
Evaluation de la contamination par les PCBs et les pesticides des produits de la pêche et de l'aquaculture poissons des marchés de Hainaut et des provinces alentours

Auteur : Vanderheyden, Océanne

Promoteur(s) : Joaquim-Justo, Celia

Faculté : Faculté des Sciences

Diplôme : Master en sciences et gestion de l'environnement, à finalité spécialisée en surveillance de l'environnement

Année académique : 2016-2017

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/3336>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.



Faculté des Sciences

Département des Sciences et Gestion de l'Environnement

Année académique 2016-2017

**Evaluation de la contamination par les PCBs et les pesticides
des produits de la pêche et de l'aquaculture poissons des
marchés d'Ho Chi Minh Ville (Vietnam) et des provinces
alentours**

Mémoire présenté par **Océanne Vanderheyden**

En vue de l'obtention du grade de

Master en Sciences et Gestion de l'Environnement

À finalité Monitoring Environnemental

Promotrice : **Dr. C. Joaquim-Justo**

Lecteurs : **Professeur A-C. Romain, Professeur J-P. Thomé, Dr. E. Gismondi**

Table des matières

Liste des Figures	4
Liste des Tableaux	5
Résumé / Summary	6
Remerciements	7
1. Contexte général de l'étude	8
1.1 Contamination de l'environnement	8
1.2 Le cas du Vietnam.....	9
1.3 L'aquaculture et la pêche au Vietnam.....	11
1.4 Contaminants étudiés	13
Les Polychlorobiphényles	13
Insecticides	14
Fongicide	18
1.5 Les espèces échantillonnées	18
Le poisson-chat - <i>Clarias macrocephalus</i>	18
Le pangasius - <i>Pangasius hypophthalmus</i>	19
1.6 Objectifs de l'étude	20
2. Matériel et Méthode	20
2.1 Echantillonnage	20
2.2 Conditionnement des échantillons	31
Lyophilisation des échantillons	31
2.3 Extraction des contaminants.....	32
2.3.1 Extraction par Accelerated Solvent Extractor (ASE)	32
2.3.2 Evaporation du solvant et détermination du poids de lipides	33
2.4 Purification des extraits.....	33
2.5 Les standards.....	34
2.5.1 Le standard interne	34
2.5.2 Les Blancs et le QC.....	34
2.5.3 Standard d'injection	35
2.5.4 Courbe de calibration	35
2.6 Analyse chromatographique en phase gazeuse.....	35
2.7 Analyses statistiques	36
3. Résultats et discussion	36
3.1 Rendement d'extraction du PCB 112	36

3.2 Contrôle Qualité des analyses	37
3.3 Analyse globale.....	38
3.4 Analyse détaillée	40
3.4.1 PCBs	40
3.4.2 Pesticides	44
3.5 Comparaison avec les résultats des études antérieures	48
4. Conclusions et perspectives	50
5. Bibliographie.....	51
6. Annexe 1: Procédure PCBs and pesticides in fish (from LEAE).....	55

Liste des Figures

Figure 1 : Consommation domestique de la population vietnamienne	12
Figure 2 : Clarias macrocephalus	19
Figure 3 : Pangasius hypopthalmus	19
Figure 4 : Carte du Sud Vietnam- Provinces et marchés d'Ho Chi Minh City	21
Figure 5 : Traces d'hydrocarbures dans la rivière près de la maison	23
Figure 6 : Piège à poissons	23
Figure 7 : Etang connecté à la rivière Vam Chau Kue	24
Figure 8 : Etang isolé de la rivière Vam Chau Kue	24
Figure 9 : Poisson mort dans l'étang	25
Figure 10 : Traces d'hydrocarbures flottant à la surface de l'eau.....	25
Figure 11 : Déchets flottants dans la rivière sur le chemin menant à l'habitation	25
Figure 12 : Etang à poissons-chats Tieng Giang province.....	26
Figure 13 : Echantillons de poissons-chats	26
Figure 14 : Etang à pangasius Tien Giang province.....	27
Figure 15 : Echantillons de pangasius	27
Figure 16 : Echantillon de poisson-chat Dong Thap province	28
Figure 17 : Exploitante pêchant un poisson-chat	28
Figure 18 : Etang Dong Thap province	29
Figure 19 : Etang de pangasius Dong Thap province	30
Figure 20 : Nourrissage des pangasius à Dong Thap province	30
Figure 21 : Lyophilisateur du LEAE	32
Figure 22 : ASE solvant accelerated extractor 200 du LEAE.....	33
Figure 23 : Turbovap du LEAE.....	33
Figure 24 : Graphique récapitulatif de l'échantillonnage de 2014 avec contaminations totales	39
Figure 25 : Graphique récapitulatif de l'échantillonnage de 2017 avec contaminations totales	39
Figure 26 : Graphique Analyse en Composantes Principales	40
Figure 27 : Contamination des sites avec écarts-types (2014).....	41
Figure 28 : Contamination des sites avec écarts-types (2017).....	41
Figure 29 : Pattern de la contamination en PCBs des sites en 2014	43
Figure 30 : Pattern de la contamination des sites sans les congénères 28 et 52 en 2014	43
Figure 31 : Pattern de la contamination en PCBs des sites en 2017	43
Figure 32 : Pattern de la contamination des sites sans les congénères 28 et 52 en 2017	43
Figure 33 : Contamination des sites par les pesticides avec écarts-types (2014)	45
Figure 34 : Contamination des sites par les pesticides avec écarts-types (2017)	45
Figure 35 : Pattern de la contamination en DDT et ses métabolites par site (2017).....	47

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Nature et origine des échantillons de la campagne de prélèvement « 2014 »	21
Tableau 2 : Nature et origine des échantillons de la campagne de prélèvement « marchés 2017 »	22
Tableau 3 : Nature et origine des échantillons de la campagne de prélèvement « provinces 2017 »	22
Tableau 4 : Tableau récapitulatif des exploitations aquacoles échantillonnées en juin 2017 (origine, finalité, alimentation des poissons).....	31
Tableau 5 : Rendement de l'extraction du PCB 112 des séries traitées.....	36
Tableau 6 : Rendement de l'extraction des Contrôles Qualité pour les séries traitées.....	37
Tableau 7 : Tableau récapitulatif des résultats de la présente étude et des études antérieures	48

Résumé

Notre étude vise à estimer la contamination en PCBs et en pesticides des poissons, crustacés et mollusques (céphalopodes) consommés par la population d'Ho Chi Minh Ville (Vietnam) en nous basant sur des échantillons achetés sur les marchés de la ville, dans des exploitations aquacoles situées dans les provinces alentours et dans des poissons de rivière sauvages. Nous avons découvert que la contamination retrouvée dans les produits achetés dans les marchés d'Ho Chi Minh Ville est globalement inférieure à celle retrouvée dans les produits d'exploitations aquacoles des provinces du Sud du Vietnam échantillonnées et surtout dans les poissons sauvages pêchés directement dans les rivières ; les profils de contamination par les différents composés analysés sont également très différents entre les échantillons des marchés et les autres. Nous en avons déduit que les poissons et crustacés issus des marchés de la ville proviennent probablement d'une autre région du Vietnam (le Nord ou le centre). Nous avons également noté que la grande majorité des poissons échantillonnés présente des contaminations en PCBs et pesticides dont les valeurs se situent sous les normes de consommation européennes. Les produits des marchés et des aquacultures sont donc propres à la consommation. Nous conseillons néanmoins aux Vietnamiens de consommer le moins possible de poissons sauvages pêchés dans les rivières. En effet, nos analyses révèlent que ces poissons contiennent parfois des concentrations aux limites des normes. Il serait donc intéressant de réaliser des analyses complémentaires de ce type d'échantillons peu représentés dans nos campagnes de prélèvements.

Mots-clés: Poisson, PCB, Pesticides, Vietnam

Summary

Our study aimed to estimate the contamination in PCBs and pesticides at which Ho Chi Minh City's population is exposed to when eating fishes, crustaceans and molluscs (cephalopods) bought on the city markets and in aquaculture farms from the surrounding provinces. We discovered that the contamination in the products bought in the Ho Chi Minh City markets is not the same as those sampled in aquaculture farms from the provinces of South Vietnam or in wild fishes from rivers, both quantitatively (products on market globally less contaminated) and qualitatively. Therefore we deduced that the samples from the city markets probably come from other areas of Vietnam than the ones we sampled (North or center). We also noted that the large majority of the sampled fishes shows PCBs and pesticides contaminations values that are below the European consumption standards. Products from the markets and the aquaculture farms are therefore safe for eating. Nevertheless, we recommend that local populations eat as little wild fishes from the rivers as possible. Indeed, after analyses, we noted that these fishes were usually close to the contamination limits allowed. Future studies should investigate these types of fishes further to provide a better evaluation of the risk associated with the consumption of these samples

Key words: Fish, PCB, Pesticide, Vietnam

Remerciements

Je souhaiterais avant tout remercier Madame Célia Joaquim-Justo pour sa bienveillance, sa gentillesse, son aide précieuse ainsi que sa patience tout au long de la réalisation de ce mémoire. Je tiens également à lui témoigner ma gratitude, pour m'avoir laissé l'accompagner au Vietnam afin que je puisse participer à l'échantillonnage et voir de mes propres yeux la réalité de ce pays.

Je voudrais aussi remercier Madame Nhung pour son accueil chaleureux à Ho Chi Minh Ville et sa disponibilité tant lors de notre venue au Vietnam que lors de nos échanges d'e-mails.

Merci également à Catherine Adam pour les heures passées ensemble au laboratoire et toutes les explications qu'elle m'a apportées lors des différentes manipulations.

Je souhaite également remercier toute l'équipe du LEAE, Monsieur Thomé, Eric et Mariella pour leur accueil, leur sympathie et leur agréable compagnie durant les pauses café et les temps de midi.

Merci aussi à ma famille, ma maman et ma sœur, mes grands-parents et ma marraine pour leur intérêt dans mon étude ainsi que leur soutien et leur oreille attentive quand j'avais besoin de parler de l'avancement de mon travail et leur compréhension quand je n'avais, au contraire, plus envie d'en parler du tout !

Merci à mes camarades, Nathan, Raphaël, Romain et Grégoire, pour le soutien que nous nous sommes apportés mutuellement, les moments de décompression que nous avons passés ensemble et les messages de motivation qui nous ont permis d'aller jusqu'au bout de notre master !

Et une pensée pour papa, comme on peut le constater, la pomme ne tombe jamais loin de l'arbre.

1. Contexte général de l'étude

1.1 Contamination de l'environnement

Nous sommes à présent bien conscients de la présence et de l'impact de nombreuses substances contaminant notre environnement. L'origine de ses contaminants est variée. Ceux-ci proviennent d'activités anthropiques telles que l'industrie, l'agriculture, les transports ou encore la production d'énergie.

Aussi, certains contaminants se retrouvent en grandes quantités dans certaines régions spécifiques, en fonction notamment de l'histoire de certaines parties du globe et des activités qui s'y sont développées. Toutes les régions ne sont donc pas impactées de la même façon, ni avec la même intensité.

Actuellement aucune partie du globe n'est épargnée par l'impact des activités anthropiques, même l'espace est pollué par nos activités d'exploration ou de télécommunication. La pollution par le plastique est généralisée à l'ensemble de la planète, des débris d'objets en plastiques de toutes tailles sont retrouvés aux quatre coins des terres mais aussi dans nos océans, allant jusqu'à former le tristement célèbre « septième continent » qui est un amas de plastique en mouvement, situé à la rencontre de courant marins dans le Nord de l'Océan Pacifique. Même la petite île de Midway, perdue au milieu de l'océan pacifique, peuplée essentiellement d'oiseaux et éloignée de 4000 km des côtes japonaises est victime de cette pollution. Les oiseaux y meurent d'attrition suite à un excès d'ingestion de petits morceaux de plastique (Walsh, 2016).

La pollution anthropique se retrouve également sur les terres gelées de l'arctique, où nous retrouvons des concentrations élevées en hexachlorobenzène (HCB), mais aussi d'autres polluants dont beaucoup d'organochlorés, provenant des dépositions atmosphériques et qui s'accumulent dans les sols sans se dégrader à cause des conditions climatiques extrêmes de cette région du monde (Barber, Sweetman, & Jones, 2005).

Dans les régions aurifères nous retrouvons des concentrations élevées de mercure et de méthylmercure, dans les eaux et les sédiments, tant au Mali qu'au Burkina Faso ou encore en Guyane Française ; le mercure étant en effet fort utilisé pour amalgamer les pépites d'or trouvées dans les cours d'eau (Blancodini, 2004).

Suite à la guerre qui s'est déroulée sur le territoire du Vietnam dans les années 60, les sols de ce pays sont particulièrement contaminés en dioxines. Cette contamination est issue des doses massives d'agent orange (un défoliant) qui ont été pulvérisées par les soldats américains sur les forêts vietnamiennes.

Nous pouvons également mentionner les marées noires qui font suite au naufrage de navires pétroliers et qui impactent intensément et durablement les écosystèmes marins et côtiers. Chaque fois qu'elles ont lieu, elles libèrent d'énormes quantités de pétroles dans l'océan et sur les côtes. L'explosion en 2010 d'une plateforme pétrolière dans le Golfe du Mexique était pour les Etats-Unis la plus grande marée noire qu'ils aient connu sur leur territoire avec 1770 km de côtes impactés (Pallardy, 2017).

Mais outre les pollutions aiguës et localisées, la pollution chronique marque également l'environnement de son empreinte. Cette pollution a tendance à se reprendre à travers le globe de façon généralisée. Certains contaminants, comme les HAPs et le SO₂, sont retrouvés partout sur la planète. Ces contaminants sont issus de la combustion incomplète des hydrocarbures et sont donc directement attribuables au développement des pays du Nord d'abord, du Sud ensuite, et ce depuis la révolution industrielle. Ces substances émises dans l'atmosphère voyagent à travers le globe grâce aux vents et se déposent parfois loin de leur point d'origine.

Les pulvérisations de pesticides à grande échelle sur d'immenses superficies, afin de permettre une agriculture intensive, les rejets atmosphériques et d'eaux usées non traités et

non contrôlés par les industries, les dépôts de déchets à ciel ouvert, ... tout cela a un impact durable et global sur notre environnement.

De plus, les tonnages de contaminants dispersés dans l'environnement ne cessent d'augmenter. Or de nombreux contaminants sont nocifs pour l'environnement et pour les êtres vivants. Nous nous exposons donc à des dangers dont nous mesurons encore mal les conséquences.

1.2 Le cas du Vietnam

Après la guerre du Vietnam et la victoire du communisme, le pays subit plusieurs crises d'ordre politiques mais aussi économiques (Son, Que, Dieu, Thu Trang, & Beresford, 2006). Le pays opère donc, en 1986, un changement dans sa politique qui portera le nom de «Doi moi » ou « Open Door ». Ce changement a ouvert le Vietnam à une économie de marché et a permis au pays de redynamiser rapidement son économie. C'est l'agriculture qui rendit au Vietnam une certaine stabilité économique et politique. En effet, l'agriculture ne nécessite pas beaucoup d'investissement. L'amélioration de la production agricole fut possible grâce à un changement particulièrement déterminant opéré par le gouvernement, celui de rendre les terres aux paysans et de supprimer les coopératives qui géraient alors les terres et les champs (Son et al., 2006). Le prix des denrées se stabilisa et la production agricole, elle, a continué d'augmenter (Son et al., 2006).

La production agricole décolla grâce au Doi Moi pour deux grandes raisons, tout d'abord, les agriculteurs reçurent la majorité des bénéfices issus du prix qu'ils avaient fixé eux-mêmes, ce qui leur assurait un revenu correct (Son et al., 2006). De plus, grâce à l'ouverture des marchés, les paysans vietnamiens ont eu accès aux intrants industriels, ce qui leur a permis dans un premier temps d'augmenter considérablement leur production et cela a eu pour conséquence finale de leur permettre d'exporter leur production de façon mondiale (Son et al., 2006).

Ce changement rapide et spectaculaire pour le pays avait malheureusement un revers attendu au tournant : l'impact négatif sur l'environnement vietnamien. Les premiers intrants apportés en grandes quantités et utilisés massivement par les Vietnamiens pour augmenter leurs rendements agricoles ont contaminés les sols et les sources d'eau. Bien que l'utilisation des pesticides permette une élimination efficaces des nuisibles sur les cultures, leur utilisation massive à long terme entraîne une dépendance de l'agriculteur qui ne parvient plus à cultiver sans ajouter d'intrants industriels et d'engrais à ses cultures, débarrassées autant des nuisibles que des insectes qui favorisent la production agricole (insectes pollinisateurs, décomposeurs, ...). De plus, les pesticides à long terme (et à court terme dans le cas d'intoxication aigue) sont nocifs pour la santé humaine.

Le développement agricole a aussi provoqué la déforestation du pays, perturbant l'équilibre écologique des forêts. Le développement de l'aquaculture a quant à lui détruit et endommagé les régions des mangroves, pourtant extrêmement riches et importantes du point de vue de la biodiversité. La rapidité avec laquelle s'est effectué ce développement n'a pas laissé le temps au gouvernement de prendre les mesures adéquates afin de protéger l'environnement (Son et al., 2006).

En 1992 pourtant, un grand nombre d'intrants industriels et de pesticides furent étudiés et finalement classés en 3 catégories distinctes : les pesticides permis d'utilisation, les pesticides dont l'utilisation est autorisée mais avec restriction et les pesticides interdits (Van Hoi, Mol, & Oosterveer, 2013). Depuis lors, ces différentes listes sont actualisées annuellement. Malheureusement, en pratique, ces listes ne sont que peu respectées (Van Hoi et al., 2013). En effet, de nombreuses substances parviennent à passer illégalement les frontières et sont utilisées par les agriculteurs. De plus, de nombreuses compagnies créent des recettes alternatives de pesticides en modifiant légèrement les dosages et leurs donnant un nouveau

nom (Van Hoi et al., 2013). Mais ces nouveaux dosages n'ont pas été testés et sont donc potentiellement dangereux pour la santé humaine, animale et l'environnement. Et il est encore plus difficile pour les agriculteurs vietnamiens de s'y retrouver dans toutes ces substances (Van Hoi et al., 2013).

De plus, il semble que les agriculteurs utilisant les pesticides n'ont pas appris les bonnes pratiques d'utilisation de ceux-ci, ne savent pas comment se débarrasser des déchets et ne sont pas au courant de la dangerosité des produits qu'ils manipulent au quotidien (H Berg & Tam, 2012; Thi & Steven, 2012). Les agriculteurs vietnamiens préfèrent généralement utiliser des produits très toxiques, non-brevetés, persistant, très efficaces et moins coûteux car leur fabrication se fait dans le pays (Thi & Steven, 2012). Ceci représente un danger, pour la santé humaine et pour l'environnement par la pollution des sols et des eaux de sources et de surface (Thi & Steven, 2012). Heureusement les choses changent petit à petit à ce niveau. En effet, en 2007, 60% des agriculteurs interrogés dans une enquête affirmait utiliser des pesticides différents et sélectifs en fonction du nuisible qui sévissait dans leurs cultures (H Berg & Tam, 2012). Ils étaient également nombreux à avoir expérimenté des effets négatifs sur leur santé suite à la pulvérisation de pesticides et affirmaient prendre plus de précautions dorénavant. D'un autre côté, les agriculteurs témoignent avoir vu la qualité de l'eau baisser à un tel point qu'ils ont décidé de ne plus la consommer pour leurs usages domestiques suite notamment au développement de maladies liées à l'eau (Håkan Berg, Ekman Söderholm, Söderström, & Tam, 2017).

Bien que l'utilisation de la majorité des pesticides organochlorés soit interdite au Vietnam depuis 1992, il existe encore des sites de stockages de produits illégaux dans le pays (Nguyen, 2009). De plus, ces stocks sont utilisés malgré leur interdiction d'utilisation car leurs prix sont très compétitifs (Thi & Steven, 2012).

Un autre problème concernant l'utilisation des pesticides au Vietnam est la migration des agriculteurs les plus éduqués et qualifiés vers les centres urbains afin d'obtenir un emploi mieux payé (Thi & Steven, 2012). Ne restent à cultiver les champs et les rizières que les moins éduqués qui ne lisent pas forcément les étiquettes des produits qu'ils utilisent sur leurs cultures (ou n'en sont pas capables) et donc n'emploient pas à bon escient les pesticides (Thi & Steven, 2012).

Certaines pratiques habituelles des cultivateurs vietnamiens sont également contre-productives ou dangereuses, notamment les mélanges de différents pesticides afin d'accroître leur efficacité, ce qui ne fonctionne généralement pas et provoque même l'effet inverse, ou l'augmentation de la concentration en pesticide si celui-ci ne présente pas des effets immédiats après la pulvérisation (Thi & Steven, 2012).

Malgré tout certains agriculteurs semblent plus conscients des risques liés aux pesticides et agissent en conséquence. C'est le cas notamment des agriculteurs qui élèvent volontairement des poissons dans leurs rizières, comme le développent Berg et Tam dans leur étude sur l'utilisation des pesticides et les stratégies de gestion des nuisibles chez les agriculteurs dans le Delta du Mékong (2012). Dans une étude plus récente, Berg et ses collaborateurs ont remarqué que les agriculteurs-éleveurs sont plus attentifs aux pesticides qu'ils achètent et utilisent sur leurs cultures car ils ont constaté des effets négatifs sur leurs poissons notamment avec une diminution de leur taille à cause de la disparition de leur nourriture naturelle, éliminée en même temps que les nuisibles par les pesticides peu sélectifs (Håkan Berg et al., 2017; H Berg & Tam, 2012). En 2012, Berg avait également noté que les agriculteurs-éleveurs de poissons considéraient les poissons et les autres organismes aquatiques naturellement présents dans les rizières comme des ennemis naturels des nuisibles et que leur protection était donc un enjeu important.

Si les campagnes souffrent de la contamination en insecticides des sols et des milieux aquatiques, les villes ne sont pas épargnées par la contamination. En effet, les insecticides tels que le DDT sont actuellement utilisés à forte dose dans les grandes villes et les centres urbains afin de lutter contre certaines espèces de moustique, vecteurs de maladies tropicales telles que la malaria. Cette contamination de l'environnement par le DDT pour son utilisation sanitaire contre les vecteurs de maladies s'affiche par des concentrations élevées dans les étangs et les points d'eau proches des habitations alors que les échantillons d'organismes analysés près des côtes contiennent des concentrations plus basses (Dang Duc Nhan, Am, Carvalho, Villeneuve, & Cattini, 1999). Une étude était arrivée à une conclusion identique en constatant des hautes concentrations en isomère o-p' dans les écosystèmes d'eau douce, mais non retrouvées dans les milieux marins. Selon eux c'était bien la preuve que le DDT était utilisé durant la saison des pluies dans les villes afin de lutter contre les moustiques (Dang Duch Nhan et al., 1998).

Les PCBs sont retrouvés en plus grandes quantités dans les points d'eau près des centres urbains suite aux rejets industriels et à la mise en décharge (ou non) d'objets qui contiennent des PCBs. Les PCBs entraient auparavant dans la composition de nombreux matériaux et étaient largement utilisés dans les industries, jusqu'à ce que leur dangerosité soit découverte. Ces polluants ubiquistes sont aussi retrouvés dans les campagnes mais en plus petites quantités, ce qui fait supposer que les villes sont les sources d'émission majeures des PCBs (N. H. Minh et al., 2007). En 2007, les valeurs de PCBs dans les sédiments du Delta du Mékong (rivière Hau) se situaient entre des valeurs de 0,039 et 9,2 ng/g de poids sec, où là encore, les villes accusaient des concentrations plus élevées (N. H. Minh et al., 2007). En 2014, les niveaux de concentration étaient légèrement plus élevés puisqu'ils tournaient autour de 0,13 et 121 ng/g de poids sec dans les sédiments (Duong, Kadokami, Pan, Matsuura, & Nguyen, 2014). La tendance est encore une fois similaire avec les plus hautes concentrations retrouvées en villes, où celles –ci sont jusqu'à 100x plus élevées que dans les campagnes.

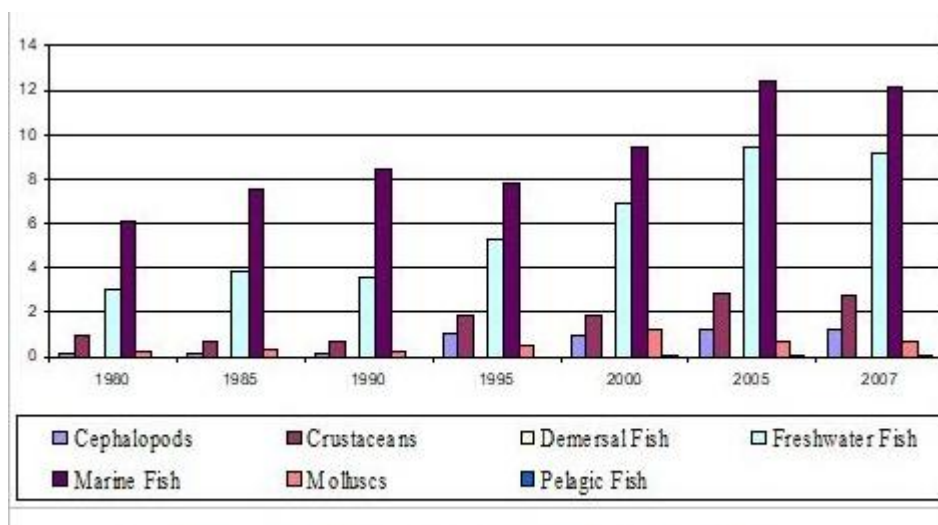
Les insecticides utilisés dans les champs ou les maisons ainsi que les PCB s'échappant des décharges ruissellent lors de la saison des pluies et terminent dans les différents canaux et ruisseaux (Toan, 2013). L'eau vietnamienne est donc contaminée, entre autres, par ces substances. Par conséquent, si l'eau est contaminée, les poissons qui y vivent le sont aussi. Il faut à présent déterminer à quel point les poissons sont contaminés et dans quelle mesure cela présente un risque pour la population vietnamienne qui les consomme.

Ainsi nous pouvons constater que différentes études portant sur la contamination de l'environnement vietnamien montrent que le taux de PCB et de DDT est à la baisse depuis les analyses réalisées dans les années 1990 (N. H. Minh et al., 2007), ce qui est une bonne nouvelle et nous permet d'être optimiste quant aux résultats que nous obtiendrons lors de notre étude.

1.3 L'aquaculture et la pêche au Vietnam

La pêche et l'aquaculture sont deux sources importantes de revenus pour les Vietnamiens. En effet, de par son activité agricole (rizières), son climat pluvieux et son territoire côtier important, le pays ne manque pas de points d'eau où il est possible de pêcher ou d'élever des poissons. Le Sud du Vietnam est d'ailleurs une région très prolifère au niveau de l'aquaculture grâce au Delta du Mékong qui permet des systèmes de cultures très diversifiés et ce pour différentes espèces de poissons et de crustacés (Phuong & Minh, 2005). Les crevettes et les pangasius sont deux des produits clés de l'aquaculture sud-vietnamienne (Duc, 2011).

Les vietnamiens sont de grands consommateurs de poisson, et surtout de poisson frais. Ho Chi Minh Ville se démarque d'ailleurs par l'augmentation de son nombre de supermarchés dû à la forte demande en poissons de ses habitants en poisson frais (Duc, 2011).



Consumption of fishery products in Vietnam (Source: FAO)

Figure 1 : Consommation domestique de la population vietnamienne (Duc, 2011).

Une étude de la FAO menée dans les années 2000 indiquait que la consommation de poissons par les Vietnamiens tournait aux alentours de 50g/personne/jour, toutes espèces de poisson confondues (H. Minh & Minh, 2006). Cette consommation a certainement augmenté depuis lors.

Avec l'augmentation de l'exportation de poisson vietnamien à l'international, le secteur de l'aquaculture voit de plus en plus de normes environnementales, sanitaires et de qualité voir le jour (Duc, 2011). Néanmoins, au Vietnam, tout le monde peut vendre et acheter du poisson. Les élevages de poissons sont d'ailleurs souvent gérés par des particuliers. Selon une étude réalisée en 2011 par Duc, les particuliers qui élèvent des poissons tendent de plus en plus à respecter les normes de qualité et les standards de l'ASC (Aquaculture Stewardship Council) (Duc, 2011). D'ailleurs, il avait été décidé par le Département vietnamien de la pêche (Ministère de l'agriculture et du développement rural) et par le WWF International qu'à partir de 2015 toutes les exploitations d'élevage de poissons-chats destinés à la vente devraient respecter les normes de l'ASC (Duc, 2011).

Le but de notre recherche sera d'estimer le niveau de contamination en PCBs et en pesticides des produits de la pêche et de l'aquaculture consommés par les habitants de Ho Chi Minh Ville (HCMV) via l'analyse de produits disponibles sur les marchés de la ville mais aussi via un échantillonnage de provinces productrices de produits aquacoles proches d'HCMV, car un des points faibles dans les réseaux de contrôle de la qualité des poissons reste bel et bien le cas des poissons vendus pour la consommation aux habitants de HCMV lorsqu'ils achètent ces poissons et crustacés sur les différents marchés de la ville (source, qualité, ...).

Un autre problème lié à l'aquaculture vietnamienne est son extension rapide, mal gérée et mal contrôlée, bien qu'encouragée au départ par le gouvernement (Duc, 2011). L'aquaculture menace les ressources côtières à cause de l'augmentation de la pression démographique près des côtes pour l'élevage de crevettes et d'autres espèces marines (Phuong & Minh, 2005). De plus, des épidémies de maladie liées à la nourriture, des taux trop hauts de résidus

toxiques ou de pesticides et une pauvre qualité de l'eau sont des problèmes récurrents dans les aquacultures (Duc, 2011).

Des études ont montré que les PCBs et le DDT (et ses dérivés) sont les deux contaminants les plus présents dans l'environnement vietnamien et plus particulièrement dans notre cas dans l'analyse des poissons (Nguyen, 2009).

Une étude réalisée précédemment montre une différence certaine dans la contamination en PCB et PBDE des poissons-chats issus de l'aquaculture ou pêchés dans les canaux traversant la ville (H. Minh & Minh, 2006). Les poissons-chats pêchés près des décharges montraient des teneurs en PCBs et en insecticides organochlorés (DDT) supérieurs à ceux des poissons-chats d'élevage. De plus, les pesticides organochlorés ainsi que leurs concentrations retrouvées dans les farines données aux poissons d'élevage sont du même ordre que ce que l'on peut retrouver dans les poissons. Les poissons pêchés près des décharges sont donc contaminés par les rejets industriels en plus de la contamination qu'ils reçoivent via leur alimentation (H. Minh & Minh, 2006).

C'est pourquoi nous avons choisi de participer dans le cadre de notre mémoire de fin d'études à une étude visant à déterminer la contamination de poissons, crustacés et autres produits halieutiques vendus sur les marchés de HCMV et dans les provinces productrices avoisinantes.

1.4 Contaminants étudiés

Les Polychlorobiphényles

Les PCBs, ou Polychlorobiphényles, sont des molécules synthétiques caractérisées par un noyau biphényle présentant plusieurs niveaux de chloration possibles ("Biphényles polychlorés (BPC) - Canada.ca," 2010). Les PCBs peuvent posséder entre un et dix atomes de chlore, dont la position peut également varier, créant au total 209 congénères différents (Carrier, Bouchard, Gosselin, & El Majidi, 2006). Nous avons réalisé nos mesures sur 6 congénères : les PCBs 28, 52, 101, 138, 153, 180. Ces congénères « traceurs » ont été choisis car ce sont ceux qui sont les plus présents et les plus abondamment retrouvés dans les écosystèmes, en Europe tout du moins. Le pattern de PCBs retrouvés dans les échantillons peut également nous donner une idée de la source et/ou de l'origine de la contamination.

Les polychlorobiphényles ont été largement utilisés pour leurs fonctions isolantes et diélectriques dans le secteur industriel dès les années 30 (Carrier et al., 2006). Leur pic d'utilisation se fera dans les années 60 (Carrier et al., 2006). En Belgique, le mélange « Aceclor » fabriqué par l'ACEC (entreprise de fabrication de matériel électrique et de chauffage) a été beaucoup utilisés (Carrier et al., 2006). Les PCBs que nous retrouvons au Vietnam sont issus des anciens pays de l'Union Soviétique et de la Chine (Nguyen, 2009). La présence actuelle de PCBs provient de vieux équipements électriques ou d'huiles présentes dans les décharges (Nguyen, 2009) car après 1977 l'utilisation des PCBs dans les manufactures et les industries fut interdite (Yu, 2014). En effet, à la fin des années 60, un incident de contamination alimentaire au Japon impliquant de la nourriture contaminée par des huiles dans lesquelles furent retrouvés des PCBs provoque l'interdiction progressive de fabrication puis d'utilisation dans le monde entier de ces produits chimiques car ils présentent des risques pour la santé humaine (Carrier et al., 2006).

Une autre caractéristique des polychlorobiphényles est qu'ils sont très persistants dans l'environnement et aisément bioaccumulables car ils sont solubles dans les lipides. La stabilité des PCBs augmente avec leur teneur en atomes de chlore : les congénères les plus chlorés sont donc les moins biodégradables et les plus bioaccumulables dans les tissus (Carrier et al., 2006). Dans les milieux aquatiques nous les retrouvons surtout dans les sédiments car ils sont très peu solubles dans l'eau ("Biphényles polychlorés (BPC) - Canada.ca," 2010). Une fois adsorbés dans les sols ou les sédiments, les PCBs ont une demi-vie très longue, pouvant aller de plusieurs mois à plusieurs années selon leur niveau de chloration (Yu, 2014). Les organismes vivants au fond des lacs et rivières sont les premiers à ingérer les PCBs présents dans les sédiments, ensuite ceux-ci se répandent dans la chaîne trophique où ils se bioaccumulent (Yu, 2014). Suite à cette bioconcentration, les taux de PCBs retrouvés dans les organismes aquatiques peuvent être plus de mille fois plus importants que ceux retrouvés dans les sédiments (Yu, 2014).

Le facteur de bioconcentration des PCB tourne autour de 31 200 (Niemi, 2016). C'est par ingestion de nourriture, et donc surtout de poisson contaminé, que les PCBs sont retrouvés dans les tissus humains (Yu, 2014).

Insecticides

Nous avons concentrés nos recherches et nos analyses sur treize insecticides (à savoir : α -, β - et γ -HCH, heptachlore et heptachlore époxyde, Aldrine, Dieldrine, Endrine, α - et β -endosulfan, méthoxychlore, DDT, DDE et DDD). Ces insecticides furent ou sont encore largement utilisés sur les cultures au Vietnam et ce malgré l'interdiction d'utilisation de la plupart de ces substances. Nous avons choisi de quantifier ces insecticides car le LEAE possède le mix 14 qui est une mixture contenant précisément ces insecticides.

α -, β - et γ -HCH

Les α - β - et γ -HCH (α - β - γ -Hexachlorocyclohexane) sont des isomères de l'hexachlorocyclohexane. La forme la plus utilisée pour ses propriétés insecticides est le γ -HCH, mieux connu sous le nom de « lindane » (Dorsey et al., 2005). L'hexachlorocyclohexane technique quant à lui est un mix de plusieurs isomères (α - β - γ - δ - ϵ -HCH) présents en différentes proportions. L'HCH technique était également utilisé pour ses propriétés insecticides (Dorsey et al., 2005).

Ces substances sont toxiques, persistantes dans l'environnement et bioaccumulables dans la chaîne trophique de par leurs propriétés liposolubles (National Institute for Occupational Safety and Health, 2015).

Le β -HCH est l'isomère le plus stable et donc celui qui a la dégradation la plus lente dans l'environnement. L'isomère γ -HCH passe en effet par la forme α -HCH et enfin à celle du β -HCH lors de sa dégradation. La prédominance de β -HCH indique donc une contamination ancienne (Toan, 2013). De plus, des faibles ratios de α -HCH/ γ -HCH dans les sédiments indiqueraient l'utilisation de lindane alors que un ratio élevé indiquerait plutôt l'usage d' HCH technique (Toan, 2013).

Le lindane est peu soluble dans l'eau et très persistant dans l'environnement où son temps de rémanence est de 10 ans (Saive, 2015).

Le facteur de bioconcentration du lindane varie entre 43 et 4240 selon l'espèce étudiée (moules, daphnie ou poissons) (Geyer et al., 1997).

Le HCH technique et le lindane ont été bannis d'utilisation et de production par les états depuis 1990 car ils présentaient trop de risque pour la santé (Fabre, Roth, & Kergaravat, 2005).

Heptachlore

L'heptachlore est une substance chimique synthétique utilisée comme insecticide (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2005). Cet insecticide organochloré est moyennement persistant dans l'environnement, en effet, sa demi-vie dans le sol est de deux ans (Toft, 2004). En revanche dans l'environnement, l'heptachlore s'oxyde en heptachlore époxyde (heptachlore exe) qui lui, a une demi-vie de plusieurs années car il est très difficilement dégradé (Toft, 2004).

L'heptachlore est bioaccumulable. Il est assimilé par les plantes puis passe dans la chaîne trophique (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2005).

La forme oxydée de l'heptachlore, l'heptachlore époxyde, se retrouve aussi dans l'eau (Toft, 2004).

La contamination humaine en heptachlore se fait majoritairement par l'ingestion de nourriture (Toft, 2004).

Le BCF de l'heptachlore se situe aux environs de 21 300 pour les poissons et son temps de demi-vie dans l'eau varie de 4 jours à 5 jours, en fonction du pH de l'eau (INERIS, 2005). Sa demi-vie est de 2 ans dans les sols en moyenne ("Heptachlor - Persistent Organic Pollutants (POPs)," n.d.).

L'utilisation de l'heptachlore a été interdite au Vietnam en 1992 ("Heptachlor - Persistent Organic Pollutants (POPs)," n.d.).

Aldrine et Dieldrine

Ces deux substances similaires sont des insecticides organochlorés. En réalité, la dieldrine apparaît dans l'environnement lors de la dégradation de l'aldrine par les plantes ou les animaux ("Aldrin and Dieldrin," n.d.; SEPA : scottish Environment Protection Agency, n.d.). Ce sont les monooxygénases qui sont responsables de la dégradation de l'aldrine en dieldrine dans le foie des animaux (Benitez, 1995). Ces deux substances ne sont actuellement plus autorisées à être utilisées mais leur persistance dans l'environnement fait qu'il est encore possible d'en retrouver des traces dans les sols (notamment les sites utilisés pour leur stockage) ("Aldrin and Dieldrin," n.d.). En effet, le temps de rémanence de l'aldrine dans l'environnement est de 3 ans (Saive, 2015). L'aldrine est également soluble dans les solvants organiques (Benitez, 1995) et donc dans les lipides (SEPA : scottish Environment Protection Agency, n.d.).

L'aldrine a un facteur de bioconcentration situé autour de 3 348 (University of Hertfordshire, 2017a).

Il est possible de retrouver de l'aldrine ou de la dieldrine dans le corps humain. Cette contamination est issue de la consommation de nourriture contaminée et est peu susceptible de venir de l'inhalation par voies aériennes, sauf dans le cas où une maison a été traitée contre une invasion de termites avec ces substances ("Aldrin and Dieldrin," n.d.) ou par contact cutané lors de la pulvérisation notamment sur les cultures (SEPA : scottish Environment Protection Agency, n.d.).

La dieldrine contamine durablement l'environnement et peut également se déposer loin de son lieu de production ou d'utilisation via les dépositions atmosphériques (SEPA : scottish Environment Protection Agency, n.d.).

L'usage de l'aldrine et de la dieldrine a été banni au Vietnam en 1992 ("Aldrin - Persistent Organic Pollutants (POPs)," n.d.).

Endrine

L'endrine est un insecticide organochloré persistant dans l'environnement (Cornell university, n.d.). L'endrine est métabolisé par les animaux lorsqu'il est ingéré mais contrairement aux autres insecticides de la famille des « drines » il n'est pas beaucoup stocké dans les graisses ("Endrin - Persistent Organic Pollutants (POPs)," n.d.). Il a malgré tout un facteur de bioconcentration de l'ordre de 3 970 (University of Hertfordshire, 2017b), un BCF de 6 400 a même été enregistré chez certaines espèces de poisson ("Endrin - Persistent Organic Pollutants (POPs)," n.d.). Il contamine les eaux de surface par ruissellement et se disperse dans l'atmosphère, se déposant loin de son lieu d'émission ("Endrin - Persistent Organic Pollutants (POPs)," n.d.). La demi-vie de l'endrine dans les sols va jusqu'à 12 ans ("Endrin - Persistent Organic Pollutants (POPs)," n.d.). Son usage a été banni au Vietnam en 1992 ("Endrin - Persistent Organic Pollutants (POPs)," n.d.).

α - et β -endosulfan

Insecticide organochloré persistant qui peut être facilement transporté dans l'air et se déposer loin de son lieu d'émission (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2015). L'endosulfan a un temps de rémanence de 2 ans dans l'environnement (Saive, 2015).

Les êtres humains sont exposés à l'endosulfan lorsqu'ils consomment de l'eau ou de la nourriture préalablement contaminée (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2015). En ce qui concerne les personnes qui pulvérisent l'endosulfan sur les cultures, elles peuvent également être contaminées par inhalation ou par contact cutané lorsque le produit est utilisé sans vêtements et protections adéquats (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2015). L'isomère β -endosulfan est plus rapidement absorbé par l'organisme que le α -endosulfan ("endosulfan : PubChem," n.d.).

Le Log Kow de l'isomère α est de 3,83 alors que celui de l'isomère β de l'endosulfan est de 3.62 ("endosulfan : PubChem," n.d.), nous pouvons donc conclure qu'il est bioaccumulable.

L'endosulfan était un pesticide largement utilisé au Vietnam jusqu'à ce que son usage en agriculture soit interdit en 2006 (Nguyen, 2009).

Méthoxychlore

Le méthoxychlore est un insecticide organochloré synthétique. Lorsqu'il est appliqué sur les cultures, le méthoxychlore se disperse dans l'environnement de façon globale et pollue les sols, l'air et l'eau (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2002). Le méthoxychlore présent dans l'air est dégradé par la lumière, mais dans les autres matrices sa dégradation met un certain temps. Le méthoxychlore est donc persistant dans l'environnement. Heureusement, même s'il peut pénétrer les organismes vivants comme les algues ou les animaux, ceux-ci parviennent rapidement à l'éliminer, l'empêchant de se bioaccumuler le long de la chaîne trophique (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2002). Normalement le méthoxychlore n'est pas retrouvé dans la nourriture, mais dans certaines régions où il est largement utilisé, cela

reste une possibilité. Le méthoxychlore peut également être retrouvé dans les eaux de surface des régions où il est appliqué ainsi que dans les sédiments (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2002). Le plus grand risque d'ingestion de méthoxychlore se fait via la consommation de poissons issus de rivières ou de points d'eau contaminés (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2002). Néanmoins cette contamination reste minoritaire.

Le méthoxychlore a été utilisé de plus en plus en tant qu'insecticide comme alternative au DDT une fois ce dernier interdit d'utilisation. Le méthoxychlore est moins toxique et moins persistant dans l'environnement (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2002).

La demi-vie du méthoxychlore dans les sols est de 120 jours approximativement et de 37 à 46 jours dans l'eau distillée (Extension Toxicology Network, 1996).

DDT, DDE, DDD

Le DDT, dont le nom complet est « dichlorodiphényltrichloroéthane » est le plus connu des insecticides organochlorés (US EPA, n.d.). Cette substance chimique synthétique a été largement utilisée dès les années 40 (US EPA, n.d.). Comme les autres organochlorés, le DDT est persistant dans l'environnement et s'accumule dans les tissus adipeux des animaux suite à la consommation de plantes ou proies contaminées (US EPA, n.d.). Le DDT s'accumule donc le long de la chaîne trophique et présente un danger réel pour les prédateurs au sommet de la chaîne alimentaire ("DDT - Persistent Organic Pollutants (POPs)," n.d.). Le DDT voyage également dans l'atmosphère et se dépose dans des régions éloignées de son lieu d'émission (US EPA, n.d.). Les concentrations de DDT retrouvées dans l'environnement diminuent progressivement suite à son interdiction d'usage de par le monde. Néanmoins il reste présent dans les sols car il a été utilisé de façon intensive et généralisée durant de longues années mais aussi parce qu'il est très persistant dans l'environnement. En effet la demi-vie du DDT est de 2 à 15 ans dans les sols, mais elle est de plus de 150 ans dans les milieux marins, lorsque le DDT est lié aux sédiments ("DDT, DDE, DDD, DDA-Organochlorine Pesticide | Center for Environmental Medicine," 2008)

Actuellement, le DDT ne peut plus être pulvérisé sur les cultures pour les prévenir ou les débarrasser des insectes mais peut encore être utilisé comme moyen de prévention sanitaire contre les moustiques dans les régions du monde où sévit la malaria, une maladie dont les vecteurs sont certaines espèces de moustiques du genre *Anopheles* (US EPA, n.d.). Cet usage est l'unique usage accepté pour le DDT.

Au Vietnam l'usage du DDT a été banni en 1992 ("DDT - Persistent Organic Pollutants (POPs)," n.d.), néanmoins, il reste encore utilisé dans les milieux urbains pour lutter contre la malaria (Toan, 2013).

Le DDD et le DDE sont des produits dérivés de la dégradation du DDT dans l'environnement et dans les organismes ("DDT, DDE, DDD, DDA-Organochlorine Pesticide | Center for Environmental Medicine," 2008), nous les retrouvons de façon ubiquiste dans l'environnement à l'image du DDT ("DDT - Persistent Organic Pollutants (POPs)," n.d.). Le DDT est dégradé en DDD dans des conditions anaérobies et en DDE dans des conditions aérobies (Toan, 2015). Ils sont tous les deux également plus persistants que le DDT et sont donc retrouvés en plus grandes quantités dans l'environnement ("DDT - Persistent Organic Pollutants (POPs)," n.d.). Nous pouvons utiliser les ratios DDT/DDD-DDE afin de déterminer de l'ancienneté ou la récence de la contamination. La présence de *p,p'*-DDT dans les sédiments indique une utilisation récente du DDT (N. H. Minh et al., 2007). Une étude de Duong et al. sur la présence de contaminants dans les sédiments suggère qu'un ratio DDT/DDE < que 0.3 indique une

exposition ancienne au DDT alors qu'un ratio de > 0.5 indique une utilisation récente (Duong et al., 2014; N. H. Minh et al., 2007). De plus, cette même étude donne un autre ratio permettant de déterminer l'état de dégradation du DDT : $DDD+DDE/\Sigma DDT > 0.5$ caractérise un vieil apport et une bonne dégradation du DDT alors qu'un ratio de < 0.5 signifie qu'une contamination récente a eu lieu.

Le DDD a également des propriétés insecticides et a été utilisé comme tel avant d'être interdit d'utilisation à son tour, le DDE quant à lui n'a pas de propriété utilisable pour la lutte contre les insectes (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2011)

La contamination humaine en DDT aujourd'hui se fait via l'ingestion d'aliments contaminés ("DDT - Persistent Organic Pollutants (POPs)," n.d.).

Fongicide

Un seul fongicide sera quantifié dans notre recherche. Il s'agit de l'HCB : l'hexachlorobenzène. Cette substance fait partie des polluants organochlorés persistants. L'hexachlorobenzène était surtout utilisé dans l'agriculture, une petite partie est néanmoins créée involontairement lors de l'incinération des déchets ou dans l'industrie du chlore (Soleille, 2005). Cette substance est liposoluble, bioaccumulable et se lie aux sédiments ainsi qu'aux particules en suspension dans l'eau (Soleille, 2005). Le BCF de l'HCB tourne autour de 18 621 (Euro Chlor, 2002)

Sa demi-vie dans l'eau varie entre 2 et 6 ans (Euro Chlor, 2002).

L'utilisation de l'HCB comme fongicide a été interdite au Vietnam en 1992 ("Hexachlorobenzene (HCB) - Persistent Organic Pollutants (POPs)," n.d.).

1.5 Les espèces échantillonnées

Le poisson-chat - *Clarias macrocephalus*

Le poisson-chat est une espèce endémique d'Asie du Sud-Est et plus précisément du Delta du Mékong. Nous le retrouvons beaucoup en Thaïlande, au Laos, en Malaisie, au Cambodge et au Vietnam. *Clarias macrocephalus* fait partie de l'ordre des siluriformes Cette espèce est considérée comme « presque menacée » par l'UICN car son habitat est en danger. En effet, certains hybrides, issus du croisement avec le poisson-chat africain, provenant des élevages d'aquacultures s'en échappent et menacent alors les individus sauvages. Le problème particulier de l'introduction accidentelle d'hybrides dans l'écosystème est la tendance de ces derniers à se développer plus rapidement que l'espèce sauvage. De plus, l'introduction d'hybride accentue la compétitivité pour la nourriture. Cela induit un déclin de la population sauvage de poisson-chat.

Le poisson-chat est un poisson carnivore qui consomme surtout des insectes mais aussi des crevettes et des petits poissons. Il vit au fond de l'eau, dans les rivières d'eau douce ou les champs inondés (Vidthayanon & Allen, 2013).

Le poisson-chat est également le poisson le plus consommé par les Vietnamiens (Nguyen, 2009).



(Source ("IFREDI-P02373 | *Clarias macrocephalus*," n.d.))

Figure 2 : *Clarias macrocephalus*

Le pangasius - *Pangasius hypophthalmus*

Le pangasius fait partie de la famille des siluriformes, comme le poisson-chat. Le pangasius est un poisson d'eau douce d'Asie du Sud-Est (Thaïlande, Cambodge, Vietnam). Il est omnivore et peut tout aussi bien se nourrir d'algues, de fruits, d'insectes ou d'autres poissons. Le pangasius est une espèce endémique du Delta du Mékong, dans lequel il était originellement retrouvé à l'état sauvage. Aujourd'hui nous retrouvons le pangasius comme espèce phare de l'aquaculture au Vietnam où nous les retrouvons en abondance, alors que la population de pangasius sauvage, elle, a tendance à diminuer. Le pangasius est une espèce mobile pouvant nager sur de très longues distances (> de 300 km). Le pangasius est sur la liste rouge des espèces menacées de l'UICN car il est sur-exploité et son habitat naturel est fortement dégradé. La baisse de la qualité de l'eau est également une menace pour cette espèce (Vidthayanon & Hogan, 2013).



Broodstock Pangasius hypophthalmus
(Photo: Pham Van Khanh)

(source (Griffiths, Van Khanh, & Trong, 2010))

Figure 3 : *Pangasius hypophthalmus*

Outre ces deux espèces prélevées lors de la campagne de prélèvement à laquelle nous avons participé, des échantillons de crevettes (probablement *Penaeus monodon*), de calamars et d'anguilles ont également été collectés par Madame Nguyen Thi Hong Nhung, doctorante au LEAE sur les marchés de HCMV.

1.6 Objectifs de l'étude

L'objectif de notre travail est de caractériser les teneurs en certains polluants organiques dans l'alimentation des habitants d'Ho Chi Minh Ville.

Nous avons décidé de focaliser nos recherches sur les PCBs, le DDT ainsi que sur certains pesticides, comme nous l'avons développé plus haut.

Les sites d'échantillonnages sont de trois natures différentes. Tout d'abord il y a les marchés d'Ho Chi Minh Ville, ensuite nous avons les exploitations aquacoles situées dans les provinces entourant Ho Chi Minh Ville et enfin nous avons les poissons « sauvages » pêchés directement dans la rivière, près d'Ho Chi Minh Ville et dans les provinces.

Les produits que nous avons prélevés sont les espèces les plus produites et les plus consommées au Vietnam : la crevette, le calamar, le poisson-chat, l'anguille et le pangasius. Les crevettes et le pangasius sont les deux produits phares de l'aquaculture vietnamienne. Les pangasius sont majoritairement destinés à l'exportation. En effet, les Vietnamiens considèrent cette espèce comme peu goûteuse et n'en consomment que peu. Il n'empêche que des exploitations aquacoles gigantesques soient dédiées à l'élevage de pangasius pour l'exportation, comme nous avons pu le constater avec Madame Joaquim-Justo durant notre participation à l'échantillonnage en juin.

2. Matériel et Méthode

2.1 Echantillonnage

Pour notre étude, 3 campagnes d'échantillonnages ont été réalisées. Ces campagnes ont pris place entre 2014 et 2017. Durant ces campagnes de prélèvements, différents marchés d'Ho Chi Minh Ville et plusieurs exploitations aquacoles de provinces ont été visités afin de réaliser l'échantillonnage.

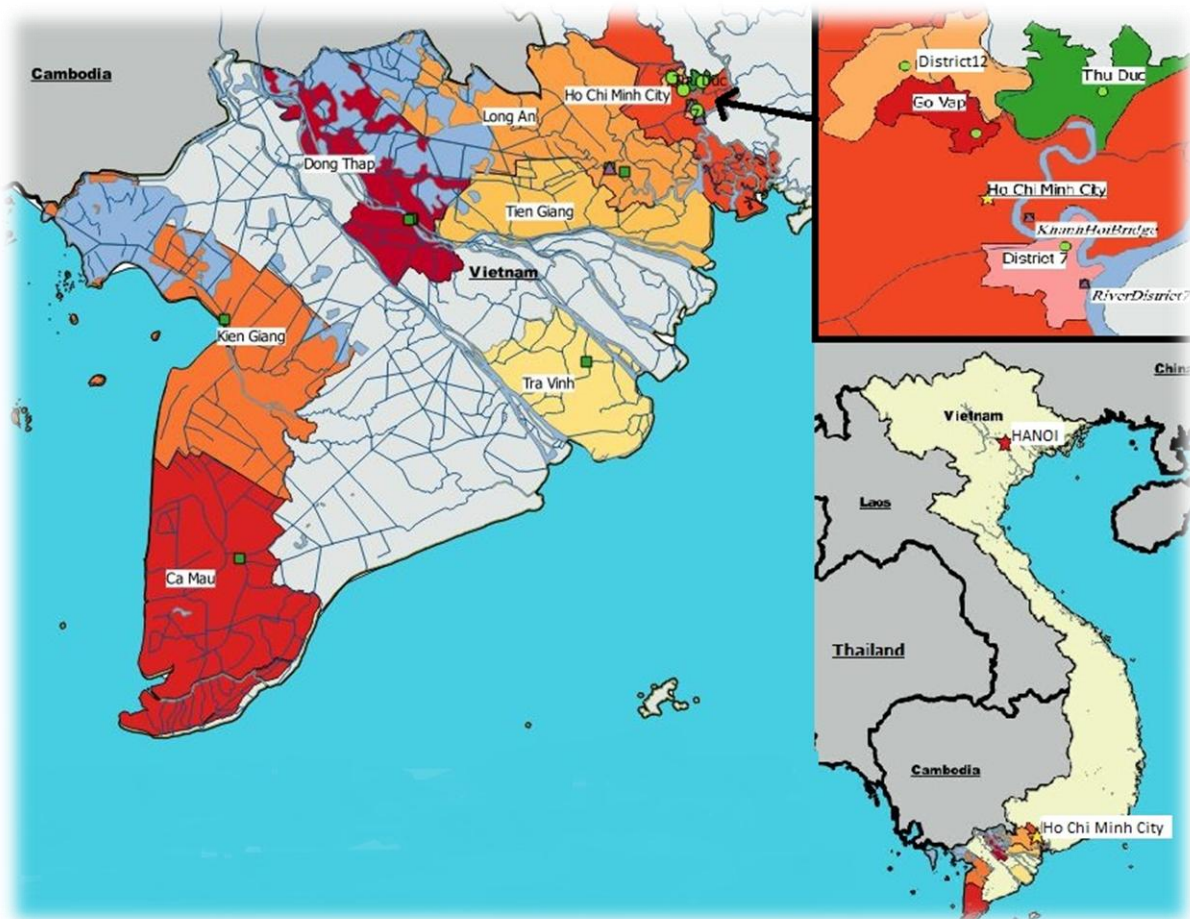


Figure 4 : Carte du Sud Vietnam - Provinces échantillonnées et marchés d'Ho Chi Minh Ville (Échelle : 1:1 500 000)

La campagne d'échantillonnage réalisée et analysée en 2014 comprend 38 échantillons soit : 18 crevettes, 9 calmars, 4 anguilles, 4 poissons-chats et 3 pangasius. Ces échantillons proviennent de 6 sites différents dont 3 marchés et 2 sites de production issus des provinces du Sud Vietnam et une rivière (rivière Saïgon) où sont situés 2 sites de pêche à Ho Chi Minh Ville, ces sites de pêche sont indiqués en italique sur la carte de la figure 4 (Tableau 1). Ce sont ces échantillons que nous présenterons par la suite dans les graphiques et lorsque que nous ferons références aux analyses de 2014. Ces analyses ont été réalisées par Madame Nguyen Thi Hing Nhung, doctorante au LEAE ; nous avons repris les tableaux de résultats fournis par celle-ci et nous les avons analysés et comparés à ceux que nous avons obtenus pour les campagnes de prélèvement de 2017.

Tableau 1 : nature et origine des échantillons de la campagne de prélèvement « 2014 »

Sites Espèces	ThuDuc Market	GoVap Market	KienGiang Province	CaMau Province	TraVinh Province	Rivière Saïgon	Total
Crevette	4	10	4	-	-	-	18
Calamar	-	5	-	4	-	-	9
Anguille	-	-	-	2	2	-	4
Poisson-chat	-	2	-	-	-	2	4
Pangasius	-	-	-	2	-	1	3
Total	4	17	4	8	2	3	38

La deuxième campagne fut réalisée en avril 2017 par Madame Nhung qui se rendit sur 3 marchés d'Ho Chi Minh Ville. Notons que le marché de Bui Van Ba se situe dans le district 7 sur la carte de la figure 4. Cet échantillonnage est plus réduit et comprend 22 échantillons répartis comme indiqué dans le tableau 2. Les échantillons ont été congelés à -20°C et acheminés en 24 heures dans les locaux du LEAE où ils ont ensuite été congelés à -80°C avant analyse.

Tableau 2 : nature et origine des échantillons de la campagne de prélèvement « marchés 2017 »

Espèces \ Sites	GoVap Market	District 12 Market	Bui Van Ba Market	Total
Crevette	2	-	7	9
Calamar	-	-	5	5
Poisson-chat	2	2	-	4
Pangasius	2	2	-	4
Total	6	4	12	22

La troisième campagne a été réalisée en juin 2017 lorsque Madame Joaquim-Justo et moi-même sommes parties au Vietnam pour accompagner Madame Nhung dans son échantillonnage des sites d'aquaculture dans les provinces. De cette campagne furent rapportés 24 échantillons : 12 poissons-chats et 12 pangasius, issus de 3 provinces mais de 5 sites d'aquaculture différents (voir tableau 3).

Tableau 3 : nature et origine des échantillons de la campagne de prélèvement « provinces 2017 »

Espèces \ Sites	Long An Province	Tien Giang Province	Dong Thap Province	Rivière Vam Chau Kue	Total
Poisson-chat	3	3	3	3	12
Pangasius		3	6	3	12
Total	3	6	9	6	24

Province de Long An et rivière Vam Chau Kue (Long An)

Dans la province de Long An nous avons été confrontés à deux modèles différents d'exploitation piscicole.

Le premier modèle consistait en l'engraissement de poissons sauvages capturés dans la rivière Vam Chau Kue, un tributaire de la rivière Vam Co grâce à un dispositif installé dans un bras de la rivière (figure 6). Ces poissons sauvages se sont nourris dans la rivière jusqu'à ce qu'ils soient capturés, après quoi ils sont engraisés dans un étang situé à côté de la maison (figure 7) par l'apport dans l'étang de restes alimentaires des habitants. L'étang reste néanmoins en communication avec la rivière. Et il est donc probable qu'une partie de la ration alimentaire de ces poissons provienne de la rivière. Les poissons de cette exploitation sont uniquement destinés à une consommation domestique. Dans cette exploitation, nous avons récupéré 3 poissons-chats et 3 pangasius.

Lors de notre visite, nous avons remarqué des traces d'hydrocarbures flottant à la surface de la rivière traversant leur terrain, près de la maison (figure 5).



Figure 5 : traces d'hydrocarbures dans la rivière près de la maison



Figure 6 : piège à poissons



Figure 7 : étang connecté à la rivière Vam Chau Kue

Le deuxième modèle d'exploitation piscicole rencontré dans la province de Long An consiste en l'achat de poissons très jeunes et leur engraissement pendant plusieurs mois dans l'étang de la propriété familiale. La finalité de ces poissons est la consommation domestique et la petite vente locale sur les marchés. Ici l'étang est isolé de la rivière et la famille nourrit les poissons avec des fèces de porcs sédimentés, porcs qui eux sont nourris avec le compost organique et les restes alimentaires de la famille.

Nous avons constaté des traces d'hydrocarbures et beaucoup de déchets dans la rivière proche de la maison (figures 10 et 11). Il y avait également plusieurs poissons morts dans l'étang (figure 9). Le propriétaire nous a expliqué cela comme « le résultat de la grande pêche qui avait eu lieu quelques jours plus tôt » et où ils avaient essayé de pêcher un maximum de poissons dans leur étang. Nous avons récupéré 3 poissons-chats de cette exploitation.



Figure 8 : étang isolé de la rivière Vam Chau Kue



Figure 9 : poisson mort dans l'étang



Figure 10 : Traces d'hydrocarbures flottant à la surface de l'eau sur le chemin menant à l'habitation



Figure 11: déchets flottants dans la rivière sur le chemin menant à l'habitation

Province de Tien Giang

Dans cette province nous avons visité deux exploitations aquacoles, dans l'une sont élevés les poissons-chats et dans l'autre les pangasius, néanmoins, leurs principes de fonctionnement sont semblables (figures 12 et 14).

Ces exploitations sont en quelques sortes des « maternités » ou des « nursery ». En effet, les propriétaires possèdent des femelles matures qui pondent des œufs dans les étangs. Une fois les œufs éclos, les alevins sont nourris avec de la nourriture du commerce puis vendus alors qu'ils ont entre 4 et 8 semaines à des particuliers. Les acheteurs sont des personnes comme les propriétaires de l'étang isolé que nous avons visité à Long An, par exemple. Une fois achetés, les particuliers engraisser les poissons dans leur propre étang. Les deux exploitations visitées présentaient un aspect propre et semblaient bien entretenues.

Nous avons récupéré 3 petits poissons-chats dans l'étang à poissons-chats et 3 petits pangasius dans l'étang à pangasius (figures 13 et 15).



Figure 12 : étang avec les poissons-chats Tien Giang province



Figure 13 : échantillons de poissons-chats



Figure 14 : Etang à pangasius Tien Giang province



Figure 15 : échantillons de pangasius

Province de Dong Thap

La première exploitation que nous avons vue à Dong Thap fonctionnait sur le même principe que l'exploitation de Long An où les gens achetaient des alevins pour les engraisser chez eux.

L'étang de cette famille était très grand (figure 18). L'étang peut être vidé de son eau, celle-ci étant alors rejetée dans la rivière, pour ensuite remplir à nouveau l'étang avec de l'eau de la rivière pompée en amont.

Ils élèvent dans l'étang des poissons pour leur consommation domestique mais en vendent aussi parfois à leurs voisins ou sur les marchés locaux. Ils n'élevent que des poissons-chats, nous en avons d'ailleurs récupérés 3 (figure 16).

Les poissons y sont engraisés avec de la nourriture commerciale.



Figure 16 : Echantillon de poisson-chat Dong Thap province



Figure 17 : exploitante pêchant un poisson-chat



Figure 18 : Etang de Dong Thap province

La deuxième exploitation de la province de Dong Thap est une grosse exploitation aquacole de pangasius uniquement, destinés à l'exportation (figure 19).

Cette exploitation se situe sur une petite île au milieu du Delta du Mékong où nous nous sommes rendues en bateau à moteur. Lors du voyage jusqu'à l'île, on pouvait sentir une odeur soufrée par endroits ; il est à noter que certains pesticides présentent cette odeur caractéristique, comme les endosulfans qui contiennent un atome de soufre.

Cet exploitant achète lui aussi les pangasius lorsqu'ils sont encore des alevins puis les engraisse dans ses gigantesques étangs avec de la nourriture commerciale. Nous avons assisté au nourrissage des poissons où plusieurs tonnes de nourritures commerciales sont distribuées à chaque repas (figure 20). Une fois que tous les poissons ont été pêchés dans un étang, celui-ci est vidé et l'exploitant laisse le fond se faire sécher par le soleil afin de se débarrasser des nuisibles tels que les rats, les grenouilles, ... avant d'être rempli à nouveau et accueillir une nouvelle génération de poissons.

Nous avons échantillonné 3 pangasius âgés 4 de mois dans un étang et 3 pangasius âgés de 7 mois dans un autre étang de la même exploitation. Les poissons âgés de 4 mois pèsent environ 500 grammes et ceux de 7 mois entre 900 gr et 1Kg.



Figure 19 : Etang de pangasius à Dong Thap province



Figure 20 : nourrissage des pangasius à Dong Thap province

Lors de notre journée à travers la campagne vietnamienne nous avons également eu l'occasion de voir des agriculteurs pulvériser des pesticides sur leurs champs, avec un tank accroché à leur dos. Nous avons remarqué que les particuliers qui achetaient des alevins pour les engraisser chez eux n'achetaient que des poissons-chats et pas des pangasius. Lorsque nous avons demandé une explication à cela, Madame Nhung nous a appris que les Vietnamiens n'appréciaient pas tellement la viande de pangasius, qu'ils trouvent fade.

Les aquacultures de pangasius produisent donc principalement des poissons destinés à l'exportation.

Tableau 4 : Tableau récapitulatif des exploitations aquacoles échantillonnées en juin 2017 (origine, finalité, alimentation des poissons)

	Long Anh Province	Tien Giang Province	Dong Thap Province	Rivière Van Chau Khue	Total
Poisson-chat	Nombre : 3 Origine : achat alevins Nourriture : fèces porc <u>Consommation : vente locale</u> Age : inconnu	Nombre : 3 Origine : locale (mères sur place) Nourriture : commerciale <u>Consommation : non Elevage alevins puis vente à 1 ou 2 mois à des particuliers</u> Age : quelques semaines	Nombre : 3 Origine : ? Nourriture : commerciale <u>Consommation : domestique, locale, petite vente</u> Age : inconnu	Nombre : 3 Origine : rivière Nourriture : compost ménager <u>Consommation : domestique</u> Age : inconnu	12
Pangasius		Nombre : 3 Origine : locale (mères sur place) Nourriture : commerciale <u>Consommation : non Elevage alevins puis vente à 1 ou 2 mois à des particuliers</u> Age : quelques semaines	Nombre : 3 Origine : achat alevins Nourriture : commerciale <u>Aquaculture pour exportation</u> Age : 4 mois Nombre : 3 Origine : achat alevins Nourriture : commerciale <u>Aquaculture pour exportation</u> Age : 7 mois	Nombre : 3 Origine : rivière Nourriture : compost <u>Consommation : domestique + vente locale</u> Age : inconnu	12
Total	9	6	9		24

2.2 Conditionnement des échantillons

Lyophilisation des échantillons

La lyophilisation à proprement parler se fait en plusieurs heures pendant lesquelles les échantillons sont placés dans le lyophilisateur (figure 21) et sont soumis à des basses pressions et à des basses températures pour éviter que l'échantillon entre en ébullition.

La lyophilisation vise à éliminer l'eau présente dans les échantillons qui interfère avec l'analyse en GC. La lyophilisation nous permet également d'obtenir le rapport poids frais/poids sec.

Les échantillons de poissons coupés en morceaux fins et congelés (-80°C) sont placés dans des vials EPA bruns (préalablement tarés) puis sont pesés. Ensuite la lyophilisation peut commencer. Lors de la lyophilisation, l'eau passe directement de la phase solide (congélation) à la phase gazeuse (vapeur), c'est la sublimation. Les échantillons, dépourvus de leur eau sont donc secs et prêts pour la suite de l'analyse. Par ailleurs, une fois secs, les échantillons se conserveront plus facilement et subiront peu ou pas de dégradation par micro-organismes.

Après avoir sorti les échantillons du lyophilisateur, une nouvelle pesée est effectuée afin de connaître leur poids sec. Le rapport poids frais / poids sec nous donne la possibilité d'exprimer les résultats de deux manières différentes, selon ce qui convient le mieux à l'étude.



Figure 21 : Lyophilisateur du LEAE

2.3 Extraction des contaminants

2.3.1 Extraction par Accelerated Solvent Extractor (ASE)

Les PCBs et les pesticides que nous cherchons à quantifier sont généralement associés aux lipides dans les organismes. La méthode d'extraction des contaminants est donc basée sur une extraction des lipides. L'extraction est réalisée à température et à pression élevée à l'aide de l'automate « ASE DIONEX 200 » (figure 22). Chaque échantillon est extrait en une vingtaine de minutes. Le solvant utilisé, l'hexane-dichlorométhane (90:10) est chauffé à 150°C, injecté sur l'échantillon à une pression de 1500 psi et traverse l'échantillon pour récupérer les contaminants en solubilisant les lipides, dans lesquels les contaminants sont stockés car ils sont liposolubles. Avant l'extraction, nous avons placé dans chaque cellule approximativement 500 mg de chaque échantillon de poisson lyophilisé.



Figure 22: ASE solvent accelerated extractor 200 du LEAE

2.3.2 Evaporation du solvant et détermination du poids de lipides

Une fois l'extraction terminée, les vials de récupération sont placés dans le TURBOVAP LV Zymarck (figure 23). Ce turbovap évapore les solvants grâce à un flux d'azote simultanément à un bain-marie. Le turbovap est réglé à 35°C et à une pression entre 10 et 15 psi jusqu'à ce que les échantillons soient secs et que leur poids soit constant. A la fin de l'évaporation, les vials ne contiennent plus qu'une fine couche lipidique, au fond du vial et sur le bas des parois, dans laquelle sont concentrés les contaminants.

La procédure détaillée de l'extraction des contaminants et de la détermination du poids de lipides se trouve dans l'annexe 1 : Procedure PCBs and pesticides fish (from LEAE).



Figure 23 : Turbovap du LEAE

2.4 Purification des extraits

La purification habituellement appliquée au LEAE pour l'analyse des PCBs et des pesticides dans les matrices de poissons est la purification C18 suivi par la purification Florisil. Les techniques de purification que nous utilisons ici sont en réalité des techniques d'extraction (extraction en phase

solide). Ce type de purification présente l'avantage de ne pas dégrader les pesticides recherchés. Nous extrayons ici par adsorption sur deux phases solides différentes les composés qui ne nous sont pas utiles pour l'analyse (interférant) et récupérons par élution avec un solvant approprié les molécules d'intérêt pour notre étude (extrait « purifié ») avant son analyse en chromatographie en phase gazeuse.

La première étape de la purification fait intervenir des cartouches « C18 ». Ces cartouches sont composées de gel de silice modifié, rendu hydrophobe grâce à la greffe de groupes octadécyles (18 atomes de carbone). Grâce à cela, les produits les plus polaires sont élués rapidement et les composés les plus hydrophobes sont retenus sur la silice ("Gel de silice — Wikipédia," n.d.). Nous utilisons un mélange acétonitrile/dichlorométhane (95/5) comme solvant d'élution ; une deuxième purification sur cartouches Florisil (adsorbant : silicate de magnésium) avec un mélange hexane/dichlorométhane 75/25 comme solvant d'élution. L'extrait purifié est évaporé et remis en suspension dans l'hexane avant injection sur le GC.

Les détails de ces procédures se trouvent dans l'annexe 1 : Procedure PCBs and pesticides fish (from LEAE)

2.5 Les standards

2.5.1 Le standard interne

Le PCB 112 est le standard interne. En effet, le PCB 112 est le standard que nous ajoutons à chaque échantillon et dans les blancs, afin de déterminer le rendement d'extraction et de purification obtenu pour chaque échantillon, à la sortie de l'analyse. Comme nous connaissons la quantité et la concentration en PCB 112 que nous avons ajouté à l'échantillon, nous connaissons la quantité et la concentration que nous devons récupérer à la fin de l'analyse. Le choix du PCB 112 comme standard interne s'explique par son comportement similaire à celui des autres composés recherchés lors des différentes étapes de la procédure et par le fait qu'il est absent des échantillons. De plus, le PCB 112 n'interfère pas avec les autres contaminants et n'altère donc pas l'analyse.

Le rendement de récupération du PCB 112 doit normalement se situer entre 60 et 140% (SANCO, 2013). Les concentrations en analytes des échantillons sont corrigées en fonction de ce rendement.

2.5.2 Les Blancs et le QC

Pour chaque série d'échantillons nous ajoutons 2 Blancs et 1 Contrôle Qualité (QC) qui nous permettent de contrôler la qualité de l'analyse de la série et éventuellement déceler des erreurs de procédures.

Le « Blanc Procédure » permet de vérifier que la méthode a été réalisée correctement et qu'aucune contamination externe n'est venue s'ajouter à notre échantillon. En théorie, à la sortie de l'analyse le Blanc Procédure devrait contenir uniquement du PCB 112 et aucun des analytes recherchés. Néanmoins, il persiste souvent des traces de molécules sur les surfaces des gros équipements du laboratoire, tels l'ASE et le GC malgré les routines de rinçage et de lavage. C'est pourquoi la contamination mesurée dans le « Blanc Procédure » est soustraite de celle détectée dans les échantillons.

Le « Blanc Matrice » est un blanc composé d'une matrice de poisson (ici de la farine de cabillaud) qui subira les mêmes traitements que les autres échantillons. La différence entre le « Blanc Procédure » et le « Blanc Matrice » est uniquement la présence de matrice de poisson dans ce dernier.

Enfin le « Contrôle Qualité » (QC) nous permet de connaître le rendement de la méthode pour tous les composés analysés. En effet le QC est un Blanc Matrice auquel nous avons ajouté une quantité connue de mix 3 et de mix 14 qui sont des mixtures contenant les substances que nous cherchons à quantifier (PCB, pesticides et métabolites). Le mix 3 contient 7 PCBs différents, à savoir les PCBs 28, 52, 101, 118, 138, 153 et 180. Le mix 14 quant à lui contient 16 pesticides : aldrine, DDD, DDE, DDT(2,4' et 4,4'), dieldrine, endrine, α - et β -endosulfane, α -, β - et γ -HCH, heptachlore, heptachlore époxyde, HCB et méthoxychlore. Afin de déterminer le rendement de l'analyse pour chaque analyte nous devons d'abord soustraire la contamination mesurée dans le « Blanc Matrice », en effet, le QC étant à la base un échantillon de poisson, il est normal de retrouver d'y retrouver des traces de contaminants avant dopage.

Idéalement, à la fin de l'analyse et après avoir soustrait les valeurs du « Blanc Matrice », le QC devrait contenir la quantité ajoutée au départ de toutes les substances que nous cherchons à quantifier dans les échantillons.

2.5.3 Standard d'injection

Le standard d'injection ajouté aux extraits purifiés avant de les injecter dans le chromatographe, est le MIREX. Le mirex est un pesticide organochloré, de structure proche de ceux que nous cherchons dans nos extraits, mais celui-ci n'est pas retrouvé au Vietnam. Le mirex présent à la sortie de l'analyse nous permet de vérifier la qualité de l'injection, du volume injecté et de l'analyse chromatographique.

2.5.4 Courbe de calibration

La courbe de calibration permet de déterminer avec précision la quantité de contaminants retrouvés dans nos échantillons. La courbe étalon (ou courbe de calibration) est réalisée avec le PCB 112 et les mêmes mix que ceux utilisés pour le « Contrôle Qualité », à savoir le mix 3 et le mix 14. Nous ajoutons également des solutions hexaniques et le MIREX. Les concentrations finales des vials de la courbe de calibration sont 400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 et 1.56 pg/ μ l injecté pour chaque molécule ajoutée.

2.6 Analyse chromatographique en phase gazeuse

L'extrait est ensuite analysé par chromatographie en phase gazeuse avec un injecteur sur colonne. Durant cette analyse, les différents analytes présents dans l'extrait sont séparés et se déposent sur une colonne à de moments différents selon leur nature. C'est l'analyse du

temps de rétention des analytes dans le chromatographe et le moment de leur passage sur la colonne qui nous permet de les identifier. Cette identification se fait sur le chromatographe grâce aux pics chromatographiques.

Au moment où l'échantillon est injecté sur la colonne, la température du four est maintenue à 60°C afin que le solvant n'entre pas en ébullition. Ensuite la température va augmenter par palier afin de séparer les composés (voir annexe 1). Les composés s'évaporant à des températures moins élevées vont être emportés en premier par le gaz vecteur et les autres composés les suivront plus tard, petit à petit avec l'élévation de la température (Rogister, 2014). Ce sont donc les caractéristiques de température d'évaporation et d'affinité avec la colonne stationnaire qui détermine la séparation des composés (Rogister, 2014). La température du four va passer de 60 à 300°C en 85 minutes.

La colonne utilisée est une colonne capillaire DB5-MS –[(5%-Phenyl) -methylpolysiloxane] d'une longueur de 60 m, d'une épaisseur de film de 0,25 µm et d'un diamètre interne de 0,25 mm. Ce type de colonne contient ici une phase stationnaire apolaire déposée sur la paroi interne et va donc retenir nos composés qui sont eux aussi peu polaires (Adam, 2014).

Le détecteur utilisé est un « détecteur à capture d'électrons ECD » qui détecte très bien les composés organochlorés. Le gaz vecteur est l'hydrogène.

2.7 Analyses statistiques

Des comparaisons des concentrations en PCBs et pesticides totaux ont été effectuées sur l'ensemble des échantillons de 2014 et 2017 via une ANOVA 1 avec test post-hoc de Holm-Sidak et ce même quand la normalité et la variance égale des échantillons n'était pas respectée. En effet, bien que les tests non paramétriques effectués (Kruskall-Wallis) montraient bien que des différences existaient, les tests post-hoc (Dunn) ne détectaient pas l'origine des différences. Les échantillons des marchés visités en 2014 d'une part et 2017 d'autre part (toutes espèces confondues) ont été comparés via un t-test (student). Ces tests ont été réalisés en utilisant le programme SigmaPlot®13.

Les concentrations en chaque composé mesuré dans l'ensemble des échantillons de 2017 ont été utilisées pour réaliser une analyse en composantes principales grâce au programme XLStats.

3. Résultats et discussion

3.1 Rendement d'extraction du PCB 112

Les rendements d'extraction obtenus pour les échantillons des différentes séries d'analyse apparaissent au tableau 5.

Tableau 5 : Rendement de l'extraction du PCB 112 des séries d'échantillons traités

	Série 1 Marchés 2017	Série 2 Marchés 2017	Série 1 Province 2017	Série 2 Province 2017
Moyenne	73 %	50 %	33.5%	51%
Écart-type	10	13	4	10

La mise au point de la méthode (extraction/purification/quantification) suivie a été établie en 2014 par Quentin Rogister (2014). Dans son Travail de Fin d'Etudes cet auteur renseigne des rendements

d'extraction/purification de 56% pour le PCB 112. Dans notre cas, les échantillons de la série 1 des provinces de 2017 présentent des rendements de récupération plus faibles, mais les autres séries ont des rendements corrects.

3.2 Contrôle Qualité des analyses

La qualité de l'analyse est déterminée grâce aux rendements de récupération obtenus via les « Contrôle Qualité » qui accompagnent chaque série d'échantillons. Pour rappel, le QC est une matrice de cabillaud lyophilisée et dopée par nos soins avec les mixtures ad hoc pour l'analyse, dans notre cas les mix 3 et mix 14, en plus du standard interne le PCB 112.

Nous avons retiré du QC la contamination présente dans le Blanc Matrice (après correction en fonction du rendement du PCB 112).

Tableau 6 : Rendement de récupération des Contrôles Qualités pour les différentes séries traitées

	QC	
	moyenne	SD
a-HCH	389%	353%
b-HCH	51%	89%
g-HCH	621%	696%
HCB	40%	37%
Heptachlor	175%	36%
Heptachlor e:e	258%	99%
Aldrin	40%	35%
Dieldrin	157%	122%
Endrin	267%	67%
a-endosulfan	249%	102%
b-endosulfan	79%	211%
Methoxychlor	361%	319%
DDE	150%	153%
DDD	293%	225%
o,p'-DDt	104%	22%
DDT	176%	53%
PCB 28	56%	6%
PCB 52	305%	362%
PCB 101	167%	334%
PCB 118	231%	347%
PCB 153	166%	100%
PCB 138	134%	261%
PCB180	72%	56%

Légende

Rendement	60-140	Norme (SANCO, 2013)
entre :	40-175	Norme « ajustée »
	x>40 ou	Hors norme
	x>175	ajustée

Nous constatons que 22% des composés répondent de manière optimale (récupération comprise entre 60 et 140%) (SANCO, 2013). Si nous élargissons un peu la plage de tolérance à 40 à 175%, 61 % des composés présentent des rendements de récupération acceptables. Dans son travail de fin

d'étude Rogister (2014) obtient 56% des composés recherchés (identiques aux nôtres avec une méthodologie similaire) dans la fourchette de rendements recommandée (60-140%).

Les rendements de récupération obtenus pour les isomères du DDT, ses métabolites et les PCBs sont en général meilleurs que ceux obtenus pour les autres pesticides (73% versus 50%).

Nous avons pu constater que la purification par cartouches SPE C18/Florisil donne des résultats de moins bonne qualité que d'autres méthodes comme celle de la purification acide/Florisil, à la fois lors de nos manipulations test (non montrées dans ce manuscrit) que dans d'autres ouvrages (Rogister, 2014 ; Stainier, 2017). Cette méthode n'est cependant pas utilisable dans notre cas, les pesticides étant détruits en très grande partie par ce traitement (~95%, résultats de nos tests non montrés). Nous gardons donc à l'idée que nos rendements, notamment en pesticides autre que « DDTs » sont très élevés.

Une explication possible aux rendements particulièrement élevés pour le lindane (g-HCH) est que du fait d'une contamination de la matrice utilisée (cabillaud) les QCs après ajout de lindane présentent des concentrations parfois proches de la limite supérieure de la courbe étalon (~ 400 pg/μL à l'injection) ; une dilution de ces échantillons pourrait résoudre en partie ce problème.

Par ailleurs, nous notons également que les mises au point de la méthode que nous avons utilisée réalisées précédemment au L.E.A.E. faisaient intervenir des matrices beaucoup plus pauvres en lipides que les nôtres (cabillaud, vers nereis, blanc d'œuf) ; les rapports entre les quantités de pesticides ajoutés au QC et les quantités de lipides étaient donc beaucoup plus faibles dans nos séries d'analyses. Il serait dès lors utile de vérifier que ce rapport n'influe pas sur les rendements de récupération.

3.3 Analyse globale

Les figures 24 et 25 reprennent les moyennes globales en contaminants (somme des PCBs et pesticides) des différents sites et espèces analysés en 2014 et 2017, respectivement. Les différentes espèces sont identifiées par une couleur. Les couleurs franches ont été utilisées pour illustrer les échantillons issus des marchés alors que les couleurs pastelées représentent les résultats des provinces. Les résultats obtenus des poissons de rivières sont toujours situés à l'extrême droite des graphiques et sont les couleurs les plus foncées. Les chiffres notés entre parenthèses au-dessus des bâtonnets correspondent au nombre d'échantillons contenus dans la moyenne.

Nous constatons que les échantillons issus des marchés sont, à l'exception des échantillons de la province de Kien Giang, moins contaminés que ceux issus des exploitations aquacoles des provinces du Sud Vietnam. Les produits provenant des exploitations aquacoles échantillonnées en 2017 sont par ailleurs plus contaminés que ceux des provinces échantillonnées en 2014. Les poissons prélevés dans les rivières présentent également des contaminations relativement élevées puisque les niveaux de contamination des échantillons de la rivière Saïgon sont du même ordre (moyenne approx. 300 ng/g de poids sec) que ceux des provinces échantillonnées 2017, et ceux de la rivière Vam Chau Kue vont jusqu' à une concentration de 705 ng/g de poids sec.

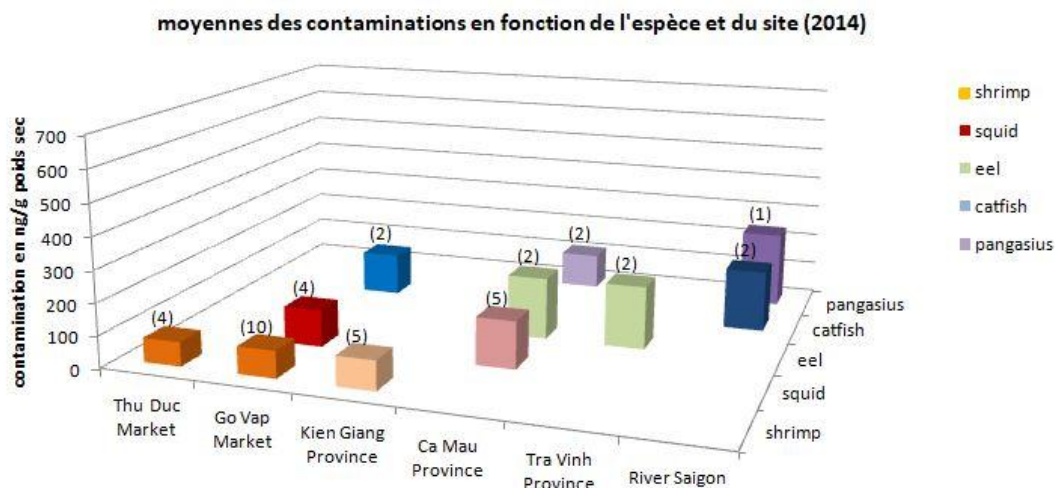


Figure 24 : Graphique récapitulatif de l'échantillonnage de 2014 avec contaminations totales en ng/g poids sec

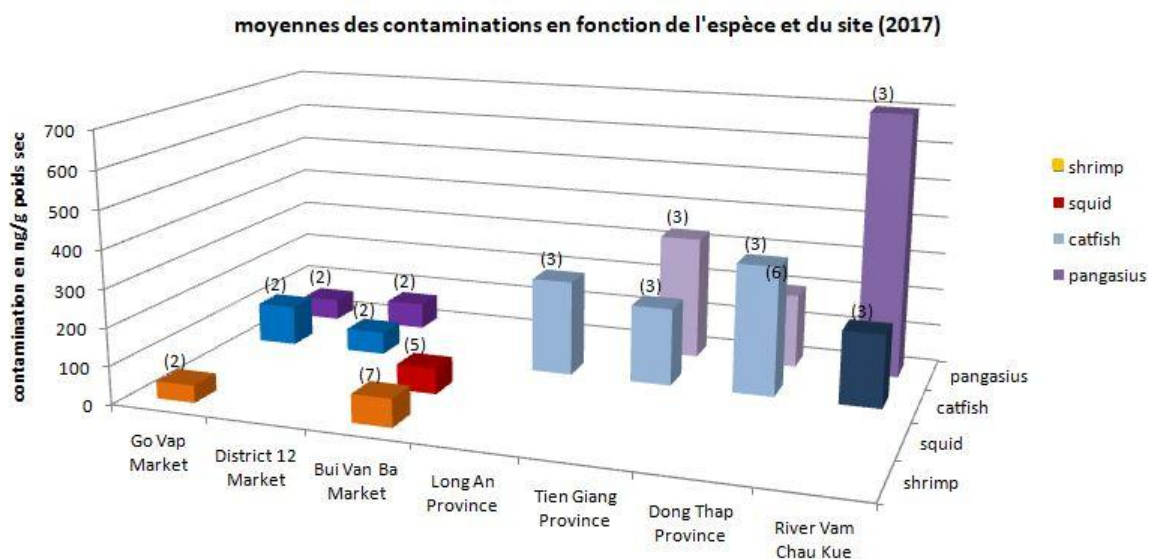


Figure 25 : Graphique récapitulatif de l'échantillonnage de 2017 avec contaminations totales en ng/g poids sec

Avant de procéder à l'analyse détaillée des résultats il convient de garder à l'esprit que les sites échantillonnés en 2014 ne sont pas les mêmes qu'en 2017; seul le marché de Go Vap est représenté pour les 2 années, mais sans garantie que l'origine des produits achetés était la même. Si nous effectuons ici des comparaisons entre 2014 et 2017, celles-ci sont donc plus d'ordre spatial que temporel.

Un de nos objectifs était d'apporter des éléments de réponse quant à savoir s'il existe des différences de contamination des produits en fonction de leur provenance ou de l'espèce consommée.

Une analyse en composantes principales (données 2017) ne montre pas de regroupement par espèces, mais met en évidence un regroupement des échantillons achetés sur les marchés et un étalement des échantillons de pangasius selon l'axe F1 (potentiellement axe de distribution par site, figure 26). Ceci indique que la contamination des échantillons est plus homogène en fonction des sites d'échantillonnage que des espèces, ce qui apparaît déjà dans la figure 25 où nous pouvons constater de grandes différences entre les valeurs mesurées dans les poissons-chats et les pangasius

en fonction des sites de prélèvements. On notera tout de même que les calamars bien qu'achetés sur un marché présentent un pattern de contamination apparemment différent des autres espèces provenant des marchés.

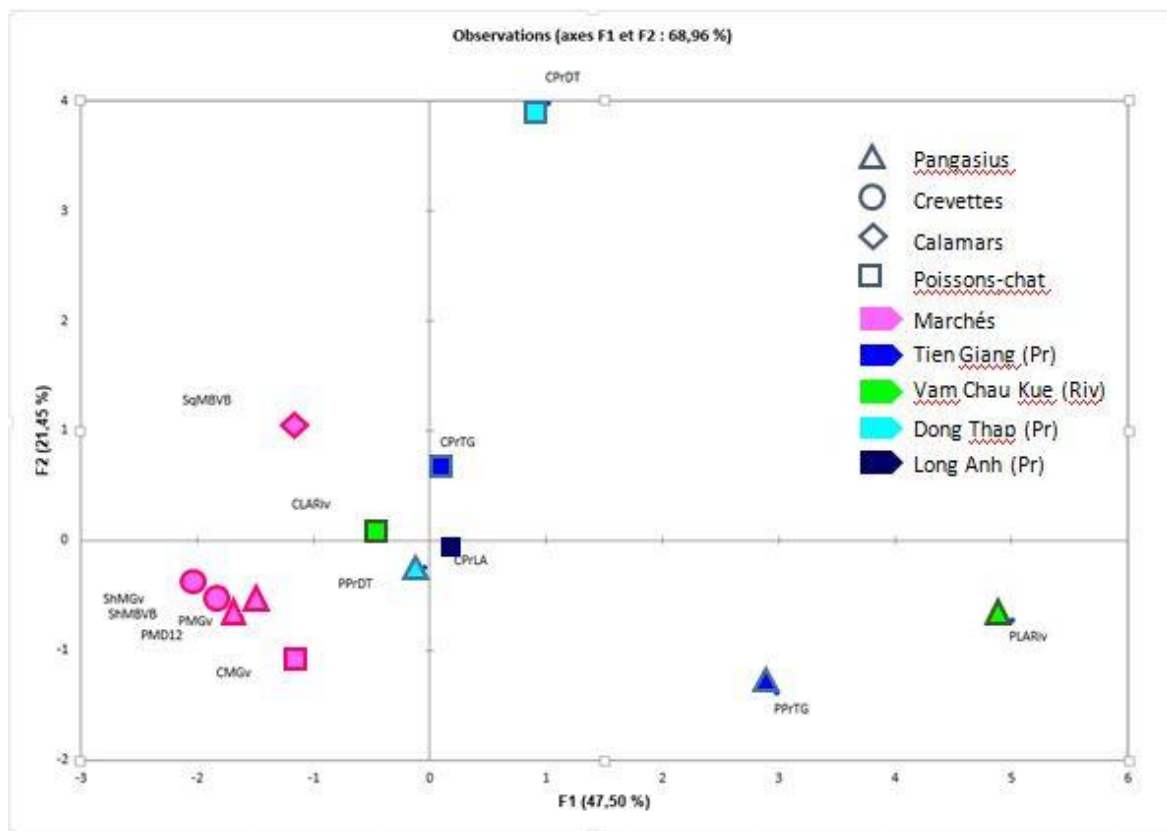


Figure 26 : Graphique Analyse en Composantes Principales

Nous avons donc choisi de ne montrer dans la partie des analyses détaillées que les résultats agencés en fonction des sites et non des espèces, ces dernières apportant peu d'informations utiles.

De plus, il est possible que sous la désignation de poisson-chat, pangasius, crevette et calamar soient regroupés des individus appartenant à plusieurs espèces.

3.4 Analyse détaillée

3.4.1 PCBs

Analyse quantitative

Nous constatons que la contamination des produits issus des marchés est similaire pour tous les produits analysés que ce soit en 2014 ou en 2017, de même que les échantillons provenant de la province de Kien Giang, Ca Mau et Tra Vinh à savoir une moyenne de 55 ng/g de poids sec (figures 27 et 28). Les échantillons de la rivière Saïgon contiennent en moyenne 95 ng/g de poids sec, mais ils ne sont pas statistiquement différents de ces échantillons (ANOVA 1 $p > 0.005$).

Les échantillons prélevés dans les provinces de Long An, Tien Giang, Dong Thap et dans la rivière Vam Chau Kue (Long An) apparaissent plus contaminés en PCBs, bien que seuls les résultats de la rivière Vam Chau Kue ($p < 0,05$) et de la province de Tien Giang ($p < 0.064$) soient statistiquement différents.

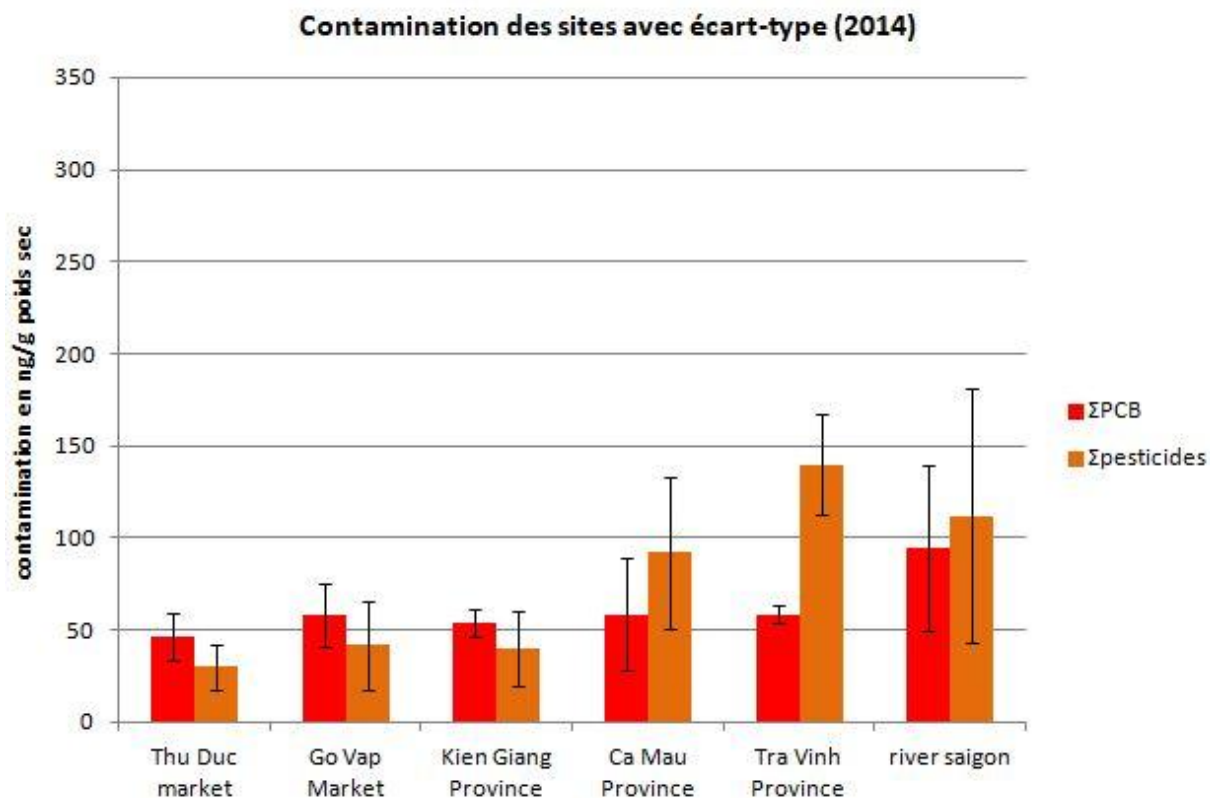


Figure 27 : Contamination des sites avec écart-types (2014)

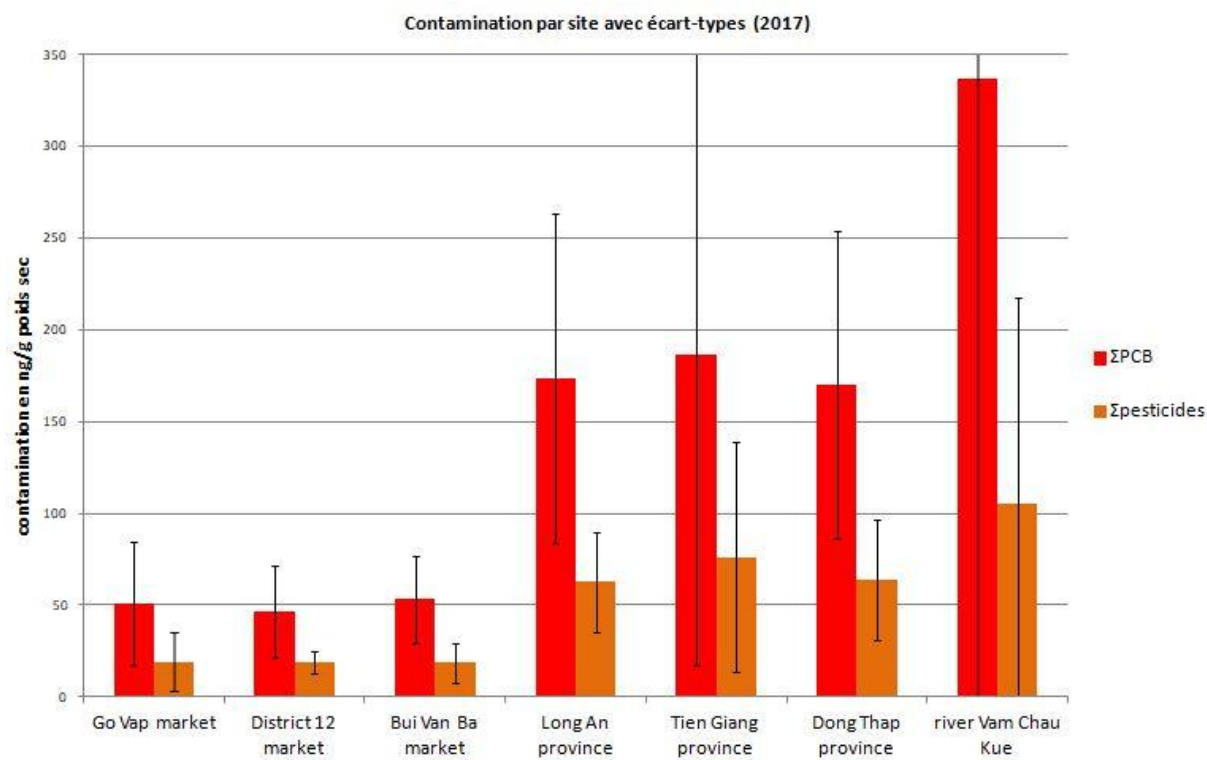


Figure 28 : Contamination par sites avec écart-types (2017)

Actuellement la norme concernant la présence de PCBs dans la chair de poisson et des crustacés pêchés est fixée à 75 ng/g de poids frais maximum (somme des 7 PCBs traceurs). Une valeur un peu

plus élevée est autorisée pour les poissons sauvage de rivière, ou la teneur en PCBs peut aller jusqu'à 125 ng/g de poids frais ainsi que pour les anguilles, où les valeurs peuvent monter jusqu'à 300 ng/g de poids frais au maximum (Commission européenne, 2011).

Après l'analyse des 81 échantillons (campagnes 2014 et 2017), il s'avère que 2 échantillons seulement dépassent les valeurs limites. Il s'agit d'un jeune poisson-chat de la province de Tien Giang (2017) qui accumule 87 ng de PCBs par gramme de poids frais. Le second échantillon dépassant la valeur seuil est un pangasius, également issu de notre échantillonnage de 2017, mais provenant de la rivière Vam Chau Kue (Long An). Cet échantillon totalise 187 ng de PCBs par gramme de poids frais.

Analyse qualitative

Les poissons sont tous sous les normes en ce qui concerne les PCBs présents dans leur chair. Mais lorsque nous observons de plus près la proportion des différents PCBs, nous remarquons des différences.

Les PCBs 118, 138, 153 et 180 sont présents en très petites quantités et ce sont les PCBs 28, 52 et 101 que nous retrouvons aux taux les plus élevés, surtout pour les poissons prélevés en 2017 (voir figures 29 et 31).

Cependant, il est possible que la présence des hauts taux de PCBs 28 et 52 soit due non pas à la contamination de l'environnement au Vietnam mais plutôt à une contamination ancienne du bâtiment dans lequel se situe le laboratoire du LEAE. La contamination serait entrée dans les échantillons lors des manipulations (dissection, extraction, purification, ou lors de la lyophilisation) effectuées sur ceux-ci au laboratoire. Les PCBs 28 et 52 constituent en moyenne 76% de la contamination en PCBs. Si nous comparons les proportions des différents congénères une fois les PCBs 28 et 52 exclus de l'analyse, nous constatons que le PCB 101 est très abondant (entre 60 et 70%) dans tous les échantillons sauf dans les poissons prélevés à Long An (figures 30 et 32). Nous noterons encore que dans les échantillons de 2017, le PCB 118 est moins abondant (voire absent) que les PCBs 138 et 153 contrairement aux sites échantillonnés en 2014. La province de Long An est caractérisée par un très haut taux de contamination en PCBs 28 et 52 (> 95% de sa contamination) et par l'absence de PCB 101. Il faut noter que les échantillons prélevés dans la province de Long An présentent un profil très différent. En effet, ce sont les seuls poissons à être nourris de fèces de porcs.

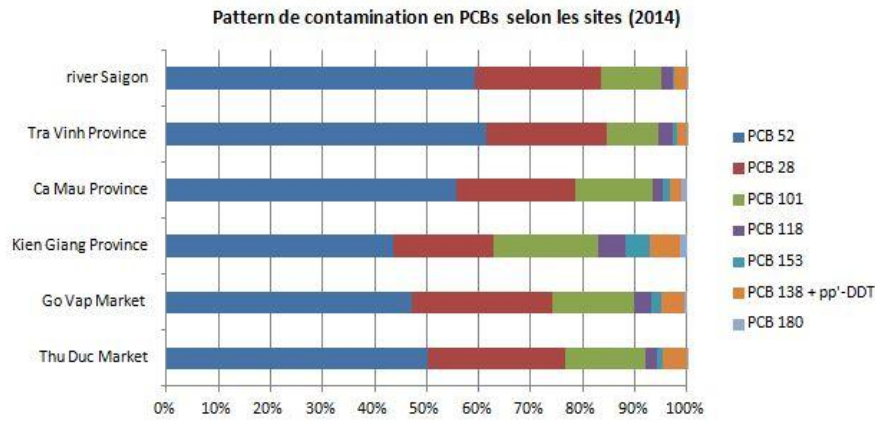


Figure 29 : Pattern de la contamination en PCB des sites en 2014

Pattern de contamination en PCBs en fonction des sites sans les congénères 28 et 52 (2014)

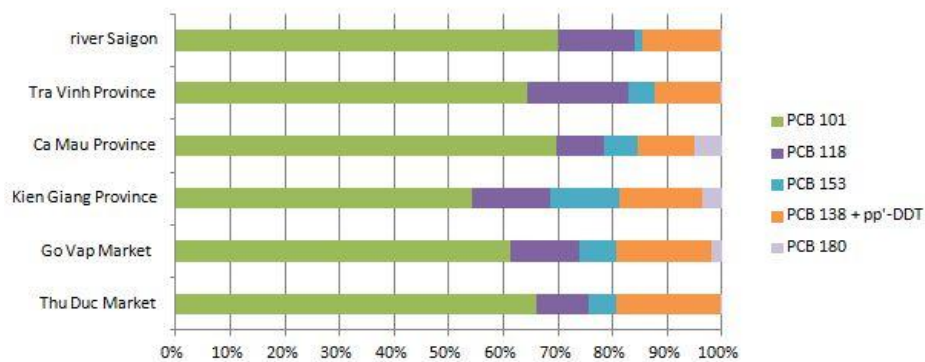


Figure 30 : Pattern de la contamination en PCBs des sites sans les congénères 28 et 52 (2014)

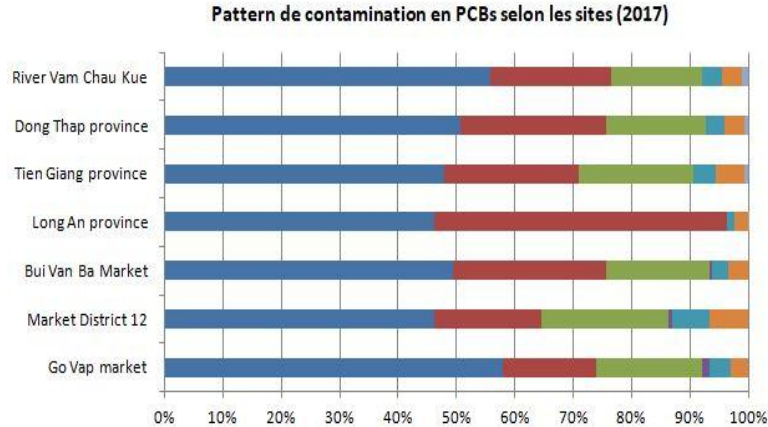


Figure 33 : pattern de la contamination en PCBs des sites (2017)

Pattern de contamination en PCBs des sites sans les congénères 28 et 52 (2017)

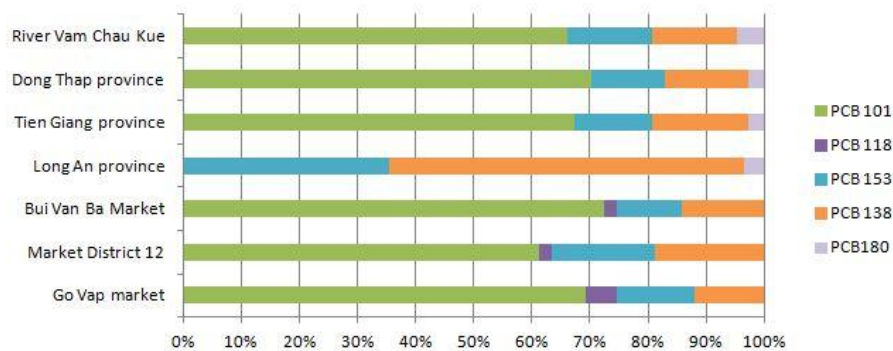


Figure 34 : Pattern de la contamination en PCBs des sites sans les congénères 28 et 52 (2017)

3.4.2 Pesticides

Analyses quantitatives

Si nous comparons les sommes des concentrations en pesticides mesurées (figures 27 et 28), nous constatons que les taux de contamination des échantillons issus des marchés et de la province de Kien Giang sont similaires, avec une moyenne de 37 ± 6 ng/g de poids sec (ANOVA 1, $p > 0,05$).

La contamination en pesticides des échantillons prélevés dans les exploitations aquacoles et dans les rivières, apparaît elle plus élevée, bien que seuls les échantillons de la province de Long An soient statistiquement différents des échantillons des marchés et de Kien Giang (ANOVA 1, $p < 0,05$). Les échantillons du marché de Bui Van Ba sont également statistiquement différents de ceux des provinces de Ca Mau et de la rivière Saïgon (ANOVA 1, $p < 0,05$). Néanmoins, l'analyse des figures 35 et 36 indique la grande variabilité des mesures relatives aux échantillons des provinces de Dong Thap, Tien Giang et de la rivière Van Chau Kue (Long An) ; celle-ci est probablement la vraie raison pour laquelle les tests statistiques ne détectent pas de différence entre ces échantillons et ceux issus des marchés et de la province de Kien Giang.

Par ailleurs, nous observons des valeurs moindres dans la contamination des échantillons achetés sur les marchés en 2017 qu'en 2014 (t-student, $p < 0,001$). En effet, le taux de contamination est de 52 ng/g de poids sec en moyenne en 2014 alors qu'il arrive seulement à 19 ng/g de poids sec en 2017.

Lorsque nous regardons de plus près les pesticides utilisés, nous remarquons que ceux-ci ne sont pas tous retrouvés de la même façon dans les différents sites.

En 2014, les pesticides les plus abondants sont l'heptachlore et l'heptachlore époxyde et les α - β - γ -HCH. Le DDT et ses métabolites sont également retrouvés dans tous les échantillons. Le taux de contamination en Σ HCH oscille en général entre 13 et 31 ng/g de poids sec, à l'exception de la province des échantillons de la province de Tra Vinh qui accusent 51 ng/g de poids sec.

Les patterns de contamination retrouvés dans les marchés de Go Vap et Thu Duc et dans la province de Kien Giang semblent relativement similaires. La Σ HCH des échantillons du marché de Go Vap et de la province de Kien Giang sont les mêmes. Mais lorsque nous regardons attentivement la composition détaillée, nous remarquons que les échantillons de la province de Kien Giang sont presque essentiellement contaminés par de l'heptachlore époxyde, tout comme ceux de la province de Ca Mau. Par ailleurs, les échantillons des provinces de Ca Mau et Tra Vinh présentent une contamination élevée pour le DDT et ses métabolites mais également de β -HCH. Cela se retrouve surtout dans la province de Tra Vinh. Dans les échantillons de cette dernière province nous retrouvons également une quantité importante de méthoxychlore, même si la quantité de méthoxychlore retrouvée est sujette à de fortes variations.

Néanmoins, les écart-types sont toujours très élevés ce qui ne rend pas les moyennes des substances les plus présentes très représentatives car il y a une différence marquée entre les contaminations des différents échantillons prélevés dans ce site.

Contamination par site avec écart-types (2014)

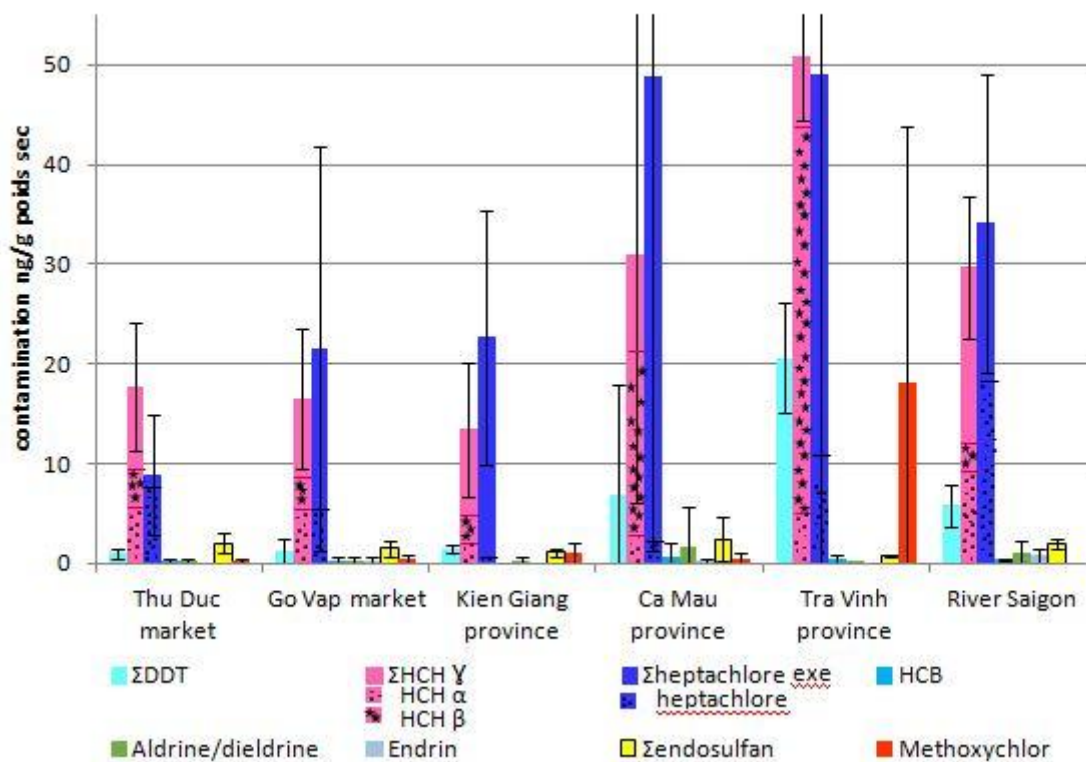


Figure 35 : Contamination des sites par les pesticides avec écart types (2014)

Contamination en pesticides avec écart-type (2017)

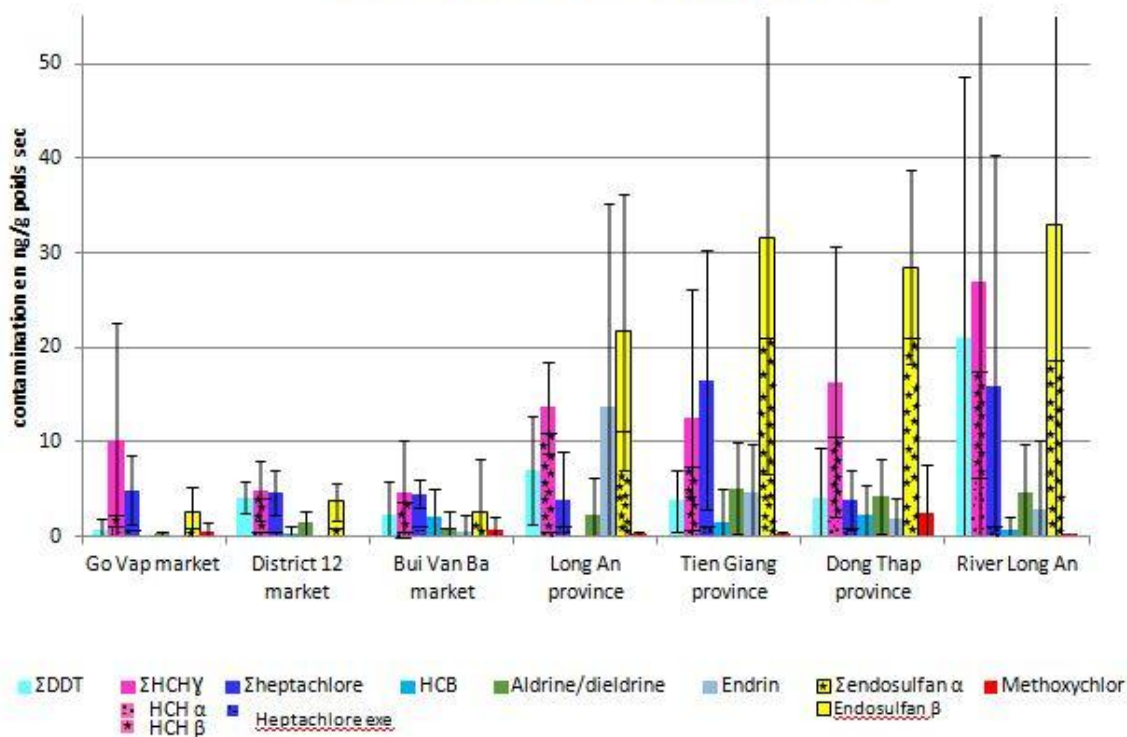


Figure 36 : Contamination des sites par les pesticides avec écart types (2017)

En 2017, les échantillons achetés sur les marchés montrent une contamination moins élevée en pesticides (figure 28). Une seule valeur attire véritablement notre attention pour les marchés, il s'agit du niveau de γ -HCH d'un pangasius acheté sur le marché de Go Vap dont la contamination était de 29 ng/g poids sec. En ce qui concerne les échantillons des provinces, nous observons des concentrations en endosulfans relativement élevées (27ng/g de poids sec en moyenne). Comme nous l'avons observé en 2014, le β -HCH reste abondant dans les échantillons des provinces avec une moyenne de 9ng/g de poids sec.

La province de Long An est caractérisée par un grand pic d'endrine comparativement aux autres provinces, aux marchés et à la rivière de Long An. Le taux de DDT et de ses métabolites est également relativement plus élevé dans la province de Long An mais c'est dans les poissons de la rivière Vam Chau Kue que le niveau de DDT est le plus élevé (21 ng/g poids sec). Les échantillons de la rivière Vam Chau Kue sont les seuls dans lesquels des quantités légèrement plus importantes de α -HCH ont été retrouvés.

Il n'existe pas de normes concernant la présence d'insecticide dans la chair de poisson d'eau douce destinés à la consommation humaine ("CODEX Alimentarius: Fresh water fish," n.d.).

Néanmoins, il existe souvent des valeurs dans la chair de volaille ou d'autres poissons (marins, anadromes, ...). Pour le DDT et ses métabolites nous avons utilisé la norme de la FAO normalement spécifique à la chair de volaille (FAO, n.d.-a). Dans la volaille, la somme du DDT et de ses métabolites ne peut pas dépasser 200 ng/g poids de lipides.

Concernant les échantillons de la campagne de 2014, ils se situent sous la norme pour la plupart, la seule exception étant les anguilles qui contiennent 647 ng/g de DDT en poids de lipides, ce qui correspond à 3x la valeur autorisée pour la chair de volaille. Par contre, plusieurs poissons de la campagne de 2017 dans les provinces et la rivière Vam Chau Kue posent problèmes. En effet, 2 des 3 poissons-chats échantillonnés dans la rivière de Vam Chau Kue dépassent la norme avec des valeurs de 1155 et 418 ng/g de lipides pour la somme du DDT et de ses métabolites. Ces poissons correspondent aux poissons sauvages capturés dans la rivière puis engraisés par une famille pour son usage. Un des 3 pangasius prélevé au même endroit de la rivière de Long An est à la limite de la norme avec un taux de Σ DDT de 213 ng/g lipides. Concernant les deux autres échantillons, l'un d'eux possède également une valeur élevée en Σ DDT (151 ng/g lipides) alors que l'autre n'a qu'une faible présence de Σ DDT dans sa chair (21 ng/g). Nous avons également remarqué qu'un des 3 poissons-chats échantillonnés à Dong Thap se situaient à la limite de la norme avec des valeurs de 198 ng/g lipides. Les deux autres accusant également des valeurs élevées (161 et 154 ng/g lipides).

Nous avons suivi le même principe afin d'établir une norme pour l'aldrine et le dieldrine. Dans la chair de volaille, l'aldrine et le dieldrine ensemble ne peuvent pas dépasser 200 ng/g de poids frais de chair de volaille. Heureusement, nous ne retrouvons jamais de telles quantités d'aldrine et de dieldrine dans nos échantillons exprimés en ng/g de poids frais. Nous avons des traces, visibles lorsque nous exprimons nos résultats en ng/g de poids sec, mais les chiffres en ng/g de poids frais tous < 1.

Pour l'endrine, la norme de la FAO pour la chair de volaille est de maximum 100 ng/g de poids frais. Heureusement, nous n'avons pas non plus retrouvé d'endrine en de quantité si importante dans nos échantillons, avec comme valeur maximale les 8 ng/g de poids frais dans un poisson-chat de la province de Long An.

Pour l'heptachlore nous nous sommes également basés sur la valeur limite de résidus d'heptachlore dans la chair de volaille de la FAO (FAO, n.d.-b). Cette valeur limite est de 200 ng/g de lipides.

Cette fois, ce sont les échantillons de 2017 qui ne dépassent pas la norme choisie et ceux de 2014 qui nous inquiètent. En effet, nous avons observé que 2 crevettes sur les 4 échantillonnées du marché de Thu Duc et 3 sur les 10 prélevées au marché de Go Vap dépassent la norme de 200 ng/g d'heptachlore en poids lipides (360 et 291 ng/g lipides pour les crevettes du marché de Thu Duc et

451, 343 et 218 pour les crevettes du marché de Go Vap). Certains poissons-chats aussi dépassent la norme. Au marché de Go Vap, les deux poissons-chats échantillonnés montrent des taux d'heptachlore qui dépassent les valeurs « autorisées » avec 363 et 225 ng/g de lipides. Dans la rivière Saïgon également, nous avons prélevé 2 poissons-chats dont l'un dépasse la valeur seuil avec 368 ng d'heptachlore par g de lipides et l'autre est à la limite de la norme avec 196 ng/g de lipides. Les anguilles des provinces de Ca Mau et Tra Vinh dépassent également cette norme avec des valeurs allant de 372 ng/g de lipides à 3259 ng/g de lipides.

Pour le lindane, nous avons trouvé une norme spécifique aux poissons anadromes et catadromes qui est de 10 ng/g de poids frais (FAO, n.d.-c).

Les anguilles de la province de Tra Vinh se situent autour de cette valeur avec 9,26 et 11,7 ng/g de poids frais en ΣHCH. Les anguilles de la province de Ca Mau se situent par contre bien en dessous de la norme avec 5 ng/g de poids frais. Concernant le reste des échantillons, ce sont les crevettes de Kien Giang en 2014 (4) sont les plus contaminées en lindane, avec des valeurs allant de 8 à 10 ng/g de poids frais. Néanmoins, elles sont au seuil de la norme, ce qui ne devrait donc ne pas poser problème.

Analyses qualitatives

Le p,p'-DDT, majoritaire dans la réaction de synthèse du DDT, est l'insecticide appelé communément le DDT.

Le DDT technique n'est autre qu'un mélange contenant entre 60 à 85% de p,p'-DDT et de 8 à 30% d'o,p'-DDT, le o,o'-DDT étant normalement à l'état de trace (Ricking & Schwarzbauer, 2011).

Il s'avère que lors des analyses effectuées en 2014, le p,p'-DDT a coélué avec le PCB 138. Comme il ne nous est pas possible de connaître la proportion de ces deux composés dans ce pic, il ne nous paraît pas pertinent d'analyser les différences entre les isomères et métabolites du DDT pour ces échantillons.

En 2017, nous remarquons que le marché de Go Vap a un pattern de contamination différent selon les espèces. En effet, aucun échantillon ne contient de DDT (o,p' ou p,p'), les poissons-chats ne contiennent que 20% de DDE, les crevettes uniquement du DDD et les pangasius aucun isomère/métabolite du DDT.

Pour le reste, il y a entre 10 et 56% de DDT (o,p' + p,p') sans tendance ni par espèce, ni par site.

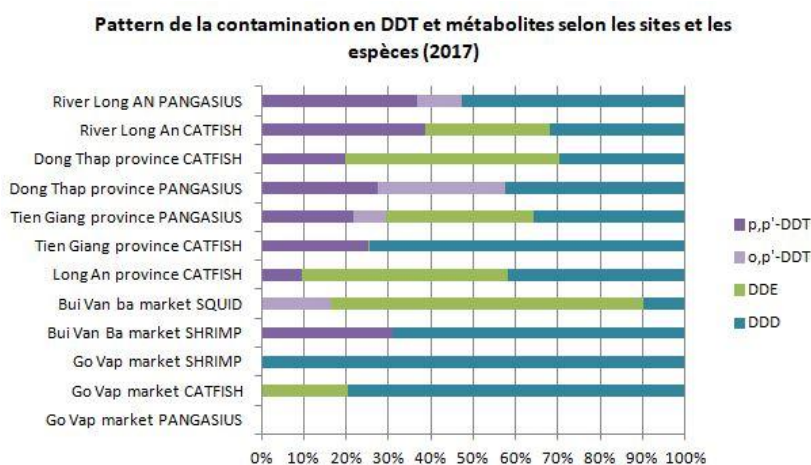


Figure 38 : Pattern de la contamination en DDT et métabolites des sites (2017)

3.5 Comparaison avec les résultats des études antérieures

Si nous comparons les résultats obtenus à ceux d'études antérieures menées dans des échantillons de types similaires collectés au Sud Vietnam (tableau 7), nous constatons que la contamination en PCBs est plus élevée dans nos échantillons que dans ceux des études précédentes. Lorsque nous ne prenons pas en compte la contamination par les PCBs 28 et 52 dans nos échantillons (tableau 7 avec case *) nous constatons que nos résultats sont cohérents avec ceux de l'étude d'Ikemoto et al (2008). Nos valeurs de contamination en PCBs semblent comparables à celles obtenues en 1989 et 1993 par Kanman et al.

Ces différences pourraient être expliquées par de grandes différences entre les types de sites et d'espèces échantillonnés.

Mais, comme déjà mentionné, nos échantillons se situent en grande majorité sous les limites fixées dans les normes alimentaires (75 ng/g de poids frais (Commission européenne, 2011)).

Tableau 7 : Tableau récapitulatif des résultats de la présente étude et des études antérieures en ng/g de lipides

Localisation	Origine	année	N	matière	Σ PCBs	Σ DDT	Σ HCH	Etude
Marchés VN	Mix	2014	21	Muscle	1403 403 *	36	447	Present study
Provinces VN	Mix Aquaculture	2014	10	Muscle	1477 724 *	205	682	Present study
Saigon river	Poissons sauvages	2014	3	Muscle	1480 304 *	67	464	Present study
Marchés VN	Mix	2017	22	Muscle	1226 286 *	41	129	Present study
Provinces VN	Mix Aquaculture	2017	18	Muscle	2741 618 *	70	229	Present study
Vam Chau Kue river	Poissons sauvages	2017	6	Muscle	5236 1228 *	328	420	Present study
Delta Mékong	Poissons Crustacés sauvages	2008		entier	50 -900	200-1200	ND - 20	(Ikemoto et al., 2008)
Saigon river	Poissons sauvages	2007	8	Muscle	81	148	0,53	(Nguyen, 2009)
Tien river	Poissons sauvages	2007	22	Muscle	43	15,6	0,19	(Nguyen, 2009)
Longkhan	Aquaculture	2008	3	Muscle	4,1	3	<0,006	(Nguyen, 2009)
Hau river	Aquaculture	2004	20	Muscle	7,2	59	0,47	(H. Minh & Minh, 2006)
Vietnam	Poissons près décharge	2004	5	Muscle	50	390	2,2	(H. Minh & Minh, 2006)
Vietnam	Poissons sauvages	1997	-	entier	110	4200	120	Minh et al. 2002 via (Nguyen, 2009)
Vietnam	Poissons sauvages	1989-1993	19	Muscle	530	1400	95	Kanman et al. 1995 via (Nguyen, 2009)

() = écart type

x * = Σ PCB sans les congénères 28 et 52

Au niveau de la teneur en DDT et ses métabolites, nous nous situons dans la gamme de valeurs des études précédentes (H. Minh & Minh, 2006; Nguyen, 2009).

Dans une étude d'Ikemoto et al. de 2008, les concentrations de DDT trouvées dans les organismes du Delta du Mékong oscillaient entre 0,058 et 12 ng/g de poids frais (Ikemoto et al., 2008). Cette étude confirme la biomagnification du DDT dans la chaîne trophique car les proportions de DDT et de ses métabolites étaient plus hautes dans les poissons que dans les crustacés. Nos résultats montrent que nous nous situons approximativement dans la même gamme de valeur que l'étude d'Ikemoto.

En ce qui concerne les « drines », ils sont décelables en très faibles concentrations, sous les techniques de détections ou absents dans les études précédentes concernant la contamination des sédiments tant au Nord qu'au Sud du Vietnam (Duong et al., 2014; Dang Duch Nhan et al., 1998). Dans notre étude également, les quantités d'aldrine, endrine et dieldrine retrouvés dans nos échantillons sont très faibles avec des moyennes de 0,15 ng/g, 0,22 ng/g et 0,29 ng/g de poids frais pour l'aldrine, le dieldrine et l'endrine respectivement. Les résultats montrent donc que ces insecticides ne sont pas utilisés massivement au Vietnam et leur présence pourrait être due à des utilisations localisées ou s'expliquer par les dépôts atmosphériques.

Ce sont les teneurs en lindane et ses métabolites que nos résultats diffèrent le plus de ceux des études précédentes (H. Minh & Minh, 2006; Nguyen, 2009). En effet, lorsque nous additionnons les α -, β - et γ -HCH, nous arrivons à des valeurs bien supérieures à celles des études les plus récentes, mais également à celles plus anciennes. Nous ne pouvons pas exclure que cela ne soit pas en lien avec les très hauts rendements obtenus pour ces substances (389 et 621% pour le α et γ -HCH respectivement), comme nous l'avons cité plus haut.

Toujours dans la même étude d'Ikemoto et al. les concentrations en HCH et HCB détectées dans le Delta du Mékong en 2008 sont extrêmement basses ([HCB = entre 0,0021 et 0,096 ng/g de poids frais et Σ HCH = ND à 0,2 ng/g poids frais). Cette étude conclut également à une non-biomagnification du HCH dans la chaîne trophique puisque des concentrations similaires sont retrouvées tout au long de la chaîne (Ikemoto et al., 2008). Nos valeurs en HCB sont globalement similaires à celles de 2008, quoique quelques fois un peu supérieures avec un maximum de 1,8 ng de HCB par gramme de poids frais dans un échantillon de poisson-chat de la province de Tien Giang (2017). Concernant le HCH et ses isomères, nous avons des valeurs bien plus élevées que celles obtenues par Ikemoto, en effet, nous oscillons entre 0,018 ng/g de poids frais à 32,58 ng/g de poids frais au maximum, notre moyenne se situant à 4 ng/g de poids frais en Σ HCH.

En 1998, les concentrations de HCH et de HCB dans le Nord du Vietnam étaient basses et similaires dans les écosystèmes d'eau douce et dans les écosystèmes marins, ce qui a amené les auteurs à la conclusion que la présence de HCH et de HCB dans les échantillons ne serait pas due à une source de contamination locale mais plutôt due aux dépôts atmosphériques de ces deux contaminants pendant la saison sèche (Dang Duch Nhan et al., 1998). Une étude de 2012, toujours réalisée dans le Nord du Vietnam confirme l'hypothèse selon laquelle la présence de HCH dans les échantillons de sédiments analysés serait due aux dépôts atmosphériques venues des campagnes pour se déposer dans les zones urbaines (Toan, 2013). En 2014, le Σ HCH détecté dans les sédiments allait de ND à 3,1 ng/g de poids sec (Duong et al., 2014). Ce résultat était 20x inférieur à celui obtenu pour la concentration en Σ DDT dans les sédiments pour la même étude. Toujours dans cette étude, c'est le γ -HCH qui a été retrouvé en concentration la plus importante parmi les autres isomères. Cela indique un récent apport de lindane dans l'environnement et ce malgré l'interdiction (Duong et al., 2014)

4. Conclusions et perspectives

L'objectif de notre travail était d'estimer à quoi était exposée la population d'Ho Chi Minh Ville lorsqu'elle consommait du poisson, des crustacés et mollusques (céphalopodes) trouvés sur les marchés. Nous avons également cherché à savoir si les poissons issus des provinces et donc élevés dans des aquacultures proches d'Ho Chi Minh Ville présentaient une contamination différente et s'il était plus recommandé de consommer des poissons issus d'un endroit précis ou au contraire, éviter les poissons originaires d'un lieu particulier ou d'une espèce donnée.

Au début de l'étude, nous pensions découvrir des patterns de contamination spécifiques dans les échantillons de poissons achetés sur les marchés d'Ho Chi Minh Ville. Ces patterns nous auraient ensuite renseignés sur l'origine des poissons trouvés sur les marchés par comparaison avec les profils de contamination des échantillons des provinces avoisinantes.

Nous avons constaté que les profils de contamination des échantillons des marchés sont proches entre eux mais différent tous de ceux des échantillons issus des exploitations aquacoles, et pêchés en rivière. Nous en sommes donc venus à la conclusion que les poissons et crustacés achetés sur les marchés d'Ho Chi Minh Ville proviennent des provinces situées non pas au Sud, mais d'autres régions (côte Est ? Centre ? Nord ?) du Vietnam.

De plus, nous avons constaté que la population la plus exposée aux PCBs et pesticides via l'ingestion d'organismes issus de la pêche ou de l'aquaculture n'est pas celle des citadins d'Ho Chi Minh Ville, comme nous le craignons au départ, mais bien les populations se nourrissant de poissons et produits issus des exploitations aquacoles du Sud Vietnam.

Le résultat le plus frappant et le plus inquiétant est la contamination retrouvée dans les poissons sauvages issus des rivières d'Ho Chi Minh Ville ou des campagnes, dont les populations locales se nourrissent manifestement. Il conviendrait donc de vérifier ces résultats par un échantillonnage plus étendu afin de déterminer la limite acceptable de consommation de ces poissons par les habitants de ces zones. Il est à mentionner également que ce sont les personnes les plus désavantagées qui ont recours à cette méthode de capture ou de pêche de poissons sauvages pour se nourrir, car cela ne demande pas d'investissements.

Rappelons néanmoins que les poissons que nous avons échantillonnés se retrouvaient pour la grande majorité sous les normes imposées par la FAO (fédération des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture) et l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) en ce qui concerne les PCBs et les résidus de pesticides.

Nous avons envisagé la pollution par les PCBs et les pesticides retrouvés dans les centres urbains et les campagnes vietnamiennes. Néanmoins, d'autres contaminants sont très susceptibles d'être retrouvés dans les poissons pêchés au Sud du Vietnam, notamment les dioxines qui se sont accumulées dans les sols et les sédiments durant la guerre du Vietnam (Dang Duc Nhan et al., 1999) ou les polybromodiphényléthers (PBDEs) que l'on retrouve de plus en plus dans les écosystèmes autour du globe et qui sont également susceptibles de s'accumuler dans les organismes aquatiques sauvages ou produits pour l'alimentation humaine. Les produits étudiés dans notre étude et ces composés présentent des similitudes, notamment dans leurs modes d'impact sur la santé humaine, il serait pertinent de tenir compte d'informations concernant la contamination des produits étudiés dans le futur par ces contaminants.

5. Bibliographie

- Adam, C., 2014. Procédure –PCBs et pesticides dans les poissons.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2002). *Methoxychlor - Public Health Statement*. Atlanta.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2005). *Heptachlor and heptachlor epoxide*.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2011). Toxic Substances - DDT, DDE, DDD. Retrieved August 13, 2017, from <https://www.atsdr.cdc.gov/substances/toxsubstance.asp?toxid=20>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. (2015). *Endosulfan - ToxFAQs™*.
- Aldrin - Persistent Organic Pollutants (POPs). (n.d.). Retrieved August 13, 2017, from <http://www.popstoolkit.com/about/chemical/aldrin.aspx>
- Aldrin and Dieldrin. (n.d.). Retrieved August 13, 2017, from <http://www.eco-usa.net/toxics/aldrin.shtml>
- Barber, J., Sweetman, A., & Jones, K. (2005). Hexachlorobenzene - Sources , environmental fate and risk characterisation. *Science Dossier Euro Chlor*, 8(January).
- Benitez, J. G. (1995). Aldrin. Retrieved August 13, 2017, from <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pim573.htm>
- Berg, H., Ekman Söderholm, A., Söderström, A.-S., & Tam, N. T. (2017). Recognizing wetland ecosystem services for sustainable rice farming in the Mekong Delta, Vietnam. *Sustainability Science*, 1–18. <http://doi.org/10.1007/s11625-016-0409-x>
- Berg, H., & Tam, N. T. (2012). Use of pesticides and attitude to pest management strategies among rice and rice-fish farmers in the Mekong Delta , Vietnam, 58(2), 153–164.
- Biphényles polychlorés (BPC) - Canada.ca. (2010). Retrieved August 13, 2017, from <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/substances-chimiques/fiches-renseignements/en-bref/biphenyels-polychlores.html>
- Blancodini, P. (2004). Orpillage, pollution et problèmes sanitaires : l'exemple de la Guyane française — Géoconfluences. Retrieved August 13, 2017, from <http://geoconfluences.ens-lyon.fr/doc/transv/DevDur/DevdurDoc3.htm>
- Carrier, G., Bouchard, M., Gosselin, N. H., & El Majidi, N. (2006). *Réévaluation des risques toxicologiques des biphényles polychlorés*.
- CODEX Alimentarius: Fresh water fish. (n.d.). Retrieved August 14, 2017, from http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/pestres/commodities-detail/en/?c_id=809
- Commission européenne. (2011). RÈGLEMENT (UE) N o 1259/2011 DE LA COMMISSION du 2 décembre 2011, 8(L 320), 18–23.
- Cornell university. (n.d.). Endrin - Pesticide Safety Education Program. Retrieved August 13, 2017, from <https://psep.cce.cornell.edu/facts-slides-self/facts/pchemparams/gen-pubre-endrin.aspx>
- DDT, DDE, DDD, DDA-Organochlorine Pesticide | Center for Environmental Medicine. (2008).

- Retrieved August 13, 2017, from <https://cemmed.wordpress.com/2008/10/15/ddt-dde-ddd-dda-organochlorine-pesticide/>
- DDT - Persistent Organic Pollutants (POPs). (n.d.). Retrieved August 13, 2017, from <http://www.popstoolkit.com/about/chemical/ddt.aspx>
- Dorsey, A., Jewell, W., Ashizawa, A., Bosch, S., Quinones-Rivera, A., Rhoades, J., & Lladós, F. (2005). *TOXICOLOGICAL PROFILE FOR ALPHA-, BETA-, GAMMA-, AND DELTA-HEXACHLOROCYCLOHEXANE*. Atlanta.
- Duc, N. M. (2011). *Value Chain Analysis*. Ho Chi Minh City.
- Duong, H. T., Kadokami, K., Pan, S., Matsuura, N., & Nguyen, T. Q. (2014). Screening and analysis of 940 organic micro-pollutants in river sediments in Vietnam using an automated identification and quantification database system for GC-MS. *Chemosphere*, *107*, 462–472. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.064>
- endosulfan : PubChem. (n.d.). Retrieved August 14, 2017, from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/endosulfan#section=Pharmacology-and-Biochemistry>
- Endrin - Persistent Organic Pollutants (POPs). (n.d.). Retrieved August 13, 2017, from <http://www.popstoolkit.com/about/chemical/endrin.aspx>
- Euro Chlor. (2002). *Euro Chlor Risk Assessment for the Marine Environment OSPARCOM Region - North Sea : Hexachlorobenzene*.
- Extension Toxicology Network. (1996). EXTTOXNET PIP - METHOXYCHLOR. Retrieved August 14, 2017, from <http://extoxnet.orst.edu/pips/methoxyc.htm>
- Fabre, B., Roth, E., & Kergaravat, O. (2005). Analysis of the insecticide hexachlorocyclohexane isomers in biological media . A review, 122–126. <http://doi.org/10.1007/s10311-005-0014-1>
- FAO. (n.d.-a). CODEX Alimentarius: DDT. Retrieved August 18, 2017, from http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/pestres/pesticide-detail/en/?p_id=21
- FAO. (n.d.-b). CODEX Alimentarius: Heptachlore. Retrieved August 18, 2017, from http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/pestres/pesticide-detail/en/?p_id=43
- FAO. (n.d.-c). CODEX Alimentarius: Lindane. Retrieved August 20, 2017, from http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/pestres/pesticide-detail/fr/?p_id=48
- Gel de silice — Wikipédia. (n.d.). Retrieved August 16, 2017, from https://fr.wikipedia.org/wiki/Gel_de_silice
- Geyer, H. J., Scheunert, I., Brüggemann, R., Langer, D., Korte, F., Kettrup, A., ... Muir, D. C. G. (1997). Half-lives and bioconcentration of lindane (γ -HCH) in different fish species and relationship with their lipid content. *Chemosphere*, *35*(1–2), 343–351. [http://doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)00160-4](http://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00160-4)
- Griffiths, D., Van Khanh, P., & Trong, T. Q. (2010). *Pangasius hypophthalmus*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Retrieved August 15, 2017, from http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Pangasius_hypophthalmus/en#tcNA002B

- Heptachlor - Persistent Organic Pollutants (POPs). (n.d.). Retrieved August 14, 2017, from <http://www.popstoolkit.com/about/chemical/heptachlor.aspx>
- Hexachlorobenzene (HCB) - Persistent Organic Pollutants (POPs). (n.d.). Retrieved August 13, 2017, from <http://www.popstoolkit.com/about/chemical/hcb.aspx>
- IFREDI-P02373 | *Clarias macrocephalus*. (n.d.). Retrieved August 16, 2017, from <http://ffish.asia/?p=none&o=sspm&id=2173>
- Ikemoto, T., Tu, N. P. C., Watanabe, M. X., Okuda, N., Omori, K., Tanabe, S., ... Takeuchi, I. (2008). Analysis of biomagnification of persistent organic pollutants in the aquatic food web of the Mekong Delta, South Vietnam using stable carbon and nitrogen isotopes. *Chemosphere*, 72(1), 104–114. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.01.011>
- INERIS. (2005). *Heptachlore*.
- Minh, H., & Minh, B. (2006). CONTAMINATION BY POLYBROMINATED DIPHENYL ETHERS AND PERSISTENT ... *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2700–2708.
- Minh, N. H., Minh, T. B., Kajiwara, N., Kunisue, T., Iwata, H., Viet, P. H., ... Tanabe, S. (2007). Pollution sources and occurrences of selected persistent organic pollutants (POPs) in sediments of the Mekong River delta, South Vietnam. *Chemosphere*, 67(9), 1794–1801. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.05.144>
- National Institute for Occupational Safety and Health. (2015). Lindane - ICSC : International Chemical Safety Cards. Retrieved August 13, 2017, from <https://www.cdc.gov/niosh/ipcsnfrn/nfrn0053.html>
- Nguyen, N. V. (2009). *Occurrence of Persistent Toxic Substances in Soils , Sediments , Fishes and Human Breast Milk in*.
- Nhan, D. D., Am, N. M., Carvalho, F. P., Villeneuve, J.-P., & Cattini, C. (1999). Organochlorine pesticides and PCBs along the coast of north Vietnam. *Science of The Total Environment*, 237–238, 363–371. [http://doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00149-7](http://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00149-7)
- Nhan, D. D., Am, N. M., Hoi, N. C., Van Dieu, L., Carvalho, F. ., Villeneuve, J.-P., & Cattini, C. (1998). Organochlorine pesticides and PCBs in the Red River Delta, North Vietnam. *Marine Pollution Bulletin*, 36(9), 742–749. [http://doi.org/10.1016/S0025-326X\(98\)00025-3](http://doi.org/10.1016/S0025-326X(98)00025-3)
- Niemi, C. A. (2016). Water Quality Criteria for PCBs and the Linkage to the use of Fish Tissue for Impairment Listings – and – Washington ’ s new Proposed Rule for Human Health Criteria and Implementation Tools.
- Pallardy, R. (2017). Deepwater Horizon oil spill of 2010 | environmental disaster, Gulf of Mexico | Britannica.com. Retrieved August 13, 2017, from <https://www.britannica.com/event/Deepwater-Horizon-oil-spill-of-2010>
- Phuong, N. T., & Minh, T. H. (2005). AN OVERVIEW OF AQUACULTURE SECTOR.
- Ricking, M., & Schwarzbauer, J. (2011). 6. Environmental Fate of DDT Isomers and Metabolites. In E. Lichtfouse, J. Schwarzbauer, & D. Robert (Eds.), *Environmental Chemistry for a Sustainable World: Nanotechnology and Health Risk* (Springer, pp. 173–208). New York. <http://doi.org/10.1007/978-94-007-2442-6>
- Saive, E. (2015). *Toxicologie - Notes des cours*. Liège.

- SANCO. (2013). *Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Sanco/12571/2013.*
- SEPA : scottish Environment Protection Agency. (n.d.). Aldrin : Pollutant Fact Sheet. Retrieved August 13, 2017, from <http://apps.sepa.org.uk/spripa/Pages/SubstanceInformation.aspx?pid=15>
- Soleille, S. (2005). *Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Hexachlorobenzene.*
- Son, D. K., Que, N. N., Dieu, P. Q., Thu Trang, T. T., & Beresford, M. (2006). *PART III : Policy reform and the transformation of Vietnamese agriculture. Rapid Growth of Selected Asian Economies: Lessons and Implications for Agriculture and Food Security.* Bangkok.
- Stainier, G. (2017). *Travail de Fin d'Etudes : Normes alimentaires et niveau de contamination de deux espèces de poissons, le Rouget (Mullus surmuletus) et l'Oblade (Oblada melanura), de la Baie de Calvi (Corse, France) par des polluants organiques persistants (POPs).* Liège.
- Thi, P., & Steven, T. (2012). Current pesticide practices and environmental issues in Vietnam : management challenges for sustainable use of pesticides for tropical crops in (South-East) Asia to avoid environmental pollution, 379–387. <http://doi.org/10.1007/s10163-012-0081-x>
- Toan, V. D. (2013). Contamination of selected organochlorine pesticides (OCPs) in sediment from CauBay river, Hanoi. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 90(1), 132–135. <http://doi.org/10.1007/s00128-012-0877-3>
- Toan, V. D. (2015). Residue of select organochlorine pesticides (OCPs) in sediment from Vietnam's CauBay river and their impact on agricultural soil and human health. *Polish Journal of Environmental Studies*, 24(1), 301–306. <http://doi.org/10.15244/pjoes/28119>
- Toft, P. (2004). *Heptachlor and Heptachlor Epoxide in Drinking-water Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality.*
- University of Hertfordshire. (2017a). aldrin - Pesticide Properties DataBase. Retrieved August 14, 2017, from <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/21.htm>
- University of Hertfordshire. (2017b). endrin - Pesticide Properties DataBase. Retrieved August 14, 2017, from <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/266.htm>
- US EPA, O. (n.d.). DDT - A Brief History and Status. Retrieved from <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/ddt-brief-history-and-status>
- Van Hoi, P., Mol, A., & Oosterveer, P. (2013). State governance of pesticide use and trade in Vietnam. *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, 67, 19–26. <http://doi.org/10.1016/j.njas.2013.09.001>
- Vidthayanon, C., & Allen, D. J. (2013). *Clarias macrocephalus. The IUCN Red List of Threatened Species 2013 (Vol. 8235).*
- Vidthayanon, C., & Hogan, Z. (2013). *Pangasianodon hypophthalmus, the IUCN Red List of Threatened Species 2013 (Vol. 8235).* Retrieved from <http://www.fishbase.org/summary/pangasianodon-hypophthalmus.html>
- Walsh, N. P. (2016). *Midway, a plastic island - YouTube.* United States: CNN. Retrieved from <https://www.youtube.com/watch?v=IsJqMmuFWO4>
- Yu, D. Case Studies in Environmental Medicine Polychlorinated Biphenyls (PCBs) Toxicity (2014).

6. Annexe 1: Procédure PCBs and pesticides in fish (from LEAE)

 <p>Université de Liège</p> <p>LEAE</p>	<p>PROCEDURE/ Codification : POISSON Version : Nhung Date de révision : 05/2017 Indice de révision : Auteur : C ADAM Register Q. Traduction : C. J-Justo</p>

PROCEDURE

PCB's & Pesticides in fish

Page 55 / 5


Freeze-drying of the samples

- For each sample prepare one vial of 20 ml with a sticker label that identifies the sample
- Weight each vial empty and without cap
- Place the sample in the vial and weight anew without cap to measure the wet weight of the sample
- Remove the Teflon septum from the caps and replace them with a filter (GF/C Whatman)
- Screw in the caps gently so as not to rupture the filter
- Place the vials in liquid nitrogen for 10 to 15 minutes to freeze them
- Follow the Cryotec procedure
- After 24 hours in the freeze-dryer, weight the vials. (The difference between wet weight and dry weight allows to determine the water percentage in the sample).

Extraction of the molecules to analyse and of lipids

- Wash the ASE cells in the ultrasonic bath at 37 Hz as follows:
 - 10 min Acetone technique
 - 10 min Acetone p. a.
 - 10 min Methanol p. a.
 - 10 min Dichloromethane p. a.
 - 10 min Hexane p. a.
- Evaporate solvent on cells under a hood
- Assemble the ASE cells and add a ASE filter



	<p style="text-align: right;">PROCEDURE/ Codification : POISSON Version : Nhung Date de révision : 05/2017 Indice de révision :</p>
	<p style="text-align: right;">Auteur : C ADAM Register Q. Traduction : C. J-Justo</p>

PROCEDURE

PCB's & Pesticides in fish

Page 2 / 5

- Weight each cell
- Place the freeze-dried sample and weight again
- Add the surrogate (PCB 112) in the cell (50 µl of solution at 100 pg/µl if final volume = 100 µl) & add 0,5g of water-free Na₂SO₄ (tip of spatula, no need to weight)
- Close the cells tight
- For each sample prepare one vial of 40 ml correctly labelled & weight it without cap
- Place all cells and receiving vials on the ASE & check the level of solvent



- Start program n°20.

Extraction conditions : (programme n°20)

- Pressure : 1500 psi
- T° : 125°C
- Solvent : Hexane/Dichloromethane (90/10)
- HEAT : 6 min
- Static : 5 min
- Flush : 60% vol
- Purge : 300 sec
- Cycle : 1

	<p style="text-align: right;">PROCEDURE/ Codification : POISSON Version : Nhung Date de révision : 05/2017 Indice de révision :</p>
	<p style="text-align: right;">Auteur : C ADAM Register Q.</p>
	<p style="text-align: right;">Traduction : C. J-Justo</p>

PROCEDURE

PCB's & Pesticides in fish

Page 3 / 5

Evaporation of the extract

- After the ASE extraction, put the ASE vials (40 ml) in the TurboVap
- Start the TurboVap at 35 °C under nitrogen flux (the pressure depends on the volume of sample, there must not be any projections in the TurboVap. Pressure can be increased progressively as evaporation occurs)
- Once the sample seems to be dry, boost the pressure for 3 min
- Take the vials out & carefully wipe the exterior of the vials
- Weight the vials and put them back in the TurboVap for 3 min
- Weight the vials a second time and put them back in the TurboVap for 3 min
- Weight the vials again. If the difference between the readings is insignificant (see excell file « Feuille série »), the last recorded weight is used to determine the lipid weight in the sample.

Preliminary steps to the Clean-up's

- For each sample, label 4 test tubes
- Recuperate the lipid residues in 2 ml of hexane & transfer them in the first series of test tubes
- Rinse the vial with 2 ml of hexane & add it to the first mixture (Vf = 4 ml).
- Evaporate under nitrogen flux until reaching a volume of 1ml
- To replace the solvent (hexane is not miscible with acetonitrile/Dichloromethane) 1 mL of Acetonitrile/Dichloromethane 95/5 is poured on the samples
- vortex for 3 minutes
- centrifuge for 5 minutes at 3000 rpm
- recuperate the lower phase and repeat the last 3 steps thrice

Clean-up C18

Conditioning of the C18 column

- Place the columns on the SUPELCO device
- Condition the columns with 12 ml of methanol then with 12ml of acetonitrile.
! The solid phase must never be dry !
- Place the sample (approx.. 3 mL Acetonitrile/Dichloromethane 95/5).
- Start the elution
- Elute with 2 x 2,5ml of Acetonitrile/Dichloromethane 95/5
- Bring to dryness and expel final solvent residue with a syringe.

	<p style="text-align: right;">PROCEDURE/ Codification : POISSON Version : Nhung Date de révision : 05/2017 Indice de révision :</p>
	<p style="text-align: right;">Auteur : C ADAM Register Q.</p>
	<p style="text-align: right;">Traduction : C. J-Justo</p>

PROCEDURE

PCB's & Pesticides in fish

Page 4 / 5

- Evaporate in the TurboVap for 40 minutes at 40°C under nitrogen flux with a 15 psi pressure until a volume slightly lower than 500µl to avoid losing the most volatile compounds.

Clean-up Florisil

- *Conditioning of the Florisil column*
- Place the columns on the SUPELCO device
- Condition the columns with 15ml of dichloromethane then 12ml of hexane.
- *! The solid phase must never be dry!*
- Place the dry test tubes
- Recuperate the evaporate in 1ml of hexane
- Pour the sample on the column
- Rinse the tube twice with 1ml of Hexane/Dichloromethane 75/25 & place on the column
- Start the elution
- Elute with 2 x 2,5ml of Hexane/Dichloromethane 75/25
- Wait until the column is dry and expel final solvent residue with a syringe
- Add 5 µl of nonane in each tube.

Evaporation & conditioning of the samples.

- Evaporate the organic phase under nitrogen flux until only the 5µl of nonane are remaining
- Add 45µl of hexane & 50µl of mirex at 100pg/µl (mirex volume must correspond to half of the final volume (Vf = 100µl)).

Preparation of the chromatography analysis

- Preparer & label a 2ml vial
- Place an insert in this vial
- Place the 100µl of sample extract in the insert
- Seal the vial with a cap using the sealing pliers
- Tighten closely until the cap does not turn anymore
- Place the vial in the freezer or directly on the chromatograph.

	<p style="text-align: right;">PROCEDURE/ Codification : POISSON Version : Nhung Date de révision : 05/2017 Indice de révision :</p>
	<p style="text-align: right;">Auteur : C ADAM</p>
	<p style="text-align: right;">Register Q. Traduction : C. J-Justo</p>

PROCEDURE

PCB's & Pesticides in fish

Page 5 / 5

Chromatography analysis.

Analysis with a high resolution gaz chromatograph with a Trace GC Thermoquest equipped with electron capture detector with ⁶³Ni. Capillary Column (DB5-MS Agilent ; length 60m; ID 0.25mm; thickness of wire 0.25µm).

Injection conditions :

- Injection type: on column
- Gaz vecteur : Hydrogène - 130Kpa
- Gaz Make-up : Ar/CH4 (95 :5) – 40 ml/min
- Programmation de températures:
 - 60°C (2min) à 160°C à raison de 20°C/min
 - 160°C (3 min) à 280°C à raison de 2,5°C/min
 - 280°C (10 min) à 300°C à raison de 20°C/min
 - 300°C (10 min)
- ECD température base : 290°C
 ECD température : 300°C