andresen, 1999; Morcillo, Esteban, & Cuesta, 2016; Souza, Henriques-Pons, Bailly, Lansiaux, Araújo-Jorge, & Soeiro, 2004; Weidmann, Brieger, Jahn, Hoelzer, Bergmann, & Mitrou, 1995). The first purpose of this work was to study the role of this enzyme as an autolysis marker in fish fillet. The stability of this enzyme over time at 4 °C was explored. Then, the study focused on the proportionality between cell lysis level and LDH accumulation in the extracellular medium in aim to use the LDH as a marker of fish freshness.

The second purpose of this work was to study the role of the LDH as a potential marker of freeze-thawing. The LDH is indeed very sensitive to the frozen-thawed shock (Robles, Cabrita, de Paz, Cuñado, Anel, & Herráez, 2004; Seguro, Tamiya, Tsuchiya, & Matsumoto, 1989) but its denaturation is dependent to the cellular and tissular contexts (Göller & A. Galinski, 1999). To better understand the influence of cellular organization on the LDH denaturation, the model

of sea bream was chosen using both fillets and fibroblast cell lines. The LDH release and the loss of LDH activity by freeze-thawing were investigated in different conditions using α -D-glucosidase (AGLUC) as freezing-insensitive marker.

All the LDH properties have shown the interest of this enzyme for measuring the fish fillets quality.

2. Materials and methods

1.1.1 2.1. Biological materials

2.1.1. SAF-1 cells

The SAF-1 (*Sparus aurata* fibroblasts) cells (ECACC, European Collection of Cell Culture, United Kingdom), established from gilthead sea bream fibroblasts, were cultured in RPMI medium supplemented with 2% L-glutamine, 100 U.ml⁻¹ penicillin, 100 μ g.ml⁻¹ streptomycin, 10% fetal bovine serum (FBS) (D. Dutscher, Brumath, France) and 30mM NaCl. The cells were seeded at 8000 cells/cm² in flasks and grown at 25°C with 5% CO₂ to 80-90% confluence in a CO₂ incubator (Grosseron, Saint Herblain, France) before the experiments.

2.1.2. Fish muscle

The sea bream (*Sparus aurata*) came from Aquanord sea farm (Gravelines, France). Breeding conditions were: temperature 18 \pm 6 °C, pH 8.2, total ammonia < 30 μ mol.L⁻¹, dissolved oxygen above 99% (v/v) to saturation (7 ppm). For an average body weight of 500 g (\pm 120) the sea breams were killed by asphyxiation/hypothermia. The fish were then kept on ice (0-+2°C). Fish were skinned and filleted rapidly by “Centre de Formation des Produits de la Mer et de la Terre (CFPMT)” (Boulogne-sur-Mer, France).

2.2. Naming conventions enzymes

The two enzymes studied were lactate dehydrogenase (LDH) (EC 1.1.1.27) and α -D-glucosidase (AGLUC) (E.C. 3.2.1.20). These enzymes may be present into two forms: free enzymes (free LDH and free AGLUC) and total enzymes (total LDH and total AGLUC) forms. The free enzyme is located in the extracellular medium and/or in solution. The total enzyme corresponds to the combination of the free enzyme and the intracellular enzyme.

2.3. Autolysis evaluation

2.3.1. Lysis kinetics of SAF-1 cells

The effect of storage at +4°C on SAF-1 cells in phosphate buffer without nutrients was first studied. The measurement of LDH activity was analyzed during the SAF-1 cells lysis. The accumulation effect of LDH in the culture medium (PBS) was also looked for. Cells autolysis was induced by changing the RPMI medium with PBS supplemented with 30 mM NaCl. The buffer was prepared with 450 mL of Steril Pure Water (PAN-BIOTECH, Dutscher, France), 50 ml of PBS 10X (Steril PBS buffer) (Biosolve Chimie, Dieuze, France) and 30 mM NaCl. At day 0, height flasks T175, which containing exactly 8000 cells/cm², were cultured at +25°C. After growing for 48h, the cultures were incubated at +4°C in 40 ml of PBS (30 mM NaCl). After 2 hours of incubation, one flask was removed, the cells and the supernatant were taken in a 50 ml tube and the total viable cells were counted and the supernatant was used to measure the free LDH. Every day until day 8, one flask/day was taken out; the supernatant was taken after centrifugation at 1500 rpm and stored at +4°C until analysis of free LDH and free AGLUC.

2.3.2. Autolysis measurement in muscle

The same approach on LDH activity was studied in sea bream muscle (fillets). The sea bream fillets were stored at +4°C on crushed ice for 8 days. Crushed ice was renewed daily. Three fillets at different sampling points (head, back, tail) per day were used to limit the LDH concentration variability. In each fillet, three cubes of about 500 mg were taken out every day. Each cube was weighed and introduced into a 50 ml tube to measure the activity of free and total LDH.

2.4. Measurement of the effect of freeze-thawing on the LDH activity of SAF-1 cells and sea bream muscle

2.4.1. Experiment in SAF-1 cells and sea bream muscle

The enzymes were examined in four different sets of conditions. The first three were in SAF-1 cells and the fourth in sea bream muscle: i) free enzyme in solution; ii) intracellular enzyme in the cell suspension; iii) intracellular enzyme in the pelleted cells and; iv) intracellular enzyme in tissue cells from sea bream muscle. For each of the first three conditions, 1.4×10^6 cells were centrifuged (at 1500 rpm for 5 min at +4°C) and were inserted in PBS at 30 mM NaCl. For condition i, the cells were sonicated by ultrasound (1 min with pulses of 0.5 s, 100W, 24 kHz) then centrifuged at 1500 rpm for 5 min at +4°C. The supernatant was collected in a 15 ml tube. For condition ii, the cells were suspended in PBS at 30 mM NaCl by vortexing. For condition iii, the cells pellet was kept in the 15 ml tube. For these three firsts conditions, all tubes were divided into two lots (three fillets from three different fish per lot). The first lot was stored at +4°C for 24 hours. The second lot was quickly frozen (2°C/min) then stored at -20°C for 24

hours and then completely thawed at room temperature. For the fourth condition, sea bream muscle was divided into two lots (three fillets from three different fish per lot). The first was stored at +4°C for 24 hours. The second was quickly frozen (0.3°C/min) then stored at -20°C for 24 hours and then completely thawed at room temperature. 500 mg cubes (3 cubes per fillet at three different points) were taken and introduced into 50 mL tubes. The tubes were then used to determine the activities of total LDH and total AGLUC.

2.4.2. *Experiments in sea bream fillets*

Given its sensitivity to freezing, LDH activity was tested to distinguish the difference between fresh and frozen-thawed sea bream fillets. The fillets were divided into two lots. The first one was stored at +4°C. The second one was quickly frozen (0.3°C/min) then stored at -20°C for 24 hours and then completely thawed at room temperature. For both lots, different mass cubes were taken (100 mg to 1000 mg) and introduced into 50 mL tubes. The tubes were then used to determine the activity of free and total LDH.

2.5. *Lactate dehydrogenase (LDH) and α -D-glucosidase (AGLUC) activity assays*

For the SAF-1 cells, the free LDH activity was measured from the supernatant obtained by centrifugation at 1500 rpm for 5 min at +4°C. The total LDH activity was measured after sonication of the cells by ultrasound (1 min with pulses of 0.5 s, 100W, 24 kHz). The relative activity of the LDH corresponded to the ratio between free LDH activity and total LDH activity. For the sea bream muscle, each tube contained a muscle cube (about 1 cm³) and 15 ml of PBS (30 mM of NaCl). The tubes were shaken at 200 rpm for 1h at 4 ° C. They were centrifuged after at 1500 rpm for 5 min at +4°C. One milliliter of the supernatant was removed and stored at +4°C until measurement of the activity of free AGLUC and free LDH. The remainder of the tube was crushed by Ultra Turrax (Labomoderne, Paris, France) with T-10 basic disperser of 10 mm, 1/cs (1 min, 24 000 rpm) and then sonicated by ultrasound (1 min 100W, 24 kHz) to release all the enzymes contained in the cells. The tubes were centrifuged at 3400 rpm for 5 min at +4°C. One milliliter of supernatant was taken for measurement of the activity of total AGLUC and/or total LDH. The relative activity of the LDH corresponded to the ratio between the free LDH activity (released LDH) and the total LDH activity (intra- and extracellular LDH obtained by crushing and muscle sonication).

2.5.1. *Activity measurement of LDH*

The activity of LDH (free and total LDH) was measured as described in the kit "Cytotoxicity Detection Kit (LDH)" (Roche, Boulogne Billancourt, France). Cell lysis was measured by

detecting LDH activity released from damaged cells. The assay was based on the reduction of a tetrazolium salt in formazan when LDH was present. Unlike SAF-1 cells samples, sea bream muscle samples were diluted to 1/80th in PBS at 30 mM NaCl. In 96-well clear (MP), 100 μ L of sample (100 μ L of PBS for the blank) and 100 μ l of the reagent kit were introduced into a well. The air bubbles were removed with a needle and then the plate was incubated at +20°C in the dark. At various times, the absorbance of formazan was measured at 490 nm using a microplate spectrophotometer (Biotek, Colmar, France). The reaction was stopped with 50 μ l of HCl per well. Triplicates were performed on each sample and the results were directly averaged. The LDH activity is expressed in mmol of formed Formazan \times min⁻¹ \times mg⁻¹ of proteins. The amount of proteins was determined using the Bradford method ([Bradford, 1976](#)) with the Bio-Rad reagent (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) and bovine serum albumin (BSA) as standards. For the SAF-1 cells, activities were directly expressed. For sea bream muscle, activities were expressed by gram of muscle.

2.5.2. Activity measurement of AGLUC

The AGLUC activity was measured according to the method of [Nilsson and Ekstrand \(1993\)](#) modified by [Benjakul and Bauer \(2001\)](#). For sea bream muscle, activities were expressed by gram of muscle.

2.5. Statistical analyses

Statistics were performed with “XLSTAT- Pro” 2014 (Addinsoft, Paris, France). Differences of LDH or AGLUC activities between fresh and frozen-thawed fillets were analyzed with a one-way ANOVA, followed by a post-hoc Tukey tests. If data did not comply with the parametric assumption of normality and homogeneity of variance, the non-parametric Kruskal Wallis test and Mann Whitney U test for post hoc pair-wise comparisons were used.

3. Results

3.1. LDH stability measurement

The measurement of the free LDH activity (expressed in mmol.L⁻¹.min⁻¹.mg⁻¹ of protein) of a SAF-1 cells suspension - sonicated, ultra-centrifuged and stored at +4°C over a period of 8 days - showed a lack of LDH denaturation on time (3.2 at day 0; 2.4 at day 2; 3.1 at day 4; 3.3 at day 6; 3.55 at day 8) (Fig. 1).

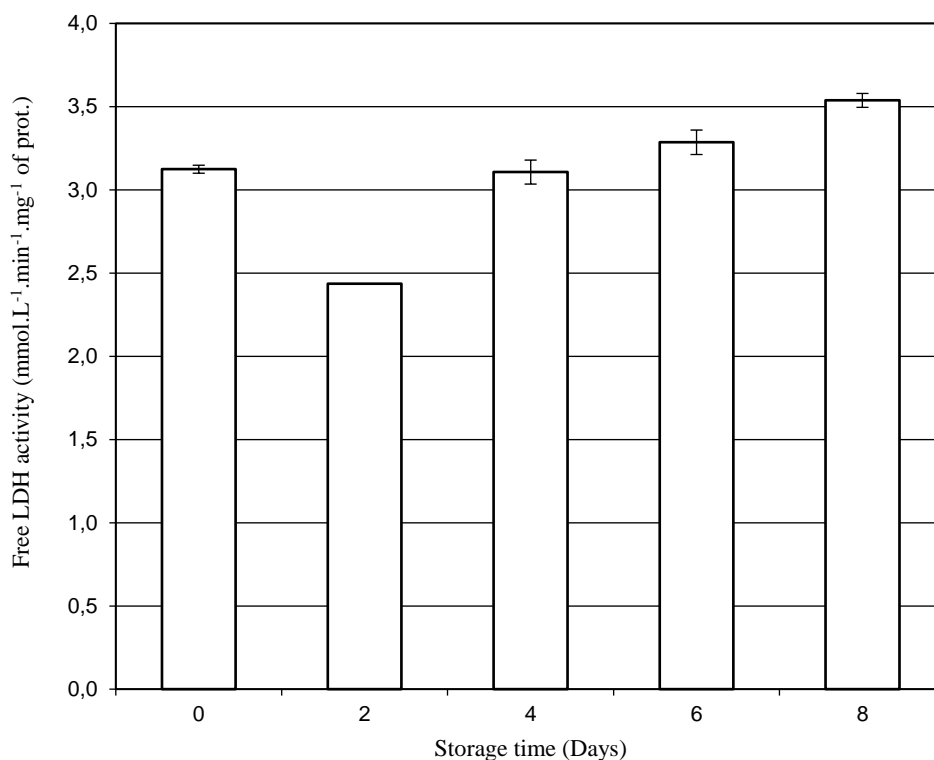


Fig. 1. Stability of free LDH activity in SAF-1 cells expressed in mmol.L⁻¹.min⁻¹.mg⁻¹ of prot. Free enzyme in solution (lysed cells) was kept at +4°C. Bars indicate the standard deviation

3.2. Kinetics of SAF-1 cells alteration

The number of viable SAF-1 cells and the LDH activity in the supernatant were respectively followed (Fig. 2). The results showed that changes in free LDH activity in the supernatant derived directly from the cell lysis. At day 0, the number of surviving cells was evaluated at 2.85 million and free LDH activity, corresponding to LDH released in the extracellular medium, represented 1 %. In contrast, at day 8 when the number of surviving cells corresponded to 0.85 million, the free LDH activity was highest and recorded at 35 %.

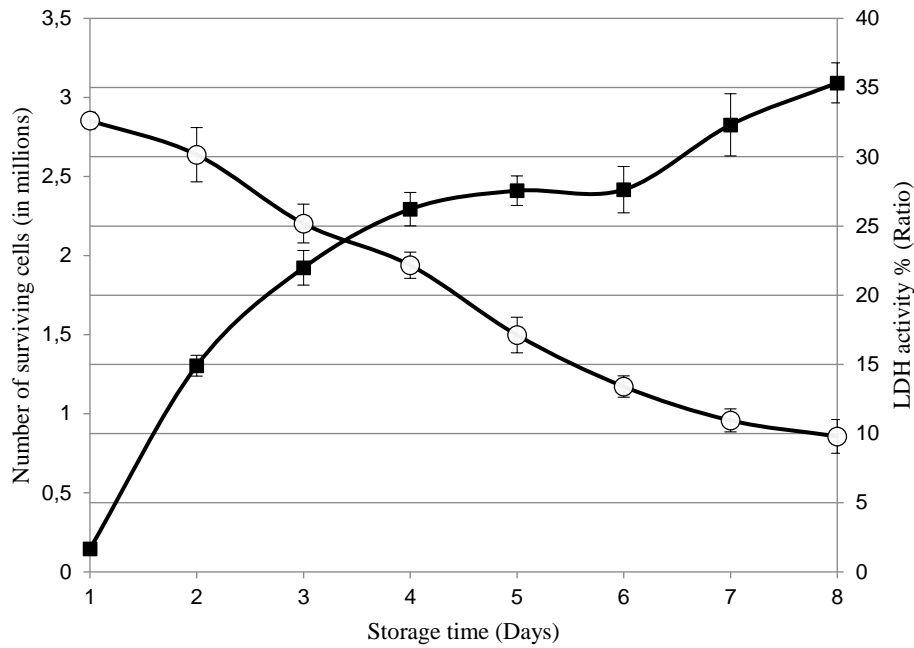


Fig. 2. Lysis kinetics of SAF-1 cells (white circles) and release of free LDH in the extracellular medium (black squares).

3.3. Kinetics of alteration of sea bream fillets stored at +4°C

The LDH activity percentage (LDH activity %) was defined as the percentage of the free LDH activity released from the sea bream muscle with respect to the total LDH activity in the sample and was studied in sea bream fillets during 8 days of storage at +4°C. An increased LDH activity % was observed over time (Fig. 3) reflecting the free LDH activity increase. The non-parametric Kruskal Wallis test allowed distinguishing 2 significantly different zones (zone 1 and zone 2) ($P < 0.001$). Zone 1 corresponded to a low LDH activity % (less than 10%) and thus a relatively low level of autolysis between day 0 and day 2. Zone 2 corresponded to a significant increase of LDH activity % expressing an autolysis level increase from day 4. A third zone was defined by a significant difference between the autolysis at days 7 and 8 and the autolysis at day 6 (Mann Whitney U test: $P < 0.05$).

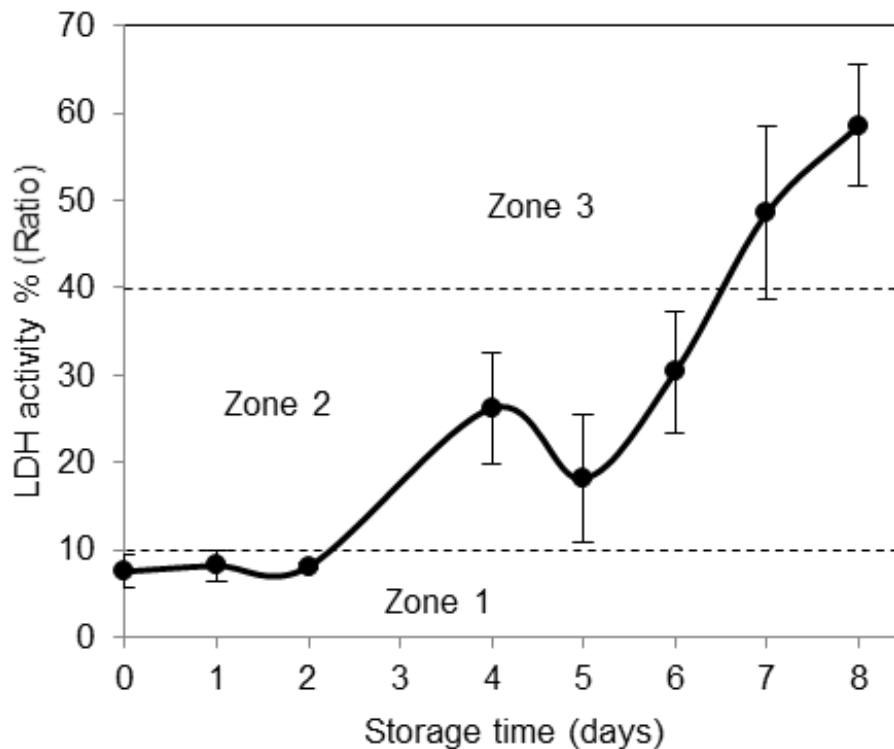


Fig. 3. Percentage of the free LDH activity released from the sea bream muscle with respect to the total LDH activity (ratio) during conservation at +4°C

The zone 1 (below 10%) corresponds to a low LDH activity %; the zone 2 corresponds to a significant increase of LDH activity %; the zone 3 (upper limit of 40%) corresponds to a high autolysis level. Bars indicate the standard deviation from six determinations

Ratio: % of free LDH activity / total LDH activity

3.4. *Effect of freezing on the LDH and AGLUC activities of SAF-1 cells and sea bream muscle*

The enzymatic activity of LDH and AGLUC were studied after freezing and thawing SAF-1 cells and sea bream muscle (fillets) (Fig. 4). The behavior of these two enzymes was measured in their cellular or muscular environment in order to verify the differentiation between fresh from frozen-thawed fillets. α -D-glucosidase (AGLUC) was used as a lysis marker insensitive to freezing. The sensitivity of the total LDH activity to freeze-thawing was variable according to the experimental conditions (cells lysates (Fig. 4-histogram 5), cells suspension (Fig. 4-histogram 6) and cells pellets (Fig. 4-histogram 7) for SAF-1 cells and sea bream muscle (fillets) (Fig. 4-histogram 8)). In cell lysates, LDH activity was very sensitive to freeze-thawing (100%

loss of activity), but was slightly less sensitive to freeze-thawing when it was inside cells (cells suspension) with 85% loss of activity. The LDH activity presented a higher resistance to freeze-thawing when it was associated with pelleted cells with 50% loss of activity. Only 20% loss of total LDH activity was observed with the sea bream muscle. Therefore, the sensitivity of this enzyme to freeze-thawing was a function of the tested environment. It was particularly sensitive in an aqueous environment (Fig.4-histogram 5) and more resistant in a denser muscular environment (fillets) (Fig.4-histogram 8).

In contrast, the AGLUC activity did not change whatever the experimental conditions (Fig.4-histogram 1 to Fig.4-histogram 4).

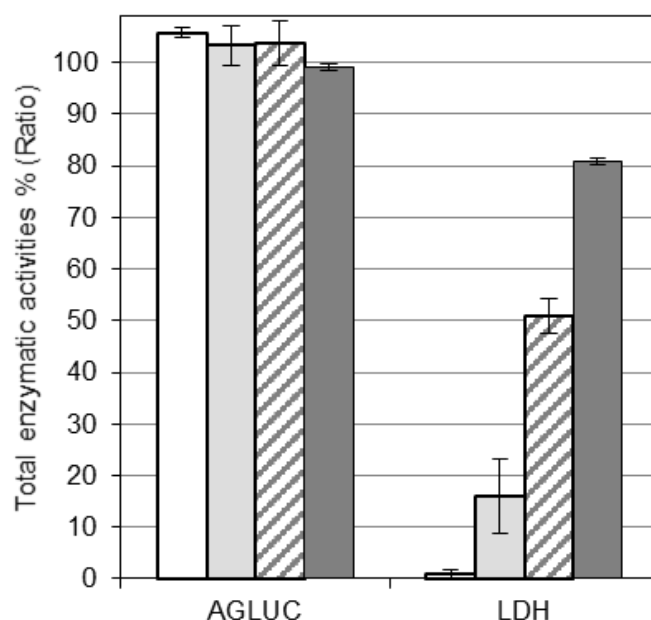


Fig. 4. Remaining total enzymatic activity of AGLUC and LDH after freeze-thawing SAF-1 cells (1 to 3 and 5 to 7) and sea bream muscle (4 and 8).

White histograms 1 and 5: cells lysates (free enzymes in solution); light gray histograms 2 and 6: suspension cells (intracellular enzymes); hatched histograms 3 and 7: cells pellets (intracellular enzymes); dark gray histograms 4 and 8: sea bream muscle (intracellular enzymes). Bars indicate the standard deviation from a minimum of three determinations. AGLUC: α -D-glucosidase; LDH: lactate dehydrogenase.

3.5. Comparison of the free LDH activity between fresh and frozen-thawed sea bream fillets

The relationship between the free LDH activity (enzyme released in the extracellular medium) and the mass of sea bream muscle before and after freezing was studied. The free LDH activity in frozen-thawed fillets was less than the free LDH activity in fresh fillets (Fig. 5A). Regardless

of the masses of fillet, the loss of free LDH activity was significant (t-test < 0.05) and approaching to 20 %. In contrast, the free AGLUC activity was greater for frozen-thawed fillets than for fresh fillets (data not shown).

3.6. Comparison of the total LDH activity between fresh and frozen-thawed sea bream muscle

The relationship between the total LDH activity (intracellular enzyme and enzyme released in the extracellular medium) and the mass of sea bream muscle before and after freezing was studied. The total LDH activity in frozen-thawed fillets was less than the total LDH activity in fresh fillets (Fig. 5B). The free and total LDH activities are proportional to the fillet mass (Fig. 5). Whatever the masses of fillet, the loss of total LDH activity was significant (t-test < 0.05) and approaching to 20 %.

The freezing time (over 60 days) was also investigated in order to verify any change in the total LDH activity in fillets, but results showed that after 60 days the freezing time did not influence the loss of total LDH activity (data not shown).

4. Discussion

The freshness of sea bream fillets, stored at +4°C, can be assessed by measuring the activity of a cytosolic enzyme, lactate dehydrogenase (LDH) (Davis & Siebenaller, 1992), released during autolysis.

LDH is an attractive marker of both freshness and freeze-thawing because of its high stability to proteolytic enzymes and sensitivity to freeze-thawing shock (Aramli, Kalbassi, & Nazari, 2014; Nambudiri & Gopakumar, 1992).

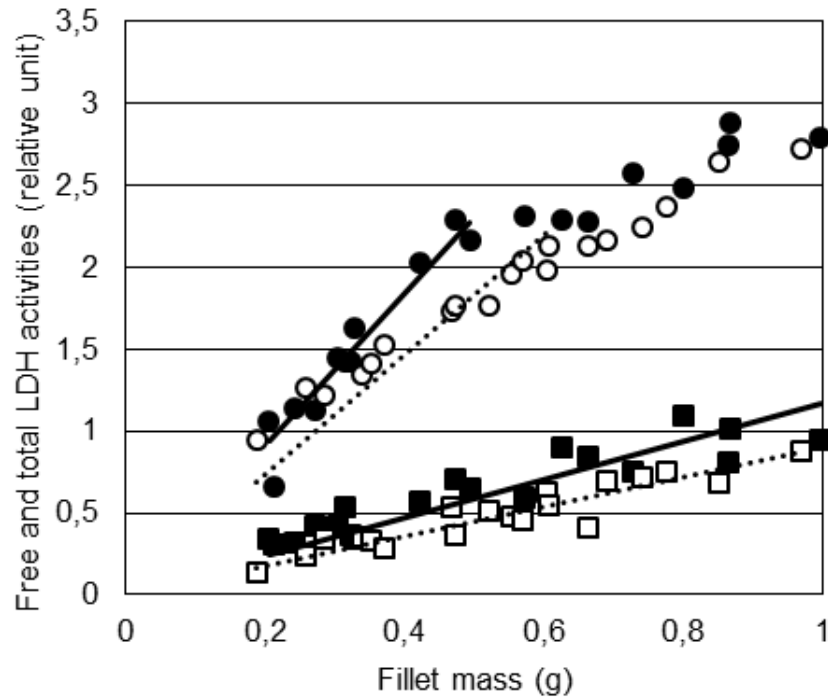


Fig. 5. Relationships between the LDH activities and mass of sea bream fillet before and after freezing

5A: free LDH activity: Black squares ($R^2 = 0.78$): free LDH activity in fresh fillets; white squares ($R^2 = 0.86$): free LDH activity in frozen-thawed fillets. 5B: total LDH activity: Black circles ($R^2 = 0.93$): total LDH activity in fresh fillets; white circles ($R^2 = 0.79$): total LDH activity in frozen-thawed fillets

Relative unit: absorbance of formazan $\times \text{min}^{-1} \times \text{g}^{-1}$ of fish muscle

4.1. LDH: a freshness marker

The measurement of the free LDH activity of a SAF-1 cells suspension - sonicated, ultra-centrifuged and stored at $+4^\circ\text{C}$ over a period of 8 days - showed that the enzyme remained perfectly active and did not undergo chemical and/or enzymatic denaturation in this period reflecting the stability of this enzymatic activity under these conditions (free enzyme in a lysed cells solution). The LDH and thus the measurement of the free LDH activity in the medium should reflect the autolysis of SAF-1 cells stored at $+4^\circ\text{C}$ in PBS without nutrients. Its accumulation in the extracellular medium has been used in this study to estimate the level of autolysis. Using the SAF-1 cells, results indicated that the level of the free LDH activity released into the extracellular medium increased significantly with storage time. The free LDH activity was inversely proportional to the number of viable SAF-1 cells and this ratio gave an indication of the cell lysis levels and therefore the state of autolysis. This level of autolysis was linked to the freshness level. It has been demonstrated that the free LDH measure, linked to

autolysis, was more sensitive than the loss of LDH activity, also observed in fish fillets during storage (Nathanailides, Lopez-Albors, Lenas, Athanasso Poulou, & Grigorakis, 2010). To reduce the effect of variability of LDH concentration in fish fillets, the ratio between the free LDH activity (LDH released from cells) and the total LDH activity (intra- and extracellular LDH obtained by crushing and muscle sonication) was calculated in this study. This ratio offered a better understanding of the level of autolysis and reduced the effect of variations in LDH concentration in the muscle tissue. This ratio was also used to measure the fish autolysis level and therefore the freshness of sea bream fillets.

The alterations in fish tissue over 8 days storage showed that there was a correlation between the free LDH activity % increase and the autolysis which was increasing regularly during the storage time and exhibited three autolysis levels. A first level of autolysis, with a constant ratio of free LDH/total LDH <10%, reflected a very low membrane alteration. This would correspond to an "ultra-fresh" fillet during the first two days. A second level of autolysis corresponded to a significant increase of LDH activity %. This would correspond to a low membrane alteration between the fourth and sixth day. And finally a third level of autolysis, with a ratio above 40%, would correspond to a high membrane alteration from the seventh day.

4.2. *LDH: a freeze-thawing marker*

The impact of the shock of the freeze-thaw cycle on the LDH release was studied to compare the amounts of LDH released by freezing or released by autolysis. Indeed, the LDH is a cytosolic enzyme released by freezing and also a sensitive enzyme to freezing.

To better understand the freezing effect and the influence of the cellular environment on the loss of LDH activity, a sea bream fibroblast cell line (SAF-1) was used. In this work it was shown that the sensitivity of LDH to freezing was highly dependent on the cellular/tissular environment. When the LDH was free (released in the extracellular medium), it was very sensitive to freezing (fully denatured) but when the intact cells were frozen in suspension, LDH was less sensitive to freezing (loss of 85% of the activity).

If the cells were pelleted before freezing, a significant portion of the LDH was not sensitive to freezing (loss of about 50% of the activity). Finally, in the muscle (sea bream fillets), results showed a loss of LDH activity of only 20%. The degree of LDH denaturation upon freezing was therefore strongly dependent on the cellular and tissular environments and more particularly wherein the enzyme was located. Moreover, the effect of salts or the use of compatible solutes to protect the freezing denaturation of LDH were previously described

(Chen & Cui, 2006; Göller & A. Galinski, 1999) and Nema and Avis (1996) have previously shown that the liposome membrane had a protective effect on the activity of LDH.

It was clearly demonstrated that freezing induced a cell lysis which leads to the release of cytosolic and lysosomal enzymes (Benjakul & Bauer, 2001), furthermore this study showed that the activity of LDH released from frozen-thawed fillets was lower (20%) than the activity of LDH released from fresh fillets. This was interpreted as illustration of the freeze-thawing shock contributing to increased cellular lysis. The shock of freeze-thawing induced the loss of LDH activity and indicated that a part of the LDH released from cells was denatured. Indeed, the most exposed LDH was probably the free LDH.

The measurements of LDH activity changes measured here were studied along with another intracellular enzyme, to confirm that this loss was only due to freezing and not due to the variation of LDH composition in different tissues and fish fillets. These results have shown that release of another intracellular enzyme, lysosomal α -D-glucosidase (AGLUC), which is not sensitive to freezing, was more important in frozen-thawed fillets as previously described by Alberio, Barbagallo, Todaro, Bono, and Spagna (2014) than in the fresh fillets. Thus, the measurement of free LDH, normalized to another intracellular enzyme (such as α -D-glucosidase (AGLUC) here), could permit the detection of a difference between fresh and frozen-thawed fillets.

Conclusion

The present study indicated that the mechanisms associated with autolysis can be used to measure the freshness and quality of sea bream fillets. The cytoplasmic membrane rupture led to the release of cytoplasmic content, in particular LDH. Another advantage of this enzyme was its sensitivity to freezing. This study showed a significant loss of LDH activity in frozen fillets. The assessment of the loss of LDH activity, normalized to the loss of activity of another intracellular enzyme, non-sensitive to freezing (eg. AGLUC), could be used as a marker for differentiation between fresh and frozen-thawed fish fillets.

Acknowledgements

The authors are grateful to the Nord-Pas de Calais regional council for its financial support of the emerging project “Necroptose”. They are also grateful to the CFPMT for the quick filleting of the sea bream. The authors also thank Dr Michael Howsam for his advice in the reading of this article. Mamadou Diop is grateful to the French embassy in Senegal and the Project of Erasmus ANGLE for their financial support of his PhD studies.

References

- Acker, J. P., & McGann, L. E. (2003). Protective effect of intracellular ice during freezing? *Cryobiology*, *46*(2), 197-202.
- Ahmed, Z., Donkor, O., Street, W. A., & Vasiljevic, T. (2015). Calpains- and cathepsins-induced myofibrillar changes in post-mortem fish: Impact on structural softening and release of bioactive peptides. *Trends in Food Science & Technology*.
- Alasalvar, C., Taylor, K. D. A., Öksüz, A., Garthwaite, T., Alexis, M. N., & Grigorakis, K. (2001). Freshness assessment of cultured sea bream (*Sparus aurata*) by chemical, physical and sensory methods. *Food Chemistry*, *72*(1), 33-40.
- Alberio, G. R. A., Barbagallo, R. N., Todaro, A., Bono, G., & Spagna, G. (2014). Effect of freezing/thawing process in different sizes of blue fish in the Mediterranean through lysosomal enzymatic tests. *Food Chemistry*, *148*(0), 47-53.
- Álvarez, A., García García, B., Garrido, M. D., & Hernández, M. D. (2008). The influence of starvation time prior to slaughter on the quality of commercial-sized gilthead seabream (*Sparus aurata*) during ice storage. *Aquaculture*, *284*(1-4), 106-114.
- Aramli, M., Kalbassi, M., & Nazari, R. (2014). Protein concentration and enzyme activities of fresh and frozen-thawed Persian sturgeon, *Acipenser persicus* (Borodin, 1897) semen *International Aquatic Research*, *6*:54.
- Aubourg, S. P., Quitral, V., Angélica Larraín, M., Rodríguez, A., Gómez, J., Maier, L., & Vinagre, J. (2007). Autolytic degradation and microbiological activity in farmed Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during chilled storage. *Food Chemistry*, *104*(1), 369-375.
- Bahuaud, D., Mørkøre, T., Østbye, T. K., Veiseth-Kent, E., Thomassen, M. S., & Ofstad, R. (2010). Muscle structure responses and lysosomal cathepsins B and L in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) pre- and post-rigor fillets exposed to short and long-term crowding stress. *Food Chemistry*, *118*(3), 602-615.
- Benjakul, S., & Bauer, F. (2001). Biochemical and physicochemical changes in catfish (*Silurus glanis* Linne) muscle as influenced by different freeze-thaw cycles. *Food Chemistry*, *72*(2), 207-217.
- Bolwell, B., Pohlman, B., Kalaycio, M., Wise, K., Goormastic, M., & Andresen, S. (1999). LDH elevation after autologous stem cell transplantation. *Bone marrow transplantation*, *24*(1), 53-55.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, *72*, 248-254.
- Chen, Y. H., & Cui, Z. (2006). Effect of Salts on the Freezing Denaturation of Lactate Dehydrogenase. *Food and Bioproducts Processing*, *84*(1), 44-50.
- Davis, B. J., & Siebenaller, J. F. (1992). Proteolysis at pressure and hplc peptide mapping of m₄-lactate dehydrogenase homologs from marine fishes living at different depths. *International Journal of Biochemistry*, *24*(7), 1135-1139.
- Duflos, G., Lefur, B., Mulak, V., Becel, P., & Malle, P. (2002). Comparison of methods of differentiating between fresh and frozen-thawed fish or fillets. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *82*, 1341-1345.
- Erikson, U., Misimi, E., & Gallart-Jornet, L. (2011). Superchilling of rested Atlantic salmon: Different chilling strategies and effects on fish and fillet quality. *Food Chemistry*, *127*(4), 1427-1437.
- Ethuin, P., Marlard, S., Delosière, M., Carapito, C., Delalande, F., Van Dorselaer, A., Dehaut, A., Lencel, V., Duflos, G., & Grard, T. (2015). Differentiation between fresh and frozen-thawed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets using two-dimensional gel electrophoresis. *Food Chemistry*, *176*, 294-301.

- Fowler, M. R., & Park, J. W. (2015). Salmon blood plasma: Effective inhibitor of protease-laden Pacific whiting surimi and salmon mince. *Food Chemistry*, 176(0), 448-454.
- Göller, K., & A. Galinski, E. (1999). Protection of a model enzyme (lactate dehydrogenase) against heat, urea and freeze-thaw treatment by compatible solute additives. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 7(1-4), 37-45.
- Hassoun, A., & Karoui, R. (2015). Front-face fluorescence spectroscopy coupled with chemometric tools for monitoring fish freshness stored under different refrigerated conditions. *Food Control*, 54(0), 240-249.
- Heising, J. K., van Boekel, M. A. J. S., & Dekker, M. (2014). Mathematical models for the trimethylamine (TMA) formation on packed cod fish fillets at different temperatures. *Food Research International*, 56(0), 272-278.
- Hernandez-Herrero, M. M., Duflos, G., Malle, P., & Bouquelet, S. (2003). Collagenase activity and protein hydrolysis as related to spoilage of iced cod (*Gadus morhua*). *Food Research International*, 36(2), 141-147.
- Kaale, L. D., & Eikevik, T. M. (2014). The development of ice crystals in food products during the superchilling process and following storage, a review. *Trends in Food Science & Technology*, 39(2), 91-103.
- Mazur, P. (2010). A biologist's view of the relevance of thermodynamics and physical chemistry to cryobiology. *Cryobiology*, 60(1), 4-10.
- Morcillo, P., Esteban, M. Á., & Cuesta, A. (2016). Heavy metals produce toxicity, oxidative stress and apoptosis in the marine teleost fish SAF-1 cell line. *Chemosphere*, 144, 225-233.
- Mukundan, M. K., Antony, P. D., & Nair, M. R. (1986). A review on autolysis in fish. *Fisheries Research*, 4(3-4), 259-269.
- Nambudiri, D., & Gopakumar, K. (1992). ATPase and Lactate Dehydrogenase Activities in Frozen Stored Fish Muscle as Indices of Cold Storage Deterioration. *Journal of Food Science, Volume 57, Issue 1, pages 72–76*.
- Nathanailides, C., Lopez-Albors, O., Lenas, D., Athanasso Poulou, F., & Grigorakis, K. (2010). Changes in cytochrome c oxidase (CCO) and lactate dehydrogenase (LDH) enzyme activity of the white epaxial muscle tissue of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) As shelf-life predictive indices during ICE-storage. *Italian Journal of Food Science*, 22(2), 200-204.
- Nema, S., & Avis, K. E. (1996). Protection of a model protein, lactate dehydrogenase, by encapsulation in liposome. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 50(4), 213-218.
- Nilsson, K., & Ekstrand, B. (1993). The effect of storage on ice and various freezing treatments on enzyme leakage in muscle tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 197(1), 3-7.
- Ocaño-Higuera, V. M., Maeda-Martínez, A. N., Marquez-Ríos, E., Canizales-Rodríguez, D. F., Castillo-Yáñez, F. J., Ruíz-Bustos, E., Graciano-Verdugo, A. Z., & Plascencia-Jatomea, M. (2011). Freshness assessment of ray fish stored in ice by biochemical, chemical and physical methods. *Food Chemistry*, 125(1), 49-54.
- Olafsdóttir, G., Martinsdóttir, E., Oehlenschläger, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Undeland, I., Mackie, I. M., Henehan, G., Nielsen, J., & Nilsen, H. (1997). Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends in Food Science & Technology*, 8(8), 258-265.
- Pérez-Esteve, E., Fuentes, A., Grau, R., Fernández-Segovia, I., Masot, R., Alcañiz, M., & Barat, J. M. (2014). Use of impedance spectroscopy for predicting freshness of sea bream (*Sparus aurata*). *Food Control*, 35(1), 360-365.

- Robles, V., Cabrita, E., de Paz, P., Cuñado, S., Anel, L., & Herráez, M. P. (2004). Effect of a vitrification protocol on the lactate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities and the hatching rates of Zebrafish (*Danio rerio*) and Turbot (*Scophthalmus maximus*) embryos. *Theriogenology*, *61*(7–8), 1367-1379.
- Seguro, K., Tamiya, T., Tsuchiya, T., & Matsumoto, J. J. (1989). Effect of chemical modifications on freeze denaturation of lactate dehydrogenase. *Cryobiology*, *26*(2), 154-161.
- Souza, E. M. d., Henriques-Pons, A., Bailly, C., Lansiaux, A., Araújo-Jorge, T. C., & Soeiro, M. d. N. C. (2004). In vitro measurement of enzymatic markers as a tool to detect mouse cardiomyocytes injury. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, *99*(7), 697-701.
- Takamatsu, H., & Zawlodzka, S. (2006). Contribution of extracellular ice formation and the solution effects to the freezing injury of PC-3 cells suspended in NaCl solutions. *Cryobiology*, *53*(1), 1-11.
- Vidaček, S., Medić, H., Botka-Petrak, K., Nežak, J., & Petrak, T. (2008). Bioelectrical impedance analysis of frozen sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Food Engineering*, *88*(2), 263-271.
- Volpe, G., & Mascini, M. (1996). Enzyme sensors for determination of fish freshness. *Talanta*, *43*(2), 283-289.
- Watanabe, E., Tamada, Y., & Hamada-Sato, N. (2005). Development of quality evaluation sensor for fish freshness control based on KI value. *Biosensors and Bioelectronics*, *21*(3), 534-538.
- Weidmann, E., Brieger, J., Jahn, B., Hoelzer, D., Bergmann, L., & Mitrou, P. S. (1995). Lactate dehydrogenase-release assay: A reliable, nonradioactive technique for analysis of cytotoxic lymphocyte-mediated lytic activity against blasts from acute myelocytic leukemia. *Annals of Hematology*, *70*(3), 153-158.
- Yarnpakdee, S., Benjakul, S., Nalinanon, S., & Kristinsson, H. G. (2012). Lipid oxidation and fishy odour development in protein hydrolysate from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle as affected by freshness and antioxidants. *Food Chemistry*, *132*(4), 1781-1788.

Figure captions

Fig. 1. Stability of free LDH activity in SAF-1 cells expressed in $\text{mmol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}.\text{mg}^{-1}$ of prot. Free enzyme in solution (lysed cells) was kept at $+4^{\circ}\text{C}$. Bars indicate the standard deviation

Fig. 2. Lysis kinetics of SAF-1 cells (white circles) and release of free LDH in the extracellular medium (black squares).

The experiment was made in the PBS buffer at 4°C . Bars indicate the standard deviation from 7 determinations

Ratio: % of free LDH activity / total LDH activity

Fig. 3. Percentage of the free LDH activity released from the sea bream muscle with respect to the total LDH activity (ratio) during conservation at $+4^{\circ}\text{C}$

The zone 1 (below 10%) corresponds to a low LDH activity %; the zone 2 corresponds to a significant increase of LDH activity %; the zone 3 (upper limit of 40%) corresponds to a high autolysis level. Bars indicate the standard deviation from six determinations

Ratio: % of free LDH activity / total LDH activity

Fig. 4. Remaining total enzymatic activity of AGLUC and LDH after freeze-thawing

SAF-1 cells (1 to 3 and 5 to 7) and sea bream muscle (4 and 8). White histograms 1 and 5: cells lysates (free enzymes in solution); light gray histograms 2 and 6: suspension cells (intracellular enzymes); hatched histograms 3 and 7: cells pellets (intracellular enzymes); dark gray histograms 4 and 8: sea bream muscle (intracellular enzymes). Bars indicate the standard deviation from a minimum of three determinations. AGLUC: α -D-glucosidase; LDH: lactate dehydrogenase

Ratio: % of free LDH activity / total LDH activity

Fig. 5. Relationships between the LDH activities and mass of sea bream fillet before and after freezing

5A: free LDH activity: Black squares ($R^2 = 0.78$): free LDH activity in fresh fillets; white squares ($R^2 = 0.86$): free LDH activity in frozen-thawed fillets. 5B: total LDH activity: Black circles ($R^2 = 0.93$): total LDH activity in fresh fillets; white circles ($R^2 = 0.79$): total LDH activity in frozen-thawed fillets

Relative unit: absorbance of formazan $\times \text{min}^{-1} \times \text{g}^{-1}$ of fish muscle

Discussion générale et perspectives

Discussion générale

Cette thèse, réalisée en cotutelle entre l'université du littoral et l'université A. Diop de Dakar avait pour principal objectif l'acquisition de compétences pour l'évaluation de la qualité des ressources halieutiques. Cette compétence est aujourd'hui plus que nécessaire au Sénégal du fait de la dégradation de l'environnement littoral et marin mais aussi parce que les ressources halieutiques du littoral représentent une ressource alimentaire importante pour les populations locales. Pour répondre à cet objectif, deux aspects ont été abordés dans ce travail: la contamination chimique des organismes marins et le développement de méthodes pour l'évaluation de la fraîcheur du poisson.

1. Niveaux de contamination des organismes marins du littoral sénégalais

Les diverses activités humaines (agriculture, industrie, traitement des eaux usées, recyclage des déchets urbains et industriels, production d'énergie, transport) génèrent des pollutions de toutes sortes. A plus ou moins long terme tous ces contaminants d'origine terrestre rejetés soit directement soit véhiculés par les cours d'eau rejoignent le milieu marin. La zone côtière est particulièrement touchée, notamment à proximité des embouchures des fleuves et des rivières. Ces contaminations sont-elles susceptibles de porter atteinte à la santé des écosystèmes et à la qualité des ressources halieutiques, et finalement de constituer un risque pour le consommateur ? C'est dans ce contexte que c'est inscrit la première partie ce travail en se focalisant sur le littoral sénégalais, qui contrairement aux pays industrialisés, subit des pressions de pollution croissante du fait de l'accroissement démographique, du développement anarchique sur le littoral et du manque d'infrastructures et de réglementations adaptées pour lutter contre ces pollutions. Les études sur la contamination chimique de ce littoral sont rares et ce travail consiste en un état des lieux sur les niveaux de contamination des organismes marins du littoral sénégalais. Pour avoir la vision la plus complète de la pollution, nous avons opté pour une approche multi-espèces, multi-sites et saisonnière.

1.1. Approche multi-espèces pour l'évaluation de la qualité chimique du littoral sénégalais

Plusieurs études ont réalisé une approche multi-espèces pour évaluer l'état de la pollution chimique dans les milieux aquatiques. Ce choix se justifie par le fait que les teneurs en contaminant mesurées dans l'eau et dans les sédiments ne reflètent pas nécessairement les teneurs de ces contaminants dans les organismes vivants (Conti et Ceccheti, 2003; Ali et al.,

2013 ; Wang et al., 2010). De ce fait, la biosurveillance fondée sur l'utilisation de différentes espèces appartenant à différents groupes taxonomiques avec des niches écologiques ou des niveaux trophiques différents permet de mieux évaluer l'étendue de la contamination (Pérez-Cadahia et al., 2004; Jitar et al., 2015). Ainsi, pour mieux évaluer l'état de la pollution du littoral sénégalais par les métaux et métalloïdes (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, V et Zn) et par les contaminants organiques (HAPs, Me-HAPs et PCBs), nous avons utilisé dans cette étude sept organismes marins constitués d'une macroalgue (*Ulva lactuca*), d'un mollusque bivalve (*Perna perna*), d'un crustacé (*Penaeus kerathurus*) et de quatre espèces de poisson (*Solea senegalensis*, *Mugil cephalus*, *Sarotherodon melanotheron* et *Sardinella aurita*). Le choix est fondé sur le fait qu'elles sont représentatives de différents niveaux trophiques et habitats au sein de l'écosystème côtier, qu'elles ont une large répartition spatiale et qu'elles font partie des espèces les plus consommées par les populations locales.

Le dosage des contaminants nous a permis de montrer une différence d'accumulation entre les différents organismes (Tableau 4.1). Les concentrations en métaux analysées dans les différentes espèces montrent que les algues accumulent plus de Cr, de Mn, de Pb et de V que les autres espèces mais présentent les teneurs les plus faibles en Hg et en PCBs. Les teneurs en Pb sont particulièrement importantes chez *U. lactuca*. Les teneurs les plus élevées en Ni et PCBs sont rencontrées dans les moules. Ces dernières renferment également des teneurs importantes en Cd et Zn. La crevette *P. kerathurus* renferme les plus fortes teneurs en As.

Les poissons renferment dans le foie des teneurs en éléments variables selon les espèces et globalement plus élevées pour les éléments les plus toxiques que les autres espèces. C'est le cas notamment de la sardinelle et du mulot qui renferment des teneurs importantes en As, Cd Hg et HAPs. La sardinelle se distingue notamment avec les plus fortes teneurs en As, Cd et HAPs dans le foie (Tableau 4.1). Cette variabilité interspécifique des teneurs en contaminant a déjà été décrite (ex. Campanella et al., 2001; Conti et Ceccheti, 2003; Viera et al., 2011; Ouro-Sama et al., 2014; Jitar et al., 2015). Toutefois, peu d'études ont comparé sur un même site différentes espèces reflétant plusieurs niveaux trophiques, mode de vie et habitat. Toutes les espèces analysées dans le présent travail accumulent les contaminants chimiques étudiés, mais à des degrés différents selon les éléments. Notre étude souligne la nécessité de l'approche multi-espèces pour l'étude de la contamination chimique des zones marines côtières.

Nos résultats montrent que les teneurs en contaminants chimiques des organismes marins sont variables selon les espèces. Certaines espèces concentrent davantage de contaminants que d'autres et une espèce donnée ne reflète pas à elle seule la contamination chimique du milieu.

Ces premiers résultats soulignent ainsi la nécessité de l'approche multi-espèces pour l'étude de la contamination chimique du milieu.

Tableau 4.1 : Variation des teneurs en contaminants métalliques et organiques dans les algues, les moules, les crevettes et dans les foies des poissons

Especies	As	Cd	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Se	V	Zn	HAPs	PCBs
<i>U. lactuca</i>	2,18 ± 1,35	0,32 ± 0,27	1,64 ± 1,93	4,19 ± 4,96	405 ± 485	0,009 ± 0,003	5,84 ± 6,85	1,36 ± 1,22	1,71 ± 2,66	0,17 ± 0,08	8,11 ± 10,8	11,2 ± 12,0	0,48 ± 0,03	0,07 ± 0,01
<i>P. perna</i>	7,24 ± 2,43	1,79 ± 2,88	1,36 ± 1,37	9,02 ± 2,08	366 ± 527	0,049 ± 0,023	2,52 ± 1,23	5,03 ± 4,26	0,84 ± 0,97	0,79 ± 0,29	4,04 ± 4,68	119 ± 47	0,81 ± 0,09	1,52 ± 0,29
<i>P. kerathurus</i>	9,84 ± 4,77	0,13 ± 0,18	0,16 ± 0,09	21,7 ± 9,5	12,1 ± 13,9	0,055 ± 0,034	0,29 ± 0,20	0,06 ± 0,02	0,01 ± 0,01	0,73 ± 0,30	0,03 ± 0,03	52,9 ± 12,0	0,47 ± 0,03	<LOQ
<i>S. senegalensis</i>	13,8 ± 6	0,64 ± 0,61	2,07 ± 0,67	365 ± 168	917 ± 428	0,074 ± 0,05	5,46 ± 2,6	0,38 ± 0,21	0,14 ± 0,09	24,36 ± 14,4	0,92 ± 0,65	86,59 ± 28,15	0,32 ± 0,01	0,27 ± 0,05
<i>S. Melanotheron</i>	1,92 ± 1,71	0,98 ± 1,53	0,42 ± 0,42	793 ± 1170	760 ± 566	0,242 ± 0,166	2,67 ± 4,98	0,42 ± 0,36	0,99 ± 1,26	5,09 ± 3,39	4,76 ± 14,3	81,5 ± 23,4	0,26 ± 0,01	0,48 ± 0,05
<i>M. cephalus</i>	7,87 ± 4,13	2,02 ± 2,98	0,43 ± 0,16	287 ± 358	684 ± 465	0,105 ± 0,119	1,39 ± 0,81	0,36 ± 0,30	0,29 ± 0,39	8,05 ± 7,13	1,79 ± 2,05	132 ± 75	1,38 ± 0,12	0,37 ± 0,07
<i>S. aurita</i>	8,93 ± 3,87	17,25 ± 11,51	1,21 ± 0,34	17,04 ± 8,3	544 ± 316	0,075 ± 0,048	3,73 ± 1,81	0,39 ± 0,31	0,28 ± 0,27	13,12 ± 9,33	1,03 ± 1,08	92,9 ± 49,9	1,4 ± 0,12	0,07 ± 0,01

Tableau 4.4 A : Comparaison des teneurs (mg/kg) en contaminants trouvées dans les différents organismes prélevés dans le littoral sénégalais avec celles trouvées dans les autres parties de l'Afrique de l'Ouest.

	Organismes	Pays	As	Cd	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Se	V	Zn	ΣHAPs	ΣPCBs	Références	
Afrique de l'Ouest	Algae	Sénégal	2,18 ± 1,35	0,32 ± 0,27	1,64 ± 1,93	4,19 ± 4,96	405 ± 485	0,009 ± 0,003	5,84 ± 6,85	1,36 ± 1,22	1,71 ± 2,66	0,17 ± 0,08	8,11 ± 10,8	11,2 ± 12,0	0,48 ± 0,03	0,07 ± 0,01	Présente étude	
	Mollusques	Mauritanie			0,76 ± 0,08	-	7,78 ± 0,29								64,59 ± 5,77			Sidoumou et al., 2006
		Sénégal			6,2 ± 0,3		34,2 ± 5,6		0,095 ± 0,008		1,2 ± 0,2	0,22 ± 0,01			2032 ± 105			Bodin et al., 2012
		Sénégal			2,37 ± 0,22		7,2 ± 0,73								121,6 ± 6,1			Sidoumou et al., 2006
		Ghana							0,10 ; 0,47									Joiris et al., 2000
		Sénégal	7,24 ± 2,43	1,79 ± 2,88	1,36 ± 1,37	9,02 ± 2,08	366 ± 527	0,049 ± 0,023	2,52 ± 1,23	5,03 ± 4,26	0,84 ± 0,97	0,79 ± 0,29	4,04 ± 4,68	119 ± 47	0,81 ± 0,09	1,52 ± 0,29	Présente étude	
	Crustacés	Sénégal			<0,10		4,68*		0,17*			<0,50*			13,9*			Ba, 1988
		Ghana			<0,10		6,16*		0,033*			0,82*			14,9*			Aquatic Biology, 90
		Cameroun			0,21		9,5*		0,07*						40,4 *			Mbome, 1988
		Côte d'Ivoire			<0,25		6,02*		0,042*						17,9 *			Métongo, 1988
		Sénégal	9,84 ± 4,77	0,13 ± 0,18	0,16 ± 0,09	21,7 ± 9,5	12,1 ± 13,9	0,055 ± 0,034	0,29 ± 0,20	0,06 ± 0,02	0,01 ± 0,01	0,73 ± 0,30	0,03 ± 0,03	52,9 ± 12,0	0,47 ± 0,03	<LOQ	Présente étude	
	Poissons	Mauritanie			17,0		14,7		0,14						88			Roméo et al., 1999
		Ghana (branchies)	16-36	0,2 ; 0,3	2-28	<LD ; 35	23 ; 1393)		<LD; 68	<LD ; 5	<LD ; 1,2	<LD ; 5			15 ; 97	340		Bandowe et al., 2014
		Côte d'Ivoire		1,35		9,19		0,43			5,99				7,37			CoulibalyS. et al., 2012
		Bénin (muscle)													12-102			Soclo et al. (2008)
		Cameroun			<0,10*		0,75*		0,06*			1,83*			5,55*			Mbome, 1988
		Nigéria			<0,10*		11,3*					2,28*			27,5 *			Okoye, 1991
		Sénégal	8,13 ± 4,88	5,22 ± 8,04	1,03 ± 0,78	366 ± 322	726 ± 155	0,12 ± 0,08	3,31 ± 1,72	0,39 ± 0,03	0,43 ± 0,38	12,66 ± 8,48	2,13 ± 1,8	98,3 ± 23	0,84 ± 0,64	0,3 ± 0,17	Présente étude	

* Concentration en poids frais

Tableau 4.4 B : Comparaison des teneurs (mg/kg) en contaminants trouvées dans les différents organismes prélevés dans le littoral sénégalais avec celles trouvées dans les autres parties du monde

	Organismes	Pays	As	Cd	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Se	V	Zn	ΣHAPs	ΣPCBs	Références		
Autres parties du monde	Algues vertes	Maroc		0,92±0,35		14,5± 5,2	611± 143		19,2 ±7,2					(200 ± 52)			Kaimoussi et al., 2004		
		Algérie		0.042 ± 0.002	0.979 ± 0.002	2.372 ± 0.003					1.001 ± 0.003							Laib et Leghouchi, 2012	
		Roumanie		0.50 ; 0.50	0-0.50	5.90 ; 24.1				3.85 ; 8.10	0.1 ; 23.5								Jitar et al., 2015
		Sile (Turquie 1999)			<0.02	<0.06	3.87±0.05	550±2		21.8±0.2	<0.1	<0.1			9.6±0.1				Topcuoglu et al., 2004
		Sénégal		2,18 ± 1,35	0,32 ± 0,27	1,64 ± 1,93	4,19 ± 4,96	405 ± 485	0,009 ± 0,003	5,84 ± 6,85	1,36 ± 1,22	1,71 ± 2,66	0,17 ± 0,08	8,11 ± 10,8	11,2 ± 12,0	0,48 ± 0,03	0,07 ± 0,01		Présente étude
	Mollusques	Algérie			0.51 ± 0.11	2.44 ± 0.03	26.74 ± 2.47	932.04 ± 12.95	0.159 ± 0.031	22.28 ± 1.34	9.03 ± 2.35	1.68 ± 0.15			358.96 ± 5.4			Belabed et al., 2013	
		Namibie				0,09 ; 0,42	0,41 ; 0,91	0,05 ; 0,45			0,99 ; 1,18	0,093 ; 1,56			1,88 ; 2,08			Dehams et al., 2014	
		Sénégal		7,24 ± 2,43	1,79 ± 2,88	1,36 ± 1,37	9,02 ± 2,08	366 ± 527	0,049 ± 0,023	2,52 ± 1,23	5,03 ± 4,26	0,84 ± 0,97	0,79 ± 0,29	4,04 ± 4,68	119 ± 47	0,81 ± 0,09	1,52 ± 0,29		Présente étude
	Crustacés	Espagne			0,030 ; 0,050				0,036 ; 1,110			0,050 ; 0,074						Pastor et al., 1994	
		Sénégal		9,84 ± 4,77	0,13 ± 0,18	0,16 ± 0,09	21,7 ± 9,5	12,1 ± 13,9	0,055 ± 0,034	0,29 ± 0,20	0,06 ± 0,02	0,01 ± 0,01	0,73 ± 0,30	0,03 ± 0,03	52,9 ± 12,0	0,47 ± 0,03	<LOQ		Présente étude
	Poissons	Maroc			0,02 ± 0,01*				0,08 ± 0,05*			0,05 ± 0,03*						Chahid et al., 2014	
		Méditerranée			0.002-0.01*				0.07-0.09*			0.01-0.08*							Falco´ et al. 2006
		Espagne		0,0 - 507,9	0,00 - 6,6		0,34 - 1147,8	12,9 - 1135				0,18 - 6,24			0,24 - 143,06			Oliva et al., 2012 a	
		France			<LD	<LD	31.20 ± 1.09	952.18 ± 22.64		116.07 ± 3.15	<LD	<LD			264.54 ± 1.98			Ben Salem et al., 2015	
		Sénégal		8,13 ± 4,88	5,22 ± 8,04	1,03 ± 0,78	366 ± 322	726 ± 155	0,12 ± 0,08	3,31 ± 1,72	0,39 ± 0,03	0,43 ± 0,38	12,66 ± 8,48	2,13 ± 1,8	98,3 ± 23	0,84 ± 0,64	0,3 ± 0,17		Présente étude

* Concentration en poids frais

La bioaccumulation et la bioamplification des contaminants chimiques dans les réseaux trophiques aquatiques non seulement menacent directement la biodiversité, mais aussi parfois impacter la santé humaine (Copat et al., 2013; Jitar et al., 2015), comme cela a été le cas à Minamata après la consommation de poissons contaminés au mercure. Le processus de bioaccumulation résulte d'un déséquilibre entre l'absorption liée à l'assimilation et la détoxification liée à l'excrétion ou la métabolisation. Il est lié aux grandes fonctions biologiques (alimentation, respiration, excrétion, reproduction) et reste propre à chaque espèce tout en dépendant de l'âge des individus, de leur poids et des conditions particulières du milieu. Toutefois, la bioaccumulation dépend aussi de l'élément trace concerné (taille moléculaire, spéciation chimique, biodisponibilité, etc.) (Casas, 2005). Les polluants dont la cinétique d'absorption est supérieure à la cinétique d'élimination ont tendance à s'accumuler dans l'organisme. Ainsi, les mollusques et les crustacés ont la capacité de réguler les éléments essentiels comme le Cu et le Zn (Rainbow, 2002) mais ne possèdent pas de mécanismes pour réguler l'arsenic (Anderson et al., 1999). De ce fait, les teneurs en As mesurées dans ces espèces reflètent bien les niveaux de contamination du milieu par cet élément. Ce qui peut expliquer en partie les fortes concentrations en As que l'on a mesurées dans les crevettes. Cependant, ces dernières présentent les valeurs les plus faibles en HAPs et ne concentrent pas du tout de PCBs.

A partir de données disponibles sur les teneurs en contaminants chimiques des sédiments et de l'eau du littoral Sénégalais (Diop et al., 2014; 2015), nous avons exploré la bioaccumulation dans les différentes espèces étudiées (Diop et al., 2016 b). Chez les espèces analysées, les concentrations accumulées en Cd, Cu, Mn et Zn, sont dix ou cent fois supérieures à celles mesurées dans l'eau (Diop et al., 2014) (Tableaux 4.2 et 4.3). Cela suggère une bioaccumulation de ces éléments à partir de l'eau (fraction soluble dans l'eau). Par contre, nos résultats montrent une faible bioaccumulation à partir des sédiments quoique les sédiments marins soient souvent considérés comme le réceptacle final des contaminants entrants dans le milieu (Diop et al., 2015). Plusieurs études ont montré que les organismes qui vivent en association avec les sédiments ont tendance à accumuler certains contaminants plus que les autres (Kerambrun et al., 2012). La faible bioaccumulation à partir des sédiments que l'on a calculée, même pour les espèces benthiques ou benthodémersales, pourrait s'expliquer par les conditions hydrodynamiques de la zone d'étude (courants, upwelling) qui favorisent la dispersion des polluants dans la colonne d'eau plutôt que leurs accumulations dans les sédiments.

Tableau 4.2 : Capacité des espèces à accumuler les contaminants à partir des sédiments (FBA)

Species	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
<i>U. lactuca</i>	0,23	0,01	1,24	0,21	0,47	0,21	0,71
<i>P. perna</i>	1,12	0,02	0,35	0,06	1,60	0,03	4,44
<i>S. senegalensis</i>	36	5,46	444	6,86	0,52	0,68	6,28
<i>P. kerathurus</i>	0,17	0,00	0,91	0,01	0,02	0,00	3,11
<i>S. melanotheron</i>	2,14	0,01	30,41	0,14	0,17	0,03	4,11
<i>M. cephalus</i>	3,22	0,01	16,63	0,05	0,07	0,02	10,52
<i>S. aurita</i>	655	2,49	14,56	6,17	0,45	1,39	4,79

Tableau 4.3 : Capacité des espèces à concentrer les contaminants à partir de la colonne d'eau (FBC)

Species	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
<i>U. lactuca</i>	11,90	2,60	22,0	14,2	1,82	12,8	0,91
<i>P. perna</i>	44,6	4,77	11,0	6,25	6,51	2,04	3,96
<i>S. senegalensis</i>	0,83	0,03	17,7	0,09	0,16	0,01	4,25
<i>P. kerathurus</i>	9,00	0,26	22,8	0,57	0,08	0,02	4,59
<i>S. melanotheron</i>	61,6	1,40	684	8,14	0,54	2,54	6,58
<i>M. cephalus</i>	106	0,99	344	2,64	0,48	1,87	10,4
<i>S. aurita</i>	25,1	0,01	0,61	0,10	0,12	0,02	4,13

Les concentrations en contaminant dans les organismes varient fortement en fonction des propriétés propres à chaque contaminant qui définissent les différentes interactions avec les tissus biologiques comme leur capacité d'excrétion ou les mécanismes de régulation des métaux essentiels. Les algues sont des espèces sédentaires sessiles qui vivent fixées sur un support. *Ulva lactuca* a une croissance rapide et peut résister à une large gamme de conditions écophysologiques avec des niveaux de pollution élevés. Pour ces raisons, l'espèce est souvent choisie comme espèce sentinelle de la pollution (Kaimoussi et al., 2004 ; Muse et al., 2006). Okuku et Peter, (2012) ont montré que l'abondance relative des contaminants métalliques dans les algues reflète la biodisponibilité de ces contaminants dans les sédiments et dans l'eau. Dans notre étude, l'algue *U. lactuca* accumule principalement le Cd, Cu, Mn et Pb comme cela a déjà été observé dans d'autres études (Romera et al., 2007; Jitar et al., 2015). Les facteurs de bioaccumulation (FBA, à partir de l'eau) et de bioconcentration (FBC, à partir des sédiments) calculés pour cette espèce montrent une forte bioaccumulation du Cu principalement à partir de l'eau (FBC=21,9). Le cuivre est un élément essentiel pour la photosynthèse, mais a des concentrations élevées, il devient toxique. Les autres éléments (Pb, Mn) sont principalement bioaccumulés à partir des sédiments. *U. lactuca* pourrait être une bonne espèce indicatrice de la pollution par le Cu, Pb et Mn .

Comme *U. lactuca*, *Perna perna* est une espèce sédentaire sessile largement répandue dans toutes les eaux marines. Les moules sont des organismes filtreurs qui reflètent à l'âge adulte les conditions typiques de leur milieu de vie (Rainbow, 1995). C'est pour ces raisons qu'elles sont largement utilisées comme organismes sentinelles dans de nombreuses études pour évaluer la pollution marine dans plusieurs régions du monde (Luten et al., 1986; Belabed et al., 2013). Les moules présentent une large gamme de tolérance à la toxicité associée à leur capacité à concentrer les contaminants dans leurs tissus à travers les sédiments et l'eau sans grandes transformations métaboliques (Chase et al., 2001). Dans notre étude, la moule montre les FBC les plus élevés en Cr et en Ni par rapport aux autres espèces étudiées. Par contre, sur tous les éléments analysés, la moule concentre uniquement le Cd, le Ni et le Zn à travers les sédiments. La moule comme les crevettes, concentrent des teneurs en PCBs supérieures aux teneurs mesurées dans les sédiments. Par contre, les teneurs en HAPs mesurées dans les sédiments sont supérieures à celles qui sont mesurées dans ces organismes. Ceci pourrait être dû par une transformation rapide des HAPs en métabolites plus hydrophiles par ces organismes.

La variation de bioaccumulation des contaminants peut découler aussi des comportements alimentaires, des niveaux trophiques et de la mobilité des différentes espèces (Roméo et al., 1999; Velusamy et al., 2014). Les soles sont des espèces benthiques qui vivent sur les fonds sableux ou vaseux de la zone côtière. Elles se nourrissent d'invertébrés benthiques comme les larves des polychètes et de mollusques bivalves et de petits crustacés. Cependant, les organismes benthiques comme les soles qui se nourrissent d'invertébrés benthiques sont connus pour être plus exposées aux contaminants associés aux sédiments (Roméo et al., 1999, Amara et al., 2007). Ainsi, les éléments métalliques comme l'As, présents naturellement dans les roches où introduits par contamination peuvent influencer principalement l'environnement côtier et les organismes qui vivent à proximité ou en contact avec les sédiments. Ce qui pourrait expliquer les fortes concentrations en As dans les soles mais aussi dans les mulets. Les mulets et les tilapias sont des espèces omnivores benthopélagiques. Ces deux espèces dans notre étude accumulent plus de Cu, de Hg, de Se et de Zn que les autres espèces. La présence de teneurs similaires en contaminant métalliques dans ces deux espèces peut se justifier par le fait que les individus de ces deux espèces peuplent les mêmes habitats et se nourrissent des mêmes proies (Kone et Teugels, 2003). Les sardinelles sont des espèces pélagiques se nourrissant principalement de plancton (Terhofstede et al., 2007). Cette espèce concentre le Cd à des teneurs très élevées (jusqu'à 56 mg/kg de poids sec) mais aussi d'autres contaminants

métalliques comme le Cu, le Fe, le Pb, le Mn, le V et le Zn. Elle concentre plus les HAPs que les PCBs.

Les espèces étudiées bioaccumulent différemment les contaminants chimiques. La bioaccumulation semble se faire majoritairement à partir de l'eau (fraction soluble dans l'eau).

Des teneurs en contaminants variables entre les organes

En plus de variations interspécifiques observées, notre étude a également montré des variations intraspécifiques selon l'organe analysé. L'analyse des teneurs en contaminant métallique et organique dans les foies et les muscles de poissons a révélé des différences de concentration de ces contaminants entre ces deux organes. L'étude a montré que quelle que soit l'espèce considérée, le foie concentre plus de contaminants que les muscles comme décrits dans plusieurs études (Henry et al., 2004; Kerambrun et al., 2012). Les organes qui ont des activités métaboliques élevées comme le foie concentrent plus de contaminants métalliques que les organes à faibles activités métaboliques comme les muscles (Ploetz et al., 2007). De plus les contaminants organiques comme les pesticides, les HAPs et les PCBs ont tendance à se concentrer dans les organismes aquatiques particulièrement dans les organes riches en lipides comme le foie (Neff, 2002 ; Dugan et al., 2004).

Ces propriétés du foie à concentrer plus de contaminants que les autres organes particulièrement le muscle font que le foie est régulièrement utilisé dans de nombreuses études pour évaluer l'état de la pollution marine.

1.2 Approche multi-saisons et multi-sites pour l'évaluation de la qualité chimique dulittoral sénégalais

Variation inter saisons

Le climat du Sénégal est de type soudano-sahélien caractérisé par l'alternance de 2 saisons: une saison sèche plus longue et plus marquée de fin octobre à mi-juin et une saison des pluies courte de mi-juin à la fin du mois d'octobre. Comme la majorité des contaminants chimiques du milieu marin provient des apports terrigènes, les différences saisonnières de pluviométrie peuvent au travers du ruissellement et du lessivage des sols mais aussi des apports des fleuves aboutir à des concentrations plus importantes en contaminant durant la saison des pluies. A l'inverse cela peut aussi entraîner une plus grande dilution des contaminants dans le milieu. Par exemple,

Ndiaye (2012) a montré que les sédiments dans l'estuaire du Saloum (Sénégal) sont plus contaminés pendant la saison sèche.

Des variations saisonnières en contaminant métalliques dans les organismes ont été rapportées dans plusieurs environnements aquatiques (Birch et al., 2001). Dans notre étude, les résultats du dosage des éléments traces métalliques mesurés dans les algues, les moules, les crevettes et dans les foies des poissons en fonction des saisons n'ont pas montré de variations saisonnières marquées. Néanmoins, pour la plupart des éléments métalliques, les teneurs mesurées durant la saison des pluies sont plus importantes que celles mesurées durant la saison sèche. Cette saison semble donc plus appropriée pour le suivi de la contamination des organismes marins. Outre les apports en contaminant liés à la plus forte pluviosité durant la saison des pluies, les variations saisonnières des concentrations métalliques dans notre étude peuvent être liées aussi à des différences comportementales et physiologiques (reproduction, alimentation, migration) de différentes espèces (Belabed et al. 2013; Staudinger 2011). De plus lorsque la température de l'eau augmente, le métabolisme et l'activité alimentaire des organismes augmentent, ce qui entraîne une augmentation de l'absorption des métaux et de leur accumulation dans les tissus (Obasohan and Eguavoen, 2008). Enfin, les changements de l'hydrodynamique côtière telle que l'intensité de l'upwelling et la circulation marine le long de ces côtes peuvent influencer sur la biodisponibilité des contaminants dans le milieu. Dans cette zone de l'Afrique de l'Ouest, l'intensité de l'upwelling est importante durant la saison sèche et faible durant la saison des pluies (Braham et al., 2014).

Il n'y a pas de variations significatives des teneurs en contaminants chimiques dans les organismes analysés. Néanmoins, pour la plupart des éléments métalliques, les teneurs mesurées durant la saison des pluies sont plus importantes que celles mesurées durant la saison sèche. Cette saison semble donc plus appropriée pour le suivi de la contamination des organismes marins.

Variation inter-sites

Dans les zones côtières et estuariennes du Sénégal, une pollution significative en Cd, Cr, Cu et en Pb dérivant d'une source anthropique a été rapportée dans les eaux (Diop et al., 2014) et dans les sédiments (Diop et al., 2015). Ces teneurs en Cd, Cr, Cu et Pb selon ces auteurs, sont supérieures à la concentration seuil à partir de laquelle des effets biologiques sont prévisibles.

Dans notre étude, pour mieux évaluer l'état de la pollution métallique du littoral Sénégalais, nous avons considéré les éléments métalliques suivants : As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb et Se qui sont considérés comme polluants pouvant avoir des effets biologiques néfastes.

Le dosage des contaminants métalliques dans les organismes a été effectué au niveau de cinq sites représentatifs des zones estuariennes et côtières. Nos résultats ont montré une différence de concentration de ces éléments dans les organismes marins en fonction des sites. Les différences concernent principalement les sites de Soumbédioune, de Rufisque et de Saint-Louis pour certains éléments. A Saint Louis, à l'embouchure de l'estuaire du fleuve Sénégal, la pollution est marquée par des teneurs élevées en Cd, en Cu et en Se dans les poissons comme le tilapia et le mullet, du Hg dans le mullet et de l'As dans les sardinelles. Le mullet et le tilapia sont deux espèces qui effectuent des migrations dans les estuaires. Les individus de ces deux espèces analysées ont été probablement exposés à la contamination de cet estuaire. La pollution de l'estuaire du Saint-Louis est principalement d'origine agricole et minière mais aussi domestique à travers les eaux usées domestiques et les ordures ménagères. Cette région se trouve au nord des mines de phosphate de Taïba. Les fortes concentrations en Cd dans cet estuaire pourraient dériver aussi comme l'ont suggéré Sidoumou et al., (2006) de ces mines de phosphate.

Soumbédioune et Rufisque sont les sites où la majorité des organismes analysés renferment les teneurs en contaminant les plus élevées. De tous les sites étudiés, Joal présente les teneurs en contaminant métallique les plus faibles. Nos résultats sont en accord avec les résultats des études sur le dosage des contaminants métalliques dans les sédiments (Bodin et al., 2013 ; Diop et al., 2015). Les concentrations en contaminant métalliques dans les sédiments étaient plus élevées à Soumbédioune tandis que les valeurs obtenues à Joal étaient les plus faibles. Cette contamination plus importante à Soumbédioune et Rufisque est en relation avec le niveau d'anthropisation de ces deux sites. Soumbédioune est caractérisé par les décharges des eaux usées domestiques et hospitalières et des retombées atmosphériques issues des transports de la capitale dakaroise. Ce site est localisé à quelques centaines de mètres de la ville de Dakar et reçoit toutes les eaux usées domestiques des quartiers populaires environnants. Rufisque en dehors de la présence des eaux usées domestiques est caractérisé par la présence d'une raffinerie qui rejette ses effluents directement dans la mer, d'une cimenterie et sa baie est sous l'influence des industries chimiques au Sénégal installées à Mbao, ce qui pourrait expliquer les fortes teneurs en contaminant métallique et surtout en HAPs mesurées dans les organismes de cette localité.

Récemment à Hann, un programme de dépollution de la baie a été mis en œuvre ce qui pourrait expliquer les faibles teneurs en contaminant métallique et organique mesurés dans les organismes prélevés dans cette baie.

Il existe des variations inter-sites de la teneur en contaminants chimiques dans les organismes marins du littoral sénégalais. Les sites les plus anthropisés comme Soumbédioune et Rufisque sont ceux qui présentent les teneurs les plus élevées.

1.1. Etat de la pollution chimique du littoral sénégalais

Pour avoir une vue globale de l'état de la pollution par les éléments traces et par les contaminants organiques notamment en HAPs et en PCBs, nous avons comparé les teneurs trouvées dans les différentes espèces avec les teneurs mesurées dans les mêmes espèces rencontrées dans d'autres environnements côtiers et estuariens d'Afrique de l'Ouest mais aussi de régions fortement anthropisées comme les littoraux européens (Tableaux 4.4 A et B).

Globalement, les teneurs en contaminants chimiques mesurées dans les espèces marines du littoral sénégalais sont inférieures ou du même ordre de grandeur que celles mesurées chez les même espèces en Afrique de l'ouest, comme au Maroc (Banaoui et al., 2004), Mauritanie (Roméo et al., 1999; Sidoumou et al., 1999 ; Sidoumou et al., 2006), Namibie (Dahms et al., 2014), Nigeria (Kakulu et al., 1987) et au Ghana (Bandowe et al., 2014).

Toutefois, chez certaines espèces et pour certains contaminants, nous avons trouvé des teneurs un peu plus élevées que dans d'autres régions d'Afrique de l'Ouest. C'est le cas pour le Cd et le Pb des foies des sardinelles qui sont supérieurs aux concentrations enregistrées dans les foies des poissons du Maroc (Chahid et al., 2014). C'est également le cas pour les teneurs en Cd et en Cu des moules qui sont supérieures aux teneurs mesurées dans les moules du Maroc (Banaoui et al., 2004), de Mauritanie (Sidoumou et al., 1999; Sidoumou et al., 2006) et de Namibie (Dahms et al., 2014).

Des études antérieures menées sur les côtes Ouest- africaines ont souligné des teneurs élevées en cadmium dans les eaux côtières de la Mauritanie (Roméo et al., 1999 ; Sidoumou et al., 2005) et dans les eaux côtières et estuariennes du Sénégal (Bodin et al., 2013; Sidoumou et al., 2006). Ces fortes teneurs en cadmium dans les eaux côtières résulteraient de deux sources. L'une naturelle liée aux phénomènes d'upwelling (Roméo et al., 1999) et l'autre, plus importante, serait d'origine anthropique et provient des industries de phosphates dans cette région (Auger et al., 2015). Le Cd est l'un des constituants les plus importants des roches de phosphate (Mar

et Okazaki, 2012). Les mines de phosphates situées entre Dakar et Saint-Louis pourraient être l'une des causes des concentrations élevées en Cd retrouvées dans certaines espèces.

D'une manière plus globale, les teneurs en contaminants chimiques mesurées dans les espèces marines du littoral sénégalais sont inférieures ou du même ordre de grandeur que celles mesurées chez des espèces proches dans d'autres régions du monde comme la Méditerranée ou l'atlantique nord-est (Conti et Cecchetti, 2003; Amodio-Cocchieri et al., 1993; Dahms et al., 2014; Kontas et al., 2012 ; Turkmen et al., 2012) (Tableau 4.4).

Les niveaux de contamination métalliques et organiques dans les organismes marins du littoral sénégalais sont inférieurs ou du même ordre de grandeur que ceux mesurés dans d'autres régions d'Afrique de l'Ouest ou dans d'autres régions du monde.

1.3 Risques associés à la consommation des produits halieutiques du Sénégal

Il est communément admis que la consommation de poissons et plus généralement de produits de la mer contribue de façon importante à l'exposition de l'homme aux contaminants chimiques comme le cadmium, plomb, mercure, hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), polychlorobiphényles (PCB), des dioxines (PCDD et PCDF), PCB, dioxines/furanes (PCDD/F) et les poly-bromodiphényle éthers (PBDE) (AFSSA, 2010). Dans le but de protéger les consommateurs, plusieurs agences et organisations comme la US FDA (US food and drug administration) l'UE (Union européenne), la FAO (Food and Agriculture organisation) et l'OMS (Organisation mondiale de la santé) ont établi des limites maximums admissibles dans les produits de la mer pour certaines catégories de contaminants jugés dangereux pour l'homme. Les contaminants concernés sont le cadmium, le plomb et le mercure parmi les éléments traces et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les polychlorobiphényles (PCB) ou les dioxines (PCDD et PCDF) pour les substances organiques. Ces contaminants n'ont pas de rôle biologique connu. Du fait de leurs propriétés toxiques, écotoxiques, cancérigènes et reprotoxiques (US Department of Health and Human Services, 2011; Cousin and Cachot, 2014) leur présence même à faibles doses peut créer des problèmes de santé pour les organismes aquatiques et pour la population humaine.

Pour l'évaluation des risques associés à la consommation des produits halieutiques du Sénégal, nous avons dosé les contaminants métalliques et organiques réglementés dans les parties

comestibles des moules, des crevettes et de quatre espèces de poisson. Les contaminants dosés concernaient le Cd, le Pb et le Hg pour les métaux, le Benzo (a) pyrène (BaP), Benzo (a) fluoranthène (BaF), le chrysène (Chr) et le Benzo (a) anthracène (BaA), pour les HAPs, les 12 PCBs de type dioxines (PCB-DL) et les six PCBs indicateurs (PCBi) pour les organiques. Le tableau 4.5 résume les normes européennes pour les différentes espèces et contaminants analysés.

Tableau 1.3 : Teneurs maximales admissibles pour quelques produits de la pêche

Contaminants		Maximum admissible (poids frais)						References
		<i>Penaeus</i>	<i>Perna</i>	<i>Sardinella</i>	<i>Solea</i>	<i>Mugil</i>	<i>Tilapia</i>	
Métaux (mg/kg)	<i>Cd</i>	0,5	1	0,25	0,05	0,05	0,05	UE N° 488/2014
	<i>Pb</i>	0,5	1,5	0,3	0,3	0,3	0,3	UE N° 1005/2015
	<i>Hg</i>	0,5	0,5	0,5	0,5	1	0,5	UE N° 629/2008
PAHs (mg/kg)	<i>BaP,</i> <i>BaA,</i> <i>BbF,</i> <i>Chr</i>	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	UE N° 1327/2014
PCBs (mg/kg)	28, 52, 101, 138, 153, 180	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	0,075	UE N° 704/2015

Notre étude montre que les moules concentrent plus de Cd ($0,394 \pm 0,634 \text{ mg kg}^{-1}$ poids frais) et Pb ($0,185 \pm 0,213 \text{ mg kg}^{-1}$ poids frais) que les autres espèces. Pour le mercure, toutes les espèces sauf le mulot concentrent ce métal dans le même ordre de grandeur. Pour les HAPs, les valeurs les plus élevées ont été enregistrées dans les sardinelles et les teneurs les plus faibles ont été mesurées dans les soles. Pour les PCBs, les sardinelles et les crevettes ne concentrent pas du tout ces contaminants et les valeurs trouvées dans les autres espèces sont généralement faibles ($<0,008 \text{ mg kg}^{-1}$ poids frais).

Les valeurs de ces contaminants trouvées dans ces différentes espèces sont comparables à celles trouvées dans les autres zones côtières des côtes ouest-africaines pour le Cd, le Pb et le Hg (Kalulu, 1987 ; Roméo et al., 1999 ; Gnandi et al., 2011) et pour les HAPs et les PCBs (Soclo et al., 2008; Gnandi et al., 2011; Bandowe et al., 2014). Par contre, les teneurs en Cd mesurées dans les moules sont supérieures à celles trouvées dans la même espèce au Maroc (Banaoui et al., 2004), en Mauritanie (Sidoumou et al., 1999). D'une manière plus générale, les teneurs

trouvées dans les parties comestibles des différentes espèces dans cette étude sont comparables aux teneurs trouvées dans d'autres parties du monde, notamment des régions fortement anthropisées (Storelli et al., 2003; Conti and Cecchetti, 2003; Storelli, 2008; Vieira et al., 2011; Kontas, 2012; Turkmen, 2012).

Pour la plupart des espèces étudiées, les teneurs en contaminants métalliques (Cd, Pb, Hg) ou organiques (Σ HAPs ou Σ PCBis) sont largement inférieures à la limite maximale admissible pour la consommation humaine (UE N° 488/2014, UE N° 1005/2015, UE N° 629/2008, UE N° 1327/2014, UE N° 704/2015). Cependant, 50 % des moules de Soumbédioune présentent des teneurs en Cd supérieures à la limite admissible (mg/kg de poids frais) et 100% de sardinelles de Rufisque concentrent des HAPs supérieures à la limite (0,030 mg/kg de poids frais). Pour ce qui concerne la contamination par le mercure, sa concentration était inférieure aux limites de sécurité sanitaire pour l'alimentation humaine telle que définit par l'Union européenne (EC 1881/2006 et avenant 629/2008, 420/2011). Nous nous sommes aussi intéressés à la teneur en sélénium, car de nombreux auteurs ont suggéré que l'excès de sélénium (Se) protège de la toxicité du Hg (Peterson et al. 2009; Squadrone et al. 2015). En effet, Ralston et Raymond (2010) ont démontré que le sélénium réduit la toxicité du méthylmercure lorsque le rapport molaire Se:Hg est supérieur à 1. Dans notre étude, le rapport molaire Se:Hg était toujours supérieur à 1 et ce quelle que soit l'espèce ou le site analysés suggérant une protection des populations consommant les produits de la pêche contre les effets négatifs potentiels du Hg. Ainsi, du fait des faibles teneurs en Hg (inférieures aux limites de sécurité sanitaire pour l'alimentation humaine) et du rapport Sr:Hg >1, nos résultats indiquent qu'il n'y a pas de risque pour la santé humaine lié à une contamination par le mercure dans les produits de la pêche. Toutefois, le mercure est connu pour s'accumuler au cours de la vie du poisson et le long de la chaîne alimentaire car l'absorption du Hg dans les tissus est plus élevée que son excrétion. Dans les eaux sénégalaises, des concentrations élevées en Hg ont été signalées dans les années 70 chez des grands prédateurs comme l'espadon ou des requins (Gras and Mondain, 1982). Même si ces espèces sont aujourd'hui peu consommées par les populations locales, il n'en demeure pas moins qu'une étude actualisée de la contamination de ces grands prédateurs par le Hg est plus que nécessaire.

En plus de la comparaison aux valeurs des limites maximales admissibles pour la consommation humaine, il existe plusieurs méthodes pour évaluer les risques potentiels à une exposition aux contaminants chimiques. Parmi ces méthodes couramment utilisées il y a la détermination du THQ (Target hazard quotient THQ) qui n'est rien d'autre que le rapport entre

la quantité ingérée et la dose de référence établie pour chaque contaminant par US EPA (2000). Si le ratio est supérieur à 1 il y a un risque potentiel pour la santé. Le total quotient de danger cible (ou total THQ) qui inclut les trois métaux étudiés a été aussi calculé pour toutes les espèces. Les résultats du calcul pour le THQ montrent que la consommation des parties comestibles des moules, des crevettes et des muscles des soles, des mullets, des tilapias et des sardinelles ne posent aucun problème de santé en terme de contamination en Cd, Hg et en Pb. A l'exception des moules de Soumbédioune et de Rufisque où les valeurs calculées avec le TTHQ sont supérieures à 1.

Le CR (Cancer Risque CR) qui se base sur l'espérance de vie de la population au Sénégal (temps d'exposition aux contaminants) a été calculé sur les 4 HAPs les plus toxiques, les 6 PCB_i et les 12 PCB-DL et comparé à la limite établie par US EPA, (2002) et qui est égal à 1.10^{-6} (Bandowe et al., 2014; Ding et al., 2012; Xia et al., 2012). Les résultats ont montré que 90 % des HAPs et 83,3 des PCB_i ont des valeurs de CR supérieures à la limite admissible tandis que pour les PCB-DL toutes les valeurs sont largement inférieures à la norme. Sur toutes les espèces étudiées, *Sardinella aurita* à Rufisque montre les valeurs de CR, les plus élevées en HAPs et les moules *Perna perna* de Soumbédioune montrent les valeurs de CR les plus élevées en PCB_i.

En conclusion, l'évaluation des risques associés à l'ingestion des produits de la mer du littoral sénégalais montre que les teneurs en contaminants chimiques sont faibles et inférieures aux valeurs des limites maximales admissibles pour la consommation humaine (normes UE). Seuls les sites de Rufisque et Soumbédioune présentent quelques dépassements chez certaines espèces (moules, sardinelles). Ces sites connus pour être pollués doivent faire l'objet d'une étude plus approfondie.

2. Méthode d'études pour l'évaluation de la fraîcheur des filets de poisson

La fraîcheur est un attribut important de la qualité des poissons pour le consommateur. La perte de fraîcheur est associée indirectement à l'autolyse via l'altération des constituants du tissu musculaire. L'autolyse est accompagnée entre autre d'une libération du contenu intracytoplasmique dans le milieu extracellulaire. Dans cette étude les méthodes utilisées dans l'évaluation de la fraîcheur et de la différenciation d'un filet frais, d'un filet décongelé reposaient principalement sur la libération d'enzymes suite à la lyse des membranes cellulaires du tissu musculaire. Les analyses ont été faites par dosage de la LDH à la fois sur les cellules SAF-1 et sur les filets de daurade royale.

2.1 LDH : marqueur de fraîcheur

La mesure de l'activité de la LDH libre des cellules SAF-1 en suspension dans du PBS, soniquées, centrifugées et stockées à 4°C sur une période de 8 jours montre que l'activité de la LDH libre reste relativement stable et n'a subi aucune dénaturation chimique et /ou enzymatique pendant toute la durée de conservation. Ce qui reflète la stabilité de l'activité de cette enzyme durant ces conditions. La LDH et donc la mesure de l'activité de la LDH libre dans le milieu pourrait refléter l'autolyse des cellules stockées à 4°C dans du PBS dépourvu de nutriments. L'accumulation de la LDH dans le milieu extracellulaire a été utilisée dans cette étude pour estimer le degré d'autolyse des cellules SAF-1 et des filets de daurade royale. Ainsi, les premiers résultats obtenus sur cette lignée cellulaire nous montrent que la déplétion en énergie (liée à la conservation des cellules dans un milieu sans nutriments et à 4°C) entraîne la perméabilisation des membranes plasmiques dans le temps. L'activité de la LDH libre est inversement proportionnelle au nombre de cellules SAF-1 viables. Le rapport LDH libérée et cellules viables donne une indication sur les niveaux de lyse cellulaire et par conséquent sur l'état de l'autolyse. Le degré d'autolyse a été corrélé avec l'activité LDH. Une partie du travail a consisté à regarder si l'état de fraîcheur du filet pouvait être associé à son niveau de lyse cellulaire et donc à l'augmentation de l'activité LDH dans le milieu extracellulaire du tissu musculaire.

La conservation à 4°C entraîne une autolyse qui s'accompagne d'une perméabilisation des cellules musculaires et la libération de leur contenu intracytoplasmique.

La mesure de l'autolyse peut donc se faire par une approche enzymatique en analysant le taux de LDH libéré par le filet. Dans le tissu musculaire *post-mortem* des poissons, la LDH se présente sous deux formes : la LDH libre et la LDH totale. La LDH libre est contenue dans les espaces intercellulaires après autolyse des cellules musculaires. Elle est obtenue par simple centrifugation dans du PBS. La LDH totale englobe la LDH libre et celle contenue dans les cellules. Elle est obtenue après broyage du muscle à l'ultra-turax suivi d'une sonication et d'une centrifugation.

Pour s'affranchir de la variabilité de composition du tissu notamment en LDH, nous avons établi un ratio qui est le rapport entre l'activité de la LDH libre et celle de la LDH totale. Nos résultats ont montré une augmentation du % d'activité de la LDH libre au cours du temps ce qui est le reflet d'une augmentation du nombre de cellules lysées au cours du temps. Trois zones ont été délimitées suivant la quantité de LDH libérée. La première zone (J0 à J2) correspond à un niveau de lyse faible. Les pourcentages d'activité mesurés au cours de ces trois jours de stockage à 4°C sont faibles et inférieurs à 10% de l'activité totale. Cette zone correspond à un

début d'autolyse durant laquelle tous les processus qui concourent à l'altération du tissu débutent. La deuxième zone correspond à une augmentation significative du % d'activité de la LDH libre. Cette zone correspond à un niveau d'autolyse moyen et une troisième zone (de J6 à J8) correspond à un niveau d'autolyse avancé. Durant cette période une quantité importante d'enzymes (entre 40 à 70% de la LDH contenue dans les tissus) a été libérée. Cette période pourrait correspondre à un début d'altération des filets de poisson.

Ainsi d'après les résultats de notre étude, la LDH apparaît comme un candidat potentiel pour l'évaluation de la fraîcheur des filets de poisson.

Mesure de l'autolyse par une approche fluorimétrique

L'autolyse des cellules SAF-1 a également été mesurée par une approche fluorimétrique. Pour simuler les conditions défavorables auxquelles sont soumises les cellules du tissu musculaire de poisson post-mortem, les cellules SAF-1 sont placées comme précédemment dans conditions restrictives en nutriments. L'absence de nutriments conduit les cellules à activer différentes voies de mort cellulaire. Cette mort cellulaire s'accompagne la plupart du temps d'un gonflement de la cellule et des organites qui aboutit à une rupture des membranes plasmiques et intracellulaires, avec une libération du contenu intracytoplasmique. La perméabilisation de la membrane plasmique est en partie catalysée par des enzymes lysosomiques, libérées par l'éclatement des lysosomes (Uchiyama, 2001 ; Lockshin et Zakeri, 2004)

La mesure de l'altération des membranes plasmiques peut donc se faire aussi en mesurant le niveau de perméabilisation des cellules à quelques colorants fluorescents tels que le DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole) et le PI (propidium iodide). Cette mesure de la perméabilisation des membranes a été effectuée dans des cellules SAF-1 soumises dans des conditions de déplétion en énergie.

La perméabilisation des cellules aux colorants fluorescents a pu être mise en évidence par microscopie de fluorescence. La perméabilisation des membranes plasmiques des cellules SAF-1 placées dans des conditions de restriction en nutriments semblent se confirmer par les méthodes de fluorescence. Sur une période de 8 jours nous avons pu observer une nette augmentation de la perméabilité des membranes des cellules SAF-1 au PI (propidium iodide) et un gonflement des noyaux cellulaires à partir du sixième jour mis en évidence par le DAPI. (Figure 4.1)

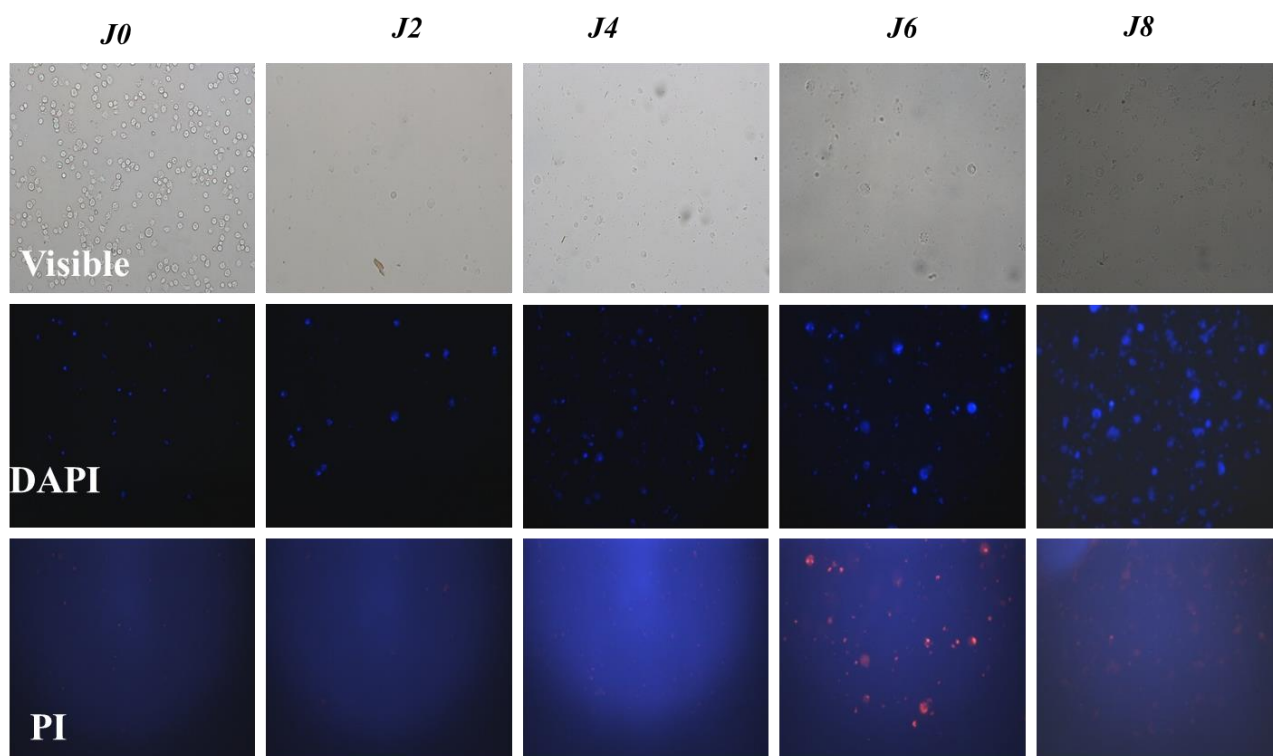


Figure 4.1 : Mesure de la perméabilisation des cellules SAF-1 dans des conditions restrictives en nutriments par des techniques de fluorescence.

La fluorescence associée au DAPI devrait nous donner une idée de la quantité totale de cellules, étant donné la perméabilité des membranes plasmiques des cellules au DAPI. La fluorescence associée au Propidium Iodide devrait pouvoir nous donner le niveau de perméabilisation des cellules, compte tenu du caractère imperméable des membranes plasmiques intègres au Propidium Iodide.

Cette étude est une étude préliminaire, mais la détermination du ratio PI/Dapi pourrait à terme donner le niveau de lyse à différents temps. Plus la fluorescence associée au PI sera importante plus le niveau de perméabilisation sera élevé. Cette première approche (qualitative) en microscopie de fluorescence devrait être associée à une analyse quantitative de la fluorescence en cytométrie de flux.

Cette approche confirme les résultats obtenus par la méthode enzymatique (LDH) mais elle reste uniquement applicable à des cellules libres. Aussi pour pouvoir utiliser cette approche, il devenait nécessaire de pouvoir extraire des cellules du filet. La population qui a été retenue est : les adipocytes. Les adipocytes sont largement distribués dans tous les muscles de poissons et sont relativement faciles à extraire (Nanton et al., 2007). Cette technique est largement développée pour les tissus humains et employée chez le poisson dans des contextes particuliers

(Marckmann et al., 1995). Le premier travail a consisté à affiner les techniques d'extraction des adipocytes pour augmenter les rendements et appréhender les précautions indispensables à leur manipulation. La seconde étape a consisté à mettre au point les techniques de coloration au DAPI et Propidium Iodide sur cette population cellulaire. (Figure 4.2)

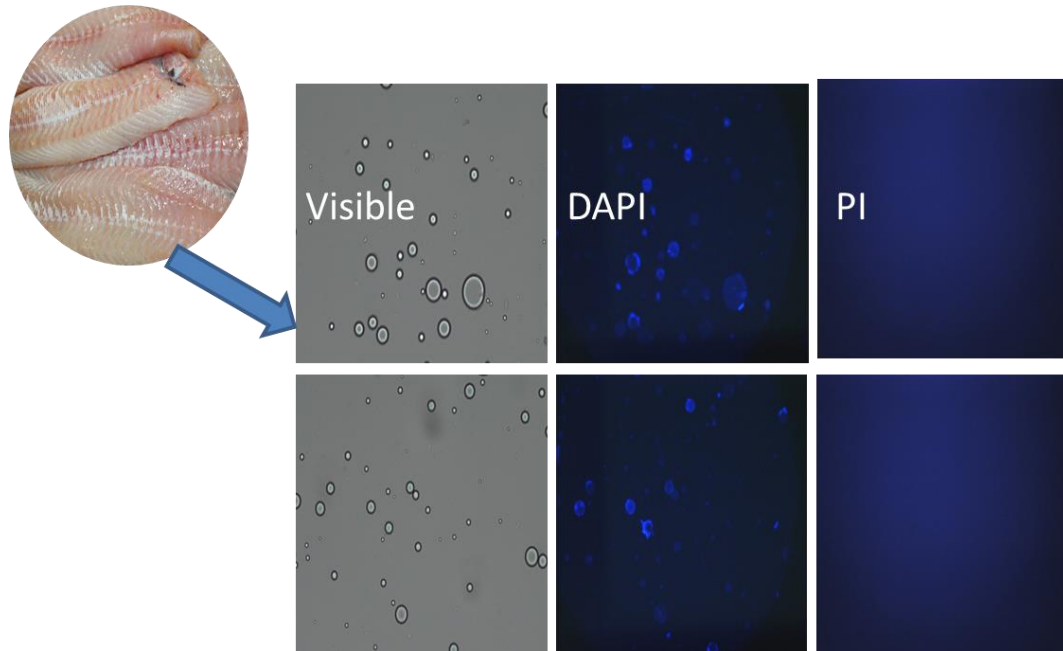


Figure 4.2 : Adipocytes extraits des filets de daurade et leur coloration au DAPI et au PI

Les résultats de coloration au DAPI semblent être en cohérence avec ce que l'on peut obtenir dans la littérature par contre la coloration au propidium iodide des adipocytes n'a jamais été obtenue (Majka et al., 2014). Une des hypothèses avancée, mais qui nécessiterait d'être confirmée, est que la perméabilisation des membranes des adipocytes entraîne son éclatement immédiat. Ce dernier conduit à la libération d'un ou de plusieurs globules lipidiques.

La coloration au propidium iodide des adipocytes perméabilisés ne semble pas adaptée car les adipocytes éclatent dès qu'ils sont fragilisés. En éclatant, ils perdent leur noyau et il devient donc possible de distinguer les adipocytes intègres (gouttelette lipidique + noyau), d'adipocytes lysés (gouttelettes lipidiques sans noyau). En revanche, la double coloration DAPI (coloration des noyaux) et Lipidtox (coloration des gouttelettes lipidiques) permettra à terme de faire cette distinction. La figure 4.3 ci-dessous montre les résultats préliminaires obtenus avec la coloration au Lipidtox. Une analyse en cytométrie de flux permettrait à terme de mesurer le niveau de lyse des adipocytes. Le signal provenant du double marquage Dapi/Lipidtox étant assimilé à des adipocytes matures entiers et le signal provenant du lipidtox étant attribué à une gouttelette lipidique ou adipocyte lysé.



Figure 4.3 : Double coloration au DAPI et lipidtox des adipocytes extraits des filets de daurade.

2.2 La LDH : marqueur de congélation

Pour étudier la différence entre un filet frais et un filet décongelé, nous avons travaillé conjointement sur les cellules SAF-1 et sur les filets de poisson (daurade royale). Dans cette étude, nous avons comparé la lyse cellulaire sur filets frais avec la lyse cellulaire sur filets congelés/décongelés. L'effet du choc congélation/décongélation sur la LDH est double : il amplifie la lyse cellulaire qui s'accompagne donc d'une libération de LDH, mais il dénature également une partie de la LDH du tissu. Les résultats de notre étude sur les cellules SAF-1 ont montré que la sensibilité de la LDH à la congélation dépend du niveau d'organisation cellulaire. Lorsque la LDH est libérée dans du PBS, elle devient très sensible à la congélation et perd toute son activité. Par contre lorsque les cellules sont mises en suspension avant congélation, la LDH libérée perd 85% de son activité. Si les cellules sont culotées avant congélation, la LDH devient moins sensible à la congélation et elle perd 50% de son activité. Ainsi, l'environnement cellulaire joue un rôle important sur la perte d'activité de la LDH sous l'effet de la congélation. Par ailleurs, l'effet des sels ou de solutés compatibles pour la protection de la LDH au choc congélation décongélation a été étudié dans plusieurs études antérieures (Chen et Cui, 2006; Göller et Galinski, 1999).

Des travaux antérieurs au laboratoire ont permis de montrer que le choc congélation/décongélation entraînait une rupture des membranes plasmiques et intracytoplasmiques sur des filets de bar (Ethuin et al., 2015). En effet après le choc congélation/décongélation on observait un enrichissement des exsudats des filets de poisson en protéines sarcoplasmiques et plus particulièrement en parvalbumine. Il a été démontré clairement que la congélation induit une lyse cellulaire conduisant à une libération d'enzymes cytosoliques et d'enzymes lysosomiques (Benjakul et Bauer, 2001). Dans notre étude nous observons une libération moindre de LDH, en partie due à sa perte d'activité liée au choc congélation/décongélation..

On peut aussi estimer que la perte d'activité LDH par la congélation est en partie masquée par la libération de la LDH provoquée par la lyse cellulaire induite par le choc congélation/décongélation. Pour déceler cette perte nous avons comparé l'activité de la LDH à l'activité de l'alpha-glucosidase. Nous avons ainsi pu constater que la congélation/décongélation entraînait une lyse cellulaire importante, quantifiable avec la libération de l'alpha glucosidase. La comparaison avec la lyse cellulaire mesurée sur filet frais, a permis d'estimer une perte d'activité LDH de l'ordre de 20%. Toutefois la sensibilité de l'alpha glucosidase est plus limitée et le temps de révélation est assez long. Nous pourrions corréler l'activité de la LDH à la concentration en calcium dans le milieu extracellulaire. La « fraction LDH » la plus sensible étant dans le compartiment extracellulaire, normalement peu concentré en calcium. La congélation va induire une perte de l'activité LDH en partie compensée par la libération de LDH associée à la lyse. Cette lyse va également entraîner une fuite de calcium dans le milieu extracellulaire. Par conséquent si nous ramenons l'activité LDH dans le milieu extracellulaire à une concentration en calcium, nous devrions détecter relativement facilement l'effet de la congélation.

Perspectives

Qualité chimique des produits halieutiques

Notre étude a montré que les écosystèmes côtiers et estuariens du Sénégal sont marqués par l’empreinte humaine pour ce qui concerne les contaminants métalliques et organiques. A partir des résultats obtenus dans cette étude, différentes approches peuvent être proposées pour mieux appréhender la pollution du littoral sénégalais et pour l’évaluation des risques associés à ces polluants chimiques. Cela est particulièrement nécessaire pour le cadmium et pour les hydrocarbures aromatiques polycycliques. Plusieurs études antérieures ont montré que l’environnement littoral du Sénégal est pollué en Cd (Roméo et al., 1999 ; Auger et al., 2015). Si certains pensent que ce Cd a une origine naturelle et dérive de l’upwelling côtier (Roméo et al., 1999), les travaux d’Auger et al., (2015) montrent que la source la plus importante du Cd est d’origine anthropique et proviennent des mines de phosphate. Selon le rapport de Kauwenbergh (1997), les engrais fabriqués par les industries chimiques du Sénégal peuvent contenir jusqu’à 87 mg/kg en Cd. Ces industries sont localisées à proximité du littoral où elles rejettent leurs effluents. Par conséquent, une meilleure évaluation pour déterminer la ou les sources réelles du Cd dans cet environnement est nécessaire. L’utilisation des moules qui bioaccumulent (FBA = 1,12) et bioconcentrent (FBC = 44,6) très bien ce métal permettrait de mieux comprendre le problème de la contamination en Cd du littoral sénégalais. Des dispositifs tels que des poches de moules placées à proximité de différentes sources potentielles (à proximité des mines de phosphate, des industries chimiques du Sénégal, à Soubédioune et à Joal) mais aussi à différentes saisons pour tenir compte des variations de l’intensité de l’upwelling et de la circulation marine, pourraient être mis en place.

Nous nous sommes intéressés au cours de cette étude principalement à la contamination par la colonne d’eau et/ou le sédiment. Cependant, la contamination par la nourriture représente également une voie de transfert importante des polluants vers les organismes marins. Ainsi, cette étude pourrait être approfondie en évaluant l’évolution des teneurs en contaminants métalliques et organiques en fonction de la taille des individus des différentes espèces. Par exemple, chez des sardines et sardinelles, des variations de concentration en Hg en fonction de la taille des individus ont été aussi observées (Joiris et al., 1999). La bioamplification peut concerner tous les métaux en général, mais plus particulièrement le mercure, lorsqu’il est présent sous forme organique (méthylmercure) qui est sa forme la plus toxique pour l’homme. En effet, la chaîne alimentaire est connue pour être la voie la plus importante du processus de

bioaccumulation du mercure. Dans les eaux sénégalaises, des concentrations élevées en Hg ont été signalées dans les années 70 chez des grands prédateurs comme l'espadon ou des requins (Gras and Mondain, 1982). Même si ces espèces sont aujourd'hui peu consommées par les populations locales, il n'en demeure pas moins qu'une étude actualisée de la contamination par le Hg des grands prédateurs marins comme les thons, les espadons et les requins est plus que nécessaire.

Une autre problématique qui inquiète la communauté scientifique est la présence dans le milieu marin des résidus de médicaments d'origines pharmaceutiques humains ou vétérinaires, des produits de soins corporels etc. Ces substances peuvent se concentrer dans les organismes aquatiques et à la longue impacter l'homme. Même si des études ont été consacrées au Sénégal pour doser les résidus de médicaments présents dans les viandes commercialisées à Dakar (Châtaigner et Stevens., 2003), aucune étude n'a été faite sur les produits halieutiques. Du fait de l'importance des risques et de l'absence des données au Sénégal, un diagnostic de l'état des lieux sur la présence de ces substances dites émergentes dans les organismes marins est nécessaire. Ce diagnostic pourrait consister en l'analyse de ces substances dans les sédiments, dans l'eau et dans les organismes aquatiques. Cette analyse pourrait dans un premier temps se focaliser sur le site de Soumbédioune qui est le site le plus pollué et qui est le siège des rejets domestiques et des grands hôpitaux de Dakar. Des dosages de résidus de médicaments comme les anti-inflammatoires, les hormones stéroïdes, les antibiotiques et les hypolipémiants, pourraient être réalisés dans différents points de déversement des rejets d'eaux usées hospitalières et domestiques et dans des moules placées dans des poches placées à ces différents points et en un site de référence. L'étude pourra ensuite être étendue dans les poissons.

Enfin, concernant les risques associés à la consommation des produits halieutiques, une meilleure évaluation de ces risques pourra se faire en tenant compte des habitudes alimentaires de la population. Elle pourra être faite sur les produits transformés (poissons séchés et/ou salés, fumés). Une attention toute particulière devra porter sur les sardinelles qui constituent l'aliment de base du plat quotidien des Sénégalais (riz au poisson) chez qui nous avons trouvé des teneurs élevées en HAPs.

Qualité liée à la fraîcheur des filets de poisson

Notre étude sur l'évaluation de la qualité et la fraîcheur des poissons par dosage enzymatique montre que la LDH peut être un marqueur pour évaluer la fraîcheur des filets de poissons. Les résultats obtenus sur la LDH ont été confirmés par l'utilisation des marqueurs de fluorescence (DAPI, Propidium Iodide (PI)). Les résultats de coloration au PI montrent bien qu'il y a une perméabilisation des cellules SAF-1 en déplétion d'énergie et conservées à 4°C. Pour appliquer cette méthode au filet de poisson, nous avons extrait les adipocytes du filet et nous avons appliqué ces colorations. La coloration au propidium iodide ne semble pas applicable, mais la double coloration Dapi – Lipidtox permettrait à terme d'apprécier le niveau de lyse des adipocytes.

Cette étude pourra être complétée par le dosage des dérivées de nucléotides en HPLC. Cette étude que j'ai initiée l'ANSES pourra apporter plus de clarté sur ces méthodes. Actuellement on est en phase de développement méthodologique. L'optimisation et le passage des échantillons devront se faire très prochainement.

La seconde partie du travail a consisté à regarder si l'on pouvait exploiter la sensibilité de la LDH à la congélation dans le but de différencier un filet frais d'un filet congelé/décongelé. Nos résultats ont montré que la sensibilité de la LDH, à la congélation à -20°C, dépend du niveau d'organisation cellulaire. Sur filet décongelé, la perte d'activité associée à la congélation était proche de 20% de l'activité totale de la LDH comparée aux filets frais. Etant donné les fluctuations de la concentration en LDH, cette perte doit être corrélée avec l'augmentation de la lyse cellulaire associée à la congélation.

Pour les filets congelés, la perte d'activité LDH par la congélation est en partie masquée par la libération de la LDH provoquée par la lyse cellulaire induite par le choc congélation/décongélation. Pour déceler cette perte nous avons comparé l'activité de la LDH à l'activité de l'alpha glucosidase. Toutefois la sensibilité de l'alpha glucosidase est plus limitée et le temps de révélation est assez long. Nous pourrions corrélérer l'activité de la LDH à la concentration en calcium dans le milieu extracellulaire. La « fraction LDH » la plus sensible étant dans le compartiment extracellulaire, normalement peu concentré en calcium. La congélation va induire une perte de l'activité LDH en partie compensée par la libération de LDH associée à la lyse. Cette lyse va entraîner la fuite de calcium dans le milieu extracellulaire. Par conséquent si nous ramenons l'activité LDH dans le milieu extracellulaire à une concentration en calcium, nous devrions détecter relativement facilement l'effet de la congélation.

L'activité de la LDH dans le milieu extracellulaire pourrait également être corrélée avec l'augmentation de la concentration en protéines pour les filets congelés/décongelés. La diminution relative de l'activité LDH associée à l'augmentation de la concentration en protéines et calcium dans le milieu permettrait d'argumenter en faveur d'une perte d'activité LDH associée à la congélation !

Pour faciliter les dosages et gagner en précision, il sera possible d'utiliser des sondes de fluorescence telles que la fluorescamine pour les protéines et le Fluo-4 AM pour déterminer la concentration en calcium. Nous avons vu dans le précédent travail, que les compartiments où la LDH était la plus sensible, étaient des compartiments aqueux (LDH en solution). Sur poisson entier il serait intéressant d'analyser l'activité LDH dans des compartiments comme l'humeur vitrée pour regarder l'impact de la congélation. L'humeur vitrée est un compartiment aqueux où la concentration en LDH est non négligeable. La congélation devrait impacter l'activité de la LDH beaucoup plus facilement que dans le tissu musculaire. D'autre part la lyse cellulaire imputable à la congélation devrait facilement être détectée en raison de la présence de mélanocytes (induisant une libération de pigments). L'activité LDH pourrait donc être corrélée à la concentration en ions mais également en fonction de la présence de pigments. Ces études mériteraient d'être étendues à un plus grand nombre d'espèces de poissons.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- AFSSA, 2010. Consommation des poissons, mollusques et crustacés : Aspects nutritionnels et sanitaires pour l'Homme. Rapport du groupe de travail. p. 193
- Ahmed, Z., Donkor, O., Street, W.A., Vasiljevic, T., 2015. Calpains-and cathepsins-induced myofibrillar changes in post-mortem fish: Impact on structural softening and release of bioactive peptides. *Trends in Food Science & Technology* 45, 130–146.
- Ahmed, Z., Donkor, O., Street, W., Vasiljevic, T., 2013. Proteolytic activities in fillets of selected underutilized Australian fish species. *Food chemistry* 140, 238–244.
- Alberio, G.R., Barbagallo, R.N., Todaro, A., Bono, G., Spagna, G., 2014. Effect of freezing/thawing process in different sizes of blue fish in the Mediterranean through lysosomal enzymatic tests. *Food chemistry* 148, 47–53.
- Ali, H., Khan, E., Sajad, M.A., 2013. Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications. *Chemosphere* 91, 869–881.
- Alimelli, A., Pennazza, G., Santonico, M., Paolesse, R., Filippini, D., D'Amico, A., Lundström, I., Di Natale, C., 2007. Fish freshness detection by a computer screen photoassisted based gas sensor array. *Analytica Chimica Acta* 582, 320–328.
- Amara, R., Meziane, T., Gilliers, C., Hermel, G., Laffargue, P., 2007. Growth and condition indices in juvenile sole *Solea solea* measured to assess the quality of essential fish habitat. *MARINE ECOLOGY-PROGRESS SERIES-* 351, 201.
- Amodio-Cocchieri, R., Prete, U., Arnese, A., Giuliano, M., Roncioni, A., 1993. Heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH's) in marine organisms from the Ionian Sea (Italy). *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 50, 618–625.
- Anderson, M.L., Ravesi, E.M., 1969. Reaction of free fatty acids with protein in cod muscle frozen and stored at -29 C after aging in ice. *Journal of the Fisheries Board of Canada* 26, 2727–2736.
- Anderson, R.S., Patel, K.M., Roesijadi, G., 1999. Oyster metallothionein as an oxyradical scavenger: implications for hemocyte defense responses. *Developmental & Comparative Immunology* 23, 443–449.
- Ando, M., Yoshimoto, Y., Inabu, K., Nakagawa, T., Makinodan, Y., 1995. Post-mortem Change of Three-dimensional Structure of Collagen Fibrillar Network in Fish Muscle Pericellular Connective Tissues Corresponding to Post-mortem Tenderization. *Fisheries science* 61, 327–330.

- Ando, S., Hatano, M., 1987. Metabolic pathways of carotenoids in chum salmon *Oncorhynchus keta* during spawning migration. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 87, 411–416.
- Ando, S., Hatano, M., Zama, K., 1986. Protein degradation and protease activity of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) muscle during spawning migration. *Fish physiology and biochemistry* 1, 17–26.
- ANSD (Agence Nationale de la Statistique et de la Démographie), 2015. Enquête démographique et de Santé Continue (EDS-Continue 2014). Rockville, Maryland, USA
- ANSES, 2010. Consommation des poissons, mollusques et crustacés : aspects nutritionnels et sanitaires pour l'Homme. Rapport final. 193p
- Aoki, T., Ueno, R., 1997. Involvement of cathepsins B and L in the post-mortem autolysis of mackerel muscle. *Food Research International* 30, 585–591.
- Aristoy, M., Toldrá, F., 2009. Nucleotides and its derived compounds. *Handbook of muscle foods analysis* 279–288.
- Audley, M., Shetty, K., Kinsella, J., 1978. Isolation and properties of phospholipase A from pollock muscle. *Journal of Food Science* 43, 1771–1775.
- Auger, P.A., Machu, E., Gorgues, T., Grima, N., Waeles, M., 2015. Comparative study of potential transfer of natural and anthropogenic cadmium to plankton communities in the North-West African upwelling. *Science of the Total Environment* 505, 870–888.
- Ayala, M.D., Abdel, I., Santaella, M., Martínez, C., Periago, M.J., Gil, F., Blanco, A., Albors, O.L., 2010. Muscle tissue structural changes and texture development in sea bream, *Sparus aurata* L., during post-mortem storage. *LWT-Food Science and Technology* 43, 465–475.
- Ayala, M.D., Albors, O.L., Blanco, A., Alcázar, A.G., Abellán, E., Zarzosa, G.R., Gil, F., 2005. Structural and ultrastructural changes on muscle tissue of sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., after cooking and freezing. *Aquaculture* 250, 215–231.

B

- Bahuaud, D., Gaarder, M., Veiseth-Kent, E., Thomassen, M., 2010. Fillet texture and protease activities in different families of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 310, 213–220.
- Bahuaud, D., Mørkøre, T., Langsrud, Ø., Sinnes, K., Veiseth, E., Ofstad, R., Thomassen, M., 2008. Effects of –1.5 C Super-chilling on quality of Atlantic salmon (*Salmo salar*) pre-rigor Fillets: cathepsin activity, muscle histology, texture and liquid leakage. *Food chemistry* 111, 329–339.

- Banaoui, A., Chiffolleau, J.-F., Moukrim, A., Burgeot, T., Kaaya, A., Auger, D., Rozuel, E., 2004. Trace metal distribution in the mussel *Perna perna* along the Moroccan coast. *Marine pollution bulletin* 48, 385–390.
- Bandowe, B.A.M., Bigalke, M., Boamah, L., Nyarko, E., Saalia, F.K., Wilcke, W., 2014. Polycyclic aromatic compounds (PAHs and oxygenated PAHs) and trace metals in fish species from Ghana (West Africa): Bioaccumulation and health risk assessment. *Environment international* 65, 135–146.
- Belabed, B.-E., Laffray, X., Dhib, A., Fertouna-Belakhal, M., Turki, S., Aleya, L., 2013. Factors contributing to heavy metal accumulation in sediments and in the intertidal mussel *Perna perna* in the Gulf of Annaba (Algeria). *Marine pollution bulletin* 74, 477–489.
- Benjakul, S., Bauer, F., 2001. Biochemical and physicochemical changes in catfish (*Silurus glanis* Linne) muscle as influenced by different freeze–thaw cycles. *Food Chemistry* 72, 207–217.
- Birch, G., Taylor, S., Matthai, C., 2001. Small-scale spatial and temporal variance in the concentration of heavy metals in aquatic sediments: a review and some new concepts. *Environmental Pollution* 113, 357–372.
- Bodin, N., Ka, R., Le Loc'h, F., Raffray, J., Budzinski, H., Peluhet, L., de Morais, L.T., 2011. Are exploited mangrove molluscs exposed to Persistent Organic Pollutant contamination in Senegal, West Africa? *Chemosphere* 84, 318–327.
- Bodin, N., N'Gom-Kâ, R., Kâ, S., Thiaw, O., De Morais, L.T., Le Loc'h, F., Rozuel-Chartier, E., Auger, D., Chiffolleau, J.-F., 2013. Assessment of trace metal contamination in mangrove ecosystems from Senegal, West Africa. *Chemosphere* 90, 150–157.
- Boely, T., Champagnat, C., 1967. Observations préliminaires sur *Sardinella aurita* (C. et V.) des côtes sénégalaises. Centre d'océanographie.
- Boerresen, T., Dalgaard, P., Gram, L., Jensen, B., Nielsen, J., Olsen, K., Gill, T., Lupin, H., Huss, H., 1999. La qualité et son évolution dans le poisson frais. Food & Agriculture Org.
- Bonilla, A.C., Sveinsdottir, K., Martinsdottir, E., 2007. Development of Quality Index Method (QIM) scheme for fresh cod (*Gadus morhua*) fillets and application in shelf life study. *Food control* 18, 352–358.
- Borresen, T., 1992. Quality aspects of wild and reared fish. Quality assurance in the fish industry.
- Boust, D., Fischer, J.-C., Ouddane, B., Petit, F., Wartel, M., Abarnou, A., Ficht, A., Gandon, R., Hebert, D., Hocdé, R., n.d. Programme scientifique Seine-Aval(9, Fer et manganèse: réactivités et recyclages).

- Boyden, C.R., Phillips, D., 1981. Seasonal variation and inherent variability of trace elements in oysters and their implications for indicator studies. *Marine Ecology Progress Series*.
- Braham, C.-B., Fréon, P., Laurec, A., Demarcq, H., Bez, N., 2014. New insights in the spatial dynamics of sardinella stocks off Mauritania (North-West Africa) based on logbook data analysis. *Fisheries Research* 154, 195–204.
- Brillant, È., 1993. Effets de l'intoxication au chlorure de cadmium chez la truite mouchetée, *Salvelinus fontinalis*, Mitchill. Université du Québec à Chicoutimi Chicoutimi.
- Bryan, G., Hummerstone, L., 1973. Brown seaweed as an indicator of heavy metals in estuaries in south-west England. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 53, 705–720.
- Buffle J., 1988. Complexation reactions in aquatic systems - an analytical approach. Chapter 7: Experimental determination of the in situ distribution of chemicalspecies. Ellis Horwood limited series in analytical chemistry. A division of John Wiley and Sons.

C

- Cabral, H., Costa, M.J., 1999. Differential use of nursery areas within the Tagus estuary by sympatric soles, *Solea solea* and *Solea senegalensis*. *Environmental Biology of Fishes* 56, 389–397.
- Campanella, L., Conti, M., Cubadda, F., Sucapane, C., 2001. Trace metals in seagrass, algae and molluscs from an uncontaminated area in the Mediterranean. *Environmental Pollution* 111, 117–126.
- Carpenter, J., Prestrelski, S., Arakawa, T., 1993. Separation of freezing-and drying-induced denaturation of lyophilized proteins using stress-specific stabilization: I. Enzyme activity and calorimetric studies. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 303, 456–464.
- Casas, S., 2005. Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Pb, Cu et Zn) chez la moule, *Mytilus galloprovincialis*, en milieu méditerranéen.
- Castro-González, M., Méndez-Armenta, M., 2008. Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environmental toxicology and pharmacology* 26, 263–271.
- Cayré, P., 1976. Etude de la moule *Perna perna* et de l'huître *Gryphea gasar*: étude des possibilités de conchyliculture en République Populaire du Congo.
- Chahid, A., Hilali, M., Benlhachimi, A., Bouzid, T., 2014. Contents of cadmium, mercury and lead in fish from the Atlantic sea (Morocco) determined by atomic absorption spectrometry. *Food chemistry* 147, 357–360.

- Chakraborty, S., Bhattacharya, T., Singh, G., Maity, J.P., 2014. Benthic macroalgae as biological indicators of heavy metal pollution in the marine environments: A biomonitoring approach for pollution assessment. *Ecotoxicology and environmental safety* 100, 61–68.
- Chase, M., Jones, S., Hennigar, P., Sowles, J., Harding, G., Freeman, K., Wells, P., Krahforst, C., Coombs, K., Crawford, R., 2001. Gulfwatch: Monitoring spatial and temporal patterns of trace metal and organic contaminants in the Gulf of Maine (1991–1997) with the blue mussel, *Mytilus edulis* L. *Marine Pollution Bulletin* 42, 490–504.
- Châtaigner, B., Stevens, A., 2003. Investigation sur la présence de résidus d’antibiotiques dans les viandes commercialisées à Dakar. Institut Pasteur de DAKAR, Projet PACEPA p 12.
- Chen, Y.-H., Cui, Z., 2006. Effect of salts on the freezing denaturation of lactate dehydrogenase. *Food and bioproducts processing* 84, 44–50.
- Chéret, R., 2005. Effet des hautes pressions sur les indicateurs de maturation de la viande et d’altération du muscle de poisson.
- Chéret, R., Delbarre-Ladrat, C., Verrez-Bagnis, V., De Lamballerie, M., 2007. Effect of high pressure on the calpain–calpastatin system in fish muscle. *Journal of food science* 72, C313–C316.
- Chiffolleau, J.-F., 2003. Dosage de certains métaux traces:(Ag, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, V, Zn) dans les organismes marins par absorption atomique. Editions Quae.
- Ciobanu, D., Bastiaansen, J., Lonergan, S.M., Thomsen, H., Dekkers, J.C., Plastow, G.S., Rothschild, M.F., 2004. New alleles in calpastatin gene are associated with meat quality traits in pigs. *Journal of animal science* 82, 2829–2839.
- Comley, K., Fleck, N.A., 2010. A micromechanical model for the Young’s modulus of adipose tissue. *International Journal of Solids and Structures* 47, 2982–2990.
- Conti, M.E., Cecchetti, G., 2003. A biomonitoring study: trace metals in algae and molluscs from Tyrrhenian coastal areas. *Environmental Research* 93, 99–112.
- Copat, C., Arena, G., Fiore, M., Ledda, C., Fallico, R., Sciacca, S., Ferrante, M., 2013. Heavy metals concentrations in fish and shellfish from eastern Mediterranean Sea: consumption advisories. *Food and chemical toxicology* 53, 33–37.
- Cousin, X., Cachot, J., 2014. PAHs and fish-exposure monitoring and adverse effects-from molecular to individual level. *Environmental Science and Pollution Research* 21, 13685–13688.
- CSE, 2010. Papport sur l’état de l’environnement au Sénégal. In: Ecologique, C.d.S. (Ed.), Dakar, Sénégal, p. 266.

CSE, 2005. Papport sur l'état de l'environnement au Sénégal. In: Ecologique, C.d.S. (Ed.), Dakar, Sénégal, p. 214.

D

Dacosta, H., Kandia, K.Y., Malou, R., 2002. La variabilité spatio-temporelle des précipitations au Sénégal depuis un siècle. IAHS PUBLICATION 499–506.

Daher, C., 2012. Analyse par spectroscopies Raman et infrarouge de matériaux naturels organiques issus d'objets du patrimoine: méthodologies et applications.

Dahms, S., van der Bank, F., Greenfield, R., 2014. A baseline study of metal contamination along the Namibian coastline for *Perna perna* and *Choromytilus meridionalis*. Marine pollution bulletin 85, 297–305.

Débarre, D., Pena, A.-M., Supatto, W., Boulesteix, T., Strupler, M., Sauviat, M.-P., Martin, J.-L., Schanne-Klein, M.-C., Beaurepaire, E., 2006. Microscopies multi-harmoniques pour l'imagerie structurale de tissus intacts. M/S: médecine sciences 22, 845–850.

Deme, M., Thiao, D., Sow, F., Sarre, A., Diadhiou, H., 2012. Dynamique des Populations de Sardinelles en Afrique du Nord-Ouest: Contraintes Environnementales, Biologiques et Socio Economiques. Projet USAID/COMFISH PENCOO GEJ. Rapport Final, USAID, Dakar.

Diaw, A., 1997. Evolution des milieux littoraux du Sénégal. Géomorphologie et Télédétection. Doctorat d'Etat Lettres, Université Paris-I, Panthéon-Sorbonne.

Diawara, A.B., 2009. Les déchets solides a Dakar. Environnement, sociétés et gestion urbaine.

Ding, L., Li, Y., Wang, P., Li, X., Zhao, Z., Zhang, Q., Tuan, T., Jiang, G., 2012. Seasonal trend of ambient PCDD/Fs in Tianjin City, northern China using active sampling strategy. Journal of Environmental Sciences 24, 1966–1971.

Diop, C., 2014. Étude de la contamination, de la spéciation et de la biodisponibilité des éléments traces métalliques dans les eaux et sédiments côtiers et estuariens au Sénégal: évaluation de la toxicité potentielle.

Diop, C., Dewaelé, D., Cazier, F., Diouf, A., Ouddane, B., 2015. Assessment of trace metals contamination level, bioavailability and toxicity in sediments from Dakar coast and Saint Louis estuary in Senegal, West Africa. Chemosphere 138, 980–987.

Diop, C., Dewaelé, D., Diop, M., Touré, A., Cabral, M., Cazier, F., Fall, M., Diouf, A., Ouddane, B., 2014. Assessment of contamination, distribution and chemical speciation of trace metals in water column in the Dakar coast and the Saint Louis estuary from Senegal, West Africa. Marine pollution bulletin 86, 539–546.

Diop, M., Howsam, M., Diop, C., Cazier, F., Goossens, J.F., Diouf, A., Amara, R., 2016a. Spatial and seasonal variations of trace elements concentrations in liver and muscle of round

- Sardinelle (*Sardinella aurita*) and Senegalese sole (*Solea senegalensis*) along the Senegalese coast. *Chemosphere* 144, 758–766.
- Diop, M., Howsam, M., Diop, C., Goossens, J.F., Diouf, A., Amara, R., 2016b. Assessment of trace element contamination and bioaccumulation in algae (*Ulva lactuca*), mussels (*Perna perna*), shrimp (*Penaeus kerathurus*), and fish (*Mugil cephalus*, *Saratherondon melanotheron*) along the Senegalese coast. *Marine pollution bulletin*.
- Diouf, K., Panfili, J., Labonne, M., Aliaume, C., Tomás, J., Do Chi, T., 2006. Effects of salinity on strontium: calcium ratios in the otoliths of the West African black-chinned tilapia *Sarotherodon melanotheron* in a hypersaline estuary. *Environmental Biology of Fishes* 77, 9–20.
- Diouf K., Samb B. & Sylla M. 2010. Contribution à la connaissance de la biologie des sardinelles (*Sardinella aurita* et *Sardinella maderensis*) du littoral sénégalais. Dans S. Garcia, M. Tandstad & A.M. Caramelo (eds.). Science et aménagement des petits pélagiques. Symposium sur la science et le défi de l'aménagement des pêcheries de petits pélagiques sur les stocks partagés en Afrique nord-occidentale. 11-14 mars 2008, Casablanca, Maroc. *FAO Comptes rendus des pêches et de l'aquaculture*. No. 18. Rome, FAO. pp. 39–56."
- Doshi, H., Seth, C., Ray, A., Kothari, I., 2008. Bioaccumulation of heavy metals by green algae. *Current Microbiology* 56, 246–255.
- Driscoll, C.T., Mason, R.P., Chan, H.M., Jacob, D.J., Pirrone, N., 2013. Mercury as a global pollutant: sources, pathways, and effects. *Environmental science & technology* 47, 4967–4983.
- Duflos, G., Le Fur, B., Mulak, V., Becel, P., Malle, P., 2002. Comparison of methods of differentiating between fresh and frozen–thawed fish or fillets. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82, 1341–1345.
- Dugan, J.E., Ichikawa, G., Stephenson, M., Crane, D., McCall, J., Regalado, K., 2004. Monitoring of coastal contaminants using sand crabs. Prepared for Central.
- Dumont, G.-F., Kanté, S., 2009. Le Sénégal: une géopolitique exceptionnelle en Afrique (Senegal: A Unique Political Geography in Africa).
- Dural, M., Göksu, M.L., Özak, A.A., Derici, B., 2006. Bioaccumulation of some heavy metals in different tissues of *Dicentrarchus labrax* L, 1758, *Sparus aurata* L, 1758 and *Mugil cephalus* L, 1758 from the Camlik lagoon of the eastern coast of mediterranean (turkey). *Environmental Monitoring and Assessment* 118, 65–74.

- EC, 2015. No 2015/1005 of 25 June 2015 amending Regulation (EC) no 1881/2006 as regards the maximum levels for lead in foodstuffs. *Off. J. Eur.* 5. L 161/9.
- EC, 2014. No 488/2014 of 12 May 2014 amending Regulation (EC) no 1881/2006 as regards the maximum levels for cadmium in foodstuffs. *Off. J. Eur.* 5. L 138/75
- EC (2008) No 629/2008 of 2 July 2008 amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official. J. European* 173/6, 4 pages.
- EC (2006) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official. J European* 364: 5–24.
- Engel, D.W., Roesijadi, G., 1987. Metallothioneins: a monitoring tool. *Pollution Physiology of Estuarine Organisms* 421438.
- Erickson, M.C., 1993. Compositional parameters and their relationship to oxidative stability of channel catfish. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41, 1213–1218.
- Ethuïn, P., Marlard, S., Delosière, M., Carapito, C., Delalande, F., Van Dorsselaer, A., Dehaut, A., Lencel, V., Duflos, G., Grard, T., 2015. Differentiation between fresh and frozen–thawed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets using two-dimensional gel electrophoresis. *Food chemistry* 176, 294–301.

F

- Falk, T.M., Teugels, G.G., Abban, E.K., Villwock, W., Renwranz, L., 2003. Phylogeographic patterns in populations of the black-chinned tilapia complex (Teleostei, Cichlidae) from coastal areas in West Africa: support for the refuge zone theory. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 27, 81–92.
- Fall, S., Semazzi, F.H., Niyogi, D.D.S., Anyah, R.O., Bowden, J., 2006. The spatiotemporal climate variability over Senegal and its relationship to global climate. *International Journal of Climatology* 26, 2057–2076.
- FAO, 2014. La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture. Possibilités et défis. 275p
- FAO, 2010. Rapport de la FAO sur la situation mondiale des pêches et de l'aquaculture. Rome, p. 100.
- FAO, 2003. Code international de conduite pour la distribution et l'utilisation des pesticides. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rome.
- Fauconneau, B., Corraze, G., Le Bail, P.-Y., Vernier, J.-M., 1990. Les lipides de dépôt chez les poissons d'élevage: contrôle cellulaire, métabolique et hormonal (1). *INRA Prod. Anim* 3, 369–381.

- Ferreira, M., Moradas-Ferreira, P., Reis-Henriques, M., 2005. Oxidative stress biomarkers in two resident species, mullet (*Mugil cephalus*) and flounder (*Platichthys flesus*), from a polluted site in River Douro Estuary, Portugal. *Aquatic toxicology* 71, 39–48.
- Fitzpatrick, R., Casey, O.M., Morris, D., Smith, T., Powell, R., Sreenan, J.M., 2002. Postmortem stability of RNA isolated from bovine reproductive tissues. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression* 1574, 10–14.
- Forsberg, Å., Söderlund, S., Frank, A., Petersson, L., Pedersen, M., 1988. Studies on metal content in the brown seaweed, *Fucus vesiculosus*, from the Archipelago of Stockholm. *Environmental Pollution* 49, 245–263.
- Frankel, E., 1984. Chemistry of free radical and singlet oxidation of lipids. *Progress in lipid research* 23, 197–221.
- Fraser, D.I., Dingle, J., Hines, J., Nowlan, S.C., Dyer, W., 1967. Nucleotide degradation, monitored by thin-layer chromatography, and associated postmortem changes in relaxed cod muscle. *Journal of the Fisheries Board of Canada* 24, 1837–1841.
- Fraser, O.P., Sumar, S., 1998. Compositional changes and spoilage in fish (part II)-microbiological induced deterioration. *Nutrition & Food Science* 98, 325–329.
- Freon, P., 1988. Réponses et adaptations des stocks de Cupleides d’Afrique de l’ouest à la variabilité du milieu et de l’exploitation: analyse et reflexion à partir de l’exemple du Senegal.
- Fujita, H., Yoshikawa, M., 1999. LKPNM: a prodrug-type ACE-inhibitory peptide derived from fish protein. *Immunopharmacology* 44, 123–127.

G

- Gaarder, M., Bahuaud, D., Veiseth-Kent, E., Mørkøre, T., Thomassen, M., 2012. Relevance of calpain and calpastatin activity for texture in super-chilled and ice-stored Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets. *Food chemistry* 132, 9–17.
- Gallart-Jornet, L., Rustad, T., Barat, J., Fito, P., Escriche, I., 2007. Effect of superchilled storage on the freshness and salting behaviour of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *Food Chemistry* 103, 1268–1281.
- Garnaud, S., Mouchel, J.-M., Chebbo, G., Thévenot, D.R., 1999. Heavy metal concentrations in dry and wet atmospheric deposits in Paris district: comparison with urban runoff. *Science of the Total Environment* 235, 235–245.
- Gill, T., 1992. Biochemical and chemical indices of seafood quality. *Developments in food science*.

- Gill, T.M., Sarter, M., Givens, B., 2000. Sustained visual attention performance-associated prefrontal neuronal activity: evidence for cholinergic modulation. *The Journal of Neuroscience* 20, 4745–4757.
- Gioia, R. et al. (2011). *Environ. Sci. Technol.* doi: 10.1021/es10525239 Kuiken, T., U. Höfle, P.M. Bennett, C.R. Allchin, J.K. Kirkwood, J.R. Baker, E.C. Appleby, C.H.
- Gnandi, K., Bandowe, B.A.M., Deheyn, D.D., Porrachia, M., Kersten, M., Wilcke, W., 2011. Polycyclic aromatic hydrocarbons and trace metal contamination of coastal sediment and biota from Togo. *Journal of Environmental Monitoring* 13, 2033–2041.
- Goll, D.E., Thompson, V.F., Taylor, R.G., Ouali, A., 1998. The calpain system and skeletal muscle growth. *Canadian Journal of Animal Science* 78, 503–512.
- Goll, D., Neti, G., Mares, S., Thompson, V., 2008. Myofibrillar protein turnover: the proteasome and the calpains. *Journal of animal science* 86, E19–E35.
- Göller, K., Galinski, E.A., 1999. Protection of a model enzyme (lactate dehydrogenase) against heat, urea and freeze-thaw treatment by compatible solute additives. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 7, 37–45.
- Gourlay-Francé, C., Lorgeoux, C., Tusseau-Vuillemin, M.-H., 2008. Polycyclic aromatic hydrocarbon sampling in wastewaters using semipermeable membrane devices: accuracy of time-weighted average concentration estimations of truly dissolved compounds. *Chemosphere* 73, 1194–1200.
- Gras, G., Mondain, J., 1982a. [Total methylmercury/mercury ratio in various species of fish caught along the coast of West Africa]. *Toxicological European research. Recherche europeenne en toxicologie* 4, 191–195.
- Gras, G., Mondain, J., 1982b. [Total methylmercury/mercury ratio in various species of fish caught along the coast of West Africa]. *Toxicological European research. Recherche europeenne en toxicologie* 4, 191–195.

H

- Haritonidis, S., Malea, P., 1999. Bioaccumulation of metals by the green alga *Ulva rigida* from Thermaikos Gulf, Greece. *Environmental Pollution* 104, 365–372.
- Haritonidis, S., Malea, P., 1995. Seasonal and local variation of Cr, Ni and Co concentrations in *Ulva rigida* C. Agardh and *Enteromorpha linza* (Linnaeus) from Thermaikos Gulf, Greece. *Environmental Pollution* 89, 319–327.
- Henriques, B., Rocha, L.S., Lopes, C.B., Figueira, P., Monteiro, R.J., Duarte, A., Pardal, M., Pereira, E., 2015. Study on bioaccumulation and biosorption of mercury by living marine

- macroalgae: Prospecting for a new remediation biotechnology applied to saline waters. *Chemical Engineering Journal* 281, 759–770.
- Henry, F., Amara, R., Courcot, L., Lacouture, D., Bertho, M.-L., 2004. Heavy metals in four fish species from the French coast of the Eastern English Channel and Southern Bight of the North Sea. *Environment International* 30, 675–683.
- Hernández-Herrero, M.M., Duflos, G., Malle, P., Bouquelet, S., 2003. Collagenase activity and protein hydrolysis as related to spoilage of iced cod (*Gadus morhua*). *Food Research International* 36, 141–147.
- Hodge, L., Salome, C.M., Peat, J.K., Haby, M.M., Xuan, W., Woolcock, A.J., 1996. Consumption of oily fish and childhood asthma risk. *The Medical journal of Australia* 164, 137–140.
- Ho, Y., 1990. Metals in *Ulva lactuca* in Hong Kong intertidal waters. *Bulletin of Marine Science* 47, 79–85.
- Hultin, H.O., 1984. Postmortem biochemistry of meat and fish. *Journal of Chemical Education* 61, 289.
- Hultmann, L., Rustad, T., 2007. Effects of temperature abuse on textural properties and proteolytic activities during post mortem iced storage of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Food chemistry* 104, 1687–1697.
- HWANG, K.T., REGENSTEIN, J.M., 1993. Characteristics of mackerel mince lipid hydrolysis. *Journal of Food Science* 58, 79–83.

I

- INERIS, 2014. Rapport final. Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques - Guide méthodologique Acquisition des données d'entrée des modèles analytiques ou numériques de transferts dans les sols et les eaux souterraines
- INERIS, 2011. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Les polyChloroBiphenyles (PCB), DRC-11-118962-11081A, 89 p. (<http://rsde.ineris.fr/> ou <http://www.ineris.fr/substances/fr/>)
- I N E R I S, 2005 Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. *Les polyChloroBiphenyles (PCB)*, DRC-02-25590-00DF045.doc, 70 p. (<http://www.ineris.fr/substances/fr/>)
- In't Veld, J.H.H., 1996. Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International Journal of Food Microbiology* 33, 1–18.

Iqbal, J., Shah, M.H., 2014. Study of seasonal variations and health risk assessment of heavy metals in *Cyprinus carpio* from Rawal Lake, Pakistan. *Environmental monitoring and assessment* 186, 2025–2037.

Izutsu, K., Yoshioka, S., Terao, T., 1993. Decreased protein-stabilizing effects of cryoprotectants due to crystallization. *Pharmaceutical research* 10, 1232–1237.

J

Jager, Z., Kleef, H., Tydeman, P., 1993. The distribution of 0-group flatfish in relation to abiotic factors on the tidal flats in the brackish Dollard (Ems Estuary, Wadden Sea). *Journal of Fish Biology* 43, 31–43.

James, M., Cleland, L., 1996. Dietary polyunsaturated fats and inflammation. Presented at the Proceedings of the Nutrition Society of Australia.

Jiang, S., Nail, S.L., 1998. Effect of process conditions on recovery of protein activity after freezing and freeze-drying. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics* 45, 249–257.

Jitar, O., Teodosiu, C., Oros, A., Plavan, G., Nicoara, M., 2015. Bioaccumulation of heavy metals in marine organisms from the Romanian sector of the Black Sea. *New biotechnology* 32, 369–378.

Julie, L., 2014. Dakar Food: Between Permanence and Change. Adaptation to Environmental Context. *Procedia-Social and Behavioral Sciences* 144, 127–132.

K

Kaimoussi, A., Mouzdahir, A., Saih, A., 2004. [Seasonal variations of metal contents (Cd, Cu, Fe, Mn and Zn) in seaweed *Ulva lactuca* from the coast of El Jadida city (Morocco)]. *Comptes rendus biologies* 327, 361–369.

Kamau JN (2002). Heavy metal distribution and enrichment at Port Reitz Creek, Mombasa. *Western Indian Ocean J. Mar. Sci.*; 1: 65-70.

Kakulu, S., Osibanjo, O., Ajayi, S., 1987. Trace metal content of fish and shellfishes of the Niger delta area of Nigeria. *Environment international* 13, 247–251.

Kerambrun, E., Henry, F., Marechal, A., Sanchez, W., Minier, C., Filipuci, I., Amara, R., 2012. A multibiomarker approach in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus*, exposed to contaminated sediments. *Ecotoxicology and environmental safety* 80, 45–53.

Khayat, A., Schwall, D., 1983. Lipid oxidation in seafood. *Food Technology (USA)*.

King, F., Anderson, M., Steinberg, M., 1962. The effect of linoleic and linolenic acids on the solubility of cod actomyosin. *J Food Sci* 27, 363–366.

- Kone, T., Teugels, G.G., 2003. Food habits of brackish water tilapia *Sarotherodon melanotheron* in riverine and lacustrine environments of a West African coastal basin. *Hydrobiologia* 490, 75–85.
- Kontas, A., 2012. A case study of trace metals in suspended particulate matter and biota before wastewater treatment plant from the Izmir Bay, Turkey. *Environmental monitoring and assessment* 184, 2605–2616.
- Krauss, M., Wilcke, W., Martius, C., Bandeira, A.G., Garcia, M.V., Amelung, W., 2005. Atmospheric versus biological sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a tropical rain forest environment. *Environmental Pollution* 135, 143–154.
- Kristensen, L., Therkildsen, M., Riis, B., Sørensen, M.T., Oksbjerg, N., Purslow, P., Ertbjerg, P., 2002. Dietary-induced changes of muscle growth rate in pigs: Effects on in vivo and postmortem muscle proteolysis and meat quality. *Journal of animal science* 80, 2862–2871.

L

- Ladrat, C., Verrez-Bagnis, V., Noël, J., Fleurence, J., 2003. In vitro proteolysis of myofibrillar and sarcoplasmic proteins of white muscle of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): effects of cathepsins B, D and L. *Food Chemistry* 81, 517–525.
- Laib, E., Leghouchi, E., 2012. Cd, Cr, Cu, Pb, and Zn concentrations in *Ulva lactuca*, *Codium fragile*, *Jania rubens*, and *Dictyota dichotoma* from Rabta Bay, Jijel (Algeria). *Environmental monitoring and assessment* 184, 1711–1718.
- Leaver, M.J., Bautista, J.M., Björnsson, B.T., Jönsson, E., Krey, G., Tocher, D.R., Torstensen, B.E., 2008. Towards fish lipid nutrigenomics: current state and prospects for fin-fish aquaculture. *Reviews in Fisheries Science* 16, 73–94.
- Lee, R.F., Steinert, S., 2003. Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 544, 43–64.
- Lerfall, J., Roth, B., Skare, E.F., Henriksen, A., Betten, T., Dziatkowiak-Stefaniak, M.A., Rotabakk, B.T., 2015. Pre-mortem stress and the subsequent effect on flesh quality of pre-rigor filleted Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during ice storage. *Food chemistry* 175, 157–165.
- Leroux, M., 1983. *Le climat de l’Afrique tropicale. Atlas (et Texte)*.
- Levine, A.S., Labuza, T.P., 1990. Food systems: the relationship between health and food science/technology. *Environmental health perspectives* 86, 233.
- Lockshin, R.A., Zakeri, Z., 2004. Apoptosis, autophagy, and more. *The international journal of biochemistry & cell biology* 36, 2405–2419.

- Loizeau, V., Abarnou, A., Ménesguen, A., 2001. A steady-state model of PCB bioaccumulation in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) food web from the Seine estuary, France. *Estuaries* 24, 1074–1087.
- Lonergan, E.H., Zhang, W., Lonergan, S.M., 2010. Biochemistry of postmortem muscle—Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Science* 86, 184–195.
- Luten, J., Bouquet, W., Burggraaf, M., Rus, J., 1986. Accumulation, elimination, and speciation of cadmium and zinc in mussels, *Mytilus edulis*, in the natural environment. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 37, 579–586.

M

- Majka, S.M., Miller, H.L., Helm, K.M., Acosta, A.S., Childs, C.R., Kong, R., Klemm, D.J., 2014. Analysis and isolation of adipocytes by flow cytometry. *Methods in enzymology* 537, 281.
- Malik, K.J., Chen, C.-D., Olsen, T.W., 2003. Stability of RNA from the retina and retinal pigment epithelium in a porcine model simulating human eye bank conditions. *Investigative ophthalmology & visual science* 44, 2730–2735.
- Marchuk, L., Sciore, P., Reno, C., Frank, C., Hart, D., 1998. Postmortem stability of total RNA isolated from rabbit ligament, tendon and cartilage. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 1379, 171–177.
- Marckmann, P., Lassen, A., Haraldsdottir, J., Sandström, B., 1995. Biomarkers of habitual fish intake in adipose tissue. *The American journal of clinical nutrition* 62, 956–959.
- Mar, S.S., Okazaki, M., 2012. Investigation of Cd contents in several phosphate rocks used for the production of fertilizer. *Microchemical Journal* 104, 17–21.
- Marteil, L. 1974. *La conchyliculture française. Première partie : Le milieu naturel et ses variations.*
- Revue de Travail de l'Institut des Pêches Maritimes* 38, 217–337.
- Martinez, I., Ofstad, R., Olsen, R.L., 1990. Electrophoretic study of myosin isoforms in white muscles of some teleost fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 96, 221–227.
- Martínez, M., Intralawan, A., Vázquez, G., Pérez-Maqueo, O., Sutton, P., Landgrave, R., 2007. The coasts of our world: Ecological, economic and social importance. *Ecological Economics* 63, 254–272.
- Masniyom, P., 2011. Deterioration and shelf-life extension of fish and fishery products by modified atmosphere packaging. *Sonklanakarin Journal of Science and Technology* 33, 181.

- Matos, P., Fontai, A., Peixoto, F., Carrola, J., Rocha, E., 2007. Biochemical and histological hepatic changes of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to carbaryl. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 89, 73–80.
- Médale, F., 2009. Teneur en lipides et composition en acides gras de la chair de poissons issus de la pêche et de l'élevage. *Cahiers de nutrition et de diététique* 44, 173–181.
- Mendil, D., Demirci, Z., Tuzen, M., Soylak, M., 2010. Seasonal investigation of trace element contents in commercially valuable fish species from the Black sea, Turkey. *Food and Chemical Toxicology* 48, 865–870.
- Merle, J., 1978. Atlas hydrologique saisonnier de l'océan Atlantique intertropical.
- Millar, J., Waal-Manning, H., 1992. Fish oil in the treatment of hypertension. *The New Zealand medical journal* 105, 155–155.
- Ministère de l'urbanisme et de l'habitat du Sénégal, 2007. Diagnostic Territorial Rapport Consolidé. p. 145.
- Misheer, N., Kindness, A., Jonnalagadda, S., 2006. Seaweeds along KwaZulu-Natal coast of South Africa—3: elemental uptake by *Ulva lactuca* (sea lettuce). *Journal of Environmental Science and Health Part A* 41, 1249–1259.
- Montero, P., Borderias, J., 1990. Effect of rigor mortis and ageing on collagen in trout (*Salmo irideus*) muscle. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 52, 141–146.
- Mora, L., Hernández-Cázares, A.S., Aristoy, M.-C., Toldrá, F., 2010. Hydrophilic interaction chromatographic determination of adenosine triphosphate and its metabolites. *Food chemistry* 123, 1282–1288.
- Morris, R.J., Culkin, F., 1989. Fish. In: Ackman, R.G. (Ed.), *Marine Biogenic Lipids, Fats and Oils*, Vol. I, II. CRC Press, Boca Raton CA, pp. 146–178.
- Morris, A., Bale, A., 1975. The accumulation of cadmium, copper, manganese and zinc by *Fucus vesiculosus* in the Bristol Channel. *Estuarine and Coastal Marine Science* 3, 153–163.
- Mukundan, M., Antony, P., Nair, M., 1986. A review on autolysis in fish. *Fisheries research* 4, 259–269.
- Muse, J., Carducci, C., Stripeikis, J., Tudino, M., Fernandez, F., 2006. A link between lead and cadmium kinetic speciation in seawater and accumulation by the green alga *Ulva lactuca*. *Environmental pollution* 141, 126–130.

N

- Nanton, D.A., Vegusdal, A., Rørå, A.M.B., Ruyter, B., Baeverfjord, G., Torstensen, B.E., 2007. Muscle lipid storage pattern, composition, and adipocyte distribution in different parts of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed fish oil and vegetable oil. *Aquaculture* 265, 230–243.

- National Center for Health Statistics (US), National Center for Health Services Research, 2011. Health, United States. US Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, Health Resources Administration, National Center for Health Statistics.
- Ndiaye, A., 2012. Réponses du tilapia *Sarotherodon melanotheron* aux stress multiples (contaminants chimiques et salinité): approche multi-paramétrique.
- Neff, J.M., 2002. Bioaccumulation in marine organisms: effect of contaminants from oil well produced water. Elsevier.
- Net, S., Henry, F., Rabodonirina, S., Diop, M., Merhaby, D., Mahfouz, C., Amara, R., Ouddane, B., 2015. Accumulation of PAHs, Me-PAHs, PCBs and total mercury in sediments and marine species in coastal areas of Dakar, Senegal: contamination level and impact. *Int. J. Environ. Res* 9, 419–432.
- Newman, M., Jagoe, C., 1994. Ligands and the bioavailability of metals in aquatic environments. *Bioavailability: Physical, Chemical and Biological Interactions*. CRC Press, Inc. Boca Raton, FL.
- Nilsson, K., Ekstrand, B., 1993. The effect of storage on ice and various freezing treatments on enzyme leakage in muscle tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 197, 3–7.
- Njinkoué, J.-M., Barnathan, G., Miralles, J., Gaydou, E.-M., Samb, A., 2002. Lipids and fatty acids in muscle, liver and skin of three edible fish from the Senegalese coast: *Sardinella maderensis*, *Sardinella aurita* and *Cephalopholis taeniops*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 131, 395–402.
- Novotny, V., 1995. Diffuse sources of pollution by toxic metals and impact on receiving waters, in: *Heavy Metals*. Springer, pp. 33–52.
- Nzengue, Y., Steiman, R., Garrel, C., Lefebvre, E., Guiraud, P., 2008. Oxidative stress and DNA damage induced by cadmium in the human keratinocyte HaCaT cell line: role of glutathione in the resistance to cadmium. *Toxicology* 243, 193–206.

O

- Obasohan, E., Eguavoen, O., 2008. Seasonal variations of bioaccumulation of heavy metals in a freshwater fish (*Erpetoichthys calabaricus*) from Ogba River, Benin City, Nigeria. *African Journal of General Agriculture* 4, 153–163.
- O'Connor, T.P., Lauenstein, G.G., 2006. Trends in chemical concentrations in mussels and oysters collected along the US coast: update to 2003. *Marine Environmental Research* 62, 261–285.

- Ofstad, R., Egelanddal, B., Kidman, S., Myklebust, R., Olsen, R.L., Hermansson, A., 1996. Liquid Loss as Effected by Post mortem Ultrastructural Changes in Fish Muscle: Cod (*Gadus morhua*L) and Salmon (*Salmo salar*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 71, 301–312.
- Ojagh, S.M., Shabanpour, B., Jamshidi, A., 2013. The effect of different pre-fried temperatures on physical and chemical characteristics of silver carp fish (*hypophthalmichthysmolitrix*) nuggets. *World J Fish Marine Sci* 5, 414–420.
- Okuku, E., Peter, H., 2011. Choose of heavy metals pollution biomonitor: a critic of the method that uses sediments total metals concentration as the benchmark. *International Journal of Environmental Research* 6, 313–322.
- Okuma, H., Watanabe, E., 2002. Flow system for fish freshness determination based on double multi-enzyme reactor electrodes. *Biosensors and Bioelectronics* 17, 367–372.
- Ólafsdóttir, G., Lauzon, H., Martinsdóttir, E., Kristbergsson, K., 2006. Influence of storage temperature on microbial spoilage characteristics of haddock fillets (*Melanogrammus aeglefinus*) evaluated by multivariate quality prediction. *International journal of food microbiology* 111, 112–125.
- Olafsdóttir, G., Martinsdóttir, E., Oehlenschläger, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Undeland, I., Mackie, I., Henehan, G., Nielsen, J., Nilsen, H., 1997. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends in Food Science & Technology* 8, 258–265.
- Olgunoğlu, M.P., Olgunoğlu, İ.A., Bayhan, Y.K., 2015. Heavy Metal Concentrations (Cd, Pb, Cu, Zn, Fe) in Giant Red Shrimp (*Aristaeomorpha foliacea* Risso 1827) from the Mediterranean Sea. *Liver* 300, 200.
- Oliva, M., de Canales, M.G., Gravato, C., Guilhermino, L., Perales, J., 2010. Biochemical effects and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in senegal sole (*Solea senegalensis*) from a Huelva estuary (SW Spain). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73, 1842–1851.
- Oliva, M., Vicente, J.J., Gravato, C., Guilhermino, L., Galindo-Riaño, M.D., 2012. Oxidative stress biomarkers in Senegal sole, *Solea senegalensis*, to assess the impact of heavy metal pollution in a Huelva estuary (SW Spain): seasonal and spatial variation. *Ecotoxicology and environmental safety* 75, 151–162.
- OSPAR, 2012. Agreement on background concentrations for contaminants in seawater, biota and sediment. Convention for the protection of the marine environment of the north-east Atlantic.
- Ouro-Sama, K., Solitoke, H.D., Gnandi, K., Afiademanyo, K.M., Bowessidjaou, E.J., 2014. Évaluation et risques sanitaires de la bioaccumulation de métaux lourds chez des espèces

halieutiques du système lagunaire togolais. VertigO-la revue électronique en sciences de l'environnement 14.

- Ozdemir, O., 2011. Flow cytometric mast cell-mediated cytotoxicity assay: a three-color flow cytometric approach using monoclonal antibody staining with annexin V/propidium iodide co-labeling to assess human mast cell-mediated cytotoxicity by fluorosphere-adjusted counts. *Journal of immunological methods* 365, 166–173.
- Ozogul, Y., Balikci, E., 2013. Effect of various processing methods on quality of mackerel (*Scomber scombrus*). *Food and Bioprocess Technology* 6, 1091–1098.

P

- Paige, J.A., Liao, R., Hajjar, R.J., Foisy, R.L., Cory, C.R., O'Brien, P.J., Gwathmey, J.K., 1996. Effect of a high omega-3 fatty acid diet on cardiac contractile performance in *Oncorhynchus mykiss*. *Cardiovascular research* 31, 249–262.
- Panfili, J., Mbow, A., Durand, J.-D., Diop, K., Diouf, K., Thior, D., Ndiaye, P., Laë, R., 2004. Influence of salinity on the life-history traits of the West African black-chinned tilapia (*Sarotherodon melanotheron*): comparison between the Gambia and Saloum estuaries. *Aquatic Living Resources* 17, 65–74.
- Pastor, D., Boix, J., Fernandez, V., Albaiges, J., 1996. Bioaccumulation of organochlorinated contaminants in three estuarine fish species (*Mullus barbatus*, *Mugil cephalus* and *Dicentrarchus labrax*). *Marine Pollution Bulletin* 32, 257–262.
- Pauly, D., Alder, J., Bennett, E., Christensen, V., Tyedmers, P., Watson, R., 2003. The future for fisheries. *Science* 302, 1359–1361.
- Pavoni, B., Caliceti, M., Sporni, L., Sfriso, A., 2003. Organic micropollutants (PAHs, PCBs, pesticides) in seaweeds of the lagoon of Venice. *Oceanologica acta* 26, 585–596.
- PNUE, 1982 : *La pollution par les hydrocarbures dans la région de l'Afrique de l'Ouest et du Centre : état actuel et mesures à prendre*, Nairobi, PNUE, Rapports et études sur les mers régionales n°4 1982. p. 7.
- Peixoto, F., Alves-Fernandes, D., Santos, D., Fontainhas-Fernandes, A., 2006. Toxicological effects of oxyfluorfen on oxidative stress enzymes in tilapia *Oreochromis niloticus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 85, 91–96.
- Perelló, G., Díaz-Ferrero, J., Llobet, J.M., Castell, V., Vicente, E., Nadal, M., Domingo, J.L., 2015. Human exposure to PCDD/Fs and PCBs through consumption of fish and seafood in Catalonia (Spain): temporal trend. *Food and Chemical Toxicology* 81, 28–33.
- Pérez-Cadahía, B., Laffon, B., Pásaro, E., Méndez, J., 2004. Evaluation of PAH bioaccumulation and DNA damage in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) exposed to spilled Prestige crude oil.

Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 138, 453–460.

Peterson, S.A., Ralston, N.V., Peck, D.V., Sickle, J.V., Robertson, J.D., Spate, V.L., Morris, J.S., 2009. How might selenium moderate the toxic effects of mercury in stream fish of the western US? *Environmental science & technology* 43, 3919–3925.

Phillips, D.J., 1980. Quantitative aquatic biological indicators; their use to monitor trace metal and organochlorine pollution.

Ploetz, D., Fitts, B., Rice, T., 2007. Differential accumulation of heavy metals in muscle and liver of a marine fish, (King Mackerel, *Scomberomorus cavalla* Cuvier) from the Northern Gulf of Mexico, USA. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 78, 134–137.

Poli, B., Parisi, G., Scappini, F., Zampacavallo, G., 2005. Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. *Aquaculture International* 13, 29–49.

Praveena, S.M., Aris, A.Z., Radojevic, M., 2010. Heavy metals dynamics and source in intertidal mangrove sediment of Sabah, Borneo Island. *Environ Asia* 3, 79–83.

R

Rainbow, P.S., 2002. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environmental Pollution* 120, 497–507.

Rainbow, P.S., 1998. Phylogeny of trace metal accumulation in crustaceans, in: *Metal Metabolism in Aquatic Environments*. Springer, pp. 285–319.

Rainbow, P.S., 1995. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin* 31, 183–192.

Ralston, N.V., Raymond, L.J., 2010. Dietary selenium's protective effects against methylmercury toxicity. *Toxicology* 278, 112–123.

Rashed, M., 2001. Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environment International* 27, 27–33.

Ravindra, K., Sokhi, R., Van Grieken, R., 2008. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric Environment* 42, 2895–2921.

Rebert, J., 1977. Aperçu sur l'hydrologie du plateau continental ouest-africain de la Mauritanie à la Guinée, rapport COPACE. PACE, série 78, 4.

RNO (Réseau National d'Observation). (2003). Surveillance du milieu marin. Travaux du Réseau

National d'Observation de la qualité du milieu (eds. Ifremer).

- Romeo, M., Siau, Y., Sidoumou, Z., Gnassia-Barelli, M., 1999. Heavy metal distribution in different fish species from the Mauritania coast. *Science of the Total Environment* 232, 169–175.
- Romera, E., González, F., Ballester, A., Blázquez, M., Muñoz, J., 2007. Comparative study of biosorption of heavy metals using different types of algae. *Bioresource Technology* 98, 3344–3353.
- Rose, D.P., Connolly, J.M., 1993. Effects of dietary omega-3 fatty acids on human breast cancer growth and metastases in nude mice. *Journal of the National Cancer Institute* 85, 1743–1747.
- Rose, J., Hutcheson, M.S., West, C.R., Pancorbo, O., Hulme, K., Cooperman, A., Decesare, G., Isaac, R., Screpetis, A., 1999. Fish mercury distribution in Massachusetts, USA lakes. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18, 1370–1379.
- Roy, C., 1991. Les upwellings: le cadre physique des pêcheries côtières ouest-africaines. *Pêcheries ouest-Africaines*. Ed. ORSTOM p38–66.

S

- Saito, M., Li, H., Thompson, V.F., Kunisaki, N., Goll, D.E., 2007. Purification and characterization of calpain and calpastatin from rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 146, 445–455.
- Saito, T., Arai, K., Matsuyoshi, M., 1959. A new method for estimating the freshness of fish. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 24, 749–750.
- Sakho, I., 2011. Évolution et fonctionnement hydro-sédimentaire de la lagune de la Somone, Petite Côte, Sénégal.
- Sato, K., Ando, M., Kubota, S., Origasa, K., Kawase, H., Toyohara, H., Sakaguchi, M., Nakagawa, T., Makinodan, Y., Ohtsuki, K., 1997. Involvement of type V collagen in softening of fish muscle during short-term chilled storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 343–348.
- Say, P., Burrows, I., Whitton, B., 1990. Enteromorpha as a monitor of heavy metals in estuaries. *Hydrobiologia* 195, 119–126.
- Schuhmacher, M., Domingo, J., Llobet, J., Corbella, J., 1993. Chromium, copper, and zinc concentrations in edible vegetables grown in Tarragona Province, Spain. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 50, 514–521.
- Seear, P.J., Sweeney, G.E., 2008. Stability of RNA isolated from post-mortem tissues of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish physiology and biochemistry* 34, 19–24.

- Sentandreu, M., Coulis, G., Ouali, A., 2002. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends in Food Science & Technology* 13, 400–421.
- Sheridan, M.A., 1988. Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 90, 679–690.
- Shi, L., Günther, S., Hübschmann, T., Wick, L.Y., Harms, H., Müller, S., 2007. Limits of propidium iodide as a cell viability indicator for environmental bacteria. *Cytometry Part A* 71, 592–598.
- Sidoumou, Z., Gnassia-Barelli, M., Siau, Y., Morton, V., Romeo, M., 2006. Heavy metal concentrations in molluscs from the Senegal coast. *Environment international* 32, 384–387.
- Sidoumou, Z., Gnassia-Barelli, M., Siau, Y., Morton, V., Roméo, M., 2005. Distribution and concentration of trace metals in tissues of different fish species from the Atlantic Coast of Western Africa. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 74, 988–995.
- Smith, J., Lee, K., Gobeil, C., Macdonald, R., 2009. Natural rates of sediment containment of PAH, PCB and metal inventories in Sydney Harbour, Nova Scotia. *Science of the Total Environment* 407, 4858–4869.
- Soclo, H., Budzinski, H., Garrigues, P., Matsuzawa, S., 2008. Biota accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in Benin coastal waters. *Polycyclic Aromatic Compounds* 28, 112–127.
- Squadrone, S., Chiaravalle, E., Gavinelli, S., Monaco, G., Rizzi, M., Abete, M., 2015. Analysis of mercury and methylmercury concentrations, and selenium: mercury molar ratios for a toxicological assessment of sperm whales (*Physeter macrocephalus*) in the most recent stranding event along the Adriatic coast (Southern Italy, Mediterranean Sea). *Chemosphere* 138, 633–641.
- Sriket, C., Benjakul, S., Visessanguan, W., 2010. Post-mortem changes of muscle from fresh water prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) as influenced by spawning stages. *LWT-Food Science and Technology* 43, 608–616.
- Stankovic, S., Jovic, M., 2012. Health risks of heavy metals in the mediterranean mussels as seafood. *Environmental chemistry letters* 10, 119–130.
- Staudinger, M.D., 2011. Species- and size-specific variability of mercury concentrations in four commercially important finfish and their prey from the northwest Atlantic. *Marine pollution bulletin* 62, 734–740.
- Storelli, M., 2008. Potential human health risks from metals (Hg, Cd, and Pb) and polychlorinated biphenyls (PCBs) via seafood consumption: estimation of target hazard

quotients (THQs) and toxic equivalents (TEQs). *Food and Chemical Toxicology* 46, 2782–2788.

Storelli, M., Ceci, E., Storelli, A., Marcotrigiano, G., 2003. Polychlorinated biphenyl, heavy metal and methylmercury residues in hammerhead sharks: contaminant status and assessment. *Marine Pollution Bulletin* 46, 1035–1039.

Surette, M., 1987. Isolation and immobilization of nucleoside catabolic enzymes for evaluation of freshness. PhD Thesis 82.

T

Taweel, A., Shuhaimi-Othman, M., Ahmad, A., 2013. Assessment of heavy metals in tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) from the Langat River and Engineering Lake in Bangi, Malaysia, and evaluation of the health risk from tilapia consumption. *Ecotoxicology and environmental safety* 93, 45–51.

Ter Hofstede, R., Dickey-Collas, M., Mantingh, I., Wague, A., 2007. The link between migration, the reproductive cycle and condition of *Sardinella aurita* off Mauritania, north-west Africa. *Journal of Fish Biology* 71, 1293–1302.

Terova, G., Preziosa, E., Marelli, S., Gornati, R., Bernardini, G., Saroglia, M., 2011. Applying transcriptomics to better understand the molecular mechanisms underlying fish filet quality. *Food chemistry* 124, 1268–1276.

Tessier, A., Turner, D.R., 1995. Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. Wiley Chichester.

Thévenot, D.R., Lestel, L., Tusseau-Vuillemin, M.H., Gonzalez, J.L., Meybeck, M., 2009. Les métaux dans le bassin de la Seine Collection du programme PIren-Seine.

Thiansilakul, Y., Benjakul, S., Richards, M.P., 2010. Changes in heme proteins and lipids associated with off-odour of seabass (*Lates calcarifer*) and red tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) during iced storage. *Food Chemistry* 121, 1109–1119.

Tikk, M., Tikk, K., Tørngren, M.A., Meinert, L., Aaslyng, M.D., Karlsson, A.H., Andersen, H.J., 2006. Development of inosine monophosphate and its degradation products during aging of pork of different qualities in relation to basic taste and retronasal flavor perception of the meat. *Journal of agricultural and food chemistry* 54, 7769–7777.

Tine, M., De Lorgeril, J., Panfili, J., Diop, K., Bonhomme, F., Durand, J.-D., 2007. Growth hormone and Prolactin-1 gene transcription in natural populations of the black-chinned tilapia *Sarotherodon melanotheron* acclimatised to different salinities. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 147, 541–549.

- Tolosa, I., Bayona, J.M., Albaiges, J., 1995. Spatial and temporal distribution, fluxes, and budgets of organochlorinated compounds in Northwest Mediterranean sediments. *Environmental science & technology* 29, 2519–2527.
- Trewavas, E., 1982. Tilapia: taxonomy and speciation [in Africa]. Presented at the International Conference on the Biology and Culture of Tilapias, Bellagio (Italy), 2-5 Sep 1980.
- Turkmen, G., 2012. Seasonal Variation of Heavy Metals in Shrimp *Penaeus kerathurus* (Forsk., 1775) from Izmir Bay, Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 11, 2839–2844.
- Turner, A., Furniss, O., 2012. An evaluation of the toxicity and bioaccumulation of thallium in the coastal marine environment using the macroalga, *Ulva lactuca*. *Marine pollution bulletin* 64, 2720–2724.
- Tusseau-Vuillemin, M.-H., Gourlay, C., Lorgeoux, C., Mouchel, J.-M., Buzier, R., Gilbin, R., Seidel, J.-L., Elbaz-Poulichet, F., 2007. Dissolved and bioavailable contaminants in the Seine river basin. *Science of the total environment* 375, 244–256.

U

- Uchiyama, Y., 2001. Autophagic cell death and its execution by lysosomal cathepsins. *Archives of histology and cytology* 64, 233–246.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2000. Guidance for Assessing Chemical Contaminant Data for Use in Fish Advisories: Volume 1. Fish Sampling and Analysis.
- Ure, A., Davidson, C., 2002. Chemical speciation in soils and related materials by selective chemical extraction. *Chemical Speciation in the Environment, Second Edition* 265–300.
- US EPA (Environmental Protection Agency), 2011. Priority Pollutants. <http://www.epa.gov/NE/npdes/permits/generic/prioritypollutants.pdf>.
- US EPA (Environmental Protection Agency), 2000. Guidance for assessing chemical contaminant. Data for Use in Fish Advisories. Fish sampling and analysis, 3rd ed. Washington DC: Office of Water. [EPA 823-R-95-007].
- Uysal, K., Köse, E., Bülbül, M., Dönmez, M., Erdoğan, Y., Koyun, M., Ömeroğlu, Ç., Özmal, F., 2009. The comparison of heavy metal accumulation ratios of some fish species in Enne Dame Lake (Kütahya/Turkey). *Environmental monitoring and assessment* 157, 355–362.

V

- Vass, A.A., 2001. Beyond the grave-understanding human decomposition. *Microbiology today* 28, 190–193.
- Veciana-Nogues, M., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M., 1997. Determination of ATP related compounds in fresh and canned tuna fish by HPLC. *Food Chemistry* 59, 467–472.

- Velusamy, A., Kumar, P.S., Ram, A., Chinnadurai, S., 2014. Bioaccumulation of heavy metals in commercially important marine fishes from Mumbai Harbor, India. *Marine pollution bulletin* 81, 218–224.
- Vieira, C., Morais, S., Ramos, S., Delerue-Matos, C., Oliveira, M., 2011. Mercury, cadmium, lead and arsenic levels in three pelagic fish species from the Atlantic Ocean: intra-and inter-specific variability and human health risks for consumption. *Food and Chemical Toxicology* 49, 923–932.
- Vives, I., Canuti, E., Castro-Jiménez, J., Christoph, E.H., Eisenreich, S.J., Hanke, G., Huber, T., Mariani, G., Mueller, A., Skejo, H., 2007. Occurrence of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/Fs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Lake Maggiore (Italy and Switzerland). *Journal of Environmental Monitoring* 9, 589–598.

W

- Walker, M.G., Emerson, L., 1990. The seasonal migration of soles (*Solea solea*) through the Dover Strait. *Netherlands journal of sea research* 25, 417–422.
- Wang, C., Wei, Z., Feng, M., Wang, L., Wang, Z., 2014. Comparative antioxidant status in freshwater fish *Carassius auratus* exposed to eight imidazolium bromide ionic liquids: A combined experimental and theoretical study. *Ecotoxicology and environmental safety* 102, 187–195.
- Wang, P.A., Vang, B., Pedersen, A.M., Martinez, I., Olsen, R.L., 2011. Post-mortem degradation of myosin heavy chain in intact fish muscle: Effects of pH and enzyme inhibitors. *Food chemistry* 124, 1090–1095.
- Wang, S., Jia, Y., Wang, S., Wang, X., Wang, H., Zhao, Z., Liu, B., 2010. Fractionation of heavy metals in shallow marines sediments from Jinzhou Bay, China. *Journal of Environmental Sciences* 22, 23–31.
- Wetzel, D.M., Bohn, M.C., Hamill, R.W., 1994. Postmortem stability of mRNA for glucocorticoid and mineralocorticoid receptor in rodent brain. *Brain research* 649, 117–121.
- WHO (World Health Organization), 2003. Polynuclear aromatic hydrocarbons in drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality; [WHO/SDE/WSH/03.04/59].
- Xia, C., Lam, J.C., Wu, X., Xie, Z., Lam, P.K., 2012. Polychlorinated biphenyls (PCBs) in marine fishes from China: Levels, distribution and risk assessment. *Chemosphere* 89, 944–949.
- Yamashita, M., Konagaya, S., 1992. Differentiation and localization of catheptic proteinases responsible for extensive autolysis of mature chum salmon muscle (*Oncorhynchus keta*).

Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry 103, 999–1003.

Zweig, R.D., Morton, J.D., Stewart, M.M., 1999. Source water quality for aquaculture: a guide for assessment.

Table des illustrations

Liste des figures

Figure 1. 1 : voies de transfert des métaux résultant des activités humaines.....	14
Figure 1.2 : Schématisation de l'organisation du muscle de poisson (Chéret, 2005 modifié).....	26

Figure 1.3: Décomposition de l'ATP Durant les processus d'altération du poisson	35
Figure 1.5 : Variation du taux d'accumulation de Hx de différentes espèces durant la conservation sous glace.....	36
Figure 2.1 : Localisation des sites d'étude le long du littoral sénégalais.....	42
Figure 2.2: Dépôts d'ordures ménagères à Rufisque..	44
Figure 2.3: Rejets directs d'eaux usées industrielles et domestiques dans l'environnement marin de Dakar.....	45
Figure 2.4 : <i>Ulva lactuca</i> (Linnaeus 1753) dans son environnement naturel.....	48
Figure 2.5 : <i>Perna perna</i> montrant des particules adhésives sur ses coquilles.....	49
Figure 2.6: La crevette tigrée <i>Penaeus kerathurus</i> (Forsk., 1775).....	50
Figure 2.7: La sole sénégalaise, <i>Solea senegalensis</i> (Kaup, 1858).....	50
Figure 2.8 : <i>Mugil cephalus</i> (Linnaeus 1758).....	51
Figure 2.9 : Le tilapia <i>Sarotherodon melanotheron</i> (Rüppell, 1852).....	52
Figure 2.10: Sardinelle ronde <i>Sardinella aurita</i> (Valenciennes, 1847).....	53
Figure 2.11 : Schéma de principe d'un spectromètre de masse par plasma à couplage inductif.....	56
Figure 2.12 : Variation des pourcentages de récupération du DOLT-4 (A) et du DORM-3 (B) analysés au CUMA et au CCM.....	59
Figure 2.13 : Structures chimiques des 16 HAP classés dans la liste prioritaire de l'US-EPA.....	60
Figure 2.14 : Un schéma simplifié de l'extracteur ASE et un exemple de remplissage de cellule ASE pour le cas de sédiments.....	62
Figure 2.15: Exemple de chromatogramme de mélange de standards contenant 18 Me-HAP à 0.15ppm ainsi que les fragments m/z pour la molécule à TR 25.41 mn.....	66
Figure 2.16 : Stabilité de la stabilité de la LDH maintenue dans du PBS et conservé à 4°C a différents temps.....	71
Figure 2.17: Transformation du lactate en pyruvate par la LDH.....	71
Figure 2.18 : Principe de dosage de la LDH (EC 1.1.1.27) avec le kit « Cytotoxicity Detection » (Roche).....	72
Figure 4.1 : Mesure de la perméabilisation des cellules SAF-1 dans des conditions restrictives en nutriments par des techniques de fluorescence.....	205
Figure 4.2 : Adipocytes extraits des filets de daurade et leur coloration au DAPI et au PI...206	

Figure 4.3 : Double coloration au DAPI et lipidtox des adipocytes extraits des filets de daurade.....	207
--	-----

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Sources des polluants métalliques présents dans l'environnement aquatique.....	17
Tableau 1.2 : Liste des HAP considérés par l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 2003).....	18
Tableau 1.3 : Teneurs maximales admissibles pour quelques produits de la pêche	24

Tableau 2.1: Conditions opératoires utilisées pour l'analyse de HAP, Me-HAP et PCB en GC-MS.....	65
Tableau 4.1 : Variation des teneurs en contaminants métalliques et organiques dans les algues, les moules, les crevettes et dans les foies des poissons.....	191
Tableau 4.2 : Capacité des espèces à accumuler les contaminants à partir des sédiments (FBA)	193
Tableau 4.3 : Capacité des espèces à concentrer les contaminants à partir de la colonne d'eau (FBC).....	193
Tableau 4.4 A : Comparaison des teneurs en contaminants trouvées dans les différents organismes prélevés dans le littoral sénégalais avec avec celles trouvées dans les autres parties de l'Afriques de l'Ouest.....	196
Tableau 4.4 B : Comparaison des teneurs en contaminants trouvées dans les différents organismes prélevés dans le littoral sénégalais avec avec celles trouvées dans les autres parties du monde.....	197