



Etat de l'art et des connaissances liées aux méthodes analytiques des éléments et composés à risque dans la ressource algue & analyse synthétique des résultats

Rapport



Laboratoire public
Conseil, Expertise et Analyse en Bretagne



Phycosiris



CNRS • SORBONNE UNIVERSITÉ
Station Biologique
de Roscoff

Cette étude a été co-financée par le Fonds européen pour les affaires maritimes et la pêche (volet DLAL) et la Région Bretagne

UNION EUROPÉENNE
UNANIEZH EUROPA



L'Europe s'engage en Bretagne / Avec le Fonds européen pour les affaires maritimes et la pêche

Version du 18/09/2020



Laboratoire public
Conseil, Expertise et Analyse en Bretagne



Phycosiris



Sommaire

I	Contexte	1
II	Règlementation	2
II.1	Arsenic (As)	3
II.2	Cadmium (Cd)	5
II.3	Mercure (Hg)	6
II.4	Plomb (Pb)	7
II.5	Iode (I)	8
II.6	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP)	8
II.7	Dioxines et polychlorobiphényles (PCB)	9
III	Méthodes d'analyses : performances et limites	12
III.1	Description des méthodes d'analyses	12
III.1.1	Normes	12
III.1.1.1	<i>Internationales</i>	12
III.1.1.2	<i>Européennes</i>	12
III.1.2	Accréditation	14
III.1.3	Agrément	14
III.1.4	Extraction des métaux	14
III.1.4.1	<i>Pour une analyse sur les éléments totaux</i>	15
III.1.4.2	<i>Pour la Spéciation</i>	15
III.1.5	Extraction des polluants organiques	19
III.1.5.1	<i>Extraction au Soxhlet</i>	19
III.1.5.2	<i>Extraction par liquide pressurisé (PLE)</i>	19
III.1.5.3	<i>Extraction assistée par micro-ondes (MAE)</i>	20
III.1.5.4	<i>Dispersion matricielle en phase solide (MSPD)</i>	20
III.1.5.5	<i>Extraction par Quetchers</i>	20
III.1.6	Séparation des composés	21
III.1.6.1	<i>Chromatographie</i>	21

III.1.6.2	Électrophorèse capillaire (CE)	22
III.1.7	Détection des métaux	22
III.1.7.1	Spectrométrie de masse associée au plasma à couplage inductif (ICP-MS)	22
III.1.7.2	Spectrométrie à Emission Optique associée au plasma à couplage inductif (ICP-OES)	23
III.1.7.3	Spectrométrie d'émission atomique associée au plasma à couplage inductif (ICP- AES)	24
III.1.7.4	Spectroscopie d'absorption atomique (AAS)	24
III.1.7.5	Spectrométrie par fluorescence	26
III.1.7.6	Analyseur de mercure	27
III.1.8	Analyse par activation neutronique (NAA)	27
III.1.9	Détection des polluants organiques	28
III.1.10	Matériaux de référence	29
III.1.11	Exercices InterLaboratoires (EIL)	30
III.2	Performances analytiques des méthodes d'analyses	30
III.2.1	Contexte et Méthode	30
III.2.2	Résultats	34
III.2.2.1	Capabilité par analyte	34
III.2.2.2	Capabilité par système de détection	35
III.2.2.3	Effet des paramètres analytiques	36
III.2.2.4	Exemple de Cp pour le Cadmium	37
III.2.3	Conclusions	38
IV	Présentation des principaux résultats bibliographiques	39
IV.1	Méthodologie de l'analyse bibliographique	40
IV.2	L'exemple de l'arsenic	42
IV.3	La validation méthodologique	43
IV.4	Des techniques analytiques de plus en plus résolutive pour une résolution spatiale d'un élément dans l'algue à l'échelle tissulaire, cellulaire et sub-cellulaire	43
V	Vision prospective	44
V.1	Quels seront les impacts des résultats de mesures dans les algues sur les marchés de demain?	45
V.2	Quelles évolutions réglementaires à anticiper ?	45
V.3	Quels arguments futurs pour faire face au nombre croissant d'études sur la toxicité des algues ?	46



V.4	Quelles possibilités de dialogue avec l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) ?.....	47
VI	Analyse synthétique - Fiches	47
VII	Bibliographie.....	72
VIII	Liste des tableaux	93
IX	Liste des figures	93



I Contexte

Le Cluster algues souhaite porter un discours commun et une ambition partenariale de développement de la filière sur les thématiques de la qualité et de la traçabilité de la ressource, qui passe par :

1/ Une meilleure connaissance des méthodes analytiques existantes pour la mesure des éléments et composés à risques dans les algues, à savoir :

- Les 6 métaux lourds suivants : le Plomb (Pb), le Mercure (Hg), l'Etain (Sn), le Cadmium (Cd), l'Arsenic organique (As) et inorganique (Asi),
- l'Iode (I) ;
- 4 composés organiques correspondant à 4 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) : Benzo(a)anthracène, Benzo(a)pyrène, Benzo(b)fluoranthène et Chrysène (limite de quantification : 0,5 µg/kg).

2/ La connaissance des performances et limites de ces méthodes (niveau de précision et de standardisation, périmètre d'utilisation, risques d'erreurs).

3/ La connaissance des principaux résultats issus de ces méthodes analytiques par type d'élément et composé par espèce algale étudiée (valeurs et seuils toxicologiques des éléments et composés à risque détectés par les méthodes recensées).

Par ailleurs, au-delà de constituer un socle de connaissances communes et partagées, l'état de l'art devra permettre d'anticiper et de développer une vision prospective de la thématique à destination des entreprises principalement : quels seront les impacts des résultats de mesures d'éléments et composés à risque dans les algues sur les marchés de demain (évaluation de scénarios futurs sur la base des connaissances acquises) ? Quelles évolutions réglementaires anticiper ? Quels arguments futurs pour faire face au nombre croissant d'études sur la toxicité des algues ? Quelles possibilités de dialogue avec l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) qui contribue à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter ?

L'objectif de la mission était double :

- 1- formaliser un état de l'art des connaissances sur les méthodes analytiques des éléments et composés à risque dans les algues,
- 2- proposer sur cette base une analyse synthétique des principales conclusions issues de cet état de l'art, qui soit diffusable et accessible à tout acteur de la filière algue en Pays de Brest.

Pour la réalisation de cette étude 294 publications ont été consultées, présentées au chapitre bibliographie. Elles concernent la réglementation (29), les normes (30), les méthodes analytiques, les travaux de résultats d'analyses de métaux sur différentes matrices pouvant contenir des algues (algues, alimentaire, cosmétique, ...), et des travaux recherchant la présence de métaux dans les différents compartiments chez les algues.

II Règlementation

Une recherche bibliographique a été menée sur l'ensemble des pays producteurs d'algues. Il s'est avéré que peu de textes réglementaires ou publications évoquant les textes réglementaires ont été trouvés.

Parmi les pays/régions, dont nous avons consulté la législation il y a la France, l'Italie, le Portugal, l'Espagne et l'Allemagne (Union Européenne - UE) ; l'Islande et la Norvège (Etats membres de l'Espace économique européen) ; les Etats-Unis (USA), le Canada et le Brésil (continent américain) ; la Nouvelle Zélande et l'Australie (Océanie) ; La Chine, le Japon et la Corée du Sud (Asie).

Les textes de loi trouvés pour les algues dans les denrées alimentaires sont ceux de l'Union Européenne (avec un texte spécifique français), l'Australie et la Nouvelle Zélande (NZ) et les USA.

25 publications différentes publiées entre 1992 et 2019 ont été analysées. Cela a permis d'évaluer environ 800 concentrations en métaux lourds et iode de 46 familles d'algues cultivées ou revendues dans plus de 20 pays en Europe et dans le monde.

Les limites maximales de métaux lourds autorisés pour les algues ne sont pas souvent listées dans la législation. La France est en avance et son Conseil Supérieur d'Hygiène Publique (CSHP) a publié les critères pour les métaux lourds et l'iode depuis les années 90 (CSHPF, 1997 et ANSES, 2020), pour garantir l'absence de toxicité de ces aliments et favoriser ainsi le développement de la filière.

L'Union Européenne a publié une recommandation sur la surveillance des métaux et de l'iode dans les algues marines, les halophytes et les produits à base d'algues marines (Union Européenne, 2018) pour 3 ans, à partir de 2018. Des limites de concentration de métaux sont déterminées pour les additifs à base d'algues (Union Européenne, 2012) et pour le cadmium, une limite concernant les compléments alimentaires composés exclusivement ou principalement d'algues marines séchées et de produits issus d'algues marines a été définie.

Pour l'iode les limites sont définies par le Code de standards alimentaires d'Australie et Nouvelle Zélande (FSANZ, 2016), ainsi que pour la France (CSHPF, 1997 ; ANSES, 2020).

Les teneurs maximales sont présentées dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Teneurs maximales (mg/kg) de métaux lourds dans les denrées alimentaires (ou additif alimentaire) à base d'algues, selon la législation de chaque pays.

Éléments	Europe	France	Australie et NZ	USA	Europe Additif alimentaire
AS inorganique		3,0	1,0	3,0	
AS _{total}					3,0 [€]

Cd	3,0 *	0,5			1,0 [§] 2,0 ^{&}
Hg		0,1			1,0 [£]
Pb		5,0		10	2,0 [§] 5,0 [£]
Sn		5,0			
Métaux lourds				40	
I		2000	1000	5000	

* Compléments alimentaires composés exclusivement ou principalement d'algues marines séchées, de produits issus d'algues marines, ou de mollusques bivalves séchés

§ additif à base d'algues: carotènes d'algues

£ additif à base d'algues: acide alginique, agar agar, carraghénane, algue *Eucheuma* transformée (même valeurs maximales pour As, Hg et Pb)

§ additif à base d'algues: acide alginique, agar agar (Cd valeur=1)

& additif à base d'algues: carraghénane, algue *Eucheuma* transformée (Cd valeur = 2)

II.1 Arsenic (As)

L'Arsenic est souvent séparé en $As_{\text{inorganique}}$ et As_{total} . Les limites maximales d' $As_{\text{inorganique}}$ ont été définies par les réglementations à 3,0 mg/kg en France et aux Etats Unis et à 1,0 mg/kg en Nouvelle Zélande/Australie, pour les algues comestibles. Selon ces critères, 13% des références étudiées sont au-dessus de 3,0 mg/kg et 20% au-dessus de 1,0 mg/kg (sur un total de 84 références d' $As_{\text{inorganique}}$). Le Tableau 2, montre les espèces où la quantité d' $As_{\text{inorganique}}$ a été trouvée supérieure au seuil indiqué, dans l'espace économique européen.

Tableau 2 : Espèces d'algues au-dessus du seuil maximal* d'arsenic inorganique en Europe (espace économique européen)

Algue	Pays/région De production/ récolte et analyse	Plage de concentration (mg/kg)	Nb de citations/total de citations de la même espèce	Référence
<i>Ceramium sp</i>	Slovénie (mer Adriatique)	28	1/1	Coelho, 2019
<i>Treptacantha barbata</i> (<i>Cystoseira barbata</i>)	Slovénie (mer Adriatique) Grèce	17-27	2/2	Coelho, 2019
<i>Treptacantha barbata</i> (<i>Cystoseira spinosa</i>)	Grèce	3,2	1/1	Coelho, 2019
<i>Laminaria digitata</i>	Norvège Irlande	20-62	2/2	Maulvault <i>et al.</i> , 2015 Ronan <i>et al.</i> , 2017
Algue	Pays/région D'analyse	Plage de concentration (mg/kg)	Nb de citations/total de citations de la même espèce	Référence
<i>Sargassum fusiforme</i> (<i>Hizikia</i>)	Espagne	32-88	4/7	Besada <i>et al.</i> , 2009 ; Almela <i>et al.</i> , 2002

* critères de mise sur le marché des algues en France - teneur maximale en $As_{\text{inorganique}}$ de 3 mg/kg

Dans les autres régions du monde, des 27 références consultées, trois sur la même espèce *Sargassum fusiforme* présentaient une teneur en $As_{inorganique}$ de 7,8 mg/kg (vendue en Australie), 2,3 mg/kg (récoltée en Corée du Sud) et entre 42 et 117 mg/kg (récoltée au Japon) (FSANZ, 2020 ; Khan *et al.*, 2015 ; Almela *et al.*, 2006).

L' As_{total} n'est pas présent dans le texte de loi portant la fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires (Commission Européenne, 2006).

Les limites en As_{total} sont aussi imposées pour les additifs alimentaires pour consommation humaine, à base d'algues (acide alginique, agar agar, carraghénane, algue *Eucheuma transformée*) à 3,0 mg/kg (Union Européenne, 2012). Ainsi, les espèces utilisés pour la production d'additifs comme la *Gracilaria* (agar agar) ou *Hypnea* (carraghénane) présentaient souvent une teneur en $As > 3,0$ mg/kg (Tableau 3).

Tableau 3 : Espèces d'algues au-dessus du seuil maximal* d'arsenic préconisé pour les additifs alimentaires

Algue	Pays/région De production/ récolte et analyse	Plage de concentration (mg/kg)	Nb de citations/total de citations de la même espèce	Référence
<i>Gracilaria sp.</i> (agar agar)	Portugal Grèce USA	5,7-17	5/5	Coelho, 2019 ; Kim <i>et al.</i> , 2019 ; Cabrita <i>et al.</i> , 2016
<i>Hypnea</i> (carraghénane)	Grèce	4,6- 5,0	1/1	Coelho, 2019

* teneur maximale en As_{total} de 3 mg/kg, pour les additifs alimentaires

Basées sur le seuil le plus haut (produits dérivés seulement d'algues), en Europe nous avons trouvé 130 références, (107 sur algues récoltées en Europe), dont 33 (21 sur algues récoltées en Europe, les autres commercialisées en Europe) ont une concentration au-dessus de 40 mg/kg (Norvège, France (Bretagne), Danemark, Irlande, Espagne, Portugal et Grèce). Pour les références non-UE, 9 (des 37 consultées) ont présenté une teneur en As_{total} au-dessus de 40 mg/kg, en Nouvelle Zélande, Chine, Japon et Corée.

Les limites imposées pour l'alimentation animale (Commission Européenne, 2002) avec un seuil par type de ration sont présentées dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Teneurs maximales en arsenic dans les produits à base d'algues marines destinés aux aliments pour animaux.

Métaux	Teneurs maximales	Produits (alimentation animale)
As	40 mg/kg	Farine d'algues marines et matières premières des aliments pour animaux dérivées d'algues marines)
As	10 mg/kg	Aliments complémentaires pour animaux de compagnie contenant du poisson, d'autres animaux aquatiques et leurs produits dérivés et/ou de la farine d'algues marines et des matières premières des aliments pour animaux dérivées d'algues marines -phosphates et algues marines calcaires
As	10 mg/kg	Aliments complets pour animaux de compagnie contenant du poisson, d'autres animaux aquatiques et

II.2 Cadmium (Cd)

« Actuellement, la réglementation de l'Union européenne ne fixe pas de teneur maximale en cadmium dans les algues alimentaires destinées à la consommation humaine directe ou utilisées comme ingrédients de denrées alimentaires.

Le règlement (CE) n°1831/2003 (Commission européenne, 2003) prévoit une teneur maximale en cadmium de 3,0 mg/kg dans les compléments alimentaires tels que vendus, composés exclusivement ou principalement d'algues marines séchées ou de produits issus d'algues marines.

Par ailleurs, le Conseil supérieur d'hygiène publique de France (CSHPF, 1997) avait émis suite à ses réunions du 14 juin 1988, du 13 décembre 1988, du 9 janvier 1990 et du 14 octobre 1997, une liste d'algues alimentaires autorisées en alimentation humaine, assortie de recommandations liées à des teneurs maximales en éléments traces métalliques.

Le CSHPF préconise une concentration en cadmium dans les algues alimentaires inférieure à 0,5 mg/kg de poids sec.» (ANSES, 2020)

Selon ce critère, 33% des références étudiées ont une teneur en cadmium supérieure à 0,5 mg/kg. Le Tableau 5, montre les espèces dont les concentrations en cadmium sont supérieures au seuil, en Europe (ou dans l'espace économique européen). Certaines espèces comme l'*Alaria esculenta* et le *Fucus* sont connus pour contenir plus de cadmium que les autres algues récoltées sur le même lieu (Marfaing, 2017).

Tableau 5: Espèces d'algues au-dessus du seuil maximal* de cadmium en Europe (espace économique européen)

Algue	Pays/région De production/ récolte et analyse	Plage de concentration (mg/kg)	Nb de citations/total de citations de la même espèce	Référence
<i>Alaria esculenta</i>	Norvège Bretagne	1,0 – 2,0	3/ 3	Roleda <i>et al.</i> , 2019
<i>Fucus spp.</i>	Portugal	1,2-1,4	2/8	Cabrita <i>et al.</i> , 2016
<i>Chondrus crispus</i>	Espagne	0,418-0,722	1/2	Almela <i>et al.</i> , 2006
<i>Undaria pinnatifida</i>	Espagne	0,5-1,9	1/12	Almela <i>et al.</i> , 2006
<i>Palmaria palmata</i>	Islande	2,0	1/6	Roleda <i>et al.</i> , 2019

Algue	Pays/région D'analyse	Plage de concentration (mg/kg)	Nb de citations/total de citations de la même espèce	Référence
<i>Fucus spp.</i>	Espagne	0,5-0.55	2/8	Almela <i>et al.</i> , 2002 ;2006
<i>Chondrus crispus</i>	Espagne	0,0.72-0.74	1/2	Besada <i>et al.</i> , 2009

<i>Eisenia bicyclis</i>	Espagne	0,60-0,83	4/5**	Besada <i>et al.</i> , 2009 ; Almela <i>et al.</i> , 2002, 2006
<i>Undaria pinnatifida</i>	Espagne	0,50-4,82	4/12	Besada <i>et al.</i> , 2009 ; Almela <i>et al.</i> , 2002
<i>Sargassum fusiforme</i> (<i>Hizikia</i>)	Espagne	1,0-1,5	4/7**	Besada <i>et al.</i> , 2009 ; Almela <i>et al.</i> , 2002, 2006
<i>Treptacantha</i> spp. (<i>Cystoseira</i>)	Italie	0,54	1/2	Squadrone <i>et al.</i> , 2018a
<i>Laminaria</i> spp.	Danemark	1,7-1,8	1/10	Nielsen <i>et al.</i> 2016
<i>Porphyra umbilicales</i>	Espagne	0,6-3,1	2/8	Besada <i>et al.</i> 2009
<i>Palmaria palmata</i>	Espagne	0,7-	1/6	Almela <i>et al.</i> , 2002
<i>Saccharina latissima</i>	Portugal			
	Danemark	0,6-1,6	4/6	Roleda <i>et al.</i> , 2019 ; Cabrita <i>et al.</i> , 2016
	Norvège			
<i>Ulva</i> sp.	Portugal	0,65	1/4	Cabrita <i>et al.</i> , 2016

* critères de mise sur le marché des algues en France - teneur maximale en Cd de 0,5 mg/kg

**Les valeurs en-dessous du seuil réglementaire correspondent à des produits à base d'algues (gâteau, pizza, sauce, tisane...)

II.3 Mercure (Hg)

Les limites maximales de concentrations en mercure ne sont pas définies par les réglementations pour les algues comestibles. Toutefois, En France, la qualité des algues est définie par les critères de mise sur le marché qui déterminent une teneur maximale en mercure de 0,1 mg/kg dans les algues, pour garantir l'absence de toxicité de ces aliments. Selon ce critère, seules 5% des références étudiées présentent une teneur en mercure supérieure à 0,1 mg/kg. Le Tableau 6, montre les espèces dont la concentration en mercure a été retrouvée à des valeurs supérieures au seuil, dans l'espace économique européen.

Tableau 6 : Espèces d'algues au-dessus du seuil maximal* de mercure en Europe (espace économique européen)

Algue	Pays/région De production/ récolte et analyse	Plage de concentration (mg/kg)	Nb de citations/total de citations de la même espèce	Référence
<i>Peyssonnelia squamaria</i>	Italie	0,12	1/2	Squadrone <i>et al.</i> , 2018a
<i>Halopteris scoparia</i>	Italie	0,12	1/1	Squadrone <i>et al.</i> , 2018a
<i>Fucus spiralis</i>	Portugal	0,16	1/1	Cabrita <i>et al.</i> , 2016
<i>Saccharina latissima</i>	Portugal	0,12	1/6	Cabrita <i>et al.</i> , 2016

* critères de mise sur le marché des algues en France - teneur maximale en Hg de 0,1 mg/kg

Dans les autres régions du monde, deux espèces, *Ecklonia radiata* et *Ulva stenophylla* en Nouvelle Zélande, avaient une teneur en Hg > 0,1 mg/kg (0,17 et 0,10 mg/kg, respectivement) dans une étude (Smith *et al.*, 2010) réalisée sur 6 espèces sauvages de la région (*Durvillaea antarctica*, *Undaria pinnatifida*, *Hormosira banksii*, *Porphyra spp.*).

II.4 Plomb (Pb)

Les limites maximales de plomb ont été définies par les réglementations en France et aux Etats Unis pour les algues comestibles. En France, les critères de mise sur le marché déterminent une teneur maximale en plomb de 5 mg/kg dans les algues, pour garantir l'absence de toxicité de ces aliments. Tandis qu'aux USA cela peut atteindre 10 mg/kg. Selon ces critères, 12% des références étudiées (sur 109 références européennes consultées : 80 sont des algues récoltées en Europe, 29 sont des algues commercialisées en Europe sans origine précisée) ont une teneur en plomb supérieure à 5 mg/kg. Le Tableau 7, montre les espèces dont la concentration en plomb a été retrouvée supérieure au seuil, dans l'espace économique européen.

Tableau 7 : Espèces d'algues, récoltées en Europe, au-dessus du seuil maximal* de plomb

Algue	Pays/région De production/ récolte et analyse	Plage de concentration (mg/kg)	Nb de citations/total de citations de la même espèce	Référence
<i>Flabellia petiolata</i>	Italie	5,6-76	3/3	Squadrone <i>et al.</i> , 2018a
<i>Codium bursa</i>	Italie	19	1/3	
<i>Padina pavonica</i>	Italie	17	1/3	
<i>Halopteris filicina</i>	Italie	40	1/6	
<i>Halopteris scoparia</i>	Italie	13	1/1	
<i>Ganonema farinosum</i>	Italie	12	1/2	
<i>Dictyota dichotoma</i>	Italie	7,9	1/1	
<i>Halimeda tuna</i>	Italie	5,6	1/1	
<i>Treptacantha spp.</i> (<i>Cystoseira</i>)	Italie	5,4	1/1	
<i>Peyssonnelia squamaria</i>	Italie	5,8	1/2	

* critères de mise sur le marché des algues en France - teneur maximale en Pb de 5,0 mg/kg

Hors Europe, sur 57 algues étudiées, dont 20 étaient des *Laminaria longicuris*, récoltées aux USA, un seul échantillon de l'espèce *Laminaria longicuris* avait une teneur en plomb supérieure à 10 mg/kg, teneur maximale aux USA. (Shimshock *et al.*, 1992). Le genre

Gracilaria récolté aux USA et en Thaïlande présentait une concentration supérieure au seuil français de 5mg/kg.

II.5 Iode (I)

Les limites maximales d'iode ont été définies par les réglementations en France, aux Etats Unis et en Nouvelle Zélande/Australie pour les algues comestibles, pas au niveau européen. En France, les critères de mise sur le marché déterminent une teneur maximale en iode de 2 000 mg/kg dans les algues, ce qui est supérieur aux standards Australiens qui sont de 1 000 mg/kg. Par contre aux USA elle atteint 5 000 mg/kg.

Le Tableau 8, montre les exemples au-dessus de 1 000 mg/kg en Europe et dans le monde. Aucune des données n'est au-dessus du seuil américain de 5 000 mg/kg.

Tableau 8: Espèces d'algues au-dessus du seuil maximal* d'iode en Europe (espace économique européen) et dans le monde.

Algue	Pays/région De production/ récolte et analyse	Plage de concentration (mg/kg)	Nb de citations/total de citations de la même espèce	Référence
<i>Saccharina latissima</i>	Bretagne Danemark Norvège	1 500-3 965	4/9	Lüning <i>et al.</i> , 2015
<i>Saccharina latissima</i>	Bretagne Danemark Norvège	1 500-3 965	4/9	Lüning <i>et al.</i> , 2015
<i>Saccharina japonica</i>	Corée	2 555	1/1	Lüning <i>et al.</i> , 2015
<i>Laminaria sp.</i>	Chine	2 934	1/1	Dawczynski <i>et al.</i> , 2007
<i>Ecklonia radiata</i>	Nouvelle Zélande	3 990	1/1	Smith <i>et al.</i> , 2010
<i>Hormosira banksii</i>	Nouvelle Zélande	1 041	1/1	Smith <i>et al.</i> , 2010

* teneur maximale en Iode de 1 000 mg/kg en Nouvelle Zélande/Australie ; 3 000 mg/kg en France

II.6 Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP)

Le règlement UE 835/2011 (Union européenne, 2011) a introduit de nouvelles teneurs maximales pour la somme des quatre substances HAP : (benzo(a)pyrène, benz(a)anthracène, benzo(b) fluoranthène et chrysène), tout en conservant séparément une teneur maximale pour le benzo(a)pyrène. Ce système garantirait le maintien des teneurs en HAP dans les aliments à des niveaux bénins et permettrait de contrôler la quantité de HAP dans les échantillons où le benzo(a)pyrène n'est pas décelable mais où d'autres HAP sont présents.

Les teneurs maximales sont déterminées pour certains types de denrées alimentaires (contenant des graisses et des huiles et dans les aliments pour lesquels les processus de

fumaison ou de séchage peuvent être à l'origine de niveaux élevés de contamination), mais cela n'inclut pas les algues. Pour les sprats et sprats en conserve (*Sprattus sprattus*) fumés, mollusques bivalves (frais, réfrigérés ou congelés), les limites sont de 5,0 ng/g pour le benzo(a)pyrène et 30 ng/g pour la somme de benzo(a)pyrène, benz(a)anthracène, benzo(b)fluoranthène et chrysène.

L'analyse a porté sur 48 données parues entre 2003 et 2018. Cela a permis d'évaluer environ 8 familles d'algues cultivées ou revendues dans 3 régions distinctes dans le monde : Mer Adriatique (Italie), Mer Jaune (Chine) et l'Atlantique nord (Canada). Dans ces études, la présence de HAP a été détectée dans 10 échantillons (Tableau 9), dont une algue qui avait une teneur en HAP > 30 ng/g (Océan Pacifique).

Tableau 9 : Teneur en HAP dans les algues

Elément	Algue	Pays/région De production/ récolte et analyse	Concentration (ng/g)	Référence
HAP*	<i>Ulva prolifera</i>	Chine	134-984	Li <i>et al.</i> , 2018
HAP*	<i>Ulva</i>	Italie	3,5	Pavoni <i>et al.</i> , 2003
HAP	<i>Gracilaria</i>	Italie	4,2	Pavoni <i>et al.</i> , 2003
HAP	<i>Porphyra</i>	Italie	5,1	Pavoni <i>et al.</i> , 2003
HAP	<i>Grateloupia</i>	Italie	7,0	Pavoni <i>et al.</i> , 2003
HAP	<i>Fucus</i>	Italie	3,5	Pavoni <i>et al.</i> , 2003
HAP	<i>Undaria</i>	Italie	17,3	Pavoni <i>et al.</i> , 2003
	<i>Treptacantha</i> spp. (<i>Cystoseira</i>)	Italie	8,6	Pavoni <i>et al.</i> , 2003
Elément	Algue	Pays/région D'analyse	Concentration (ng/g)	Référence
Phénanthrène	<i>Undaria pinnatifida</i>	Canada	15,5	Zhang <i>et al.</i> , 2018
Fluoranthène	<i>Undaria pinnatifida</i>	Canada	5,2	Zhang <i>et al.</i> , 2018

*16 HAP classés prioritaires par l'US EPA (United States Environmental Protection Agency) : naphthalène, acénaphthylène, acénaphtène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène, pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène, dibenzo(a,h)anthracène, benzo(g,h,i)pérylène, indéno (1,2,3,c,d)pyrène

II.7 Dioxines et polychlorobiphényles (PCB)

Le règlement CE 1881/2006 (Commission Européenne, 2006) fixe les teneurs maximales de dioxines et PCB pour certains types de denrées alimentaires (les viandes, les poissons, le lait, les œufs, les graisses animales ainsi que les huiles et graisses végétales et les denrées alimentaires destinées aux nourrissons et aux enfants), mais cela n'inclut pas les algues. Pour la chair musculaire de poisson, produits de la pêche et produits dérivés les limites sont de 3,5 pg/g pour la somme des dioxines (Dibenzo-p-dioxines (PCDD) et Dibenzofuranes (PCDF)), 6,5 pg/g (poids à l'état frais) pour la somme des dioxines et PCB de type dioxine (PCDD/F et somme des PCDD, PCDF et des polychlorobiphényles (PCB)) et 75 ng/g pour la somme des PCB (PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153 ET PCB180).

L'analyse a porté sur 51 données parues entre 1995 et 2018. Cela a permis d'évaluer environ 12 familles d'algues cultivées dans 6 régions distinctes dans le monde : Italie, Portugal, Espagne, Canada, Japon et l'Antarctique. Dans ces études, la présence de dioxine et PCB a été détectée dans plusieurs échantillons avec des teneurs variés (Tableau 10).

Tableau 10 : Teneur en PCDD, PCDF et PCB dans les algues

Elément	Algue	Pays/région De production/ récolte et analyse	Concentration (ng/g)	Référence
Polychlorodibenzo -p-dioxine (PCDDs)	<i>Eisenia bicyclis</i>	Japon	0,0045	Hashimoto <i>et al.</i> , 1995
	<i>Undaria pinnatifida</i>	Japon	0,028	
	<i>Sargassum fulvellum</i>	Japon	0,041	
	<i>Ceramium boydenii</i>	Japon	0,03	
	<i>Ulva sp.</i>	Estuaire du Mondego, Portugal	0,9949	Nunes <i>et al.</i> , 2011
	<i>Gracilaria sp.</i>	Estuaire du Mondego, Portugal	0,8703	
Polychlorodibenzo -furanes (PCDFs)	<i>Eisenia bicyclis</i>	Japon	0,00025	Hashimoto <i>et al.</i> , 1995
	<i>Undaria pinnatifida</i>	Japon	0,013	
	<i>Sargassum fulvellum</i>	Japon	0,018	
	<i>Ceramium boydenii</i>	Japon	0,012	
	<i>Ulva sp.</i>	Estuaire du Mondego, Portugal	0,1305	Nunes <i>et al.</i> , 2011
<i>Gracilaria sp.</i>	Estuaire du Mondego, Portugal	0,1247		
PCB planaire (Planar PCB)	<i>Eisenia bicyclis</i>	Japon	0,0004	Hashimoto <i>et al.</i> , 1995
	<i>Undaria pinnatifida</i>	Japon	0,0021	
	<i>Sargassum fulvellum</i>	Japon	0,0037	
	<i>Ceramium boydenii</i>	Japon	0,0023	
PCB	<i>Eisenia bicyclis</i>	Japon	0,027	
	<i>Undaria pinnatifida</i>	Japon	0,36	
	<i>Sargassum fulvellum</i>	Japon	1,1	
	<i>Ceramium boydenii</i>	Japon	0,24	
PCB 101	<i>Undaria pinnatifida</i>	Espagne	6,6	Crespo <i>et al.</i> , 2005
		Espagne	8,2	
		Espagne	7,7	

PCB (somme des 12 PCB étudiés)	<i>Desmarestia</i> sp.	Baie de l'Amirauté, Antartique	0,46 - 3,86	Montone <i>et al.</i> , (2001)
Somme des PCB	<i>Ulva</i> sp.	Estuaire du Mondego, Portugal	14,64	Nunes <i>et al.</i> , 2011
	<i>Gracilaria</i> sp.	Estuaire du Mondego, Portugal	50,08	

Ces données issues de la littérature ne représentent qu'un échantillonnage non représentatif des teneurs en métaux lourds, iode, HAP, dioxines et PCB dans les populations algales. En effet, les teneurs sont très dépendantes des conditions environnementales globales et locales des écosystèmes où sont récoltés les algues. Ces teneurs peuvent présenter des variations saisonnières. De plus, les procédés de lavages, de séchages et de stockages peuvent aussi apporter une contamination post-récolte pour certains métaux. Il convient donc d'analyser localement ces sources de variations pour une évaluation raisonnée du risque sanitaire potentiel.

III Méthodes d'analyses : performances et limites

III.1 Description des méthodes d'analyses

III.1.1 Normes

Les normes sont les méthodes officielles décrites pour les analyses, elles peuvent être de méthodologie générale (exemples : une méthode d'extraction pour différentes matrices et/ou paramètres, une méthode pour la détection de paramètres quel que soit la méthode d'extraction préalable) ou de méthodologie très spécifique (exemple : méthode décrivant l'extraction, la détection pour un type de matrice et pour un nombre de paramètres définis).

III.1.1.1 Internationales

- AOAC Official Method 2015.01 : Heavy Metals in Food by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS).
- AOAC International SMPR 2015.006 : Standard Method Performance Requirements (SMPRs) for Quantitation of Arsenic Species in Selected Foods and Beverages (ICP-MS).

III.1.1.2 Européennes

(NF en France, AFNOR)

- EN ISO 11885:2009 : T90-136 : Dosage d'éléments choisis par spectroscopie d'émission optique avec plasma induit par haute fréquence (ICP-OES). Les éléments suivants sont concernés : aluminium, antimoine, argent, arsenic, baryum, béryllium, bismuth, bore, cadmium, calcium, chrome, cobalt, cuivre, étain, fer, gallium, indium, lithium, magnésium, manganèse, molybdène, nickel, phosphore, plomb, potassium, sélénium, silicium, sodium, strontium, soufre, titane, tungstène, vanadium, zinc et zirconium.
- EN 13346:2000 : Méthode pour l'extraction, avec l'eau régale, des éléments traces et du phosphore se trouvant dans les boues et produits dérivés. La solution résultante est appropriée pour la détermination de As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se, Zn et P en utilisant des méthodes spectrométriques.
- EN 13806:2002 : Produits alimentaires - Dosage des éléments-traces - Dosage du mercure par spectrométrie d'absorption atomique par génération de vapeurs froides après digestion sous pression (CVAAS).
- EN 14083:2003 : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage du plomb, du cadmium, du chrome et molybdène par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (GFAAS) après digestion sous pression.
- EN 14084:2003 : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage du plomb, du cadmium, du zinc, du cuivre et du fer par spectrométrie d'absorption atomique (AAS) après digestion par micro-ondes.
- EN 14332:2004 : Produits alimentaires - Dosage des éléments trace - détermination de l'arsenic dans les aliments d'origine marine par spectrométrie d'absorption atomique à four graphite (GFAAS) après digestion par micro-ondes.

- EN 14546:2005 : Produits alimentaires - Détermination des éléments traces - Détermination de l'arsenic total par spectrométrie d'absorption atomique par génération d'hydrures (HGAAS) après calcination par voie sèche.
- EN 14627:2005 : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage de l'arsenic total et du sélénium par spectrométrie par absorption atomique par génération d'hydrures (HGAAS) après digestion sous pression.
- EN 15111:2007 : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage de l'iode par spectrométrie d'émission avec plasma induit par haute fréquence et spectromètre de masse (ICP-MS).
- EN 15662:2018 : Aliments d'origine végétale - Multiméthode de détermination des résidus de pesticides par analyse CG et CL après extraction/partition avec de l'acétonitrile et purification par SPE dispersive - Méthode modulaire QuEChERS - Aliments d'origine végétale - Détermination des résidus de pesticides par GC-MS et/ou LC-MS/MS après extraction/séparation à l'acétonitrile et nettoyage par SPE dispersive - Méthode QuEChERS.
- EN 15763:2009 : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage de l'arsenic, du cadmium, du mercure et du plomb par spectrométrie d'émission avec plasma induit par haute fréquence et spectromètre de masse (ICP-MS) après digestion sous pression.
- EN 16215:2020 : Aliments des animaux - Méthodes d'échantillonnage et d'analyse. Dosage des dioxines, des PCB de type dioxine et des PCB indicateurs par GC/HRMS - Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis. Determination of dioxins and dioxin-like PCBs by GC/HRMS and of indicator PCBs by GC/HRMS
- EN 16619 :2015 : Analyse des produits alimentaires - Dosage du benzo(a)pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène et benzo(b)fluoranthène dans les denrées alimentaires par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM). Pour les échantillons solides, l'extraction des HAP est effectuée par extraction liquide sous pression (PLE). L'extraction Soxhlet a été appliquée par certains participants lors de l'étude de validation de la méthode par l'essai interlaboratoires pour remplacer la PLE. La purification de l'échantillon est effectuée en appliquant les techniques suivantes dans l'ordre indiqué : chromatographie d'exclusion stérique (SEC) et extraction en phase solide (SPE)
- EN 16801:2016 : Produits alimentaires - Détermination des éléments et de leurs espèces chimiques - Détermination de la teneur en méthylmercure dans les produits alimentaires d'origine marine par dilution isotopique GC-ICP-MS.
- EN 17266:2019 : Produits alimentaires - Dosage des éléments et de leurs espèces chimiques - Dosage du mercure organique dans les produits de la mer par analyse du mercure élémentaire - Produits alimentaires - Dosage des éléments et de leurs espèces chimiques - Dosage du mercure organique dans les fruits de mer par analyse du mercure élémentaire.
- EN ISO 17852:2008 : Qualité de l'eau - Dosage du mercure - Méthode par spectrométrie de fluorescence atomique (FA).

Il s'agit ici de la liste des normes qui ont été utilisées pour les algues dans les publications étudiées, par contre, d'autres méthodes peuvent être utilisées concernant des matrices alimentaires.

Le Règlement UE 2017/644 (union Européenne, 2017) fixe les méthodes de prélèvement et d'analyse d'échantillons à utiliser pour le contrôle des teneurs en dioxines, en PCB de type dioxine et en PCB autres que ceux de type dioxine de certaines denrées alimentaires.

III.1.2 Accréditation

« Une accréditation du COFRAC reconnaît et atteste les compétences et l'impartialité des organismes de contrôle au niveau national, voire international. »

- ↳ ISO 17025 : Évaluation de la conformité - Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et des laboratoires d'essais.

De nombreux tests sont à réaliser pour valider une méthode d'analyse par élément pour obtenir la majorité des paramètres : Répétabilité, Reproductibilité/fidélité, Robustesse, Linéarité, Justesse, Rendement, Limite de détection, Limite de quantification.

Selon la décision de la Commission européenne 2002/657/EC (2002b), concernant les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats, les préconisations en termes d'expérimentations à réaliser sont :

- Analyse de 20 échantillons blancs → Spécificité
- Gamme d'étalonnage (5 niveaux) → Limite de décision (CC α)
- Gamme d'étalonnage (5 niveaux) → Linéarité
- Analyse de 20 échantillons supplémentés → Capacité de détection (CC β)
- Analyse de 20 échantillons supplémentés → Répétabilité/Reproductibilité
- Analyse de 5 échantillons supplémentés post-extraction → Rendement

Et cela doit être reproduit par différents techniciens en capacité de faire les analyses, pour assurer la reproductibilité quel que soit l'opérateur.

III.1.3 Agrément

Les analyses officielles sont réalisées par les laboratoires agréés conformément aux méthodes officielles publiées au Bulletin officiel du ministère chargé de l'agriculture. Toutefois, le ministre chargé de l'agriculture peut autoriser un laboratoire agréé à utiliser d'autres méthodes sous réserve que la preuve soit apportée de leur équivalence avec les méthodes officielles.

Les analyses d'autocontrôles sont réalisées par les laboratoires reconnus conformément aux méthodes reconnues publiées au Bulletin officiel du ministère chargé de l'agriculture. Lorsqu'une nouvelle méthode officielle est publiée pour un type d'analyse donné, les laboratoires agréés pour ce type d'analyse disposent d'un délai de dix-huit mois à dater de la publication pour obtenir l'accréditation relative à cette nouvelle méthode officielle.

Les laboratoires agréés réalisent les analyses officielles en santé animale, en hygiène des aliments et en santé des végétaux. A ce jour il n'y a pas de plan de surveillance et plans de contrôles (PSPC) pour les algues, mais à priori un plan de surveillance serait à l'étude.

III.1.4 Extraction des métaux

Les échantillons d'algues, dans la bibliographie étudiée, sont en majorité issus d'une récolte fraîche, transportés dans l'eau de mer et ensuite sont :

- lavés à l'eau douce (distillée, déionisée ou l'eau du robinet) suivi de l'élimination mécanique des épiphytes, des débris, du sable et d'autres organismes potentiellement présents dans les échantillons.
- séchés avant l'étape d'extraction (digestion ou minéralisation) des métaux pour analyse (Kim *et al.*, 2019; Squadrone *et al.*, 2018a, b; Ronan *et al.*, 2017; Cabrita *et al.*, 2016; Smith *et al.*, 2010; Morrison *et al.*, 2008).

Les échantillons solides doivent donc être mis en solution, généralement par digestion acide. Elle peut éventuellement être assistée par micro-ondes ou non, en systèmes ouverts ou clos. Ces derniers permettent une montée en température et pression élevées facilitant la mise en solution et évitant les pertes de composés volatiles.

III.1.4.1 Pour une analyse sur les éléments totaux

Une digestion, minéralisation de l'échantillon

- La méthode la plus utilisée est l'extraction à l'eau régale : mélange d'un volume d'acide nitrique et de 3 volumes d'acide chlorhydrique,
- et une minéralisation/un chauffage, selon différents modes :
 - o Ebullition dans un ballon muni d'un réfrigérant,
 - o Ebullition dans un tube en verre jaugé,
 - o Chauffe ballon ou bloc aluminium chauffant muni d'alvéoles,
 - o Extraction dans un four à microondes dans un réacteur fermé,
 - o Extraction dans un four à microondes dans un réacteur ouvert.

(Références : EN 13346, 2000 ; Almela *et al.*, 2006; Nielsen *et al.* 2016; Squadrone *et al.*, 2018a,b ; Roleda *et al.* 2019).

III.1.4.2 Pour la Spéciation

La spéciation est la détermination de la concentration de diverses formes chimiques d'un élément dans une matrice et toutes les espèces, ensemble, constituent la concentration totale de l'élément dans l'échantillon.

Pour l'extraction de différentes formes métalliques, il faut procéder à différentes étapes d'extractions successives :

Spéciation pour l'arsenic :

Préparation	Séparation/détection	Formes métalliques	Références
H ₂ O + Ultrason 2h	HPLC-ICP-MS	Arsénite [As(III)] Arséniate [As(V)] acide diméthylarsinique (DMAA) très rare: acide méthylarsonique (MMAA)	Narukawa <i>et al.</i> , 2012 ; Reis & Duarte, 2018

H ₂ O + chauffage 37°C/24h ou 80°C/2h ou 90°C/2h ou 100°C/2h Eau + micro-ondes 60°C/1h ou 80°C/1h	HPLC-ICP-MS	As(V), DMAA	Narukawa <i>et al.</i> , 2012
Eau, méthanol 1.0 (w/w)% HNO ₃ /37°C/24h	HPLC-ICP-MS	As (III), As(V), DMAA	Narukawa <i>et al.</i> , 2012
Eau, méthanol 1.0 (w/w)% HNO ₃ /100°C/2h	HPLC-ICP-MS	As(V), DMAA	Narukawa <i>et al.</i> , 2012
Ultrason 2h / pepsine A Chauffage 37°C 24h/ pepsine B Chauffage 37°C 24h / pepsine A Chauffage 37°C 24h / amylase A	HPLC-ICP-MS	As(V), DMAA	Narukawa <i>et al.</i> , 2012
Cartouche SPE avec une résine échangeuse d'ions	ICP-SF-MS	As (V) est retenu sur la cartouche As (III) traverse la cartouche	Chen <i>et al.</i> , 2014
SPE à double absorbant : résine échangeuse d'anions basique forte + particules d'oxyde de fer hydraté intégrées à la résine hybride	HGAAS	rétenion simultanée des espèces d'arsenic inorganique As (V) et As (III)	Issa <i>et al.</i> , 2010 ; Chen <i>et al.</i> , 2014
Résine échangeuse d'anions basique forte + résine hybride avec particules d'oxyde de fer hydraté (Hy-Fe) + résine hybride avec particules de chlorure d'argent (HY-AgCl)	ICP-MS	As (III) traverse la colonne As (V) traverse la résine Hy-Fe DMAA et MMAA traversent la résine HY-AgCl	Issa <i>et al.</i> , 2011 ; Chen <i>et al.</i> , 2014

Spéciation pour le cadmium :

5 étapes d'extraction successives (Zhao *et al.*, 2012, 2015)

Solvant d'extraction		Formes de Cd extraites
1	Ethanol 80%	Cd inorganique et amino-phénol-Cd
2	Eau distillée	Cd soluble, complexe organiques acides, Cd(H ₂ PO ₄) ₂
3	NaCl 1 M	Pectates et protéines
4	Acide acétique 2%	Phosphate insoluble, Cd ₃ (PO ₄) ₂ , complexe Cd-phosphate
5	HCl 0,6 M	Cd oxalate

Spéciation du mercure

Pour la quantification des espèces du mercure, il est essentiel d'utiliser des réactifs complexants dans le processus de prétraitement car les espèces du Hg ne sont pas détectables directement par simple spectrométrie d'absorption, même en utilisant les longueurs d'ondes des ultraviolets (UV). On utilise, par exemple, la L-cystéine (L-Cys), l'imidazole, l'acide mercaptoacétique, pour la détermination de la spéciation du Hg.

Préparation	Séparation/détection	Formes métalliques	Références
Hydrolyse dans de l'acide bromhydrique Extraction au toluène	Séparation par une solution aqueuse de cystéine	méthylmercure (MeHg),	Maulvault <i>et al.</i> , 2015
Réactif de complexation : 3-mercaptopropanesulfonate de sodium (MPS)	Electrophorèse capillaire à diodes (détection UV)	MeHg, éthylmercure (EtHg), phénylmercure (PhHg)	Wang <i>et al.</i> , 2019
KOH (6M) + micro-ondes HCl + micro-ondes	SPE-HPLC-CV-AFS*	MeHg	Morrison <i>et al.</i> , 2015 Brombach <i>et al.</i> , 2015
HCl +ultrason	Méthode basée sur la spectroscopie moléculaire	Hg ²⁺ , MeHg ⁺ , and EtHg ⁺	Zhao <i>et al.</i> , 2018
HBr + purification au toluène + solution aqueuse de cystéine	AAS + analyseur automatique de Hg	MeHg	Alves <i>et al.</i> , 2018 ; Maulvault <i>et al.</i> , 2015 Henriques <i>et al.</i> , 2015
Extraction microlitique Prétraitement d'extraction par ultrasons, passage sur une colonne C18 et évaporation pour concentrer l'éluant	Spectroscopie moléculaire	MeHg, EtHg, PhHg	Zhao <i>et al.</i> , 2018

*SPE-HPLC-CV-AFS : chromatographie en phase liquide spectrométrie de fluorescence AFS à vapeur froide

Spéciation pour l'iode

Parmi les espèces d'iode il y a les formes inorganiques d'iode comme iodure et iodate ou l'iode lié organiquement comme la monoiodotyrosine et la di-iodotyrosine.

Différentes techniques d'extraction sont utilisées pour la spéciation de l'iode dans les matrices alimentaires, environnementales et biologiques, couplées à un interfaçage avec diverses techniques de séparation a été utilisée dans les études de spéciation de l'iode pour séparer et caractériser diverses espèces:

- la chromatographie liquide à haute performance en phase inverse (RP-HPLC) (pour la spéciation d'espèces d'iode de faible poids moléculaire),
 - la chromatographie ionique (IC),
 - la chromatographie d'exclusion stérique (SEC)
 - l'électrophorèse capillaire (CE)
- avec une détection sélective ICP-MS.

Les teneurs en iode sont, en général, plus élevées que celles des métaux lourds, ce qui rend la séparation et la détection des espèces chimiques plus facile.

Préparation	Séparation/ détection	Formes métalliques	Références
0,1 M NaOH pour extraire des fractions de poids moléculaire élevé et faible	SEC / ICP-MS	iodure et iodate	Shah <i>et al.</i> , 2005
0,1 M NaOH	IC /ICP-MS	Wakame : en milieu d'extraction alcalin est l'iodure + faible quantité d'iodate. Kombu, seule espèce d'iode présente est l'iodure	Shah <i>et al.</i> , 2005
Hydrolyse enzymatique de la fraction protéique – production d'acides aminés iodés	RP-HPLC-ICP-MS	Wakame : monoiodotyrosine (MIT) et di-iodotyrosine (DIT)	Shah <i>et al.</i> , 2005
Pair d'ions : tétraméthylammonium hydroxide	RP-HPLC-ICP-MS	iodide, iodate, MIT and DIT	Han <i>et al.</i> , 2012
Analyse de flux + méthode d'ajouts dosés	électrode sélective d'ions iodure (ISE) + détermination indirecte de l'iodate par spectrophotométrie du nitrite	iodure et iodate	Santos <i>et al.</i> , 2015

III.1.5 Extraction des polluants organiques

Les méthodes d'extraction les plus utilisées sont l'extraction au Soxhlet, l'extraction liquide sous pression (PLE), l'extraction assistée par micro-ondes (MAE), ou la dispersion matricielle en phase solide (MSPD).

Les composés organiques sont généralement extraits en utilisant une grande variété de solvants tels que l'acétone, le benzène, le toluène, l'acétonitrile, le méthanol, le dichlorométhane ou des mélanges de solvants (Paris, 2017 ; Leoz-Garziandia, 2000).

Les fractions obtenues sont ensuite concentré par évaporateur rotatif, par exemple, comme décrit par Pavoni *et al.*, (2003).

Une étape de purification peut aussi être nécessaire par des étapes chromatographiques successives avec des différentes colonnes (silice, de Florisil et de Célite / carbone, par exemple comme décrit par Nunes *et al.*, 2011).

Le Règlement UE 644/2017 (Union Européenne, 2017) fixe les méthodes de prélèvement et d'analyse d'échantillons à utiliser pour le contrôle des teneurs en dioxines, en PCB de type dioxine et en PCB autres que ceux de type dioxine de certaines denrées alimentaires.

III.1.5.1 Extraction au Soxhlet

La procédure d'**extraction Soxhlet** implique généralement les étapes suivantes selon Zyglar *et al.* (2012) :

- 1- L'échantillon est emballé dans du papier filtre et placé dans la cosse.
- 2- Ensuite, les vapeurs d'un solvant frais, produites dans un ballon de distillation, passent à travers le dé contenant le matériau à extraire et sont liquéfiées dans le condenseur.
- 3- Lorsque le liquide atteint le niveau de débordement dans le dé, un siphon aspire la solution et le liquide retombe dans le ballon de distillation, transportant les solutés extraits dans le liquide en vrac.

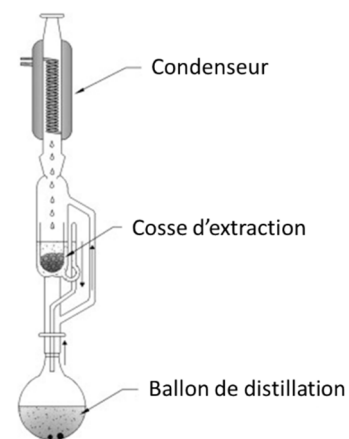


Figure 1 : Extracteur conventionnel soxhlet (modifié de Zyglar *et al.*, 2012)

- 4- La séparation du soluté du solvant a lieu dans le ballon de distillation.
- 5- Ensuite, le soluté est laissé dans le ballon et les vapeurs de solvant fraîches repassent dans le lit solide de l'échantillon. L'opération est répétée jusqu'à l'extraction complète.

III.1.5.2 Extraction par liquide pressurisé (PLE)

Un échantillon est introduit dans une cellule d'extraction. Elle sera soumise à des températures très élevées (de 50 à 200 °C). La pression est de 1 500 psi afin de garder le solvant à l'état liquide. Technique appelée en anglais «Accelerated Solvent Extraction» (ASE). Les solvants principalement utilisés sont l'eau, le méthanol, l'acétone ou l'hexane.

Selon les composés à extraire une grande variété de solvants peut être utilisés (organiques ou aqueux). Les avantages de cette technique sont :

- réduction de la quantité de solvant utilisé,

- gain de temps.
(ThermoScientific, 2020).

Nunes et al., (2011) a utilisé cette technique pour l'extraction de dioxines et PCB, en utilisant comme solvant un mélange composé de toluène et d'acétone à 70:30 (v/v).

III.1.5.3 Extraction assistée par micro-ondes (MAE)

Le processus global comprend les cycles nécessaires à la réalisation d'une extraction quantitative, dont le nombre est déterminé par la cinétique d'extraction de l'échantillon à analyser. Chaque cycle est divisé en trois étapes :

- 1- la chambre est remplie successivement par des vapeurs d'extraction qui se condensent ensuite dans le réfrigérant et tombent sur l'échantillon.
- 2- la cartouche contenant l'échantillon est irradiée par ultrasons pendant une période de temps définie.
- 3- le contenu de la chambre est déchargé une fois que l'extracteur a atteint la hauteur du siphon.

Initialement, on peut identifier sept paramètres qui peuvent affecter l'efficacité de l'extraction : l'amplitude du rayonnement ultrasonore, le pourcentage de cycle d'utilisation de l'exposition aux ultrasons, la température du bain-marie, le temps d'irradiation aux ultrasons, la hauteur de la sonde, l'angle d'inclinaison de la sonde et le nombre de cycles d'extraction

III.1.5.4 Dispersion matricielle en phase solide (MSPD)

Dans le procédé de **dispersion matricielle en phase solide (MSPD)**, un échantillon est placé dans un mortier en verre ou en agate contenant une phase liée appropriée ou un autre matériau de support solide. Le support solide et l'échantillon sont mélangés manuellement à l'aide d'un pilon en verre ou en agate, une étape qui prend environ 30 s. Le matériau mélangé est ensuite transféré et conditionné dans une colonne appropriée pour effectuer une élution séquentielle avec des solvants.

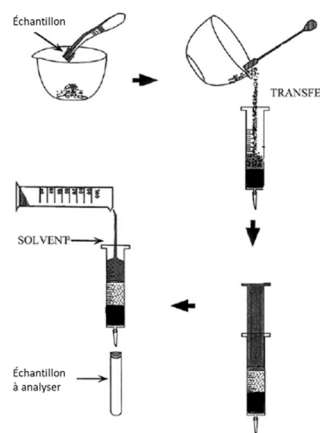


Figure 2 : Etapes d'une extraction MSPD typique (modifié de Barker, 2007)

La colonne est composée de composants d'échantillons mélangés et de leur distribution dans la phase liée et le support, produisant une nouvelle phase qui présente un caractère unique pour le fractionnement des échantillons. De cette manière, un solvant approprié ou une séquence de solvants peut être utilisé pour nettoyer la colonne ou isoler directement le ou les composés de choix (Barker, 2007).

III.1.5.5 Extraction par Quetchers

La technique QuEChERS est une approche simplifiée qui permet d'analyser des micropolluants dans les aliments (fruits, légumes, céréales...). Elle a été nommée en

fonction des avantages qu'elle apporte : rapide, facile, abordable, efficace, robuste et sécuritaire (**Q**uick, **E**asy, **C**heap, **E**fficient, **R**ugged and **S**afe).



- Homogénéisation de l'échantillon
- Transfert de l'échantillon dans un tube
- Ajout du solvant
- Agitation vigoureuse
- Ajouts de tampons salins et centrifugation
- Récupération de la phase liquide
- Purification si besoin

III.1.6 Séparation des composés

III.1.6.1 Chromatographie

La chromatographie est un procédé de séparation de composés présents dans un mélange. Il peut être utilisé pour la spéciation des métaux ou pour les polluants organiques.

Il existe 2 types de chromatographie :

- **Chromatographie Gazeuse (GC)** : les composés sont vaporisés par chauffage, ils doivent donc être thermostables et suffisamment volatiles. La solution contenant le mélange de composés dissous est injectée dans l'instrument dans lequel il est vaporisé, puis il se mêle à un flux gazeux (hélium) qui transporte l'échantillon jusqu'à un tube de séparation appelé «colonne». Puis la température du four est augmentée selon un gradient au cours de l'analyse. Les molécules présentes dans l'échantillon sont séparées selon leur volatilité, et leur affinité avec la phase stationnaire qui tapisse l'intérieur de la colonne. Ils sortent de la colonne (éluent) à un temps caractéristique (temps de rétention) (principe expliqué en III.1.8 avec schéma)
- **Chromatographie Liquide (LC)** : les composés sont séparés par entraînement par un liquide (phase mobile), selon leur polarité, à travers un solide divisé (phase stationnaire) la colonne chromatographique. Dans un premier temps les composés sont adsorbés à la phase solide. La phase liquide composée de 2 (ou plus) solvants évolue au cours du temps changeant ainsi de polarité et du coup entraînant au fur et à mesure les composés qui se désorbent selon leur polarité et arrivent au détecteur.

Si la phase stationnaire est une résine échangeuses d'ions qui permettent une fixation sélective des anions ou des cations présents dans l'échantillon, cela devient de la chromatographie ionique : ion chromatography (IC)

Préalablement au détecteur de spectrométrie de masse, les composés sont ionisés : Pour la **GC-MS** l'ionisation la plus commune est l'EI : Electronic Ionization : Ionisation électronique ou impact électronique. Des électrons émis par un filament rencontrent les molécules qui entrent dans la source : lors de la rencontre, si l'énergie cinétique des électrons est suffisante, un électron est arraché de la molécule M, la transformant en un ion radical M^+ . Celui-ci peut ensuite se fragmenter suivant son énergie interne. L'EI conduit ainsi à un spectre assez fourni, avec de nombreux fragments, très riche en informations structurales

En **LC-MS** une des ionisations possible est l'ESI : -electrospray ionization : L'ionisation par électronébuliseur est la dispersion d'un liquide sous forme de gouttelettes chargées électriquement. À pression atmosphérique, les gouttelettes de solutés sont formées à l'extrémité d'un fin capillaire, porté à un potentiel élevé, par un champ électrique intense, cela leur confère une densité de charge importante. L'effluent liquide est transformé en nuage de fines gouttelettes (spray) chargées suivant le mode d'ionisation (positif ou négatif).

III.1.6.2 Électrophorèse capillaire (CE)

L'électrophorèse capillaire (capillary electrophoresis : CE) est utilisée pour séparer des espèces ioniques selon leur charge et les forces de friction qui s'exercent sur elles.

En électrophorèse traditionnelle, les éléments chargés électriquement se déplacent dans un liquide conducteur sous l'influence d'un champ électrique. Introduite dans les années 1960, la CE a été conçue pour séparer des espèces chimiques selon leur rapport charge / taille à l'intérieur d'un petit tube capillaire rempli d'un électrolyte.

III.1.7 Détection des métaux

Les techniques de spectrométrie atomiques ou de masse sont souvent utilisées pour mesurer quantitativement la teneur en éléments d'un matériau. Elles nécessitent un échantillon en phase gazeuse dans lequel toutes les associations moléculaires ont été supprimées par atomisation. L'énergie nécessaire à cette étape est apportée par une torche à plasma d'argon entretenue par couplage inductif. Les atomes produits sont ensuite collectés et analysés par un spectromètre de masse, ou mesurés directement par spectrométrie d'émission optique ou atomique (OES et AES) ou d'absorption atomique (AAS). L'introduction dans le plasma se fait principalement sous forme liquide.

III.1.7.1 Spectrométrie de masse associée au plasma à couplage inductif (ICP-MS)

Le principe du spectromètre est basé sur la séparation des éléments en fonction de la charge et de la masse.

L'ICP-MS permet l'analyse simultanée d'éléments traces et ultra-traces.

Ce dispositif permet d'analyser en quelques minutes 20 à 30 éléments différents dans des matrices variées.

Sans aucune séparation chimique, il permet l'analyse de nombreux oligo-éléments au niveau ppb (10^{-9} g/g). La précision varie d'un élément à l'autre, en fonction du potentiel d'ionisation et des matrices étudiées, l'incertitude "routinière" moyenne étant inférieure à 3%.

L'analyse des échantillons par ICP-MS peut être divisée en étapes, selon le schéma de la Figure 3.

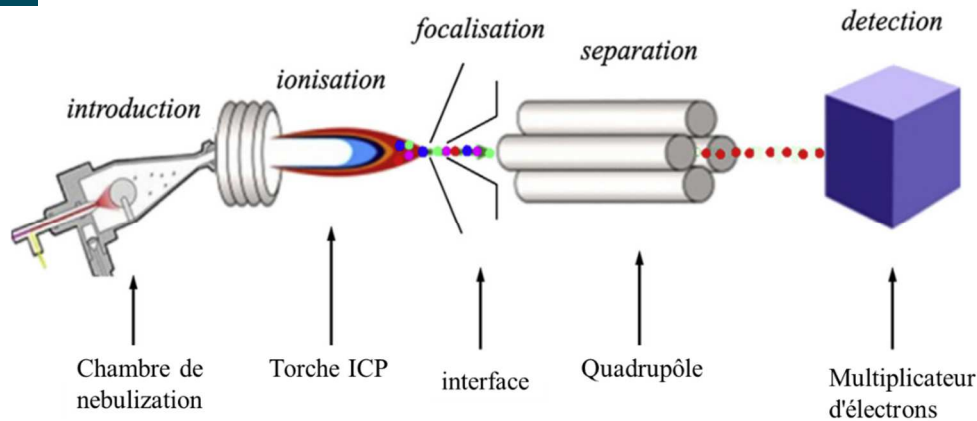


Figure 3 : Schéma générique d'un système ICP-MS (Modifié de Aceto, 2016)

- Système d'introduction: un dispositif transporte les échantillons vers le nébuleur, généralement sous forme liquide. Une pompe péristaltique est le dispositif le plus courant, fournissant un débit d'absorption constant. Un système automatisé, tel qu'un échantillonneur automatique, peut être présent afin d'optimiser le temps d'analyse et la consommation de réactifs.
- Système de nébulisation : il transforme l'échantillon d'une solution liquide en un aérosol composé de microgouttelettes légères à l'aide d'un flux d'argon incident.
- Compartiment ICP : le plasma d'argon est généré au sommet d'une torche, et il est alimenté par interaction avec le champ électromagnétique généré par une source radiofréquence. Lorsque l'échantillon nébulisé pénètre dans le plasma, il est instantanément vaporisé, dissocié et atomisé; puis les atomes sont transformés en ions en fonction du potentiel d'ionisation des éléments respectifs.
- Interface : la vapeur contenant des ions et des atomes est entraînée par l'argon à travers une interface composée de deux cônes ultérieurs, l'écumoire et le cône échantillonneur, qui permettent la focalisation des ions dans un petit volume.
- Spectromètre de masse : un quadripôle ou un hexapôle permet la séparation des ions selon leurs rapports m/z (masse/charge).
- Système de détection: un multiplicateur d'électrons transforme les signaux ioniques en impulsions électriques.

III.1.7.2 Spectrométrie à Emission Optique associée au plasma à couplage inductif (ICP-OES)

L'énergie thermique apportée par le plasma provoque une excitation des couches électroniques externes des atomes et des ions qui sont présents. La désexcitation radiative associée au retour des électrons sur des orbitales de plus basse énergie provoque **l'émission d'un rayonnement** dont la longueur d'onde correspond précisément à la différence d'énergie entre les orbitales. Chaque élément ayant des configurations électroniques différentes, on aura donc une famille de raie d'émission, qui lui sont spécifiques. L'intensité de l'émission est proportionnelle à la quantité de l'élément dans le plasma. Ils peuvent ainsi être séparés, identifiés et quantifiés. La détection peut se faire par balayage séquentiel d'un réseau (monochromateur) ou par des capteurs placés spécifiquement aux points de diffractions du réseau fixe (polychromateur). Lorsque la lumière sort du mono- ou polychromateur, elle est focalisée sur le détecteur et les signaux dérivés sont traités pour quantifier la composition élémentaire (Messer consulté le 22/07/2020) (Figure 4).

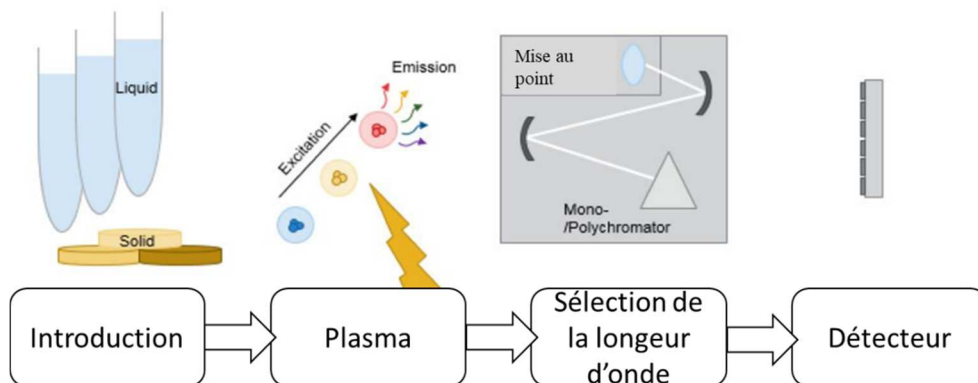


Figure 4 : Schéma générique d'un système ICP-OES. (Modifié de ThermoFischer Scientific, consulté le 03/07/2020)

III.1.7.3 Spectrométrie d'émission atomique associée au plasma à couplage inductif (ICP- AES)

Pour la spectrométrie d'émission atomique, on trouve les appellations d'ICP-AES (ICP atomic emission spectrometry) ou d'ICP-OES (ICP optical emission spectrometry). Il s'agit de la même technique.

Cependant la spectroscopie d'émission atomique (AES) est souvent désignée spectroscopie d'émission optique (OES), en particulier parce que l'acronyme (AES) désigne également la spectroscopie électronique Auger (AES). (Analyse élémentaire d'éléments de surfaces).

III.1.7.4 Spectroscopie d'absorption atomique (AAS)

La spectrométrie d'absorption atomique (AAS) est une technique de mesure du **rayonnement absorbé** par l'élément chimique d'intérêt, elle permet le dosage mono-élémentaire.

L'analyse des atomes ou des ions élémentaires est seulement possible dans un milieu gazeux où les ions sont bien séparés. La première étape de l'absorption atomique est la plus importante et s'appelle l'atomisation, étape pendant laquelle un échantillon en solution est transformé en vapeur atomique en utilisant une source de chaleur appropriée. La solution de l'échantillon est chauffée dans l'instrument à une température entre 2 000 et 3 000°C pour couper les liaisons chimiques, libérant les éléments et les transformant dans l'état atomique gazeux.

Les méthodes d'absorption atomique mesurent la quantité d'énergie sous forme de photons de lumière absorbée par l'échantillon. Un détecteur mesure les longueurs d'onde de la lumière transmise par l'échantillon et les compare aux longueurs d'onde qui ont initialement traversé l'échantillon. Un processeur de signal intègre ensuite les changements de longueur d'onde absorbée, qui apparaissent dans l'affichage comme des pics d'absorption d'énergie à des longueurs d'onde discrètes (García & Báez, 2012)

Spectroscopie d'absorption atomique à vapeur froide (CVAAS)

La spectroscopie d'absorption atomique à vapeur froide (CVAAS) est l'une des principales techniques d'analyse du mercure.

Le principe est de convertir toutes les formes chimiques du Hg présentes dans l'échantillon en Hg⁰ qui est volatile, par réactions d'oxydo-réduction. Ceci est réalisé par le chlorure stanneux (chlorure d'étain (II)).

Pour le fonctionnement (Figure 5), la plupart des instruments CVAAS ont une pompe péristaltique qui transporte l'échantillon et le chlorure stanneux dans un séparateur gaz-liquide où un flux de gaz pur et sec (généralement de l'argon) est introduit dans le mélange liquide pour libérer la vapeur de mercure. Le gaz transporte le mercure en phase vapeur à travers un séchoir et dans une cellule optique à absorption atomique. Une fois dans la cellule d'absorption, le mercure élémentaire absorbe la lumière à 253,7 nm en proportion logarithmique par rapport à sa concentration réelle dans l'échantillon. En utilisant ce principe, le détecteur, en combinaison avec le logiciel, est capable de déterminer la quantité de mercure présente dans l'échantillon (Seibel, 2016).

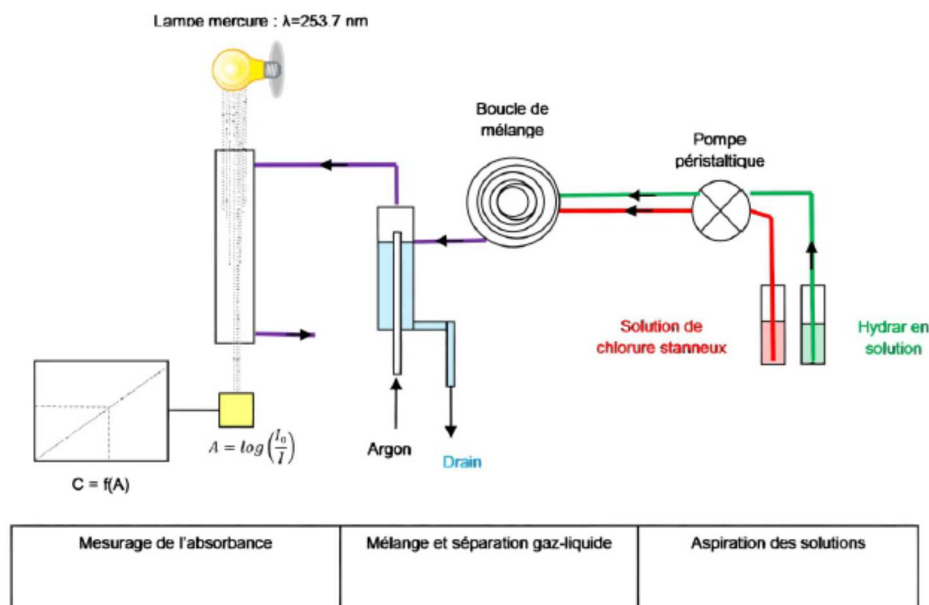


Figure 5 : Schéma générique d'un système CVAAS (INRS, 2016).

Spectrométrie d'absorption atomique de flamme (FAAS)

Pour la FAAS, l'échantillon en solution est transformé en vapeur atomique en utilisant comme source de chaleur la flamme (Causserand, consulté le 03/07/2020). (Figure 6)

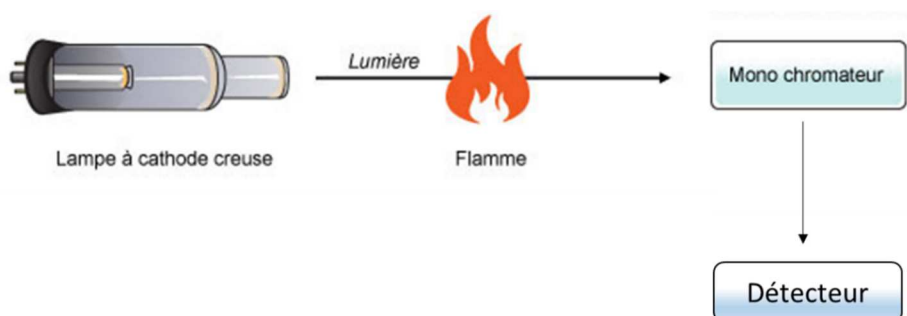


Figure 6 : Schéma générique d'un système FAAS (Modifié de UVED, 2008).

Spectrométrie d'absorption atomique par four graphite (GFAAS)

Un autre atomiseur est le four de graphite où la solution est injectée dans un four électrothermal de graphite (AAS électrothermique). Il s'agit d'un cylindre ouvert en carbone (d'où Graphite Furnace) placé dans le parcours de la lumière. Dans ce cas les atomes ont un temps de résidence plus long dans le parcours optique et des volumes

d'échantillons plus petits peuvent être atomisés à températures très élevées. Un courant électrique passe à travers le tube de graphite pour le chauffer. Doucement au début pour sécher l'échantillon et après rapidement pour vaporiser et atomiser les atomes dans l'analyte (UVED, 2008). Les mesures se font par injections discrètes dans le four, contrairement aux méthodes en flux continu de l'ICP.

III.1.7.5 Spectrométrie par fluorescence

Spectroscopie par fluorescence atomique (AFS)

La fluorescence atomique est basée sur les mêmes principes que l'émission atomique (cf plus haut), l'excitation n'est pas apportée par collisions dans un plasma, une flamme ou un four, mais par un rayonnement d'une longueur d'onde précise spécifique de l'élément à mesurer. La désexcitation peut se faire en résonance, retour au niveau d'énergie d'origine, donc émission d'un rayonnement de longueur d'onde identique à celui d'excitation. Dans certains cas, la désexcitation va s'arrêter à des niveaux d'énergie plus élevés que le niveau initial. Le rayonnement produit a donc une énergie plus faible et une longueur d'onde supérieure. C'est la différence de Stokes aussi appelée fluorescence Stokes. A noter que par excitation Laser un schéma anti-Stokes est aussi possible où la longueur d'onde de fluorescence est inférieure à celle d'excitation. Ceci permet de s'affranchir du rayonnement de corps noir.

L'analyse de solutions ou de solides à l'aide d'AFS nécessite l'atomisation, l'évaporation ou la dissolution de l'analyte. Cela se fait habituellement dans un four à flamme ou à graphite ou dans un caloduc.

Spectroscopie par fluorescence atomique à vapeur froide (CVAFS)

Le mercure a une caractéristique unique : il est volatil à l'état Hg^0 ce qui permet de mesurer la vapeur à température ambiante. Les atomes de mercure libres dans un gaz vecteur (l'argon) sont excités par une source de lumière ultraviolette collimatée à 253,7nm. Les atomes excités rayonnent à nouveau cette énergie absorbée (fluorescence) à cette même longueur d'onde. Contrairement à la source d'excitation directionnelle, la fluorescence est omnidirectionnelle et peut donc être détectée à l'aide d'un tube photomultiplicateur ou d'une photodiode UV (Canada, 2019)

Spectrométrie par fluorescence X – spectrométrie Auger

La technique d'analyse par spectrométrie de fluorescence X est basée sur le bombardement de la surface d'un échantillon par un rayonnement primaire X, de faible longueur d'onde et donc de forte énergie. Au niveau atomique, l'énergie du rayonnement X primaire doit être supérieure à l'énergie de liaison pour qu'un électron soit éjecté de son orbite, l'atome est alors ionisé, créant un état instable jusqu'à son remplacement par un autre électron.

Cette spectroscopie présente l'avantage de mobiliser les électrons des couches électroniques internes proches du noyau. De ce fait elle est moins sensible aux effets de matrice lorsque des composés moléculaires sont encore présents. Elle peut être utilisée sans étape préliminaire d'atomisation. Son utilisation principale est dans le domaine des solides (analyses des aciers par exemple).

Cette transition électronique d'une couche supérieure à une couche interne plus proche du noyau s'accompagne soit de l'**émission d'un photon X** (fluorescence X) soit d'une transmission d'énergie à un des électrons atomiques (émission Auger).

L'énergie des électrons secondaires émis, est ainsi fixée par la différence entre l'énergie gagnée lors de la transition électronique de désexcitation interne entre les états électroniques impliqués et l'énergie nécessaire pour ioniser l'atome (potentiel d'ionisation). La différence d'énergie, fixée par la spectroscopie et donc la nature de l'atome concernée,

est emportée sous forme d'énergie cinétique par l'électron émis. L'analyse en énergie des électrons émis permet ainsi de déterminer la nature des atomes présents à la surface d'un échantillon. C'est la "spectrométrie Auger". (Rigaux, 2017 ; Iramis-CEA, 2013).

III.1.7.6 Analyseur de mercure

Le principe de fonctionnement du système est basé sur la technique CV-AFS décrite plus haut couplée à un système de flux continu. D'abord, le mercure présent dans l'échantillon est transformé en son état élémentaire en ajoutant un agent réducteur. Dans un réacteur à écoulement transversal, le mercure est retiré avec un courant gazeux et amené dans la cellule optique (Envea, 2019).

L'échantillon solide ou liquide est déposé dans une nacelle en nickel préalablement tarée. La nacelle est installée soit manuellement, soit automatiquement grâce à un passeur d'échantillon et sera introduite automatiquement dans le four de décomposition / calcination. Après l'introduction de l'échantillon dans l'analyseur, une montée en température, en deux étapes, jusqu'à 750°C, sous courant d'oxygène permet le séchage de la matrice et la décomposition de l'échantillon et sa minéralisation par voie sèche.

Les produits de décomposition et le mercure sont entraînés par le courant d'oxygène, à travers un four de catalyse chauffé à 550°C, en continu. Ce four de catalyse permet la réduction des méthyls-mercure en mercure, le piégeage des halogènes, etc.

A la sortie du four de catalyse, les vapeurs de mercure sont piégées sur un tube en quartz rempli de sable revêtu d'or (piège de Timmerman).

Après le piégeage sur l'amalgame d'or, un relargage du mercure s'effectue par réchauffage du piège de Timmerman qui libère le mercure aux alentours de 950°C.

La mesure du mercure libéré est assurée par une double cellule à absorption, thermostatée et à 125°C, qui permet l'exécution de deux lois de Beer-Lambert-Bouguer séquentiellement. Le signal donné par le détecteur est traité par un logiciel (Symalab, consulté le 22/07/2020).

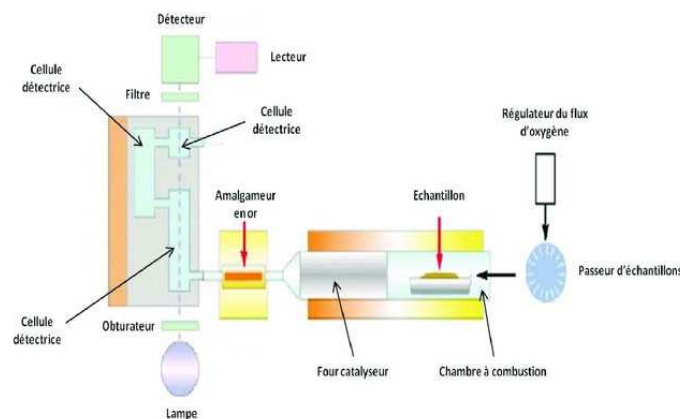


Figure 7 : Présentation d'un analyseur de mercure (Nicolas, 2010)

Pour la **spéciation** des éléments métalliques une chaîne de chromatographie liquide placée en amont de la spectrométrie de masse permet la séparation des différentes formes de métal et ainsi que l'identification et quantification des différentes formes.

III.1.8 Analyse par activation neutronique (NAA)

L'analyse par activation neutronique (ANA ou NAA en anglais) est un procédé nucléaire utilisé pour déterminer les concentrations d'éléments présents dans un échantillon. L'ANA repose sur l'excitation par des neutrons, de sorte que l'échantillon traité émet des rayons

gamma. L'échantillon est irradié dans un réacteur nucléaire, donnant lieu à l'émission de rayons gamma pendant la désintégration, ces rayons sont analysés.

Ces signatures énergétiques vont pouvoir permettre l'identification des composés présents ciblés alors que leur taux de comptage sera proportionnel à leur concentration dans l'échantillon. (Hamidatou, 2019).

L'activation neutronique est une méthode analytique, sensible et précise.

III.1.9 Détection des polluants organiques

La chromatographie gazeuse (GC) est un procédé de séparation de composés présents dans un mélange. L'analyse de solutés liquides ou solides impose de pouvoir les vaporiser par chauffage, ils doivent donc être thermostables et suffisamment volatiles.

La solution contenant le mélange de composés dissous est injectée dans l'instrument dans lequel il est vaporisé, puis il se mêle à un flux gazeux (hélium) qui transporte l'échantillon jusqu'à un tube de séparation appelé «colonne». Les molécules présentes dans l'échantillon sont séparées selon leur volatilité, et leur affinité avec la phase stationnaire qui tapisse l'intérieur de la colonne. Ils sortent de la colonne (éluent) à un temps caractéristique (temps de rétention). Enfin, le détecteur en spectrométrie de masse (MS) permet de quantifier chaque composé en sortie de colonne.

Pour mesurer la concentration dans un échantillon inconnu, une solution étalon de concentration connue est injectée sur le système. Le temps de rétention et l'aire du pic de l'étalon sont comparés à ceux de l'échantillon pour calculer la concentration.

La partie spectrométrie de masse (MS) :

Les molécules arrivant dans la source sont ionisées par impact avec les électrons émis par le filament de rhénium chauffé. Les ions sont ensuite extraits et focalisés par l'intermédiaire de 3 lentilles vers le centre de la trappe. La trappe est formée d'une électrode circulaire recouverte de 2 calottes sphériques.

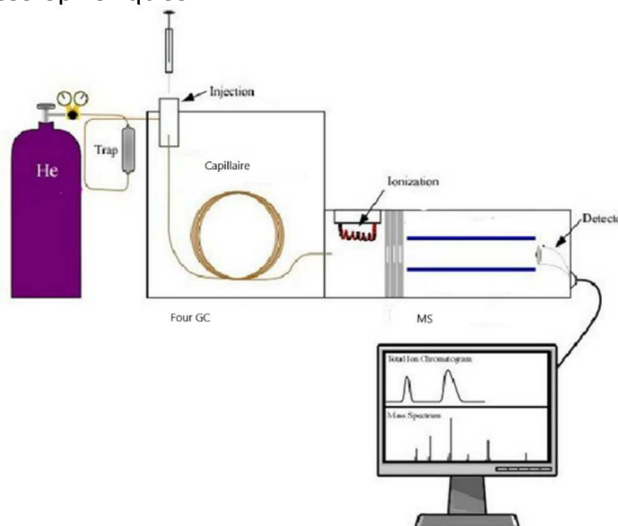


Figure 8 : Schéma CG-MS (modifié de Wu *et al.*, 2012)

Les ions sont d'abord stabilisés dans la trappe selon des orbites bien définies par la superposition de tensions continues et alternatives (radiofréquence RF) sur ces électrodes, permettant ainsi d'obtenir une sorte de quadripôle. Puis l'amplitude de la RF augmente progressivement, entraînant l'éjection des ions selon leur rapport m/z . Les ions sont enfin détectés par un multiplicateur d'électrons (ICMPE, 2020). Le spectre de masse est spécifique à chaque composé il donne sa masse et les fragments dus à l'impact électronique.

La GC à haute résolution (HRGC) couplé à la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) augmente significativement la résolution et offre ainsi une plus grande fiabilité, une sélectivité élevée et une sensibilité adéquate. (ex. : 0,5 fg de 2,3,7,8-TCDD sur colonne peut être détecté).

La haute résolution et la précision des mesures de masse sont étroitement liées, c'est-à-dire qu'une bonne précision de masse dépend de pics suffisamment résolus (c'est-à-dire une résolution de masse élevée) et une résolution inadéquate nuit considérablement à la capacité de discerner la présence d'une interférence.

L'appareil de HRGC-HRMS est équipé d'un grand aimant, double secteur magnétique et électrostatique (champs électriques et magnétiques séquentiels, en conjonction avec différentes lentilles correctrices ; secteurs magnétiques pour le filtrage de masse ; secteurs électrostatiques pour la focalisation d'énergie ; secteur combiné MS conçu tel que des ions d'énergies différentes, mais de même masse, re-convergent au niveau du collecteur). Cette configuration augmente la résolution à 10 000 unité de masse atomique (uma), c'est-à-dire qu'il peut séparer des molécules qui ont le même temps de rétention, mais dont les masses sont espacées de 0,0001 uma (Ríordáin, 2019).

III.1.10 Matériaux de référence

Définitions

Matériau de référence (RM ou RM en anglais) : matériau ou substance dont une (ou plusieurs) valeur de la propriété est suffisamment homogène et bien définie pour permettre de l'utiliser pour l'étalonnage d'un appareil. Ce matériau permet l'évaluation d'une méthode d'analyse et permet de conforter les résultats trouvés pour les échantillons analysés.

Matériau de référence certifié (MRC ou CRM en anglais) : matériau de référence, accompagné d'un certificat, dont une (ou plusieurs) valeur de concentration est certifiée par une procédure qui établit son raccordement métrologique à une réalisation exacte de l'unité dans laquelle les valeurs de la propriété sont exprimées.

Ces matériaux de référence sont utilisés de façon régulière, afin de vérifier la fiabilité des résultats. Dans le cadre de l'accréditation COFRAC, le contrôle de l'utilisation de matériaux de référence est réalisé.

Si un matériau de référence n'est pas trouvé dans la même matrice que la matrice de l'échantillon (ici le cas des algues) des matériaux de référence dans une matrice proche sont utilisés.

Seuls certains organismes peuvent certifier les concentrations annoncées, alors que pour les MR des laboratoires peuvent en préparer, vérifier la concentration par des Exercices Interlaboratoires et le commercialiser.

Matériaux proposés :

International Atomic Energy Agency, Vienne, Autriche :

- IAEA-392 : algue (*Scenedesmus obliquus* 208) : As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Zn
- IAEA-413 : algue (*Chlorella Boehm*) : As, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Zn
- IAEA-140 : algue (*Fucus* sp) : composés organochlorés et hydrocarbures (HAP) (2000)

FAPAS : FCCM37-VEG64, Proficiency Test 07380, algue (espèce non spécifiée) : $As_{inorganique}$, As_{total} , Cd, I, Pb, Hg_{total} , Ni

GBW08521 National Institute of Metrology, Chine : algue comestible : Laver/nori : As, Cd.

GBW 08517 The Second Institute of Oceanography, SOA, Chine : algue Kelp (*Thallus laminariae*, algue géante des côtes nord-américaines du Pacifique, néo-zélandaises ou sub-antarctiques) : As, Cd.

European Commission Directorate-General Joint Research Center :

- BCR 060 plante aquatique (*Lagarosiphon major*) Al, Cd, Cu, Pb, Mn, Hg, Zn.
- BCR-279: algue (*Ulva lactuca*) : As, Cd, Cu, Pb, Se, Zn
- BCR-414: plankton : As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Mn, Pb, Se, V, and Zn.
- BCR-596: Plante aquatique (*Trapa natans*) : Cr
- NMIJ CRM 7405a Hijiki : Al, ASinorganique, AStotal, Ba, Cd, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Mg, Mn, Ni, P, Na, Sr, Zn.

Développement récent d'un SRM 3232 Kelp Powder (*Thallus laminariae*) par Yu *et al.*, (2018) : As, Ca, Cd, Cr, Cu, I, Fe, K, Mg, Mn, Na, Pb, Zn (certified mass fraction) ; Al, Cl, Co, P, Rd, Vitamine K1, arsénosucres 328, arsénosucres 392, arsénosucres 482, acide diméthylarsenic, cendres, carbohydrates, protéines, graisses.

(Dans les algues marines, l'arsenic se présente principalement sous forme de dérivés de ribose connus collectivement sous le nom d'arsénosucres)

Remarque : ces références ont été trouvées dans la bibliographie ou sur les sites de vente mais cela ne veut pas dire que tous sont disponibles.

III.1.11 Exercices InterLaboratoires (EIL)

Les exercices d'Intercalibration entre laboratoires permettent aux laboratoires de comparer leurs résultats sur un ou plusieurs échantillons (matrice/paramètre(s)) avec des concentrations vérifiées, envoyés par l'organisateur et d'obtenir :

- le Z-score qui est une grandeur sans unité. Un signe négatif indique que la valeur mesurée est inférieure à la valeur cible, un signe positif que la valeur mesurée est supérieure à la valeur cible. Le Z-score est corrélé avec l'écart-type (SD).

Chaque laboratoire peut ainsi constater comment il se situe par rapport à la valeur cible et aux autres laboratoires.

Ces exercices permettent une comparabilité des résultats des contrôles entre laboratoires, une meilleure maîtrise de la qualité de l'analyse.

Ces exercices sont demandés lors des audits COFRAC (environ tous les 18 mois) afin d'assurer la qualité des résultats, et ainsi permettre d'obtenir les accréditations COFRAC.

Organisme organisant des EIL

- BIPEA : Eléments traces végétaux : 0532 : Algues : Cu, F, I, Mg, Mo, Ni, Pb, Se.

III.2 Performances analytiques des méthodes d'analyses

III.2.1 Contexte et Méthode

Dans le chapitre précédent, les caractéristiques des méthodes ont été décrites. Parmi celles-ci, la limite de détection, la limite de quantification et la précision sont nécessaires pour évaluer si la méthode développée est applicable aux spécifications clients/réglementaires requises sur le produit analysé.

Classiquement, les spécifications sur un produit fabriqué s'expriment par deux valeurs : l'une est la limite maximale admissible (USL) et l'autre la limite inférieure minimale admissible (LSL). Cette approche est identique pour l'évaluation d'un procédé industriel.

En ce qui nous concerne, il s'agit d'une matière algale sauvage dont les spécifications sont fixées réglementairement pour répondre à des exigences sanitaires. Elles s'expriment sous la forme $< USL$, par exemple $< 0,5 \text{ mg/kg}_{\text{sec}}$ pour le Cd. La LSL est alors $= 0$.

La performance de la méthode d'analyse utilisée pour vérifier ces concentrations en métaux lourds et autres polluants est donc importante à caractériser. Elle permet d'évaluer le risque associé au rendu des résultats et donc le risque de la prise de décision : lot conforme ou non conforme.

Le premier critère est de vérifier que la limite de détection (LOD) soit bien inférieure à l'USL.

Toutefois il est fortement souhaitable que la limite de quantification (LOQ) soit inférieure à l'USL.

Si d'un point vue technologique, la méthode est limitée par rapport aux spécifications clients, il est possible d'utiliser la gamme de concentrations entre la LOD et la LOQ, mais il faut alors modéliser l'évolution de la précision ou de l'incertitude en fonction de la concentration afin de rendre un résultat avec son niveau d'incertitude. En effet, celle-ci se dégrade quand on s'approche de la LOD.

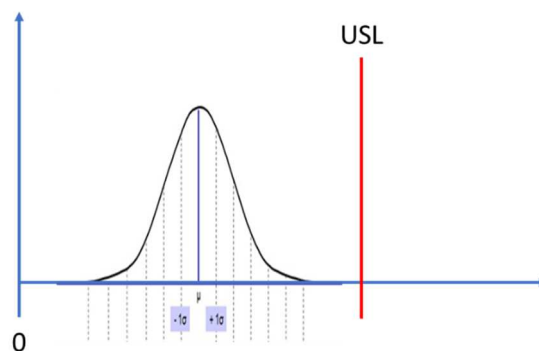


Figure 9 : Profil de répartition aléatoire, de type gaussien des mesures répétitives sur un même échantillon.

μ est la moyenne des mesures et σ l'écart type. USL est la limite supérieure des spécifications

La mesure physico-chimique n'étant pas absolue, à chaque résultat est associé une précision qui correspond à la répartition aléatoire de mesure répétitive sur un même échantillon. Elle se caractérise, en général, par une répartition gaussienne dont les caractéristiques sont la moyenne et l'écart type.

La figure ci-dessus illustre cette répartition et comment elle peut se positionner par rapport à l'USL. Dans cet exemple précis, le risque de résultat non conforme est quasiment nul, si l'échantillon analysé est représentatif du lot de matière.

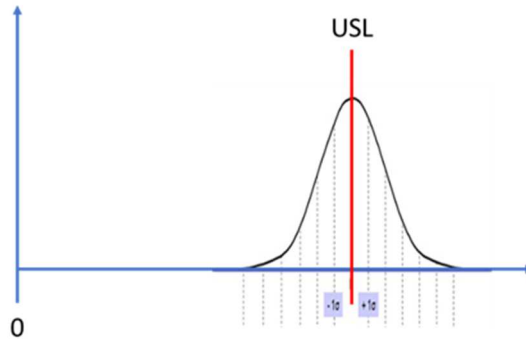


Figure 10 : Profil de répartition des mesures d'un même échantillon à proximité de l'USL.

La situation est plus problématique lorsque le résultat de la mesure s'approche de l'USL. Dans la figure ci-dessus, nous décrivons le cas où le résultat est égal à l'USL. Visuellement, il apparaît clairement que 50% des résultats d'analyse seront considérés $>$ USL. Une décision pour déclasser les lots pourraient alors être prise alors qu'ils sont conformes. De même si la moyenne des résultats était $>$ USL, la répartition gaussienne des résultats de mesure pourrait conduire à certaines valeurs $<$ USL. D'où une décision de lot conforme alors que le lot est non conforme. Ceci pour un nombre de mesures réduit à 1 ou 2 essais.

Il est possible de réduire la largeur de dispersion en multipliant le nombre de mesures du même échantillon (n). L'amélioration se fait alors au rythme de \sqrt{n} . C'est-à-dire que pour 9 mesures, on améliore la répétabilité d'un facteur 3.

Pour des contrôles de routine cette option d'un grand nombre de mesures n'est pas envisageable, car non viable économiquement, d'où l'évaluation du niveau de risque apporté par la méthode quant à la prise de décision pour qualifier les mots de matière.

Nous avons indiqué que la LOQ de la méthode d'analyse devait être $<$ USL. Nous pouvons préciser maintenant que celle-ci doit se trouver au minimum à 3 écarts types de l'USL pour un niveau de risque $<$ 0,3%. Ce niveau peut être ajusté en fonction du contexte. Par exemple si la technologie ne permet que $USL - LOQ = 2$ sigmas, le niveau de risque sera de 5%, pour ce premier critère.

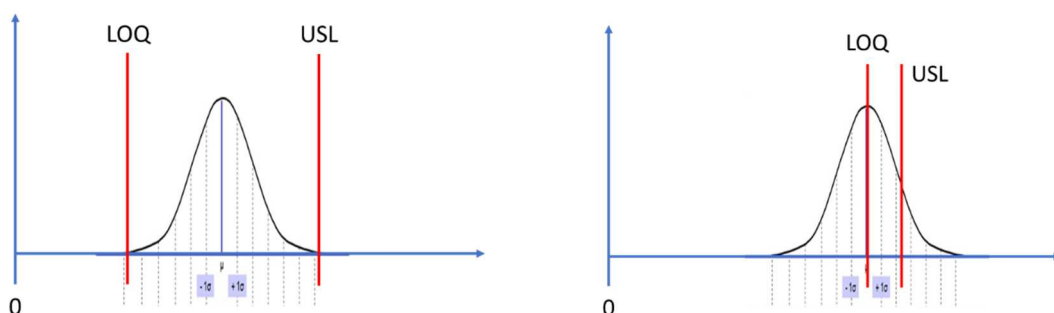


Figure 11 : Profils de répartition des mesures d'un même échantillon à proximité de l'USL, lorsque la LOQ de la méthode est proche de l'USL.

Les connaissances statistiques sur le contrôle des procédés, en particulier la démarche visant à réduire le taux de malfaçons, a conduit à des gammes d'outils tels que «6 sigma» initialement développé par Motorola, puis largement répandu dans le monde industriel.

La notion de capabilité du procédé à délivrer une pièce conforme aux spécifications du client, est devenue modélisable. Elle permet d'améliorer les procédés, mais aussi de les simplifier afin de ne pas faire de sur-qualité.

Cette approche se décline aussi aux méthodes de mesures qui sont largement utilisées pour qualifier les procédés. Lors d'audit de système de production, il n'est pas rare de constater que la partie la plus importante de la variabilité d'un produit est issue de la mesure et non pas du process lui-même. D'où la notion de capabilité de mesure.

La définition de base est la suivante : la capabilité d'un processus de mesure traduit la capacité dudit processus à donner une mesure fiable, compatible avec l'intervalle de tolérance de la grandeur à mesurer (Chrysler Group *et al.*, 2010). Dans le domaine industriel, en particulier dans l'approche « 6 sigma », le ratio suivant est utilisé et combiné avec un intervalle de confiance statistique. Le résultat se nomme alors : Capabilité, (Cp). Son calcul s'effectue de la manière suivante (What Is Six-Sigma.Net, 2019) :

$$Cp = \frac{USL - LSL}{N\sigma}$$

Où :

- *USL = limite haute de la spécification*
- *LSL = limite basse de la spécification*
- *σ = écart type de la mesure à la valeur μ*
- *N = 6 dans un process « 6 sigma ».*

Dans notre cas, LSL = 0, on a donc :

$$Cp = \frac{USL}{N\sigma}$$

Nous utiliserons cette approche simplifiée pour évaluer les méthodes d'analyse. Le choix du N dépend du niveau de risque maximum admissible et du coût maximum tolérable pour le procédé. N = 6 donne un risque de 0,000002%, ce qui est peut-être excessif pour notre contexte. N= 4 nous donne un risque de 0,6 % et N=3, un risque de 4,7 %. Nous choisirons N = 4 pour nos calculs.

Exemple : Pour le Cd dans les algues alimentaires, la réglementation donne une spécification < 0,5 mg/kg_{sec}. L'USL = 0,5 et donc la tolérance client est : USL - LSL = 0,5 - 0 = 0,5 mg/kg_{sec}

$$Cp = \frac{0.5}{4\sigma}$$

Si la méthode de mesure présente un sigma de 0,05 mg/kg_{sec} (équivalent à 10% de précision à la concentration de 0,5 mg/kg_{sec}), on aura un Cp = 2,5. Si la précision de la méthode est de 50%, le Cp = 0,6

On peut utiliser l'incertitude de la méthode analytique dans le calcul du Cp. Celle-ci s'exprime de manière absolue ou relative à la concentration mesurée. Afin de prendre en compte la population de mesures de manière statistique, on utilise un élargissement de l'incertitude en fonction du niveau de risque tolérable.

$$I = k * \sigma$$

Pour une concentration mesurée X, l'incertitude relative est alors, exprimée en % :

$$Ir = \frac{I}{X} = 1 * k * \frac{\sigma}{X}$$

Où σ est l'écart type de n mesures et k l'élargissement. Pour un niveau de confiance à hauteur de 95%, $k = 2$. Lorsque que l'incertitude relative élargie est exprimée sous cette forme, l'écart type peut être calculé pour une valeur donnée, comme par exemple l'USL. Le calcul du Cp devient alors :

$$Cp = \frac{USL}{\frac{4 * Ir * USL}{2}}$$

$$Cp = \frac{2}{4 * Ir}$$

Si on n'utilise pas l'incertitude élargie, mais simplement le Coefficient de Variation $Cv = \sigma/X$, ou la reproductibilité de la méthode, le calcul du Cp est alors :

$$Cp = \frac{1}{4 * Cv}$$

Nous constatons dans cet exemple que le Cp, indiquant la capabilité de la méthode, devient alors uniquement dépendant de l'incertitude de la mesure, exprimée sous différentes formes. Ceci n'est valide que si la valeur de l'USL est une valeur type appartenant au domaine d'application quantitative de la méthode et sur lequel l'incertitude relative est constante.

En particulier la Limite de Quantification (LOQ) doit être inférieure à l'USL avec un écart $USL - LOQ > 4$ sigmas, pour un niveau de confiance à 99,4%.

Pour qualifier les processus de fabrication, il est d'usage de considérer que $Cp > 5$, toutefois le contexte peut considérer comme capables des méthodes d'analyses ayant un Cp plus faible, ce qui est notre cas. En effet, un coefficient de variation à hauteur de 10% est acceptable pour certaines analyses de métaux lourds dans les algues. Ceci nous donne un $Cp = 2.5$.

III.2.2 Résultats

III.2.2.1 Capabilité par analyte

L'analyse de capabilité présentée ici vise à répondre à la question : Quel est le niveau de risque associé à la prise de décision sur la conformité des lots d'algues alimentaires en regard des normes en vigueur ?

A partir d'une compilation des données de la littérature sur les analyses des algues, lorsque les méthodes d'analyses ont été présentées avec leurs caractéristiques (incertitude, LOD, LOQ), il a été possible de calculer les Cp. Les normes françaises sur les algues alimentaires ont été utilisées.

La compilation comporte 167 données utilisables.

La figure ci-dessous montre que toutes les méthodes utilisées sont capables par rapport aux normes. La plupart des Cp sont supérieurs à 5. Seules celles pour le mercure et pour l'étain ont un Cp faible qui reste cependant > 2.5 . Elles sont en limite de capabilité. La méthode de préparation des échantillons pour cette analyse apporte un niveau d'incertitude assez élevé.

Pour répondre à la question initiale : le niveau de risque sur la décision de conformité des lots d'algues quant aux teneurs en métaux lourds est inférieur à 0,3%, pour l'ensemble des métaux et des méthodes intégrées à l'étude.

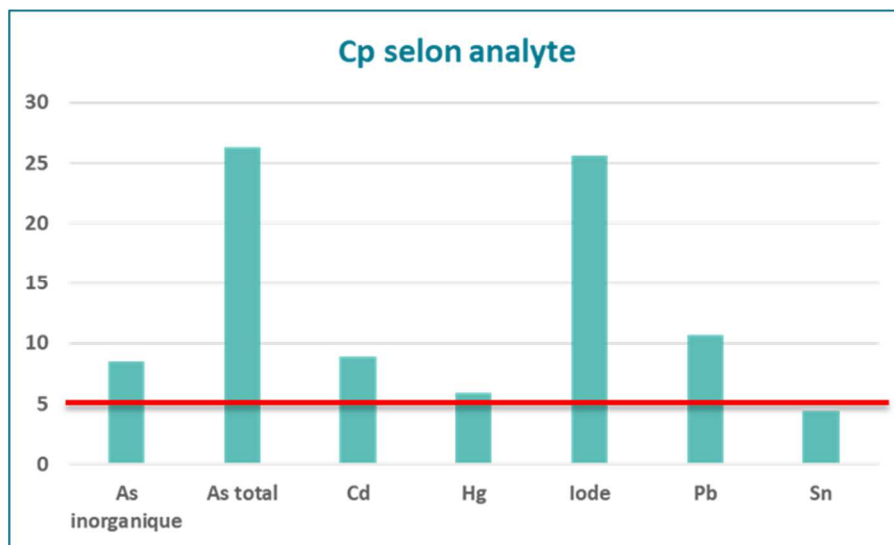


Figure 12: Valeurs moyennes des capacités (Cp) selon les analytes.

III.2.2.2 Capacité par système de détection

Chaque méthode d'analyse des métaux lourds se compose d'une phase de mise en solution ou d'extraction, suivie d'une détection spécifique par spectrométrie optique ou de masse. La figure ci-dessous montre que la majorité des méthodes, ont un Cp > 5. Le cas du MA < 5 serait à investiguer, proviennent d'une seule publication. Toutefois son Cp est limite mais capable car > 2.5 dans notre contexte. Ces calculs intègrent à la fois la préparation de l'échantillon et la détection. Pris isolément et testés sur des échantillons d'eau, tous ces systèmes de détection sont sensibles et ont une faible incertitude, souvent proche de 1 %. Les variabilités sont essentiellement apportées par les méthodes de mise en solution des échantillons pendant lesquelles des pertes en analytes ou des solubilisations incomplètes sont possibles, en particulier avec ceux pouvant présenter des intermédiaires chimiques sous forme gazeuse.

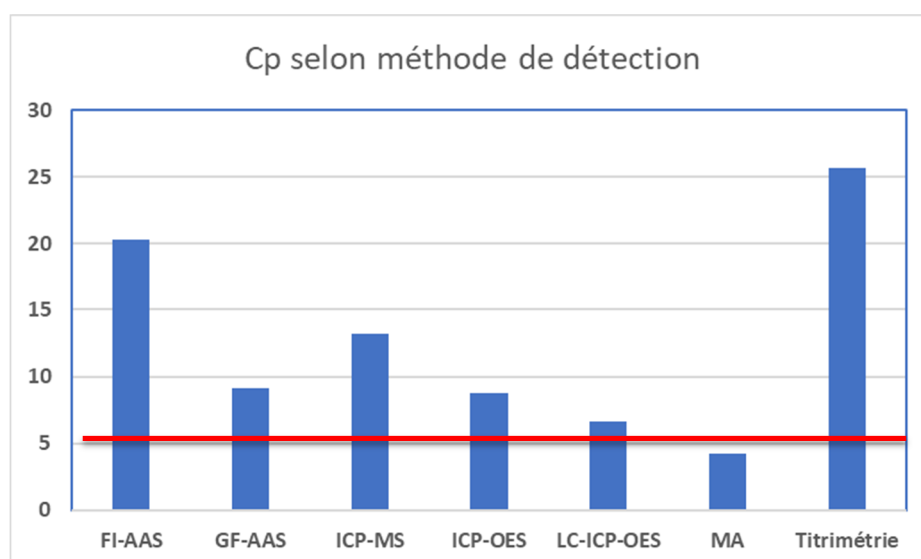


Figure 13 : Valeurs moyennes des capabilités (Cp) selon les méthodes de détection.

DMA : Digital Mercury Analyzer, FI-AAS : Flow Injection Atomic Adsorption Spectrometry, GF-AAS : Graphite Furnace Atomic Adsorption Spectrometry, ICP-MS : Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-OES : Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, MA : Mercury Analyzer.

On peut noter que l'adsorption atomique avec minéralisation en four graphite présente un Cp du même ordre de grandeur que les nouvelles techniques de spectrométrie. Ceci est vrai pour les métaux lourds et les algues étudiées, mais cette technique ancienne, reste inférieure en termes de gamme d'analytes analysables, de rapidité d'exécution et d'effets de matrice.

De même, l'ICP-MS a un Cp déjà élevé qui ne justifierait pas le passage aux nouvelles technologies d'ICP-MS/MS, beaucoup plus sensibles, si aucun progrès n'est apporté à la méthode de préparation des échantillons, car sa variabilité constitue l'effet principal sur l'estimation du Cp.

Les techniques couplées, FI-AAS et LC-ICP-OES ne semblent pas apporter de variabilité excessive à la mesure. Elles sont utilisées pour la spéciation chimique de l'arsenic. A noter que la génération d'hydrures est intégrée sous ce label FI-AAS.

III.2.2.3 Effet des paramètres analytiques

L'influence des paramètres analytiques sur le Cp, nous renseignent sur les améliorations éventuelles à apporter ou sur le risque associé à des changements de normes réglementaires. La figure ci-dessous présente l'évolution du Cp pour différentes LOQ. Il apparaît clairement qu'aucune tendance n'est observable.

Ceci renforce notre point discuté plus haut, que l'amélioration de la sensibilité de la détection n'apportera pas de gain en Cp, car la variabilité dépend essentiellement de la préparation des échantillons.

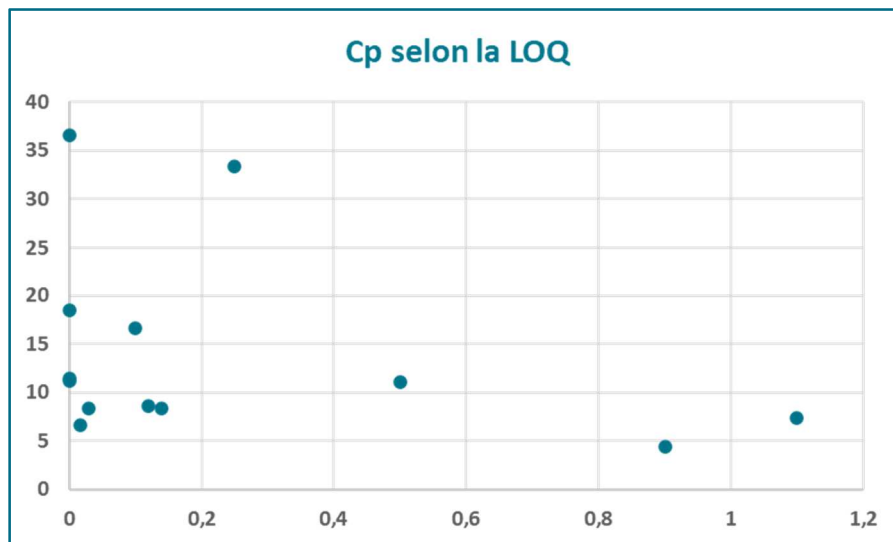


Figure 14 : Valeurs moyennes des capabilités (Cp) en fonction des limites de quantifications des méthodes (LOQ)

La figure ci-dessous montre que la reproductibilité (incertitude) des méthodes a une grande influence sur le Cp. Celui-ci s'améliore rapidement quand $R < 10\%$ et se dégrade plus lentement quand $R > 10\%$.

Cette relation s'applique uniquement au domaine de validité de la méthode avec, en particulier, une LOQ inférieure à la spécifique limite (USL) d'au moins 3 sigmas.

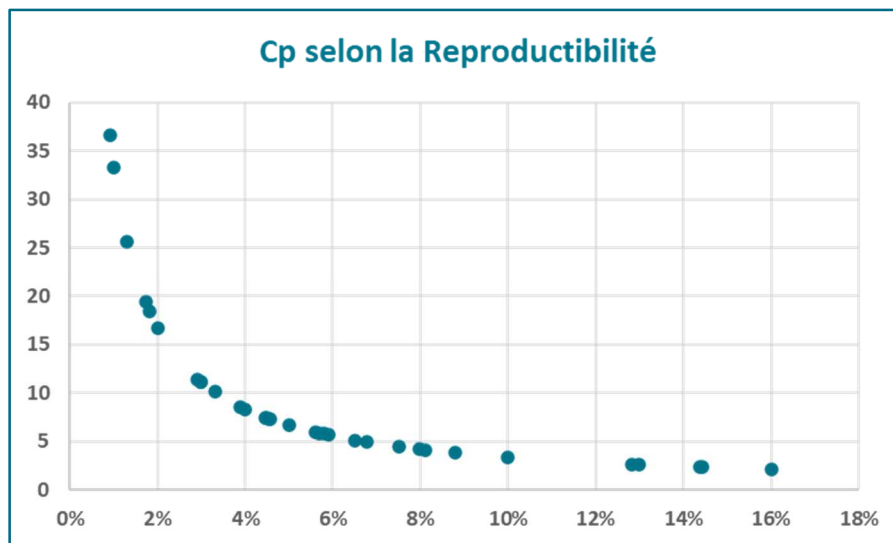


Figure 15 : Valeurs moyennes des capacités (Cp) en fonction de la reproductibilité (incertitude relative) des méthodes.

III.2.2.4 Exemple de Cp pour le Cadmium

Pour le Cd dans les algues alimentaires, la réglementation donne une spécification < 0,5 mg/kg_{sec}. L'USL = 0,5 mg/kg_{sec}. Toutefois, les discussions récentes avec les organismes réglementaires laissent envisager une réduction de la norme à 0.35, voire moins. Est-ce que les méthodes actuelles seraient capables en regard de ces nouvelles spécifications ?

$$Cp = \frac{USL}{4\sigma}$$

Si on utilise la méthode en four graphite : GF-AAS, la LOQ = 0.03 et le $\sigma = 0.02$

Si on utilise l'ICP-AES ou OES : la LOQ = 0.08 et $s = 0.002$

Le tableau ci-dessous présente les Cp calculés pour 3 hypothèses de normes.

Normes Cd (mg/kg)	0.5	0.35	0.10
ICP-AES/OES	Cp = 63 USL-LOQ = 210 σ	Cp = 44 USL-LOQ = 135 σ	Cp = 13 USL-LOQ = 10 σ
GF-AAS	Cp = 6 USL-LOQ = 24 σ	Cp = 4 USL-LOQ = 16 σ	Cp = 1.3 USL-LOQ = 3.5 σ

Les résultats nous montrent que c'est bien la variabilité de la méthode qui gouverne sa capacité. L'ancienne méthode basée sur le GF-AAS est capable au regard des normes actuelles, mais dans l'hypothèse d'une diminution, elle deviendrait en limite de capacité, voire non capable pour une norme en Cd = 0.1 mg/kg_{sec}.

Le choix doit donc porter sur les techniques à base d'ICP avec une détection AES ou OES ou MS dont les caractéristiques apportent un bon niveau de capabilité, même à 0.1 mg/kg. D'autres critères, comme la multi-détection des éléments et la réduction des effets de matrice entrent aussi en jeu dans ce choix, malgré un coût d'investissement matériel plus important.

Il n'est évidemment pas à souhaiter que les normes sur le Cd dans les algues alimentaires diminuent autant sans une évaluation approfondie du risque encouru par le consommateur, en particulier sur sa biodisponibilité digestive.

III.2.3 Conclusions

Toutes les méthodes analytiques évaluées sont capables quant à leur application pour évaluer la conformité des lots d'algues par rapport aux normes actuelles dans les pays listés au chapitre réglementation ci-dessus.

L'étape de minéralisation/dissolution apporte l'essentiel de la variabilité.

- Une augmentation du nombre de réplicas permet de réduire la variabilité à la vitesse de \sqrt{n} . Un choix à faire en considérant aussi l'aspect économique.
- L'automatisation de cette étape de préparation avec éventuellement des étalons internes peut apporter une diminution de la variabilité et donc une amélioration du Cp si besoin.

Les systèmes de détection sont tous capables

- Toutefois la facilité de mise en œuvre et les possibilités d'applications privilégient les analyseurs spécifiques pour Hg et l'ICP-MS ou ICP-OES pour les autres métaux et l'iode.
- Ces dernières peuvent être couplées à des techniques séparatives (FI, HPLC, CI...) pour la spéciation chimique (As Inorganique) sans apporter de perte en Capabilité.

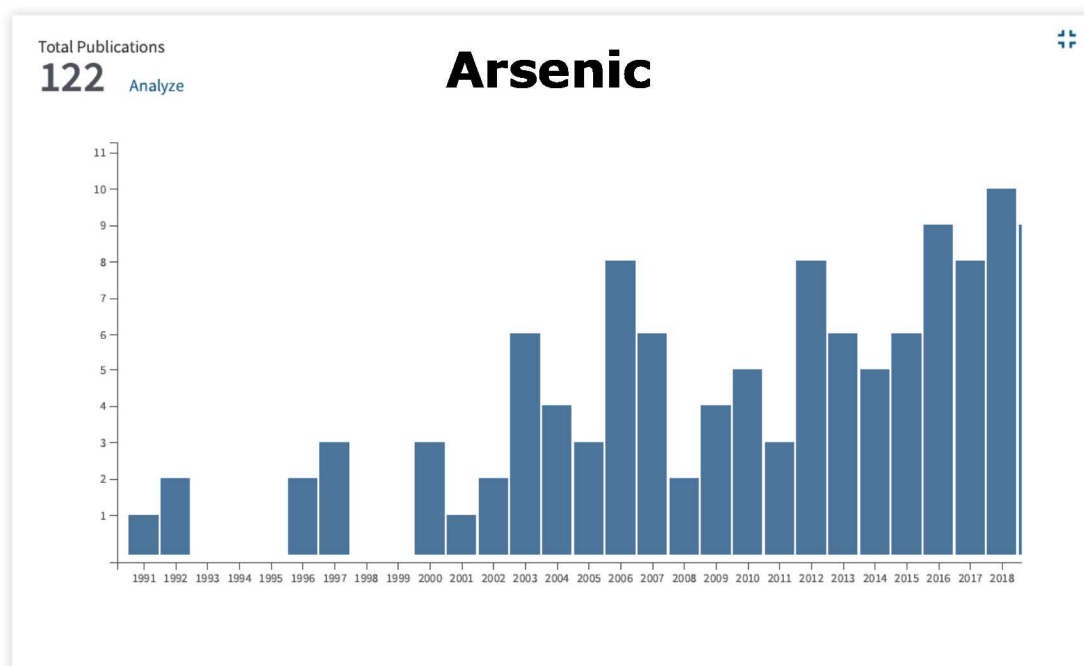
La notion d'incertitude pourrait aussi être étendue aux évaluations Interlaboratoires par rapports aux « valeurs justes » admises dans les MRC. Dans ce cas, une mesure de la capabilité globale interlaboratoire serait calculée, combinant différentes méthodes analytiques. Toutefois les différences entre les résultats de différents laboratoires ne sont pas liées, en général, à des problèmes de reproductibilité mais à la notion de biais systématique, c'est-à-dire un résultat précis mais décalé par rapport à la cible.

Compte tenu du contexte assez fréquent de lots refusés à l'entrée de certains pays, la vérification du biais interlaboratoire par des MRC est une approche importante pour la filière. Si ces MRC ne sont pas disponibles, des projets de mise au point et de certification seraient à considérer dans le futur.

IV Présentation des principaux résultats bibliographiques

Le but de cette étude bibliographique était de (1) fournir un aperçu des connaissances actuelles sur les techniques analytiques et méthodes d'analyses pour la détermination des contenus en métaux lourds, de l'iode et de contaminants environnementaux dans les algues pour permettre des analyses toxicologiques et l'évaluation des risques d'exposition et (2) identifier ses principales tendances d'évolution, considérant divers aspects tels que (i) les différentes espèces chimiques d'un élément dans les algues comestibles, (ii) les limites de détection, la reproductibilité et les références des méthodes (iii) la transformation possible ou la diminution des éléments pendant la cuisson et la digestion. Cette revue est basée sur l'exploitation de plusieurs bases de données et notamment la base de données bibliographique Web of Science qui a fait l'objet d'une recherche exhaustive, en utilisant les mots-clés tels que algues marines, algues, macroalgues, combinés avec plomb, mercure, cadmium, iode, iodure, arsenic, arsenic inorganique, et d'autres composés arseniés (arséno-sucre, arséno-lipides), ainsi que hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) : Benzo(a)anthracène, Benzo(a)pyrène, Benzo(b)fluoranthène et Chrysène), dioxines et polychlorobiphényles (PCB). Toutes ces interrogations étant réalisées avec les traductions anglaises, car l'ensemble de la littérature est en langue anglaise, à l'exception de quelques rapports réglementaires et de quelques avis d'agences sanitaires.

Une représentation graphique de ces recherches peut être extraite et permet d'illustrer le nombre de publications par année concernant un élément comme l'illustre la Figure 16. La tendance est à l'augmentation croissante des publications, ce qui démontre l'importance depuis deux décennies des préoccupations pour ces questions dans les algues. Des éléments de toxicité issus de pollutions par les activités humaines ayant fait l'objet d'une recherche plus ancienne comme le cadmium. Les HAPs font l'objet de très peu d'études analytiques qui sont souvent circonstancielles ou localisées, beaucoup plus de littérature est disponible sur la toxicité des HAPs.



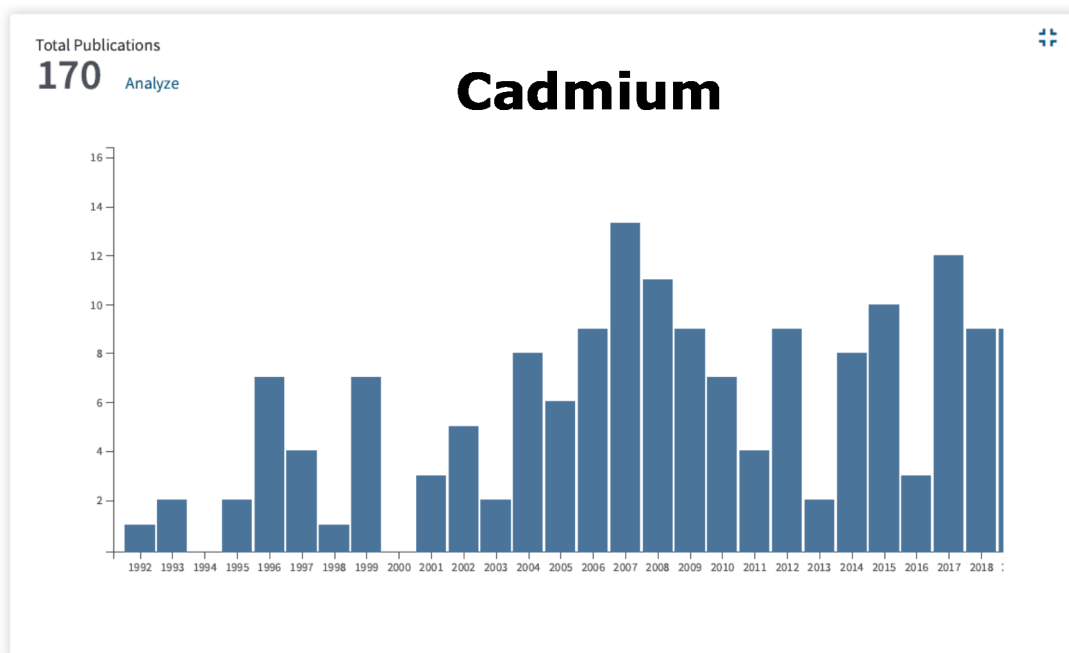
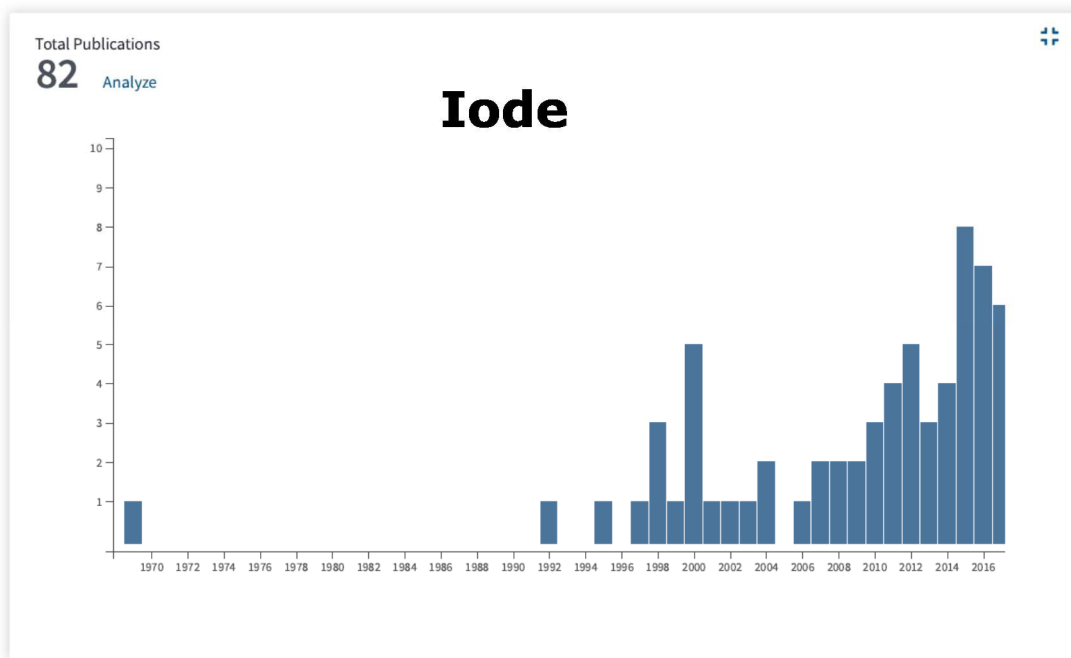


Figure 16 : Extraction de la base bibliographique Web of Science concernant 3 éléments à risques dans les algues marines (Arsenic, Iode, Cadmium)

IV.1 Méthodologie de l'analyse bibliographique

Pour chaque publication recensée dans la base de données, nous nous sommes procuré un document pdf disponible dans notre boîte de chargement partagée (Dropbox). Ainsi tous les collaborateurs ont pu avoir accès à l'intégralité des informations pour retravailler certains aspects. Nous avons choisi pour la lecture détaillée de ces publications de recenser des rubriques comprenant :

- Les généralités et le contexte pour les 6 éléments sélectionnés, les 4 HAPs et les dioxines et PCB.
- Les réglementations mentionnées dans les introductions de ces publications et les rappels de toxicologie.
- Les teneurs dans un élément donné dans différentes espèces d'algues qui pourraient être rappelés dans l'introduction ;
- Les éléments concernant les formes chimiques d'un élément (spéciation) détectées dans la matrice algale.

D'une manière plus spécifique pour cerner de l'art et des connaissances liées aux méthodes analytiques des éléments et composés à risque dans la ressource algue, nous avons noté dans chaque publication étudiée :

- La référence à des méthodes d'analyse normées ou non
- Le type de traitement des échantillons avant l'extraction
- La ou les méthodes d'extraction choisies pour un élément comprenant ou non un fractionnement de la biomasse étudiée.
- Les méthodes de séparation des formes chimiques inorganiques et organiques éventuelles d'un élément par chromatographie ou d'autres procédés physiques ou chimiques.
- Les techniques de détection par spectroscopie ou absorption atomique utilisées et les évolutions techniques dans ce domaine,
- Le contrôle de la qualité de ces analyses en recherchant les mentions des Calcul de limites de détection (LOD) et/ou de quantification (LOQ)
- L'utilisation de matériaux standards de référence d'origine algale ou non pour garantir la calibration des méthodes analytiques

Ainsi pour chaque élément étudié dans une publication, nous avons pu sélectionner des exemples d'utilisation de différentes méthodes pour l'analyse de la teneur élémentaire totale ou spécifique, la bioaccessibilité de cet élément dans un échantillon brut ou transformé par cuisson et la biodisponibilité éventuelle étudiée par des digestions *in vitro* à l'aide d'enzymes gastriques ou d'autres méthodes.

Ces analyses permettent donc de dresser des tableaux récapitulatifs pour les techniques d'analyse, comme le tableau suivant qui présente des méthodes de couplage séparation-détection pour la spéciation de l'arsenic dans les algues marines et les références bibliographiques correspondantes.

Tableau 11 : Méthodes analytiques utilisées pour la spéciation de l'As inorganique et des formes organifiées arséno-bétaine, arséno-sucre et -lipides dans les algues marines.

Couplage séparation – détection :

Séparation	Détection	Références
HPLC	ICP-MS	Biancarosa et al. (2018) ; Llorente-Mirandes et al. (2010) ; Maulvault et al., (2015) ; Squadrone et al. (2018b) ; Ender et al. (2019) ; Zhao et al. (2014)
	ICP-OES	Shibata et al. (1987)
	HG-AFS	Šlejkovec et al. (2006)
	ESI-MS/ESMS	Ender et al. (2019) ; Raab et al. (2013) ; García-Salgado et al. (2012)
LC Chromatographie IC	ICP-AES	Cui et al. (2013)
LC	NAA	Yu et al (2018)
	ICP-MS	García-Salgado et al. (2012) ; Khan et al. (2015) ; Llorente-Mirandes et al. (2010) ; Pell et al. (2013)
GC		García-Salgado et al. (2012)
CE	TOF-MS (Time Of Flight)	Niegel et al. (2012)
	UV detection	Morin et al. (1992)

IV.2 L'exemple de l'arsenic

Les études environnementales et de toxicité sur les éléments à risques dans les algues commerciales exigent des moyens fiables et rapides d'identification et de détermination de nombreuses espèces chimiques inorganiques des métaux et de l'iode, ainsi que des formes organifiées de ces éléments (la spéciation) en raison de leurs propriétés et de leurs effets contrastés sur la santé humaine.

A ce titre l'arsenic est sans doute le meilleur exemple avec l'iode. L'étude analytique de la spéciation de l'arsenic implique généralement différentes étapes, comprenant l'extraction, la séparation, la détection, et la quantification des espèces d'As. Reis & Duarte (2018) ont bien répertorié les principales méthodes pour chaque étape de la spéciation de l'As dans les macroalgues que nous avons détaillées dans la section III pour les différents types de processus d'extraction et les agents d'extraction (Choi *et al.* 2011; García-Salgado *et al.*, 2012; Pell *et al.*, 2013; Ronan *et al.*, 2017). Les rendements d'extraction varient selon les espèces d'arsenic minéral ou organifiées telles que les arsénolipides, qui ne peuvent pas être extraits avec de l'eau ou des solutions aqueuses ou aussi de procédés d'extraction, tels que chauffage, digestion par micro-ondes, agitation et/ ou sonication. Bien que cette étape soit cruciale pour la spéciation de l'As dans les macroalgues, les rendements d'extraction sont généralement faibles. Aucun nouveau protocole d'extraction n'a été développé et optimisé dans les années récentes (Reis & Duarte 2018). Différentes techniques analytiques de mesure de la concentration de l'As total (Ratcliff *et al.*, 2016; Salomone *et al.*, 2017; Wan *et al.*, 2017) et de ses espèces dans les algues ont été signalées. Les techniques de séparation les plus utilisées sont la chromatographie liquide haute performance d'échanges d'anions ou de cations (IC). Après la séparation, l'As et les différentes espèces doivent être détectées sélectivement en ligne par des méthodes spectroscopiques. La Spectrométrie d'Absorption Atomique Electrothermique (AAS) avec génération d'hydrures (HG-AAS), ou spectrométrie de fluorescence atomique continue à génération d'hydrures (HG-AFS) ont été utilisées (Almela *et al.*, 2005; García-Salgado *et al.*, 2012) et aussi par spectroscopie d'émission optique avec plasma induit par haute fréquence (ICP-OES), spectrométrie de masse à plasma induit (ICP-MS) qui produisent des données de qualité satisfaisante pour ce type d'analyses (Reis & Duarte, 2018, Camurati & Salomone, 2019). Pour des éléments analysés spécifiquement, la spectrométrie d'absorption atomique reste une méthode très utilisée. Cependant, toutes les techniques utilisées pour détecter les espèces d'As ne conviennent pas pour identifier les arsénosucres, qui représentent les formes organifiées dominantes dans les algues. L'utilisation

de la méthode de génération d'hydrure, pour la production d'analytes volatils à partir d'As, est essentielle pour leur détection (Camurati & Salomone 2019). Afin d'éviter ces problèmes méthodologiques, seule la quantité d'As_{inorganique} est mesurée parce que ces formes sont considérées comme directement toxiques.

La fraction organique est souvent obtenue par différence avec l'arsenic total, mais n'indique pas le type de complexe organique associé à l'arsenic. Néanmoins, pour évaluer le risque réel associé à la consommation d'une espèce d'algues, il faut déterminer la concentration de toutes les formes chimiques d'un élément pour comprendre leur devenir par exemple dans la première transformation d'une algue commerciale.

IV.3 La validation méthodologique

Un autre aspect important est la validation de la méthodologie analytique utilisée dans la spéciation de l'As dans les algues, ce qui nécessite l'utilisation de matériaux de référence certifiés (MRC). C'est une condition indispensable pour garantir que les composés arsénisés sont correctement identifiés et quantifiés.

Les MRC pour l'As dans les algues sont rares et en général, ne donnent pas d'informations sur les formes organiques mais mentionne souvent l'As_{total} ou le contenu en As_{inorganique}. Récemment, un Matériau de Référence Standard (MRS) d'algue, synonyme de MRC pour le NIST (National Institute of Standards and Technology), la poudre de laminaire SRM 3232 Kelp (*Thallus laminariae*) a été développée (Yu *et al.* 2018). Pour la première fois dans une algue, elle fournit des concentrations validées pour les différentes espèces chimiques de l'As, y compris les arséno-sucres. Cependant, les MRC les plus courants dans la littérature sont:

- *Ulva lactuca*-BCR-279 (laitue de mer) certifié pour l'As_{total}
- NMIJ CRM 7405-a, à partir de l'algue japonaise hijiki (*Sargassum(Hizikia) fusiformis*) pour valider les concentrations en As_{total} et As (V)
- NIES CRM 09 Sargasses (*Sargassum fulvellum*) fourni par l'Institut national pour Études environnementales (Japon) pour certifier le contenu en As_{total}, mais qui n'est plus disponible au catalogue réactualisé en 2019.
- En outre, un extrait de *Fucus* préparé et caractérisé par Madsen *et al.* (2000) a été utilisé dans de nombreuses études pour quantifier 4 arséno-sucres. Malheureusement, ce matériau n'est pas commercialement disponible (Francesconi, 2010).

Comme suggéré dans la partie prospective de ce rapport, un travail spécifique sur les développements de MRC pour les algues alimentaires européennes serait plus que souhaitables.

IV.4 Des techniques analytiques de plus en plus résolutes pour une résolution spatiale d'un élément dans l'algue à l'échelle tissulaire, cellulaire et sub-cellulaire

Pendant longtemps, les techniques de localisation d'un élément chimique étaient limitées à des techniques d'absorption des rayons X couplées à de la microscopie optique ou électronique, ou à des préparations histologiques fastidieuses, par microtomie et colorations spécifiques, pour microscopie optique qui ne préservait pas toujours l'état physiologique des tissus et avaient une résolution spatiale limitée. Les deux dernières décennies ont révolutionné les approches par les développements de techniques de fixation de tissus ne perturbant pas la distribution d'un élément chimique (cryofixation) et l'application de différentes techniques d'analyse d'émission électroniques ou différents types de spectrométrie de masse. Ainsi pour l'arsenic total, sa quantification absolue a pu être obtenue dans les différents tissus de *Laminaria digitata* (Verhaeghe *et al.*, 2008) par

analyse PIXE. Ronan *et al.* (2017) ont aussi proposé une étude de la distribution de l'arsenic total et de ses formes inorganiques dans les thalles de *L. digitata* et d'*Ascophyllum nodosum* en Irlande. Ils révèlent des gradients d'As_{total} avec l'âge des tissus, mais une proportion importante d'As_{inorganique} dans les tissus plus âgés de *L. digitata*.

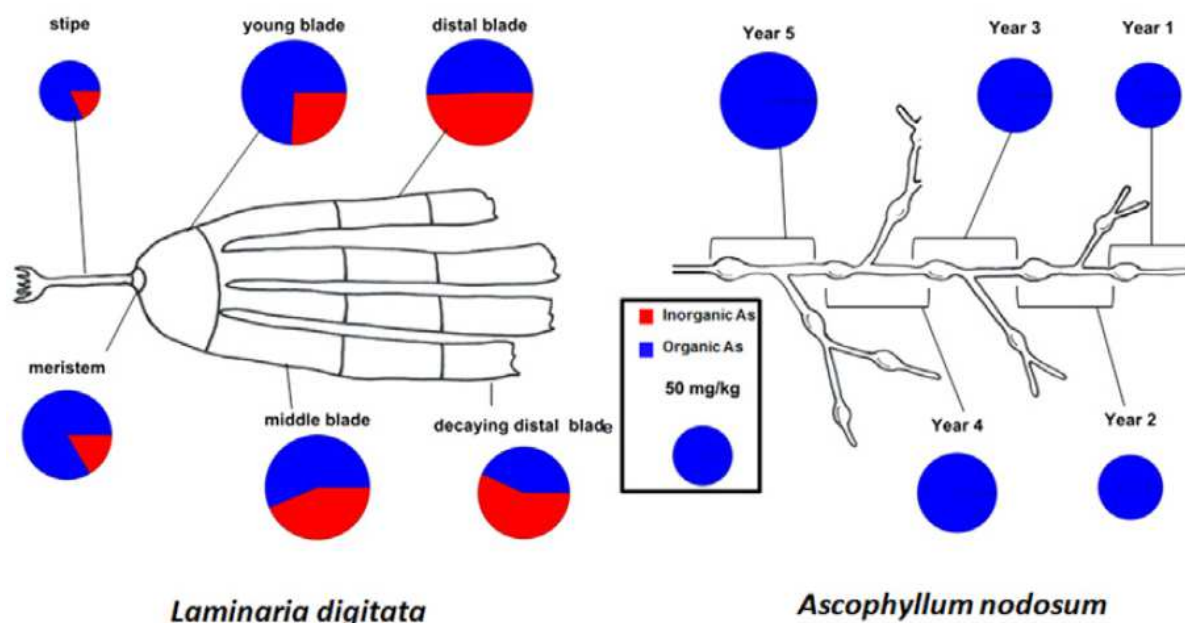


Figure 17 : Distribution de l'As_{total} (bleu) et As_{inorganique} (rouge) mesurés chez les algues brunes *L. digitata* (gauche) et *A. nodosum* (droite). Extrait de Ronan *et al.* (2017)

De même des travaux très récents de Microscopie Ionique par Spectrométrie de masse des ions secondaires (Nano-SIMS) chez *L. digitata* en Ecosse viennent de révéler que l'essentiel de l'As stocké dans la lame et le stipe présente une distribution périphérique dans les tissus et dans la paroi des cellules (Ender *et al.*, 2019). Cette distribution similaire à celle de l'iode dans *L. digitata* de Bretagne (Verhaeghe *et al.*, 2008) permet de mieux comprendre les effets de différents traitements des algues comme le blanchiment ou la cuisson pour réduire drastiquement les teneurs de certains éléments.

Pour rendre compte de la richesse de cette analyse bibliographique et la rendre accessible, nous avons choisi de présenter une forme synthétique de fiches, par élément analysé qui se trouve dans la section VI- de ce document.

V Vision prospective

Depuis deux décennies, la consommation des algues alimentaires, en l'état ou sous forme d'additifs, a progressé au niveau mondial. Il en résulte des préoccupations sur la sûreté alimentaire pour les humains et pour les animaux d'élevage. La sécurité environnementale est aussi invoquée sous l'angle des espèces invasives et des impacts des cultures d'algues. Ceci conduit, dans le monde entier, à des recherches de plus en plus nombreuses sur la détermination des contenus en métaux lourds, de l'iode et de contaminants environnementaux dans les algues pour permettre des analyses

toxicologiques et l'évaluation des risques d'exposition (Banach *et al.*, 2019). Ces travaux ont bénéficié également d'un formidable élan dû aux progrès de la chimie analytique tant dans l'extraction et la séparation pour la spéciation des éléments dans différentes matrices animales et végétales que dans la détection améliorant la précision des méthodes, notamment par la démocratisation de la spectrométrie d'émission atomique et plus récemment de la spectrométrie de masse. Principalement initiés dans les pays occidentaux importateurs d'algues cultivées en Asie ou par le développement de nouveaux produits alimentaires à base d'algues sauvages récoltées en Europe, les travaux menés et les réglementations adoptées en France, puis en Europe ont conduit d'autres régions du monde comme l'Océanie (Agences de Sécurité sanitaire d'Australie et Nouvelle Zélande), les Amériques, mais aussi les principaux pays producteurs d'algues en Asie à considérer des suivis et envisager des réglementations qui sont encore quasi inexistantes au Japon, en Corée du Sud ou en Chine (Chen *et al.*, 2018), malgré leur historique très ancien quant à la consommation d'algues.

D'autre part, les formidables progrès de l'imagerie chimique, notamment par différentes techniques de spectrométrie de masse ou les méthodes de spectroscopie des rayons X ou d'autres rayonnements ont permis d'accéder à la localisation quantitative des éléments, voire de différentes espèces chimiques de ces éléments (iode et autres éléments: Verhaeghe *et al.*, 2008 ; Arsenic, Ender *et al.*, 2019). Ces informations peuvent être cruciales pour anticiper la biodisponibilité d'un élément chimique ou l'efficacité possible de traitement post-récolte pour réduire la teneur dans les produits commerciaux.

V.1 Quels seront les impacts des résultats de mesures dans les algues sur les marchés de demain?

L'impact des résultats de mesures d'éléments et composés à risque dans les algues sur les marchés de demain dépendra de plusieurs scénarios qui sont liés aux connaissances accrues sur les algues, mais aussi à l'ampleur des marchés futurs et aux technologies de transformation des algues majoritairement commercialisées.

Les algues les plus concernées par les trois éléments dits à risques (l'arsenic minéral, l'iode inorganique et le cadmium) appartiennent à certaines familles d'algues brunes comme les Sargassaceae pour l'arsenic inorganique (*Sargassum fusiforme*, *S. natans* et *S. fluitans*) et les Laminariaceae (*Saccharina* spp, *Laminaria* spp.) pour l'iode inorganique et l'arsenic minéral. Le Cadmium semble s'accumuler plus dans des certains ordres d'algues rouges et cela pourraient être corrélés aux propriétés d'échanges de cations par les polysaccharides anioniques sulfatés plus abondants dans les algues rouges (agars sulfatés, carraghénanes, xylanes et mannanes sulfatés) que dans les algues brunes (fucoïdanes et fucanes), plus riches en polyuronates présentant d'autres affinités ioniques. D'autres éléments à risques comme le mercure, le plomb ou le chrome ne semble s'accumuler dans les algues que dans les zones les plus fortement polluées par des rejets anthropiques (certaines baies asiatiques, des zones minières ou des zones portuaires).

La notion de zone géographique et de conditions environnementales est aussi importante à considérer. Par exemple certains bassins versant présentent une géochimie naturelle riche en arsenic qui induit une augmentation des teneurs dans les algues. De même certaines zones sont reconnues comme présentant une augmentation significative du Cd apporté par les rivières et qui induit une augmentation des teneurs algales. Ceci se décline aussi pour les algues importées, en particuliers de certains pays asiatiques où le traitement des eaux usées reste un concept peu appliqué.

V.2 Quelles évolutions réglementaires à anticiper ?

La transparence et la traçabilité sur l'ensemble de la chaîne d'approvisionnement en matière première algues seront clé pour garder la confiance des acheteurs et des consommateurs finaux.

La science des « Big Data », les méga-jeux de données et les sciences de la vie sont sur le point de converger pour façonner un nouveau modèle de sécurité sanitaire des aliments. Les mégadonnées et l'analyse prédictive peuvent agréger et analyser d'immenses volumes d'informations grâce à des algorithmes complexes pour anticiper les risques ou les événements critiques dans la chaîne d'approvisionnement alimentaire avant qu'ils ne se produisent. Les objets connectés contribueront à améliorer l'efficacité et la productivité des transformations et à améliorer la traçabilité. Ils pourront aider à lutter contre la fraude alimentaire et à fournir les informations dont les consommateurs ont besoin sur les aliments qu'ils consomment.

V.3 Quels arguments futurs pour faire face au nombre croissant d'études sur la toxicité des algues ?

Les implications nutritionnelles inférées des teneurs mesurées en certains éléments à risques sont immédiates pour les recommandations des agences de sécurité : pour un adulte, l'apport journalier recommandé en iode (AJR) de 150 µg/jour peut être couvert par des quantités très faibles, de l'ordre de quelques grammes d'algues séchées. Ainsi 7 g de *Palmaria palmata* couvrent 67% des AJR tandis que 0,7 g de *Saccharina latissima* couvrent plus de 2 400 % des AJR. Pourtant, ces recommandations ne s'appuient pas sur les connaissances de la spéciation de certains éléments qui sont maintenant de plus en plus étudiées (Hou et al. 1997 ; Shah et al., 2005). Certains éléments sont présents sous forme organifiées comme l'arsenic à plus 90%, sauf l'exception des familles des Sargassaceae et des Laminariaceae. Elles ne s'appuient pas non plus sur la connaissance de la labilité des formes minérales de certains éléments au cours des traitements de transformation des algues, tant au niveau industriel que domestique (cuisine). En Europe, de nombreux acteurs étudient les teneurs en iode des algues en fonction des espèces, des localisations ou des saisons (Roleda et al, 2018) et évaluent les prétraitements utilisables par les producteurs/transformatateurs d'algues (Stévant et al, 2017 ; 2018). Ainsi une macération de l'algue dans l'eau tiède entraîne une réduction de 50 à 80% de la teneur initiale en iode (Stévant et al., 2018). En Asie et en Espagne, des travaux similaires ont été menés pour réduire les teneurs en arsenic minéral dans l'Hijiki (Park et al., 2019, Garcia-Sartal et al., 2013).

Dernièrement, le CEVA a coordonné le projet collaboratif SENSALG en collaboration avec les producteurs et des industriels de l'agro-alimentaire du Grand Ouest. Ce programme a permis de réaliser des analyses sur une large gamme d'algues bretonnes fraîches et traitées selon différents procédés (blanchiment, stérilisation, surgélation, salage et séchage). Les principaux résultats de ce travail permettent de préciser les apports nutritionnels des algues telles que consommées actuellement en France. Ainsi on s'aperçoit que les algues commercialisées sous forme fraîches (stabilisées dans du sel) ou appertisées ont perdu une grande partie de leur teneur en iode et n'induisent pas de risque d'excès dans le cadre d'une consommation raisonnable (avis du CEVA sur l'iode en réponse à l'avis de l'ANSES de 2018, non publié).

Les conclusions de notre analyse bibliographique pointent une grande disparité des études en terme d'accès aux méthodes analytiques les plus récentes et la rigueur de la calibration et du contrôle qualité et du raccordement métrologique de certaines publications. En l'absence d'échantillons de références (certifiés ou non), comme par exemple le développement récent d'un MRS 3232 Kelp Powder (*Thallus laminariae*) par Yu et al., (2018), il est parfois impossible de comparer certains travaux et différentes régions du monde.

Les entreprises de production qui seront capables de faire reconnaître leurs résultats d'analyse et de traçabilité par des agences de sécurité comme l'ANSES pourront attester

de la traçabilité de leur production. LABOCEA qui est aussi engagé dans le projet Qualit'alg de la Chambre Syndicale des Algues et des Végétaux Marins est capable de démontrer la qualité de ses analyses et ils développent les méthodes normées les plus avancées techniquement pour l'extraction et la détection par ICP-OES ou ICP-MS.

V.4 Quelles possibilités de dialogue avec l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) ?

Avec l'ANSES ou l'agence européenne EFSA, qui se rallie le plus souvent à des avis d'agences nationales, le dialogue devrait s'opérer très en amont du développement de la filière. En particulier, il convient de revenir sur le dernier avis concernant l'iode (Saisine n° 2017-SA-0086 du 25 juin 2018 ; ANSES, 2018a) pour lequel le CEVA n'avait pas été consulté et avait réagi par un avis mis en ligne à l'automne 2018. Nous proposons d'inviter à une restitution de notre étude pour le cluster algues du Pays de Brest, des représentants de l'ANSES, comme le Professeur François Mariotti (Président du CES Nutrition Humaine) ou Mme Irène Margaritis, Chef de l'unité d'évaluation des risques liés à la nutrition – Direction de l'évaluation des risques de l'ANSES afin de leur faire rencontrer les acteurs de la filière et connaître les interlocuteurs qui pourraient être contactés comme auditeurs spécialisés pour de prochaines saisines. De même, Bruno Le Bizec, Directeur du LABERCA de l'École Vétérinaire de Nantes a présidé le dernier comité de l'ANSES qui a rendu son avis sur le cadmium (ANSES, 2020). D'autre part, Gilles Salvat est l'actuel Directeur Général Délégué de l'ANSES et comme il était très bien implanté à Ploufragan, il serait attentif aux dossiers de la filière algues bretonnes pour les diriger au sein de l'agence ou vers des relais européens. Comme ce type d'avis est repris par d'autres agences comme la Norwegian FSA ou par l'EFSA, il est primordial d'agir en France qui demeure la référence pour les algues alimentaires en Europe et plus largement aux USA et en Océanie. D'autre part, une force d'invention bretonne (Task force) pourrait se constituer et être soutenue dans ces actions par la coalition lancée par la Fondation Lloyd's Register pour promouvoir la sûreté alimentaire, environnementale et de santé au travail indispensable pour permettre un développement accru de la filière algues à l'échelle mondiale, notamment par un changement de paradigme dans l'aquaculture des algues alimentaires. Les gros acheteurs de l'agro-alimentaire sont demandeurs de ce changement d'échelle et de standards de sécurité sanitaire des aliments à base d'algues.

VI Analyse synthétique - Fiches

Pour la restitution de manière synthétique des informations recueillies lors de l'étude il a été choisi de présenter des fiches descriptives par élément, regroupant les informations bibliographiques de toxicité, des méthodes analytiques utilisées pour cet élément, sa présence dans les algues.

De plus, l'ensemble des données sera fourni dans une base de données.

ARSENIC

GENERALITES

Formule chimique : As

Anglais : arsenic

L'arsenic est présent dans la nature, en particulier dans les roches, celles-ci renfermant plus de 99% de l'arsenic présent dans la croûte terrestre sous forme de minerais. La bioaccumulation de l'arsenic varie en fonction des niveaux trophiques : elle est particulièrement importante chez les organismes marins. De par sa nature, il est persistant dans l'environnement. Les composés de l'arsenic sont généralement classés R23/25 et N, R50/53 et font l'objet d'une classification harmonisée européenne (Commission Européenne, 2008).

Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) :

- $As_{inorganique}$ groupe 1 = carcinogène
- DMA et MMA : groupe 2B = potentiellement carcinogène

Plus de 100 espèces à base d'As identifiées dans le milieu marin (Francesconi, 2010).

- 50 solubles, 69 As-lipides identifiées par Francesconi (2010). DMA, MMA
- 1^{ère} spéciation des arséno-sucre chez les microalgues par Lunde (1973)
- En 1981 par Edmonds et Francesconi chez les macroalgues

Teneurs chez les macroalgues :

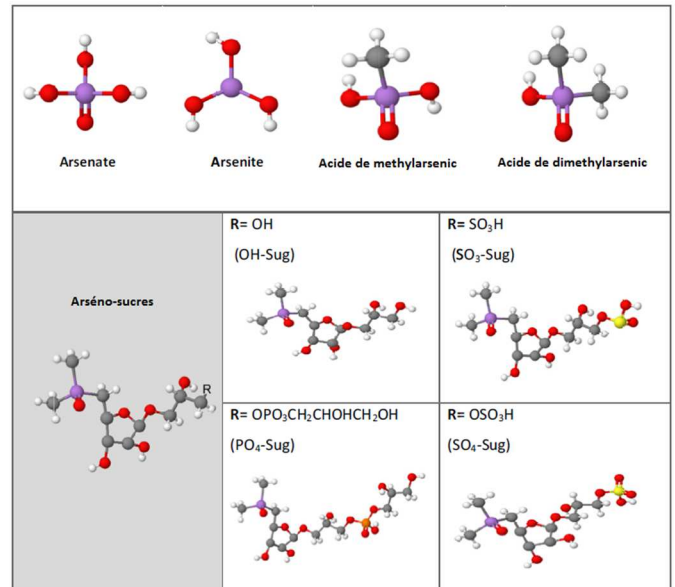
Brunes < Rouges < Vertes pour As_{total} , $As_{inorganique}$, fraction $As_{inorganique}/As_{total}$ (Ma et al., 2018).

METHODES ANALYTIQUES

Formes observées dans les macroalgues :

- Inorganiques :
 - Arsenite As(III) AsO_3^{3-}
 - Arséniate As(V) AsO_4^{3-}

- Organiques :
 - Acide méthylarsonique (MMA)
 - Acide diméthylarsinique (DMA)
 - Arséno-Bétaïne
 - Arséno-Choline
 - Arséno-sucre
 - Arséno-lipides



© Reis & Duarte (2018) : Principaux composés d'arsenic organique (obtenus sur molview.org/),

- Teneurs plus importantes chez les algues brunes de la famille des Laminariaceae (*Laminaria digitata*) et des Sargassaceae (*Sargassum* spp.)
- Seuils réglementaires dans les algues alimentaires (et produits associés) mg/kg poids sec:

mg/kg poids sec	France	Australie et NZ	USA	Europe Additif alimentaire
$As_{inorganique}$	3,0	1,0	3,0	
As_{total}				3,0

>RECOMMANDATIONS PRE-ANALYTIQUES

- Récolte des algues :

- Précautions, séchage, etc...

- Echantillons de terrain, commerciaux alimentaires (frais ou sec)
- Cuisson
- Séchage à l'étuve, lyophilisation
- Broyage : poudre

- Extraction :

- Extraction aqueuse pour $As_{inorganique}$
- Digestion acide (sous pression ou non, assistée ou non par micro-onde) ; $HNO_3 + H_2O_2$ ou $HNO_3 + eau$
- Digestion *in vitro* : solutions gastrique (pepsine) et intestinale (pancréatine, sels biliaires), 37°C, pH ajusté avec HCl
- 2 extractions assistées par ultrasons : 1) HCl et 2) HCl + $HNO_3 + H_2O_2$.

> METHODES NORMEES DE DOSAGE

- International :

AOAC International SMPR 2015.006 : Standard Method Performance Requirements (SMPRs) for Quantitation of Arsenic Species in Selected Foods and Beverages (ICP-MS)

Europe (NF en France, AFNOR) :

Arsenic total :

- **EN 14332:2004** : Produits alimentaires - Dosage des éléments trace - détermination de l'arsenic dans les aliments d'origine marine par spectrométrie d'absorption atomique à four graphite (GFAAS) après digestion par micro-ondes
- **EN 14627:2005** : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage de l'arsenic total et du sélénium par spectrométrie par absorption atomique par génération d'hydrures (HGAAS) après digestion sous pression
- **EN 14546:2005** : Produits alimentaires - Détermination des éléments traces - Détermination de l'arsenic total par spectrométrie d'absorption atomique par génération d'hydrures (HGAAS) après calcination par voie sèche
- **EN 15763:2009** : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage de l'arsenic, du cadmium, du mercure et du plomb par spectrométrie d'émission avec plasma induit par haute fréquence et spectromètre de masse (ICP-MS) après digestion sous pression.

Arsenic inorganique :

- **EN 15517:2008** : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage de l'arsenic inorganique dans les algues marines par spectrométrie d'absorption atomique par génération d'hydrures (HGAAS) après extraction acide.
- **EN 16802:2016** : Produits alimentaires - Détermination des éléments et de leurs espèces chimiques - Détermination de la teneur en arsenic inorganique dans les produits alimentaires d'origines marine et végétale, par HPLC avec échange d'anions et spectrométrie de masse à plasma induit par haute fréquence (ICP-MS).

Méthodes analytiques recensées pour l' As_{total} :

- **ICP-MS** : Inductively-Coupled Plasma Mass Spectrometry
- **ICP-AES** : ICP- Atomic Emission Spectrometry
- **ICP-OES** : ICP- Optical Emission Spectrometry
- **AAS** : Atomic absorption spectrometry
- **HGAAS** : Hybride Generation - AAS
- **NAA** : Neutron Activation Analysis
- **PAA** : Photon Activation Analysis
- **PIXE** : Particle-induced X-ray Emission (proton microprobe)
- **TXRF** : Total Reflection X-ray Fluorescence

Matériaux de référence standards ou certifiés :

- Développement récent d'un SRM 3232 Kelp Powder (*Thallus laminariae*) par Yu *et al.*, (2018) : As_{sucres} , $As_{lipides}$, $As_{inorganique}$, As_{total}
- CRM 7405-a (*Hizikia fusiformis*): As_{total} , $As_{inorganique}$ ($As V$)
- NIES CRM 09 Sargasso (*Sargassum fulvellum*): 4 types d' As_{sucres} , As_{total} , $As_{inorganique}$
- IAEA 140 (*Fucus sp.*): As_{total}
- CRM BCR 279 (*Ulva lactuca*): As_{total}
- ERM-CD200 (*Fucus vesiculosus*): As_{total}
- Extrait de *Fucus sp.* (Madsen *et al.*, 2000) : $As_{sucré}$ (non-certifié)

- BCR-211 (riz) : AS_{total} , $AS_{inorganique}$
- DORM-2 et DORM-4 (roussette *Squalus acanthias*) : AS_{total}

Effet du trempage/cuisson des algues alimentaires (Hanaoka *et al.*, 2001) :

Espèce	AS_{total} après cuisson ($\mu\text{g/g MS}$)	AS biodisponible ($\mu\text{g/g MS}$)	Biodisponibilité (%)
<i>Undaria pinnatifida</i>	26,4 ± 0,838	4,82 ± 0,30	18,3 ± 1,3
<i>Laminaria ochroleuca</i>	27,2 ± 0,145	4,42 ± 0,063	16,9 ± 0,6
<i>Porphyra umbilicalis</i>	8,97 ± 0,046	1,85 ± 0,154	21,9 ± 3,3
<i>Ulva rigida</i>	2,61 ± 0,045	0,252 ± 0,029	9,7 ± 1,1

- *Sargassum fusiforme* récoltée VS commercialisée (bouillie et séchée)
- Effet de la température de trempage (20 min), mais pas du volume d'eau de trempage
- Application des consignes de préparation sur l'emballage par García-Sartal *et al.* (2013)

Biodisponibilité

- AS biodisponible après cuisson et digestion *in vitro* (García-Sartal *et al.*, 2012)

Bioaccessibilité

Effet du type de cuisson après digestion *in vitro* (Laparra *et al.*, 2003)

- *Porphyra* sp. grillée (200°C 5 min) : pas d'effet sur la teneur en AS_{total} ni $AS_{inorganique}$
- *Sargassum fusiforme* bouillie (100°C 20 min) : diminution significative de l' AS_{total} et $AS_{inorganique}$
- AS_{total} et $AS_{inorganique}$ résiduel après cuisson sont davantage bioaccessibles

Calcul de limites de détection (LOD) et/ou de quantification (LOQ) :

Référence	LOD	LOQ	Méthode
-----------	-----	-----	---------

Moreda-Piñeiro <i>et al.</i> (2007)	0,01 $\mu\text{g/g MS}$	0,05 $\mu\text{g/g MS}$	ICP-OES
van Netten <i>et al.</i> (2000)	66,3 ng/g MS		ICP-MS
Ródenas de la Rocha <i>et al.</i> (2009)	0,133 ng/g MS		ICP-MS
Llorente-Mirandes <i>et al.</i> (2010)	0,033 $\mu\text{g/g MS}$		ICP-MS
Almela <i>et al.</i> (2006)	0,025 $\mu\text{g/g MS}$		HGAAS
Khan <i>et al.</i> (2015)	0,028 ng/g MS	0,095 ng/g MS	ICP-MS

BIBLIOGRAPHIE

1. Almela, C. *et al.*, (2002). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**(4), 918-923.
2. Almela, C. *et al.*, (2006). *Food and Chemical Toxicology*, **44**(11), 1901-1908.
3. Besada, V. *et al.*, (2009) *Journal of Marine Systems*, **75**(1-2), 305-313.
4. Biancarosa, I *et al.*, (2018). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **98**(5), 2035-2042.
5. Bralatei, E. *et al.*, (2017). *Microchimica Acta*, **184**(6), 1701-1709.
6. Braman, R. S. & Foreback, C. C. (1973). *Science*, **182**(4118), 1247-1249.
7. Camurati, J. R. & Salomone, V. N. (2020). Arsenic in edible macroalgae: An integrated approach. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, **23**(1), 1-12.
8. Choi, H. *et al.*, (2011) *Food Science and Biotechnology*, **20**(1), 39-44.
9. Commission Européenne (2008). Règlement (CE) n°1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges. *Journal Officiel de l'Union Européenne*.
10. Cui, S. *et al.*, (2013) *Bulletin of the Korean Chemical Society*, **34**(11), 3206-3210.
11. Domínguez-González, R. *et al.*, (2004). *Talanta*, **66**(4), 937-942.

12. Edmonds, J. S. & Francesconi, K. A. (1981). *Nature*, **289**(5798), 602-604.
13. Ender, E. *et al.*, (2019) *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **34**(11), 2295-2302.
14. Farias, D. R. *et al.*, (2018) *Marine Pollution Bulletin*, **128**, 175-184.
15. Francesconi, K. A. (2010) *Pure and Applied Chemistry*, **82**(2), 373-381.
16. García-Salgado, S. *et al.*, (2008). *Talanta*, **75**(4), 897-903.
17. García-Salgado *et al.*, (2012) *Environmental Chemistry*, **9**(1), 63.
18. García Sartal, C. *et al.*, (2012). *Microchemical Journal*, **105**, 65-71.
19. García-Sartal, C. *et al.*, (2013) *Microchemical Journal*, **108**, 92-99.
20. Glabonjat, R. A. *et al.*, (2014). *Analytical Chemistry*, **86**(20), 10282-10287.
21. Hanaoka, K. *et al.*, (2001) *Applied Organometallic Chemistry*, **15**(6), 561-565.
22. Khan, N. *et al.*, (2015) *Food Chemistry*, **169**, 464-470.
23. Krumhansl, K. A. *et al.*, (2011) *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **407**(1), 12-18.
24. Laird, B. D. & Chan, H. M. (2013) *Food and Chemical Toxicology*, **58**, 381-387.
25. Laparra, J. M. *et al.*, (2003) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**(20), 6080-6085.
26. Llorente-Mirandes, T. *et al.*, (2010) *Chemosphere*, **81**(7), 867-875.
27. Lunde, G. (1973). *Acta Chemica Scandinavia*, **27**(5), 1586-1594.
28. Ma, Z. *et al.*, (2018) *Aquaculture*, **497**, 49-55.
29. Mac Monagail, M. *et al.*, (2018) *Environment International* **118**: 314-324.
30. Maulvault, A. L. *et al.*, (2015) *Environmental Research*, **143**, 72-81.
31. Miedico, O. *et al.*, (2017) *Journal of Food Composition and Analysis*, **64**, 188-197.
32. Moreda-Piñeiro, J. *et al.*, (2007) *Analytica Chimica Acta*, **598**(1), 95-102.
33. Morin, P. *et al.*, (1992). *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, **342**(4-5), 357-362.
34. Narukawa, T. *et al.*, (2012) *Analytical Sciences*, **28**(8), 773-779.
35. Niegel, C. *et al.*, (2012) *The Analyst*, **137**(8), 1956.
36. Nielsen, M. M. *et al.*, (2016) *Algal Research*, **13**, 235-245.
37. Nischwitz, V. & Pergantis, S. A. (2005) *The Analyst*, **130**(10), 1348.
38. Ownsworth, E *et al.*, (2019) *Science of The Total Environment*, **685**, 259-272.
39. Pell, A *et al.*, (2013) *Chemosphere*, **93**(9), 2187-2194.
40. Raab, A. *et al.*, (2013) *Analytical Chemistry*, **85**(5), 2817-2824.
41. Reis, V. A. T. & Duarte, A. C. (2018). Analytical methodologies for arsenic speciation in macroalgae : A critical review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **102**, 170-184.
42. Ródenas de la Rocha, S. *et al.*, (2009) *Journal of Food Composition and Analysis*, **22**(4), 330-336.
43. Roleda, M. Y. *et al.*, (2019) *Food Control*, **95**, 121-134.
44. Ronan, J. M. *et al.*, (2017) *Chemosphere*, **186**, 17-23.
45. Salomone, V. N. *et al.*, (2017) *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, **131**, 74-78.
46. Sanders, J. G. & Windom, H. L. (1980) *Estuarine and Coastal Marine Science*, **10**(5), 555-567.
47. Shibata, Y. *et al.*, (1987) *Agricultural and biological chemistry*, **51**(2), 391-398.
48. Šlejkovec, Z. *et al.*, (2006) *Chemosphere*, **63**(7), 1098-1105.
49. Squadrone, S. *et al.*, (2018a) *Environmental Science and Pollution Research*, **25**(10), 9708-9721.
50. Squadrone, S *et al.*, (2018b) *Marine Pollution Bulletin*, **133**, 88-95.
51. van Netten, C. (2000) *The Science of The Total Environment*, **255**(1-3), 169-175.
52. Verhaeghe, E. F. *et al.*, (2008) *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **13**(2), 257-269.

53. Yu, L. L. *et al.*, (2018) *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **410**(4), 1265-1278.
54. Zhao, Y.-F. *et al.*, (2014) *International Journal of Food Science*, **2014**.

PLOMB

GENERALITES

Formule chimique : Pb

Anglais : Lead

- Métal lourd pouvant s'avérer toxique en cas de forte exposition
- Selon l'IARC (CIRC, 2020) : Pb et composés classés dans les groupes 2B (possiblement cancérigène) et 2A (probablement cancérigène)
- Recommandations et limites sanitaires (doses journalières) pour adultes :
 - Dose hebdomadaire tolérable pour un adulte selon l'OMS : 25 µg/kg masse corporelle
- Seuils instaurés pour les macroalgues alimentaires (humain) :
Seule la France a instauré une limite précise concernant les macroalgues alimentaires : 0,5 mg/kg poids sec

METHODES ANALYTIQUES

>RECOMMANDATIONS PRE-ANALYTIQUES

- Récolte des algues :

Précautions, séchage, etc...

- Echantillon de terrain, commerciaux alimentaires (frais ou sec)
- Cuisson
- Séchage à l'étuve, lyophilisation
- Broyage : **poudre**

- Extraction :

- Extraction aqueuse pour l'inorganique
- Digestion acide (sous pression ou non, assistée ou non par micro-onde) ; HNO₃ + H₂O₂ ou HNO₃ + eau
- Digestion *in vitro* : solutions gastrique (pepsine) et intestinale (pancreatine, sels biliaires), 37°C, pH ajusté avec HCl
- 2 extractions assistées par ultrasons : 1) HCl et 2) HCl + HNO₃ + H₂O₂

> METHODES NORMEES DE DOSAGE

International :

AOAC Official Method 2015.01 : Heavy Metals in Food by Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry (ICP-MS)

Europe (NF en France, AFNOR) :

- **EN 14083:2003** : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage du plomb, du cadmium, du chrome et molybdène par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite (GFAAS) après digestion sous pression
- **EN 14084:2003** : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage du plomb, du cadmium, du zinc, du cuivre et du fer par spectrométrie d'absorption atomique (AAS) après digestion par micro-ondes
- **EN 15763:2009** : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage de l'arsenic, du cadmium, du mercure et du plomb par spectrométrie d'émission avec plasma induit par haute fréquence et spectromètre de masse (ICP-MS) après digestion sous pression

Méthodes analytiques recensées :

- **ICP-MS** : Inductively-Coupled Plasma Mass Spectrometry
 - **ICP-OES** : ICP - Optical Emission Spectrometry
 - **ICP-AES** : ICP - Atomic Emission Spectrometry
 - **AAS** : Atomic Absorption Spectrometry
 - **GFAAS** : Graphite Furnace – AAS
- Pas véritablement existence de méthode de spéciation des espèces chimiques contenant Pb.

Méthodes plus anecdotiques

- Total X-Ray Fluorescence (TXRF) par Salomone *et al.* (2017) pour détecter et quantifier le plomb chez *Macrocystis pyrifera*
- Validation sur échantillon de référence

Matériaux de référence standards ou certifiés

- GBW08521 *Porphyra*
- IAEA-140 *Fucus* sp.
- TORT-2 hépatopancréas de homard
- NMIJ CRM 7405a *Hijiki*
- BCR-279 *Ulva lactuca*
- BCR 060 (plante aquatique *Lagarosiphon major*)
- Développement MRS 3232 Kelp Powder (*Thallus laminariae*) par Yu *et al.* (2018)

Calcul de limites de détection (LOD) et/ou de quantification (LOQ) :

Référence	LOD	LOQ	Méthode
Almela <i>et al.</i> , 2006	0,05 µg/g MS		GFAAS
Morrison <i>et al.</i> , 2008	5 µg/L	0,2 µg/g MS	GFAAS
Besada <i>et al.</i> , 2009	0,008 µg/g MS		AAS
Khan <i>et al.</i> , 2015	0,013 ng/g MS	0,042 ng/g MS	ICP-MS
Maulvault <i>et al.</i> , 2015	0,02 µg/g MS		F-AAS
Chen <i>et al.</i> , 2018	0,010 µg/g MS		ICP-OES
Li <i>et al.</i> , 2018		0,001 ng/g MS	ICP-MS
Domínguez-González <i>et al.</i> , 2004	0,07 µg/g MS	0,25 µg/g MS	ICP-OES

Exemples d'applications des méthodes

Bioaccessibilité : Intawongse *et al.* (2018) sur *Caulerpa racemosa* var. *corynephora*

- Digestion *in vitro* : 22,3–32,0%

BIBLIOGRAPHIE

1. Almela, C. *et al.*, (2002) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**(4), 918-923.
2. Almela, C. *et al.*, (2006) *Food and Chemical Toxicology*, **44**(11), 1901-1908.
3. Besada, V. *et al.*, (2009) *Journal of Marine Systems*, **75**(1-2), 305-313.
4. Biancarosa, I. *et al.*, (2018) *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **98**(5), 2035-2042.
5. Cabrita, A.R.J. *et al.*, (2016) *Journal of Applied Phycology*, **28**(5), 3135-3150.
6. Chen, Q. *et al.*, (2018) *Scientific Reports*, **8**(1), 3578.
7. Dawczynski, *et al.*, (2007) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**(25), 10470-10475.
8. Domínguez-González, R. *et al.*, (2004). *Talanta*, **66**(4), 937-942.
9. Farias, D. R. *et al.*, (2018) *Marine Pollution Bulletin*, **128**, 175-184.
10. Hwang, Y. O. *et al.*, (2010) *Food Additives and Contaminants: Part B*, **3**(1), 7-13.
11. Intawongse, M., Kongchouy, N., & Dean, J. R. (2018) *Instrumentation Science & Technology*, **46**(6), 628-644.
12. Julshamn, K *et al.*, (2007) *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, **90**(3), 844-856.
13. Khan, N *et al.*, (2015). *Food Chemistry*, **169**, 464-470.
14. Laird, B. D., & Chan, H. M. (2013) *Food and Chemical Toxicology*, **58**, 381-387.
15. Li, J.-Y. *et al.*, (2018). *Chemosphere*, **210**, 1021-1028.
16. Lignell, Å., *et al.*, (1982). *Zeitschrift Für Pflanzenphysiologie*, **105**(2), 103-109.
17. Maulvault, A. L. *et al.*, (2015). *Environmental Research*, **143**, 72-81.
18. Miedico, O. *et al.*, (2017). *Journal of Food Composition and Analysis*, **64**, 188-197.
19. Moreda-Piñeiro, J. *et al.*, (2007). *Analytica Chimica Acta*, **598**(1), 95-102.
20. Morrison, L. *et al.*, (2008). *Environmental Pollution*, **152**(2), 293-303.
21. Muse, J. O. *et al.*, (1995) *Environmental Pollution*, **87**(2), 249-253.
22. Nguyen, P. T. *et al.*, (2018) *Journal of Fisheries and Environment*, **42**(3), 13-25.
23. Nielsen, M. M. *et al.*, (2016). *Algal Research*, **13**, 235-245.
24. Paz, S. *et al.*, (2018). *Journal of Food Protection*, **81**(7), 1165-1170.
25. Paz, S. *et al.*, (2019) *Chemosphere*, **218**, 879-884.
26. Pérez, A. A. *et al.*, (2007). *Science of The Total Environment*, **376**(1-3), 51-59.
27. Ródenas de la Rocha, S. *et al.*, (2009) *Journal of Food Composition and Analysis*, **22**(4), 330-336.

28. Roleda, M. Y. *et al.*, (2019). *Food Control*, **95**, 121-134.
29. Rubio, C. *et al.*, (2017) *Chemosphere*, **173**, 572-579.
30. Salomone, V. N. *et al.*, (2017). *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, **131**, 74-78.
31. Shimshock, N. *et al.*, (1992) *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **22**(3).
32. Smith, J. *et al.*, (2010) *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, **38**(1), 19-28.
33. Squadrone, S. *et al.*, (2018a). *Environmental Science and Pollution Research*, **25**(10), 9708-9721.
34. Squadrone, S. *et al.*, (2018b) *Marine Pollution Bulletin*, 133, 88-95.
35. Topcuoğlu, S. *et al.*, (2001). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67(2), 0288-0294.
36. Torres-Escribano, S. *et al.*, (2011) *Science of The Total Environment*, 409(3), 604-611.
37. van Netten, C. *et al.*, (2000) *The Science of The Total Environment*, 255(1-3), 169-175.
38. Yong, Y. S. *et al.*, (2015). *Journal of Applied Phycology*, 27(3), 1271-1275.
39. Zhao, Y. (2012). *Chemical Speciation & Bioavailability*, 24(3), 197-203.
40. Zhao, Y. *et al.*, (2015) *Food Chemistry*, 168, 48-54.

CADMIUM

GENERALITES

Formule chimique : Cd

Anglais : cadmium

- Métal lourd pouvant s'avérer toxique en cas de forte exposition
- Selon l'IARC (CIRC, 2020) : Cd dans le groupe 1 (cancérogène), effets toxiques sur les reins, le squelette et l'appareil respiratoire (cancer)
- H350 - Peut provoquer le cancer
- H341 - Susceptible d'induire des anomalies génétiques
- H361fd - Susceptible de nuire à la fertilité. Susceptible de nuire au fœtus
- H330 - Mortel par inhalation
- H372 - Risque avéré d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée
- H410 - Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme
- Les conseils de prudence sont sélectionnés selon les critères de l'annexe 1 du règlement CE n° 1272/2008. Dose hebdomadaire tolérable pour un adulte selon l'OMS : 7 µg/kg masse corporelle
- Seuils instaurés pour les macroalgues alimentaires (humain) : seule la France a instauré une limite précise concernant les macroalgues alimentaires pour le Cd à 0,5 mg/kg de poids sec

mg/kg poids sec	Europe	France	Europe Additif alimentaire
Cd	3,0*	0,5	1,0 [§] 2,0 ^{&}

* Compléments alimentaires composés exclusivement ou principalement d'algues marines séchées, de produits issus d'algues marines, ou de mollusques bivalves séchés
[§] additif à base d'algues: acide alginique, agar agar
[&] additif à base d'algues: carraghénane, algue *Eucheuma* transformée

- Taux importants de Cd dans les algues rouges (Besada *et al.*, 2009 ; Pérez *et al.*, 2007 ; Ryan *et al.*, 2012 ; Topcuoğlu *et al.*, 2001) à l'exception de quelques algues brunes (*Sargassum fusiforme*, *Eisenia bicyclis*...)

METHODES ANALYTIQUES

> RECOMMANDATIONS PRE-ANALYTIQUES

Récolte des algues,

Précautions, séchage, etc...

- Échantillon de terrain, commerciaux alimentaires (frais ou sec)
- Cuisson
- Séchage à l'étuve, lyophilisation
- Broyage : poudre

Extraction

- Extraction aqueuse pour l'inorganique
- Digestion acide (sous pression ou non, assistée ou non par micro-onde) ; HNO₃ + H₂O₂ ou HNO₃ + eau
- Digestion *in vitro* : solutions gastrique (pepsine) et intestinale (pancreatine, sels biliaires), 37°C, pH ajusté avec HCl
- 2 extractions assistées par ultrasons : 1) HCl et 2) HCl + HNO₃ + H₂O₂

> METHODES NORMEES DE DOSAGE

International :

AOAC Official Method 2015.01 : Heavy Metals in Food by Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry (ICP-MS)

Europe (NF en France, AFNOR) :

- **EN 14083:2003** : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage du plomb, du cadmium, du chrome et molybdène
- **EN 14084:2003** : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage du plomb, du cadmium, du zinc, du cuivre et du fer par spectrométrie d'absorption atomique (AAS) après digestion par micro-ondes

- **EN 15763:2009** : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage de l'arsenic, du cadmium, du mercure et du plomb par spectrométrie d'émission avec plasma induit par haute fréquence et spectromètre de masse (ICP-MS) après digestion sous pression.

Chen <i>et al.</i> , 2018	0,009 mg/kg MS		ICP-OES
Li <i>et al.</i> , 2018		0,08 µg/g MS	ICP-MS

Méthodes analytiques recensées :

- **ICP-MS** : Inductively-Coupled Plasma Mass Spectrometry
- **ICP-OES** : ICP - Optical Emission Spectrometry
- **ICP-AES** : ICP - Atomic Emission Spectrometry
- **AAS** : Atomic Absorption Spectrometry
- **GFAAS** : Graphite Furnace – AAS

Pas véritablement existence de méthode de spéciation des espèces chimiques contenant Cd

Matériaux de référence standards ou certifiés :

- IAEA-140 *Fucus* sp.
- TORT-2 hépatopancréas de homard
- NMIJ CRM 7405a Hijiki
- BCR-279 *Ulva lactuca*
- BCR 060 (plante aquatique *Lagarosiphon major*)
- GBW08521 *Porphyra*
- Développement MRS 3232 Kelp Powder (*Thallus laminariae*) par Yu *et al.* (2018)

Calcul de limites de détection (LOD) et/ou de quantification (LOQ) :

Référence	LOD	LOQ	Méthode
Almela <i>et al.</i> , 2006	0,03 µg/g MS		GFAAS
Morrison <i>et al.</i> , 2008	0,5 µg/L	0,02 µg/g MS	GFAAS
Besada <i>et al.</i> , 2009	0,005 µg/g MS		AAS
Khan <i>et al.</i> , 2015	0,021 ng/gMS	0,070 ng/gMS	ICP-MS
Maulvault <i>et al.</i> , 2015	0,01 µg/g MS		F-AAS

BIBLIOGRAPHIE

1. Almela, C. *et al.*, (2002) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**(4), 918-923.
2. Almela, C. *et al.*, (2006) *Food and Chemical Toxicology*, **44**(11), 1901-1908.
3. Besada, V. *et al.*, (2009) *Journal of Marine Systems*, **75**(1-2), 305-313.
4. Biancarosa, I. *et al.*, (2018) *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **98**(5), 2035-2042.
5. Cabrita, A.R.J. *et al.*, (2016) *Journal of Applied Phycology*, **28**(5), 3135-3150.
6. Chen, Q. *et al.*, (2018) *Scientific Reports*, **8**(1), 3578.
7. Dawczynski, C. *et al.*, (2007) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**(25), 10470-10475.
8. Domínguez-González, R., *et al.*, (2004). *Talanta*, **66**(4), 937-942.
9. Farias, D. R. *et al.*, (2018) *Marine Pollution Bulletin*, **128**, 175-184.
10. Hwang, Y. O. *et al.*, (2010) *Food Additives and Contaminants: Part B*, **3**(1), 7-13.
11. Intawongse, M. *et al.*, (2018) *Instrumentation Science & Technology*, **46**(6), 628-644.
12. Julshamn, K. *et al.*, (2007) *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, **90**(3), 844-856.
13. Khan, N. *et al.*, (2015). *Food Chemistry*, **169**, 464-470.
14. Laird, B. D. & Chan, H. M. (2013) *Food and Chemical Toxicology*, **58**, 381-387.
15. Li, J.-Y. *et al.*, (2018). *Chemosphere*, **210**, 1021-1028.
16. Lignell, Å. *et al.*, (1982). *Zeitschrift Für Pflanzenphysiologie*, **105**(2), 103-109.
17. Maulvault, A. L. *et al.*, (2015). *Environmental Research*, **143**, 72-81.

18. Miedico, O. *et al.*, (2017). *Journal of Food Composition and Analysis*, **64**, 188-197.
19. Moreda-Piñeiro, J. *et al.*, (2007). *Analytica Chimica Acta*, **598**(1), 95-102.
20. Morrison, L. *et al.*, (2008). *Environmental Pollution*, **152**(2), 293-303.
21. Muse, J. O. *et al.*, (1995) *Environmental Pollution*, **87**(2), 249-253.
22. Nguyen, P. T. *et al.*, (2018) *Journal of Fisheries and Environment*, **42**(3), 13-25.
23. Nielsen, M. M. *et al.*, (2016). *Algal Research*, **13**, 235-245.
24. Paz, S. *et al.*, (2018). *Journal of Food Protection*, **81**(7), 1165-1170.
25. Paz, S. *et al.*, (2019) *Chemosphere*, **218**, 879-884.
26. Pérez, A. A. *et al.*, (2007). *Science of The Total Environment*, **376**(1-3), 51-59.
27. Ródenas de la Rocha, S. *et al.*, (2009) *Journal of Food Composition and Analysis*, **22**(4), 330-336.
28. Roleda, M. Y. *et al.*, (2019). *Food Control*, **95**, 121-134.
29. Rubio, C. *et al.*, (2017) *Chemosphere*, **173**, 572-579.
30. Salomone, V. N. *et al.*, (2017). *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, **131**, 74-78.
31. Shimshock, N. *et al.*, (1992) *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **22**(3).
32. Smith, J. *et al.*, (2010) *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, **38**(1), 19-28.
33. Squadrone, S. *et al.*, (2018a). *Environmental Science and Pollution Research*, **25**(10), 9708-9721.
34. Squadrone, S. *et al.*, (2018b) *Marine Pollution Bulletin*, **133**, 88-95.
35. Topcuoğlu, S. *et al.*, (2001). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **67**(2), 0288-0294.
36. Torres-Escribano, S. *et al.*, (2011) *Science of The Total Environment*, **409**(3), 604-611.
37. Van Netten, C. *et al.*, (2000) *The Science of The Total Environment*, **255**(1-3), 169-175.
38. Yong, Y. S. *et al.*, (2015). *Journal of Applied Phycology*, **27**(3), 1271-1275.
39. Zhao, Y. (2012). *Chemical Speciation & Bioavailability*, **24**(3), 197-203.
40. Zhao, Y. *et al.*, (2015) *Food Chemistry*, **168**, 48-54.

MERCURE

GENERALITES

Formule chimique : Hg

Anglais : mercury

- Élément toxique pour la santé humaine (OMS, 2017) :
 - Troubles cognitifs, digestifs, immunitaires, pulmonaires, rénaux, oculaires ou encore de la peau
 - Particulièrement nocif pour le développement du fœtus et les jeunes enfants
 - 1,5 à 17 enfants sur 1000 présentent des troubles cognitifs dans les populations dépendantes de la pêche pour leur subsistance
- Exposition principalement liées à l'inhalation de vapeurs et à la consommation de produits de la mer (poissons, coquillages)
 - 1932-1968 : 2000 cas de maladie de Minamata (Japon), provoquée suite aux déversements de rejets riches en méthylmercure (MeHg) d'une usine dans la baie du même nom, accumulé dans les poissons et coquillages très consommés (50 000 personnes touchées)
 - Cas de lésions cérébrales, paralysies, délires et paroles incohérentes
- H360D - Peut nuire au fœtus
- H330 - Mortel par inhalation
- H372 - Risque avéré d'effets graves pour les organes
- H410 - Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme

Nota : Les conseils de prudence sont sélectionnés selon les critères de l'annexe 1 du règlement CE n° 1272/2008.

- **Dans le milieu marin :**
 - Libre sous forme d'ions Hg²⁺

- Peut se méthyler en MeHg, forme la plus toxique (Clarkson & Magos, 2006)
- Doses hebdomadaires tolérables pour un adulte selon l'OMS
 - Hg : 5µg/kg masse corporelle
 - MeHg : 1,6µg/kg masse corporelle
- Seuils réglementaires dans les algues alimentaires (et produits associés) mg/kg poids sec : : seulement en France

mg/kg poids sec	France	Europe Additif alimentaire
Hg	0,1	1,0

Formes observées dans les macroalgues :

- Les algues contrairement aux animaux marins n'accumulent pas de formes organiques du mercure comme le MeHg mais des sels de mercure dans les baies polluées.

METHODES ANALYTIQUES

>RECOMMANDATIONS PRE-ANALYTIQUES

Récolte des algues :

Précautions, séchage, etc...

- Echantillon de terrain, commerciaux alimentaires (frais ou sec)
- Cuisson
- Séchage à l'étuve, lyophilisation
- Broyage : poudre

Extraction :

- **EN 13346:2000** : méthode pour l'extraction, avec l'eau régale (HCl 2-4 vol. + HNO₃ +1 vol. + eau)
- Digestion acide (sous pression ou non, assistée ou non par micro-onde) ; HNO₃ + H₂O₂ ou HNO₃ + eau
- Digestion *in vitro* : solutions gastrique (pepsine) et intestinale (pancréatine, sels biliaires), 37°C, pH ajusté avec HCl
- 2 extractions assistées par ultrasons : 1) HCl et 2) HCl + HNO₃ + H₂O₂

> METHODES NORMEES DE DOSAGE

International :

- **AOAC Official Method 2015.01** : Heavy Metals in Food by Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry (ICP-MS).

Europe (NF en France, AFNOR) :

- **EN 13806:2002** : Produits alimentaires - Dosage des éléments-traces - Dosage du mercure par spectrométrie d'absorption atomique par génération de vapeurs froides après digestion sous pression (CVAAS).
- **EN 15763:2009** : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage de l'arsenic, du cadmium, du mercure et du plomb par spectrométrie d'émission avec plasma induit par haute fréquence et spectromètre de masse (ICP-MS) après digestion sous pression.
- **EN 16801:2016** : Produits alimentaires - Détermination des éléments et de leurs espèces chimiques - Détermination de la teneur en méthylmercure dans les produits alimentaires d'origine marine par dilution isotopique GC-ICP-MS.
- **EN 17266:2019** : Produits alimentaires - Dosage des éléments et de leurs espèces chimiques - Dosage du mercure organique dans les produits de la mer par analyse du mercure élémentaire - Produits alimentaires - Dosage des éléments et de leurs espèces chimiques - Dosage du mercure organique dans les fruits de mer par analyse du mercure élémentaire.
- **EN ISO 17852:2008** : Qualité de l'eau - Dosage du mercure - Méthode par spectrométrie de fluorescence atomique (FA).

Méthodes analytiques recensées

- Analyseur de mercure : (analyse sans préparation des échantillons)
- ICP-MS : Inductively-Coupled Plasma Mass Spectrometry
- ICP-OES : ICP- Optical Emission Spectrometry
- AAS : Atomic Absorption Spectrometry
- CVAAS : Cold Vapour – AAS
- CVAFS : CV- Atomic Fluorescence Spectrometry
- INAA : Instrumental Neutron Activation Analysis

Matériaux de référence standards ou certifiés :

- NIST 1577 BL foie de bovin
- IAEA-140 *Fucus* sp
- TORT-2 hépatopancréas de homard
- BCR-278R MT Tissu de moule
- BCR-279 *Ulva lactuca*
- Développement MRS 3232 **Kelp Powder (*Thallus laminariae*)** par Yu *et al.* (2018)

Calcul de limites de détection (LOD) et/ou de quantification (LOQ) :

Référence	LOD	LOQ	Méthode
Brombach <i>et al.</i> , 2015	0,43 ng/g MS	51 ng/g MS	CVAFS
Henriques <i>et al.</i> , 2015	1,6 ng/L	3 ng/L	CVAFS
Fernández-Fernández <i>et al.</i> , 2007	16 ng/gMS	53, /gMS	CVAAS
van Netten <i>et al.</i> , 2000	0,05 ng/g MS		ICP-MS
Laird & Chan 2013	4 ng/g MS		CVAFS
Chen <i>et al.</i> , 2018	0,005 µg/g MS		ICP-OES

Exemples d'applications des méthodes

Bioaccessibilité : après digestion *in-vitro*

- Concentrations d'Hg < LOD dans les échantillons d'algues (Maulvault *et al.*, 2015 ; Laird & Chan 2013 ; Alves *et al.*, 2018)
- Faibles valeurs mesurées dans d'autres études : Rappel seuils France et Europe : 0,1 µg/g MS

BIBLIOGRAPHIE

1. Almela, C. *et al.*, (2002). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(4), 918-923.
2. Alves, R. N. *et al.*, (2018). Food Chemistry, 267, 15-27.
3. Besada, V. *et al.*, (2009). Journal of Marine Systems, 75(1-2), 305-313.

4. Biancarosa, I. *et al.*, (2018) *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(5), 2035-2042.
5. Brombach, C.-C. *et al.*, (2015). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(3), 973-981.
6. Cabrita, A. R. J. *et al.*, (2016). *Journal of Applied Phycology*, 28(5), 3135-3150.
7. Chen, Q. *et al.*, (2018). *Scientific Reports*, 8(1), 3578.
8. Clarkson, T. W. & Magos, L. (2006) *Critical Reviews in Toxicology*, 36(8), 609-662.
9. Dawczynski, C., *et al.*, (2007) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(25), 10470-10475.
10. dos Santos Fogaça, F. H., *et al.*, (2016) In *Embrapa Meio-Norte-Resumo em anais de congresso (ALICE)*. Lisboa : Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.
11. Fernández-Fernández, M. A. *et al.*, (2007) *J. Anal. At. Spectrom.*, 22(5), 573-577.
12. Fernández-Martínez, R., *et al.*, (2015) *Journal of Food Composition and Analysis*, 38, 7-12.
13. Ferreira, J. G. (1991) *Aquatic Botany*, 39(3-4), 335-343.
14. Henriques, B. *et al.*, (2015) *Chemical Engineering Journal*, 281, 759-770.
15. Hwang, Y. O. *et al.*, (2010) *Food Additives and Contaminants: Part B*, 3(1), 7-13.
16. Julshamn, K. *et al.*, (2007). *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 90(3), 844-856.
17. Khan, N. *et al.*, (2015). *Food Chemistry*, 169, 464-470.
18. Kim, J. K. *et al.*, (2019). *Algal Research*, 40, 101484.
19. Laird, B. D. & Chan, H. M. (2013). *Food and Chemical Toxicology*, 58, 381-387.
20. Maehre, H. K. *et al.*, (2014). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(15), 3281-3290.
21. Maulvault, A. L. *et al.*, (2015) *Environmental Research*, 143, 72-81.
22. Miedico, O. *et al.*, (2017) *Journal of Food Composition and Analysis*, 64, 188-197.
23. Monteiro, M. S. *et al.*, (2019) *EFSA Journal*, 17(S2), e170915.
24. Morrison, L. *et al.*, (2008) *Environment International* 118, 314-324
25. Paz, S. *et al.*, (2019) *Chemosphere*, 218, 879-884.
26. Roleda, M. Y. *et al.*, (2019) *Food Control*, 95, 121-134.
27. Serfor-Armah, Y. *et al.*, (2011) *Water, Air And Soil Pollution*, 127, 243-253.
28. Smith, J. *et al.*, (2010) *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 38(1), 19-28.
29. Squadrone, S. *et al.*, (2018a). *Environmental Science and Pollution Research*, 25(10), 9708-9721.
30. Squadrone, S. *et al.*, (2018b) *Marine Pollution Bulletin*, 133, 88-95.
31. Struck, B. D. *et al.*, (1997) *The Science of the Total Environment*, 207(1), 29-42.
32. Torres-Escribano, S. *et al.*, (2011) *Science of The Total Environment*, 409(3), 604-611.
33. Van Netten, C. (2000). *The Science of The Total Environment*, 255(1-3), 169-175.

ETAIN

GENERALITES

Formule chimique : Sn

Anglais : Tin

- Les liaisons étain-produit organique sont les plus dangereuses ; ces combinaisons sont utilisées dans l'industrie de la peinture, du plastique et des pesticides. Le nombre d'applications ne cesse d'augmenter. Le triéthylétain est la substance la plus dangereuse. On peut absorber des composés à base d'étain par la nourriture, en respirant et par contact.
- Irritations des yeux et de la peau,
- maux de tête ou d'estomac, nausées, transpiration, dyspnée, etc.
- effets à long terme: dépressions, dommages au foie, dysfonctionnement du système immunitaire, altération des chromosomes, carence en globules rouges, dommages au cerveau.
- La forme toxique de l'étain est la forme organique qui peut rester dans l'environnement pendant de longues périodes. La concentration de ces composés ne cesse d'augmenter ; ces derniers peuvent se diffuser dans l'eau et sont toxiques pour les algues et le phytoplancton.
- Le tributylétain anciennement utilisés dans les peintures antisalissures est plus toxique pour les poissons et perturbent la physiologie des mollusques (reproduction et formation de la coquille), tandis que le triphénylétain est plus toxique pour le phytoplancton.
- L'exposition a lieu dans la couche supérieure de l'eau, car c'est là que les composés organiques de l'étain s'accumulent.
- Seule la France a instauré une limite précise concernant les macroalgues alimentaires : 5 mg/kg poids sec.

Formes observées dans les macroalgues

Fluorure d'étain, Chlorure d'étain, Oxyde d'étain

METHODES ANALYTIQUES

>RECOMMANDATIONS PRE-ANALYTIQUES

Récolte des algues :

Précautions, séchage, etc...

- Echantillon de terrain, commerciaux alimentaires (frais ou sec)
- Cuisson
- Séchage à l'étuve, lyophilisation
- Broyage : poudre

Extraction :

- **EN 13346:2000** : méthode pour l'extraction, avec l'eau régale (HCl 2-4 vol. + HNO₃ + 1 vol. + eau)
- Digestion acide (sous pression ou non, assistée ou non par micro-onde) ; HNO₃ + H₂O₂ ou HNO₃ + eau
- Digestion *in vitro* : solutions gastrique (pepsine) et intestinale (pancréatine, sels biliaires), 37°C, pH ajusté avec HCl
- 2 extractions assistées par ultrasons : 1) HCl et 2) HCl + HNO₃ + H₂O₂

> METHODES DE DOSAGE

International :

- **AOAC Official Method 2015.01** : Heavy Metals in Food by Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry (ICP-MS).

Europe (NF en France, AFNOR) :

- **EN ISO 11885:2009 : T90-136** : Dosage d'éléments choisis par spectroscopie d'émission optique avec plasma induit par haute fréquence (ICP-OES). Les éléments suivants sont concernés : aluminium, antimoine, argent, arsenic, baryum, béryllium, bismuth, bore, cadmium, calcium, chrome, cobalt, cuivre, étain, fer, gallium, indium, lithium, magnésium, manganèse, molybdène, nickel, phosphore, plomb, potassium, sélénium, silicium, sodium,

strontium, soufre, titane, tungstène,
vanadium, zinc et zirconium.

BIBLIOGRAPHIE

1. Fišera, M. *et al.*, (2019). *Potravinarstvo*
Slovak Journal of Food Sciences 13(1),
pp. 369-377.
2. Wondimu T. *et al.*, (2007). *Food*
Chemistry, **104**, 542–550.
3. Wright PJ & Weber JH., (1991).
Environ. Sci. Technol. 25(2), 287–294.

IODE

GENERALITES

Formule chimique : I

Anglais : Iodine

- L'iode est un élément très rare sur la terre et les océans en sont la principale source naturelle.
- Sous forme de teinture d'iode, il a été très utilisé comme antiseptique avant l'ère des antibiotiques.
- C'est un élément essentiel dans l'alimentation (hormones thyroïdiennes) mais qui peut devenir toxique si ingéré en grandes quantités (hypo- and hyperthyroïdie) sous sa forme assimilable d'iodure.
- Recommandations et limites sanitaires (doses journalières) pour adultes :
 - Limite OMS : 1 mg/jour (0,017 mg/kg masse corporelle)
 - Recommandations OMS : 180-200 µg/j (régions carencées), 100-140 µg/jour (non carencées).

Institutions/Pays	Limite Quotidienne
Europe	600 µg
Norvège	600 µg
Allemagne	500 µg
USA	1,1 mg
Nouvelle Zélande	1,1 mg

Formes observées dans les macroalgues

- Inorganiques :
 - iodure I⁻ (majoritaire)
 - Iodate IO³⁻ (eau de mer)
- Organiques :
 - 3-iodo-L-tyrosine (MIT)
 - 3,5-diiodo-L-tyrosine dihydrate (DIT)
 - Phénols iodés
 - Lipides iodés
- Isotopes :
 - Stable majoritaire : ¹²⁷I

- Radioactifs : ¹³¹I, ¹²⁹I
- Teneurs plus importantes chez les algues brunes, la famille des Laminariaceae (*Laminaria* spp., *Saccharina* spp.) contient essentiellement des sels d'iodure, alors que les Alariaceae (*Undaria*, *Alaria* spp.) est plus riche en formes organiques.
- Seuils réglementaires dans les algues alimentaires (et produits associés) :
 - France : < 2 000 mg/ kg de masse sèche (ANSES, 2020).
 - USA : < 5 000 mg/kg MS

METHODES ANALYTIQUES

>RECOMMANDATIONS PRE-ANALYTIQUES

Récolte des algues :

Précautions, séchage, etc...

- Echantillon de terrain, commerciaux alimentaires (frais ou sec)
- Cuisson
- Séchage à l'étuve, lyophilisation
- Broyage : **poudre**

Extraction :

- Extraction alcaline au TMAH (assistée par micro-onde ou non).
- Incinération alcaline
- Digestion acide (HNO₃ + H₂O₂) avec ajout d'ammoniac en agent stabilisant juste avant analyse
- Digestion *in vitro* : solutions gastrique (pepsine) et intestinale (pancréatine, sels biliaries), 37°C, pH ajusté avec HCl ou pour éliminer fibres alimentaire; pas de prétraitement
- Incinération alcaline : incinération en présence de KOH pour convertir iode total en I⁻.

> METHODES NORMEES DE DOSAGE

International :

- **AOAC International 2012.15** : Determination of Total Iodine in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formula by Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry (ICP-MS)

Europe (NF en France, AFNOR) :

- **EN 15111:2007** : Produits alimentaires - Dosage des éléments traces - Dosage de l'iode par spectrométrie d'émission avec plasma induit par haute fréquence et spectromètre de masse (ICP-MS)

Méthodes analytiques recensées :

- **ICP-MS** : Inductively-Coupled Plasma Mass Spectroscopy
- **ICP-OES** : Inductively-Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy
- **HPLC-ICP-MS** : High Performance Liquid Chromatography – ICP-MS
- **HPLC-UV**
- **NAA** : Neutron Activation Analysis
- **ENAA** : Epithermal NAA
- **EINAA-CSS** : Epithermal Instrumental NAA with Compton Suppression Spectrometry
- **PIXE** : Particle-induced X-ray Emission (proton microprobe)
- **SIMS** : Secondary ionic Mass Spectrometry
- **GC-ECD** : Gas Chromatography-Electron Capture Detector
- **TXRF** : Total X-Ray Fluorescence, spectrométrie de fluorescence X ; Ex : Lüning & Mortensen (2015) pour analyses de *Saccharina latissima*

Nota : Peu d'études citent une méthode normée alors qu'elles semblent en utiliser

Méthodes plus anecdotiques (anciennes ou novatrices) :

- Teas *et al.* 2004 utilisant Benotti et Benotti (1963) et Benotti *et al.* (1965)
 - Oxydoréduction cereic/arsenite catalysée par I⁻ puis quantification par spectrométrie (420 nm)
- Limchoowong *et al.* (2016), sur un panel d'échantillons alimentaires de Thaïlande (dont algues sèches en tablette)
 - Extraction à l'eau chauffée supplémentée ou non d'ammonia 3% assistée par ultrasons, puis quantification par ICP-OES écologique/économique (réactifs), rapide (extraction 5min)

- Iode dosé à 80-118% dans des échantillons de référence
- Yeh *et al.* (2014) : méthode GC-ECD ; méthode HPLC (Nitschke & Stengel, 2016; Roleda *et al.* 2018)
- Plus économiques qu'ICP-MS et plus rapide

Matériaux de référence standards ou certifiés :

- NIES-09 Sargasso (Okanamoto, 1988)
- NIST SRM 1566a Oyster Tissue
- NIST SRM 1549 Non-Fat Milk Powder
- NIST 1573a tomato leaves
- NIST 8435 whole milk powder
- NIST 1548 Typical Diet
- NIST 3280 multivitamin tablets
- NIST RM 8415 Egg powder
- NIES/NIRS CRM Typical Japanese Diet
- NIST SRM 1572 Citrus Leaves
- BCR 150 Milk Powder
- BCR 129 Hay Powder
- BCR 422 Cod Muscle
- GBW 08519 tea leaf
- Frondes et apex de *L. digitata* et apex de *F. vesiculosus* exposés à des concentrations connues (non certifié)
- Développement récent d'un MRS 3232 Kelp Powder (*Thallus laminariae*) par Yu *et al.* (2018)

Exemples d'applications des méthodes :

- Effets de la cuisson des algues (eau bouillante)
- *Saccharina latissima* : perte de 70% du contenu en iode dès 2 min de cuisson (Lüning & Mortensen, 2015)
 - Kombu japonais (*S. japonica*) : 99% de l'iode retrouvée dans l'eau de cuisson après 15 min (Ishizuki *et al.*, 1989)
 - Bioaccessibilité et biodisponibilité
 - Domínguez-González *et al.* (2017) : algues alimentaires commercialisées en Espagne
 - Différences de concentrations au sein d'une même espèce

Distribution de l'iode dans les algues :

- Selon l'âge du thalle
- Selon la partie du thalle (crampon, sporophylles, stipe...)

- Distribution sub-cellulaire dans la paroi - majorité sous forme d'iodure I⁻
- Ar Gall *et al.* (2004), Küpper. (2015), Verhaeghe *et al.* (2008) pour *Laminaria digitata*; Teas (2004) pour *Ecklonia*, *Laminaria*; Fukushima & Chatt (2012) pour *Undaria pinnatifida*

Calcul de limites de détection (LOD) et/ou de quantification (LOQ) :

Référence	LOD	LOQ	Méthode
Domínguez-González <i>et al.</i> (2017)	0,3 µg/L	1,1 µg/L	ICP-MS
Fukushima & Chatt (2012)	2 µg/gMS		EINAA-CSS
Roleda <i>et al.</i> (2018)	5 µg/g MS	25 µg/g MS	HPLC
Romarís-Hortas <i>et al.</i> (2012)	1,4-2,4 ng/g MS	4,7-12 ng/g MS	
Verhaeghe <i>et al.</i> (2008)	10 µg/g MS		PIXE

BIBLIOGRAPHIE

- ANSES (2020). Saisine n°2017-SA-0070, du 21 juillet 2020. Agence Nationale de Sécurité Sanitaire alimentation, environnement, travail.
- Ar Gall, E. *et al.*, (2004) *Botanica Marina*, **47**(1), 30-37.
- Benotti, J., & Benotti, N. (1963). *Clinical Chemistry*, **9**(4), 408-416.
- Benotti, J. *et al.*, (1965). *Clinical Chemistry*, **11**(10), 932-936.
- Biancarosa, I. *et al.*, (2018). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **98**(5), 2035-2042.
- Cabrita, A.R.J. *et al.*, (2016). *Journal of Applied Phycology*, **28**(5), 3135-3150.
- Creelius E.A. (1975) *Analytical Chemistry*, **47**(12): 2034-2035
- Dawczynski, C. *et al.*, (2007). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**(25), 10470-10475.
- Domínguez-González, M.R. *et al.*, (2017). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **65**(38), 8435-8442.
- Fukushima, M. & Chatt, A. (2012). *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, **294**(3), 471-478.
- Hou, X *et al.*, (1997) *Science of The Total Environment*, **204**(3), 215-221.
- Ishizuki, Y *et al.*, (1989). *Folia Endocrinologica Japonica*, **65**(2), 91-98.
- Julshamn, K. *et al.*, (2001). *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, **84**(6), 1976-1983.
- Limchoowong, N. *et al.*, (2017). *Journal of the Brazilian Chemical Society.*, **28**(4), 540-546
- Lüning, K. & Mortensen, L. (2015). *Botanica Marina*, **58**(6), 449-455.
- Nitschke, U. & Stengel, D. B. (2015). *Journal of Applied Phycology*, **28**(6), 3527-3533.
- Okanamoto, K. (1988). *Marine Environmental Research*, **26**, 199-207.
- Roleda, M. Y. *et al.*, (2018). *Food Chemistry*, **254**, 333-339.
- Romarís-Hortas, V. *et al.*, (2012). *Journal of Chromatography A*, **1236**, 164-176.
- Smith, J. *et al.*, (2010). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, **38**(1), 19-28.
- Teas, J. *et al.*, (2004). *Thyroid Research*, **14**(10), 836-841.
- Todorov, T. I. & Gray, P. J. (2016). *Food Additives & Contaminants: Part A*, 1-9.
- van Netten, C. *et al.*, (2000). *The Science of The Total Environment*, **255**(1-3), 169-175.
- Varga I., (2007) *Microchemical Journal* **85**(1), 127-131.
- Verhaeghe, EF. *et al.*, (2008). *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **13**(2), 257-269.
- Yeh, T. S. *et al.*, (2014). *Journal of Food and Drug Analysis*, **22**(2), 189-196.
- Yu, L.L. *et al.*, (2018). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **410**(4), 1265-1278.

HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES (HAP)

GENERALITES

Anglais : Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH)

- Le règlement UE 835/2011 a introduit de nouvelles teneurs maximales pour la somme des quatre substances HAP : benzo(a)pyrène, benz(a)anthracène, benzo(b)fluoranthène et chrysène, tout en conservant séparément une teneur maximale pour le benzo(a)pyrène.
- Ce système garantirait le maintien des teneurs en HAP dans les aliments à des niveaux bénins et permettrait de contrôler la quantité de HAP dans les échantillons où le benzo(a)pyrène n'est pas décelable mais où d'autres HAP sont présents.

Formes observées dans les macroalgues :

- L'analyse a porté sur 48 données parues entre 2003 et 2018.
- Cela a permis d'évaluer environ 8 familles d'algues cultivées ou revendues dans 3 régions distinctes dans le monde : Mer Adriatique (Italie), Mer Jaune (Chine) et l'Atlantique nord (Canada).
- Dans ces études, la présence de HAP a été détectée dans 10 échantillons dont une algue qui avait une teneur en HAP > 30 ng/g (Océan Pacifique).

16 HAP classés prioritaires par l'US EPA (United States Environmental Protection Agency) : naphtalène, acénaphthylène, acénaphtène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène, pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(b) fluoranthène, dibenzo(a,h)anthracène, benzo(g,h,i)pérylène, indéno (1,2,3,c,d)pyrène

METHODES ANALYTIQUES

>RECOMMANDATIONS PRE-ANALYTIQUES

Récolte des algues :

Précautions, séchage, etc...

- Echantillon de terrain, commerciaux alimentaires (frais ou sec)
- Cuisson
- Séchage à l'étuve, lyophilisation
- Broyage : **poudre**

Extraction :

- Extraction au Soxhlet
- Extraction par liquide pressurisé. Les solvants utilisés sont le méthanol, l'acétone ou l'hexane
- Extraction assistée par micro-ondes
- Dispersion matricielle en phase solide
- Extraction par Quetchers

> METHODES NORMEES DE DOSAGE

Europe (NF en France, AFNOR) :

- **EN 17063:2017** : Aliments d'origine végétale - Multiméthode de détermination des résidus de pesticides par analyse GC et LC après extraction/partition avec de l'acétonitrile et purification par SPE dispersive - Méthode modulaire QuEChERS - Aliments d'origine végétale - Détermination des résidus de pesticides par GC-MS et/ou LC-MS/MS après extraction/séparation à l'acétonitrile et nettoyage par SPE dispersive - Méthode QuEChERS.

Méthodes analytiques recensées :

- **GC-MS**: Gas Chromatography-Mass Spectrometry
- **SPME-GC-MS** : Solid Phase Micro Extraction

Matériaux de référence standards ou certifiés :

- IAEA-140 : algue (*Fucus* sp.) : composés organochlorés et hydrocarbures (HAP) (2000)

Contrôle qualité de l'extraction par injection dans l'échantillon de composés standard commerciaux dans des algues de référence ou exemptes de contamination par des HAP (Zhang *et al.*, 2018).

BIBLIOGRAPHIE

1. Li, J.-Y. *et al.*, (2018). *Chemosphere*, **2010**, 1021-1028.
2. Pavoni, B. *et al.*, (2003). *Oceanologica Acta*, **26**(5-6), 585-596.
3. Zhang, L. *et al.*, (2018) *Analytica Chimica Acta*, **1031**, 83-97.

DIOXINES ET POLYCHLOROBIPHENYLES (PCB)

- Le PCB a été détecté dans 14 échantillons dont une algue *Undaria pinnatifida* avait une teneur en PCB 101 entre 6,6 et 8,2 ng/g (Espagne)

METHODES ANALYTIQUES

>RECOMMANDATIONS PRE-ANALYTIQUES

GENERALITES

Anglais : Dioxins and PCB

- Polychlorodibenzo-p-dioxine (PCDDs), Polychlorodibenzo-furanes (PCDFs), Polychlorobiphényles (PCBs) sont des polluants organiques persistants
- Un des liens éventuels entre les PCDD/F et les PCB est la présence de traces de furanes (PCDF) comme contaminants des PCB (les furanes se forment au moment de la synthèse des PCB).
- D'une façon générale, les poissons et autres produits de la mer sont plus contaminés que les produits animaux terrestres.
- La contamination par les PCDD/F est corrélée à celle par les PCB, notamment dans le cas des produits de la mer (ANSES, 2005).
- Le règlement CE 1881/2006 (Commission Européenne, 2006) fixe les teneurs maximales de dioxines et PCB pour certains types de denrées alimentaires, mais cela n'inclus pas les algues.

Formes observées dans les macroalgues :

- L'analyse a porté sur 51 données parues entre 1995 et 2018.
- Cela a permis d'évaluer environ 12 familles d'algues cultivées dans 6 régions distinctes dans le monde : Italie, Portugal, Espagne, Canada, Japon et l'Antarctique.
- Dans ces études, la présence de PCDD a été détectée dans 6 échantillons dont la teneur a varié de 0,0045 à 0,9949 ng/g
- Le PCDF a été détecté dans 6 échantillons dont la teneur a varié de 0,00025 à 0,1305 ng/g

Récolte des algues :

Précautions, séchage, etc...

- Echantillon de terrain, commerciaux alimentaires (frais ou sec)
- Cuisson
- Séchage à l'étuve, lyophilisation
- Broyage : poudre

Extraction :

- Extraction au Soxhlet
- Extraction par liquide pressurisé. Les solvants utilisés sont l'eau, le méthanol, l'acétone, l'hexane ou le toluène
- Extraction assistée par micro-ondes
- Dispersion matricielle en phase solide
- Extraction par Quetchers

> METHODES NORMEES DE DOSAGE

Europe (NF en France, AFNOR) :

- **EN 16215:2020** : Aliments des animaux - Méthodes d'échantillonnage et d'analyse. Dosage des dioxines, des PCBs de type dioxine et des PCBs indicateurs par GC/HRMS

Méthodes d'analyse recensées :

- **GC-MS**: Chromatographie gazeuse couplé à la - spectrométrie de masse
- **HRGC/HRMS** : Chromatographie gazeuse à haute résolution couplé à la spectrométrie de masse à haute résolution

BIBLIOGRAPHIE

- 1- Commission Européenne (2006). Règlement (CE) n°1881/2006 de la commission du 19 décembre 2006. *Journal officiel de l'Union Européenne*.

- 2- ANSES (2005). Saisine n°2005-SA-0372.
*Agence Nationale de Sécurité Sanitaire
alimentation, environnement, travail*

VII Bibliographie

Ce chapitre récapitule l'ensemble des publications qui ont été consultées, pour réaliser cette étude, cependant toutes ne sont pas citées dans le texte de l'étude.

- Aceto, M. (2016). The Use of ICP-MS in Food Traceability. In M. Espiñeira & F. J. Santaclara (Éds.), *Advances in Food Traceability Techniques and Technologies* (p. 137-164). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100310-7.00008-9>
- Adouani, I. (2020). Cours de chimie analytique, 3eme année docteur en pharmacie, chapitre VI : la spectroscopie atomique (SA).
- Al Amin, M. H., Xiong, C., Francesconi, K. A., Itahashi, Y., Yoneda, M., & Yoshinaga, J. (2020). Variation in arsenolipid concentrations in seafood consumed in Japan. *Chemosphere*, 239, 124781. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124781>
- Almela, C., Algora, S., Benito, V., Clemente, M. J., Devesa, V., Sùñer, M. A., Vélez, D., & Montoro, R. (2002). Heavy metal, total Arsenic, and inorganic arsenic contents of algae food products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(4), 918-923. <https://doi.org/10.1021/jf0110250>
- Almela, C., Clemente, J. M., Vélez, D., & Montoro, R. (2006). Total arsenic, inorganic arsenic, lead and cadmium contents in edible seaweed sold in Spain. *Food and Chemical Toxicology*, 44(11), 1901-1908. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.06.011>
- Almela, C., Laparra, J. M., Vélez, D., Barberá, R., Farré, R., & Montoro, R. (2005). Arsenosugars in raw and cooked edible seaweed : Characterization and bioaccessibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(18), 7344-7351. <https://doi.org/10.1021/jf050503u>
- Al-Rashdan, A., Helaleh, M. I. H., Nisar, A., Ibtisam, A., Al-Ballam, Z., (2010) Determination of the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in toasted bread using gas chromatography mass spectrometry. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2010:821216. doi:[10.1155/2010/821216](https://doi.org/10.1155/2010/821216)
- Alsaffar, N. M., & Hussein, H. jabber. (2014). Determination of heavy metals in some cosmetics available in locally markets. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 8(8), 09-12. <https://doi.org/10.9790/2402-08810912>
- Alves, R. N., Maulvault, A. L., Barbosa, V. L., Fernandez-Tejedor, M., Tediosi, A., Kotterman, M., van den Heuvel, F. H. M., Robbens, J., Fernandes, J. O., Romme Rasmussen, R., Sloth, J. J., & Marques, A. (2018). Oral bioaccessibility of toxic and essential elements in raw and cooked commercial seafood species available in European markets. *Food Chemistry*, 267, 15-27. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.045>
- ANSES. (2005). Saisine n°2005-SA-0372 : Avis de l'Agence nationale de sécurité alimentaire et de l'alimentation de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation de l'exposition de la population française aux dioxines, furanes et PCB de type dioxine. *Agence Nationale de Sécurité Sanitaire alimentation, environnement, travail*
- ANSES. (2018a). Saisine n°2017-SA-0086 : Avis de l'Agence nationale de sécurité alimentaire et de l'alimentation de l'environnement et du travail relatif au risque d'excès d'apport en iode lié à la consommation d'algues dans les denrées alimentaires. *Agence Nationale de Sécurité Sanitaire alimentation, environnement, travail*.
- ANSES. (2018b). Détermination de la teneur en arsenic, cadmium, plomb et mercure dans les denrées alimentaires d'origine animale—Dosage par spectrométrie de masse couplée à un plasma induit (ICP-MS) après digestion (acide) par voie humide (ANSES/PR3/7/01-04 [version c]). *Agence Nationale de Sécurité Sanitaire alimentation, environnement, travail*.

- ANSES. (2020). Saisine n°2017-SA-0070 : Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif « à la teneur maximale en cadmium pour les algues destinées à l'alimentation humaine ». *Agence Nationale de Sécurité Sanitaire alimentation, environnement, travail*.
- AOAC 999.10. (1999). AOAC Official Method 999.10 Lead, Cadmium, Zinc, Copper, and Iron in Foods—Atomic Absorption Spectrophotometry after Microwave Digestion. *AOAC International*. <https://www.aoac.org>
- AOAC 2012.15. (2012). AOAC Official Method 2012.15 Total iodine in infant formula and adult/pediatric nutritional formula: Inductively coupled plasma-mass spectrometry. *AOAC International*. <https://www.aoac.org>
- AOAC SMPR 2012.007. (2012). AOAC SMPR 2012.007 Standard method performance requirements for heavy metals in a variety of foods and beverages. *AOAC International*. <https://www.aoac.org>
- AOAC 2015.01. (2015a). AOAC Official Method 2015.01: Heavy Metals in Food by Inductively coupled plasma-mass spectrometry. *AOAC International*. <https://www.aoac.org>
- AOAC SMPR 2015.006. (2015b). AOAC SMPR 2015.006 Standard method requirements (SMPRs) for quantification of arsenic species in selected foods and beverages. *AOAC International*. <https://www.aoac.org>
- AQSIQ Decree 135. (2015). Appendix A5: Regulation & nation standards—Seafood. *General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine*.
- Ar Gall, E., Küpper, F. C., & Kloareg, B. (2004). A survey of iodine content in *Laminaria digitata*. *Botanica Marina*, 47(1), 30-37. <https://doi.org/10.1515/BOT.2004.004>
- Banach, J. L., Hoek-van den Hil, E. F., van der Fels-Klerx, H. G. (2019). Food safety hazards in the European seaweed chain. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19, 332–364.
- Barker, S. A. (2007). Matrix solid phase dispersion (MSPD). *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70(2), 151-162. <https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2006.06.005>
- Benotti, J., & Benotti, N. (1963). Protein-bound iodine, total iodine, and butanol-extractable iodine by partial automation. *Clinical Chemistry*, 9(4), 408-416. <https://doi.org/10.1093/clinchem/9.4.408>
- Benotti, J., Benotti, N., Pino, S., & Gardyna, H. (1965). Determination of total iodine in urine, stool, diets, and tissue. *Clinical Chemistry*, 11(10), 932-936. <https://doi.org/10.1093/clinchem/11.10.932>
- Besada, V., Andrade, J. M., Schultze, F., & González, J. J. (2009). Heavy metals in edible seaweeds commercialised for human consumption. *Journal of Marine Systems*, 75(1-2), 305-313. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2008.10.010>
- Biancarosa, I., Belghit, I., Bruckner, C. G., Liland, N. S., Waagbø, R., Amlund, H., Heesch, S., & Lock, E.-J. (2018). Chemical characterization of 21 species of marine macroalgae common in Norwegian waters: Benefits of and limitations to their potential use in food and feed. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(5), 2035-2042. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8798>
- Blikra, M. J., Løvdaal, T., Vaka, M. R., Roiha, I. S., Lunestad, B. T., Lindseth, C., & Skipnes, D. (2019). Assessment of food quality and microbial safety of brown macroalgae (*Alaria esculenta* and *Saccharina latissima*): Assessment of food quality and microbial safety of brown macroalgae. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(3), 1198-1206. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9289>
- Bralatei, E., Nekrosiute, K., Ronan, J., Raab, A., McGovern, E., Stengel, D. B., Krupp, E. M., & Feldmann, J. (2017). A field deployable method for a rapid screening analysis of inorganic arsenic in seaweed. *Microchimica Acta*, 184(6), 1701-1709. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2151-1>

- Braman, R. S., & Foreback, C. C. (1973). Methylated forms of Arsenic in the environment. *Science*, 182(4118), 1247-1249. <https://doi.org/10.1126/science.182.4118.1247>
- Brito, G. B., Teixeira, L. S. G., & Korn, M. G. A. (2017). Direct analysis of marine macroalgae for determination of macro minerals by energy dispersive X-ray fluorescence. *Microchemical Journal*, 134, 35-40. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.05.001>
- Brombach, C.-C., Gajdosechova, Z., Chen, B., Brownlow, A., Corns, W. T., Feldmann, J., & Krupp, E. M. (2015). Direct online HPLC-CV-AFS method for traces of methylmercury without derivatisation: A matrix-independent method for urine, sediment and biological tissue samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(3), 973-981. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8254-1>
- Bund, B. (2017). Technically avoidable heavy metal contents in cosmetic products. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 12(1), 51-53. <https://doi.org/10.1007/s00003-016-1044-2>
- Cabrita, A. R. J., Maia, M. R. G., Oliveira, H. M., Sousa-Pinto, I., Almeida, A. A., Pinto, E., & Fonseca, A. J. M. (2016). Tracing seaweeds as mineral sources for farm-animals. *Journal of Applied Phycology*, 28(5), 3135-3150. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0839-y>
- Camurati, J. R., & Salomone, V. N. (2020). Arsenic in edible macroalgae: An integrated approach. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 23(1), 1-12. <https://doi.org/10.1080/10937404.2019.1672364>
- Canada. (2019, novembre 14). *Banque de données de levés géochimiques du Canada (CDoGS)*. Gouvernement du Canada - Ressources naturelles Canada. https://geochem.nrcan.gc.ca/cdogs/content/kwd/kwd040189_f.htm
- Capuzzo, E., & McKie, T. (2016). Seaweed in the UK and abroad – status, products, limitations, gaps and Cefas role. *Defra, No FC002I*, 78.
- Causserand, C. (s. d.). *Spectrophotomètre d'absorption atomique flamme – CNRS Laboratoire Géosciences Environnement Toulouse*. CNRS Laboratoire Géosciences Environnement Toulouse. Consulté 3 juillet 2020, à l'adresse <https://www.get.omp.eu/plateformes/spectrophotometre-absorption-atomique-flamme/>
- CEVA. (2019). Macroalgues et microalgues alimentaires—Statut réglementaire en France et en Europe. *Centre d'Etude et de Valorisation des Algues*.
- CEVA, <https://www.ceva-algues.com/document/faut-il-avoir-peur-de-liode-des-algues/>
- CFDA. (2015). Safety and technical standards for cosmetics. *China Food and Drug Administration*.
- Chen, M.-L., Ma, L.-Y., & Chen, X.-W. (2014). New procedures for arsenic speciation: A review. *Talanta*, 125, 78-86. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.02.037>
- Chen, Z., Ma, W., & Han, M. (2008). Biosorption of nickel and copper onto treated alga (*Undaria pinnatifida*): Application of isotherm and kinetic models. *Journal of Hazardous Materials*, 155(1-2), 327-333. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.11.064>
- Chen, Q., Pan, X.-D., Huang, B.-F., & Han, J.-L. (2018). Distribution of metals and metalloids in dried seaweeds and health risk to population in southeastern China. *Scientific Reports*, 8(1), 3578. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21732-z>
- Cho, T. J., & Rhee, M. S. (2019). Health functionality and quality control of laver (*Porphyra, Pyropia*): Current issues and future perspectives as an edible seaweed. *Marine Drugs*, 18(1), 14. <https://doi.org/10.3390/md18010014>
- Choi, H., Park, S.-K., Kim, D.-S., & Kim, M. (2011). Determination of 6 arsenic species present in seaweed by solvent extraction, clean-up, and LC-ICP/MS. *Food Science and Biotechnology*, 20(1), 39-44. <https://doi.org/10.1007/s10068-011-0006-9>

- Chrysler Group LLC, Ford Motor Company, General Motors Corporation (2010), Measurement Systems Analysis – Reference Manual. 4th Edition.
- Circuncisão, A., Catarino, M., Cardoso, S., & Silva, A. (2018). Minerals from macroalgae origin : Health benefits and risks for consumers. *Marine Drugs*, 16(11), 400. <https://doi.org/10.3390/md16110400>
- Clarkson, T. W., & Magos, L. (2006). The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Critical Reviews in Toxicology*, 36(8), 609-662. <https://doi.org/10.1080/10408440600845619>
- Coelho, J. P. (2019). Arsenic speciation in algae: Case studies in Europe. In *Comprehensive Analytical Chemistry* (Vol. 85, p. 179-198). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2019.03.003>
- Commission Européenne. (2002a). Directive 2002/32/CE du parlement européen et du conseil du 7 mai 2002 sur les substances indésirables dans les aliments pour animaux. Journal officiel de l'Union Européenne.
- Commission Européenne. (2002b). Directive 2002/657/CE du 14 août 2002 portant modalités d'application de la directive 96/23/CE du Conseil en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats. *Journal officiel de l'Union Européenne*.
- Commission Européenne. (2006). Règlement (CE) n°1881/2006 de la commission du 19 décembre 2006 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires. Journal officiel de l'Union Européenne.
- Commission Européenne. (2008). Règlement (CE) n°1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges. *Journal officiel de l'Union Européenne*.
- Commission Européenne. (2009). Règlement (CE) n°1223/2009 du Parlement européen et du Conseil du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques. *Journal officiel de l'Union Européenne*, 151.
- Commission Européenne. (2016). Règlement CE n°333/2007 de la Commission du 28 mars 2007. *Journal officiel de l'Union Européenne*. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:02007R0333-20160506&qid=1521800389766&from=FR>
- Commission Européenne. (2017). Règlement (CE) n°396/2005 du Parlement Européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil. *Journal officiel de l'Union Européenne*.
- Coquery, M., Carvalho, F. P., Azemard, S., Bachelez, M., & Horvat, M. (2000). Certification of trace and major elements and methylmercury concentrations in a macroalgae (*Fucus* sp.) reference material, IAEA-140. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 366(8), 792-801. <https://doi.org/10.1007/s002160051573>
- Crespo, M.O.P., Yusty, M.A.L. (2005). Comparison of supercritical fluid extraction and Soxhlet extraction for the determination of PCBs in seaweed samples. *Chemosphere*. 59, 1407-1413.
- CSHPP. (1997). Conseil Supérieur d'Hygiène Publique. Avis émis lors des séances du 14 juin 1988, du 13 décembre 1988, du 9 janvier 1990 et du 14 octobre 1997 publié dans le Bulletin Officiel du Ministère de la Santé (n°90/45, p. 103), B.I.D n°2/98-030 et BID n° 4/99-079.
- Cui, S., Na, J.-S., Kim, N.-Y., Lee, Y., & Nam, S.-H. (2013). An investigation on inorganic arsenic in seaweed by ion chromatography combined with Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 34(11), 3206-3210. <https://doi.org/10.5012/BKCS.2013.34.11.3206>
- Davis, T. A., Volesky, B., & Mucci, A. (2003). A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Research*, 37(18), 4311-4330. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00293-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00293-8)

- Dawczynski, C., Schäfer, U., Leiterer, M., & Jahreis, G. (2007). Nutritional and toxicological importance of Macro, trace, and ultra-trace elements in algae food products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(25), 10470-10475. <https://doi.org/10.1021/jf0721500>
- Decreto nº 55871 de 26 de março de 1965. (1965). *Diário Oficial da União (Brasil)*.
- Desboeufs, K. (2001). Processus de dissolution des aérosols atmosphériques au sein des gouttes d'eau nuageuses [Géochimie]. Université Paris-Diderot - Paris VII.
- Díaz, O., Pastene, R., Encina-Montoya, F., Vega, R., & Oberti-Grassau, C. (2019). Arsenic speciation in algae : Case studies in American continent. In *Comprehensive Analytical Chemistry* (Vol. 85, p. 247-265). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2019.04.002>
- Domínguez-González, M. R., Chiocchetti, G. M., Herbello-Hermelo, P., Vélez, D., Devesa, V., & Bermejo-Barrera, P. (2017). Evaluation of iodine bioavailability in seaweed using *in vitro* methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(38), 8435-8442. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02151>
- Domínguez-González, R, Moreda-Piñeiro, A., Bermejo-Barrera, A., & Bermejo-Barrera, P. (2004). Application of ultrasound-assisted acid leaching procedures for major and trace elements determination in edible seaweed by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. *Talanta*, 66(4), 937-942. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2004.12.051>
- Domínguez-González, Raquel, Romarís-Hortas, V., García-Sartal, C., Moreda-Piñeiro, A., Barciela-Alonso, M. del C., & Bermejo-Barrera, P. (2010). Evaluation of an *in vitro* method to estimate trace elements bioavailability in edible seaweeds. *Talanta*, 82(5), 1668-1673. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.07.043>
- Dos Santos Fogaça, F. H., Alves, R. N., Maulvault, A. L., Barbosa, V. L., Pousão, P., & Marques, A. (2016). Mercury *in vitro* bioaccessibility in seaweed (*Ulva sp.*): Effects of cooking practices. *Embrapa Meio-Norte-Resumo em anais de congresso (ALICE)*. SIMPÓSIO NACIONAL, 3., 2016, Lisboa. Promoção de uma alimentação saudável e segura, Lisboa : Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.
- Duinker, A., Roiha, I. S., Dahl, L., Lock, E.-J., Kögel, T., Måge, A., & Lunestad, T. (2016). Potential risks posed by macroalgae for application as feed and food—A Norwegian perspective. *National Institute of Nutrition and Seafood Research (NIFES)*, 1-24.
- Edmonds, J. S., & Francesconi, K. A. (1981). Arseno-sugars from brown kelp (*Ecklonia radiata*) as intermediates in cycling of arsenic in a marine ecosystem. *Nature*, 289(5798), 602-604. <https://doi.org/10.1038/289602a0>
- EFSA. (2009). Scientific Opinion on Arsenic in Food. *EFSA Journal*, 7(10).
- EFSA. (2010). Scientific Opinion on Lead in Food. *EFSA Journal*, 8(4).
- EFSA. (2011). Statement on tolerable weekly intake for cadmium. *EFSA Journal*, 9(2).
- EFSA. (2012). Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. *EFSA Journal*, 10(12).
- EN ISO 11885:2009, Comité européen de normalisation. (2009a). Norme européenne : T90-136 : Dosage d'éléments choisis par spectroscopie d'émission optique avec plasma induit par haute fréquence (ICP-OES). Les éléments suivants sont concernés : aluminium, antimoine, argent, arsenic, baryum, béryllium, bismuth, bore, cadmium, calcium, chrome, cobalt, cuivre, étain, fer, gallium, indium, lithium, magnésium, manganèse, molybdène, nickel, phosphore, plomb, potassium, sélénium, silicium, sodium, strontium, soufre, titane, tungstène, vanadium, zinc et zirconium.
- EN 13346:2000, Comité européen de normalisation. (2000). Norme européenne : Méthode pour l'extraction, avec l'eau régale, des éléments traces et du phosphore se trouvant dans les boues et produits dérivés. La solution résultante est appropriée pour la détermination de As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se, Zn et P en utilisant des méthodes spectrométriques.

- EN 13804:2013, Comité européen de normalisation. (2013). Norme européenne : Produits alimentaires—Détermination des éléments et de leurs espèces chimiques—Considérations générales et exigences spécifiques. Comité technique CEN/TC 275 - Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales.
https://standards.cen.eu/dyn/www/f?p=204:110:0:::FSP_PROJECT,FSP_ORG_ID:37306,6256&cs=1822647AA05261D000FFF5E8016562944
- EN 13805:2014, Comité européen de normalisation. (2014). Norme européenne : Produits alimentaires—Dosage des éléments traces—Digestion sous pression. Comité technique CEN/TC 275 - Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales.
https://standards.cen.eu/dyn/www/f?p=204:110:0:::FSP_PROJECT,FSP_ORG_ID:38584,6256&cs=17CB4CA0E566312C5ADCA8390EDC5F4A8
- EN 13806:2002, Comité européen de normalisation. (2002). Norme européenne : Produits alimentaires—Dosage des éléments-traces—Dosage du mercure par spectrométrie d'absorption atomique par génération de vapeurs froides après digestion sous pression. Comité technique CEN/TC 275 - Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales.
https://standards.cen.eu/dyn/www/f?p=204:110:0:::FSP_PROJECT,FSP_ORG_ID:13889,6256&cs=14BABB81264652692CB58A809A1DAFBDA
- EN 14083:2003, Comité européen de normalisation. (2003a). Norme européenne : Produits alimentaires—Dosage des éléments traces—Dosage du plomb, du cadmium, du chrome et molybdène par spectrométrie d'absorption atomique en four graphite après digestion sous pression. Comité technique CEN/TC 275 - Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales.
https://standards.cen.eu/dyn/www/f?p=204:110:0:::FSP_PROJECT,FSP_ORG_ID:13879,6256&cs=11EC649D64A4AE06EA2C63728929DC444
- EN 14084:2003 Comité européen de normalisation. (2003b). Norme européenne : Produits alimentaires—Dosage des éléments traces—Dosage du plomb, du cadmium, du zinc, du cuivre et du fer par spectrométrie d'absorption atomique (AAS) après digestion par micro-ondes. Comité technique CEN/TC 275 - Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales.
https://standards.cen.eu/dyn/www/f?p=204:110:0:::FSP_PROJECT,FSP_ORG_ID:13882,6256&cs=1C9AE9A83D678B0215864C685D8D1CF73
- EN 14332:2004, Comité européen de normalisation. (2004). Norme européenne : Produits alimentaires—Dosage des éléments trace—Détermination de l'arsenic dans les aliments d'origine marine par spectrométrie d'absorption atomique à four graphite (GFAAS) après digestion par micro-ondes. Comité technique CEN/TC 275 - Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales.
https://standards.cen.eu/dyn/www/f?p=204:110:0:::FSP_PROJECT,FSP_ORG_ID:13901,6256&cs=1DE9EC178AC390061ED1C6D66284E69E0
- EN 14546:2005, Comité européen de normalisation. (2005a). Norme européenne : Produits alimentaires—Détermination des éléments traces—Détermination de l'arsenic total par spectrométrie d'absorption atomique par génération d'hydrures (SAAGH) après calcination par voie sèche. Comité technique CEN/TC 275 - Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales.
https://standards.cen.eu/dyn/www/f?p=204:110:0:::FSP_PROJECT,FSP_ORG_ID:21329,6256&cs=15425AB4999890009AFC1F758FFA8F396
- EN 14627:2005, Comité européen de normalisation. (2005b). Norme européenne Produits alimentaires—Dosage des éléments traces—Dosage de l'arsenic total et du sélénium par spectrométrie par absorption atomique par génération d'hydrures (SAAGH) après digestion sous pression. Comité technique CEN/TC 275 - Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales.
https://standards.cen.eu/dyn/www/f?p=204:110:0:::FSP_PROJECT,FSP_ORG_ID:22287,6256&cs=15621AC48EF809CD73B81687136162E5A
- EN 15111:2007, Comité européen de normalisation. (2007). Norme européenne : Produits alimentaires—Dosage des éléments traces—Dosage de l'iode par spectrométrie d'émission avec plasma induit par haute fréquence et spectromètre de masse (ICP-SM). Comité technique CEN/TC

- 275 - Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales.
<https://standards.cen.eu/dyn/www/f?p=204:110:0::: FSP PROJECT,FSP ORG ID:26017,6256 &cs=1FE8D6D530DBCA0312F3865428BB4F9FE>
- EN 15517:2008, Comité européen de normalisation. (2008). Norme européenne : Produits alimentaires—Dosage des éléments traces—Dosage de l'arsenic inorganique dans les algues marines par spectrométrie d'absorption atomique par génération d'hydrures (SAAGH) après extraction acide. Comité technique CEN/TC 275 - Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales.
<https://standards.cen.eu/dyn/www/f?p=204:110:0::: FSP PROJECT,FSP ORG ID:26057,6256 &cs=14CB19B7C7027AD796075CA92AED30668>
- EN 15662:2018, Comité européen de normalisation. (2018). Norme européenne : Aliments d'origine végétale - Multiméthode de détermination des résidus de pesticides par analyse CG et CL après extraction/partition avec de l'acétonitrile et purification par SPE dispersive - Méthode modulaire QuEChERS - Aliments d'origine végétale - Détermination des résidus de pesticides par GC-MS et/ou LC-MS/MS après extraction/séparation à l'acétonitrile et nettoyage par SPE dispersive - Méthode QuEChERS.
- EN 15763:2009, Comité européen de normalisation. (2009b). Norme européenne : Produits alimentaires—Dosage des éléments traces—Dosage de l'arsenic, du cadmium, du mercure et du plomb par spectrométrie d'émission avec plasma induit par haute fréquence et spectromètre de masse (ICP-MS) après digestion sous pression. Comité technique CEN/TC 275 - Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales.
<https://standards.cen.eu/dyn/www/f?p=204:110:0::: FSP PROJECT,FSP ORG ID:29302,6256 &cs=1B01140541346B49598C8DA16D62602CC>
- EN 16215:2020, Comité européen de normalisation. (2020). Norme européenne : Aliments des animaux : méthodes d'échantillonnage et d'analyse - Dosage des dioxines, des PCB de type dioxine et des PCB indicateurs par GC/HRMS. Comité technique CEN/TC 327 «Aliments des animaux - Méthodes d'échantillonnage et d'analyse ».
- EN 16619 :2015 : Analyse des produits alimentaires - Dosage du benzo(a)pyrène, benzo(a)anthracène, chrysène et benzo(b)fluoranthène dans les denrées alimentaires par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM).
- EN 16801:2016, Comité européen de normalisation. (2016a). Norme européenne : Produits alimentaires—Détermination des éléments et de leurs espèces chimiques—Détermination de la teneur en méthylmercure dans les produits alimentaires d'origine marine par dilution isotopique CG-ICP-SM. Comité technique CEN/TC 275 - Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales.
<https://standards.cen.eu/dyn/www/f?p=204:110:0::: FSP PROJECT,FSP ORG ID:35373,6256 &cs=15D9F0FB8965D8E20C299FF2BF893707B>
- EN 16802:2016, Comité européen de normalisation. (2016b). Norme européenne : Produits alimentaires—Détermination des éléments et de leurs espèces chimiques—Détermination de la teneur en arsenic inorganique dans les produits alimentaires d'origines marine et végétale, par CLHP avec échange d'anions et spectrométrie de masse à plasma induit par haute fréquence (ICP-SM). Comité technique CEN/TC 275 - Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales.
<https://standards.cen.eu/dyn/www/f?p=204:110:0::: FSP PROJECT,FSP ORG ID:35374,6256 &cs=142EF938F4B98BEC048C3DFA783EF10E9>
- EN 17266:2019, Comité européen de normalisation. (2019). Norme européenne : Produits alimentaires - Dosage des éléments et de leurs espèces chimiques - Dosage du mercure organique dans les produits de la mer par analyse du mercure élémentaire - Produits alimentaires - Dosage des éléments et de leurs espèces chimiques - Dosage du mercure organique dans les fruits de mer par analyse du mercure élémentaire.
- EN ISO 17852:2008, Comité européen de normalisation. (2008). Norme européenne : Qualité de l'eau - Dosage du mercure - Méthode par spectrométrie de fluorescence atomique (FA).

- Ender, E., Subirana, M. A., Raab, A., Krupp, E. M., Schaumlöffel, D., & Feldmann, J. (2019). Why is NanoSIMS elemental imaging of arsenic in seaweed (*Laminaria digitata*) important for understanding of arsenic biochemistry in addition to speciation information? *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 34(11), 2295-2302. <https://doi.org/10.1039/C9JA00187E>
- Envea. (2019). Mercury Instruments | Analyseur automatique de mercure AULA-254 Gold. Consulté 22 juillet 2020, à l'adresse <https://mercury-instruments.com/fr-Mercury-Instruments-Products-AULA-254.html>
- FAO, & OMS. (2019). Codex Alimentarius CX 193-1995—Norme générale pour les contaminants et les toxines présents dans les produits de consommation humaine et animale. *Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, Organisation Mondiale de la Santé*. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/fr/>
- Farias, D. R., Hurd, C. L., Eriksen, R. S., & Macleod, C. K. (2018). Macrophytes as bioindicators of heavy metal pollution in estuarine and coastal environments. *Marine Pollution Bulletin*, 128, 175-184. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.01.023>
- Fernández-Fernández, M. A., Moreda-Piñeiro, A., & Bermejo-Barrera, P. (2007). On-line preconcentration cold vapour atomic absorption spectrometry for the determination of trace mercury in edible seaweeds. *J. Anal. At. Spectrom.*, 22(5), 573-577. <https://doi.org/10.1039/B617127C>
- Fernández-Martínez, R., Rucandio, I., Gómez-Pinilla, I., Borlaf, F., García, F., & Larrea, M. T. (2015). Evaluation of different digestion systems for determination of trace mercury in seaweeds by cold vapour atomic fluorescence spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 38, 7-12. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.10.003>
- Ferreira, J. G. (1991). Factors governing mercury accumulation in three species of marine macroalgae. *Aquatic Botany*, 39(3-4), 335-343. [https://doi.org/10.1016/0304-3770\(91\)90007-R](https://doi.org/10.1016/0304-3770(91)90007-R)
- Fišera, M., Kráčmar, S., Velichová, H., Fišerová, L., Burešová, P., Tvrzník, P. (2019). Tin compounds in food – their distribution and determination. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 13(1), 369-377.
- Fink & Partner. (2020). Spectroscopie par fluorescence atomique (AFS). *Fink & Partner GmbH*. Consulté 22 juillet 2020, à l'adresse <https://www.fp-lims.com/fr/methode-de-mesure/spectroscopie-par-fluorescence-atomique-afs/>
- Foster, S., Maher, W., & Krikowa, F. (2008). Changes in proportions of arsenic species within an *Ecklonia radiata* food chain. *Environmental Chemistry*, 5(3), 176. <https://doi.org/10.1071/EN07063>
- Francesconi, K. A. (2010). Arsenic species in seafood: Origin and human health implications. *Pure and Applied Chemistry*, 82(2), 373-381. <https://doi.org/10.1351/PAC-CON-09-07-01>
- FSANZ. (2010). Survey of iodine levels in seaweed and seaweed containing products in Australia. *Food Standards Australia, New Zealand*. <https://www.foodstandards.gov.au/science/surveillance/pages/surveyofiodinelevels5369.aspx>
- FSANZ. (2016). Australia New Zealand Food Standards Code – Schedule 19 – maximum levels of contaminants and natural toxicants. *Food Standards Australia, New Zealand*.
- FSANZ. (2020). Arsenic. *Food Standards Australia, New Zealand*.
- Fukushima, M., & Chatt, A. (2012). Estimation of total as well as bioaccessible levels and average daily dietary intake of iodine from Japanese edible seaweeds by epithermal neutron activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 294(3), 471-478. <https://doi.org/10.1007/s10967-012-1713-2>
- Gallardo, A. A., Risso, S., Fajardo, M. A., & Belchior, S. E. (2004). *Caracterización de poblaciones microbianas presentes en la macroalga comestible Monostroma undulatum*, Wittrock. 18.

- García, R., & Báez, A. P. (2012). *Atomic Absorption Spectrometry (AAS)*. Dr. Muhammad Akhyar Farrukh. <http://www.intechopen.com/books/atomic-absorption-spectroscopy/atomic-absorption-spectrometry-aas>
- García-Salgado, S., Quijano Nieto, M. A., & Bonilla Simón, M. M. B. (2008). Assessment of total arsenic and arsenic species stability in alga samples and their aqueous extracts. *Talanta*, 75(4), 897-903. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.12.031>
- García-Salgado, S., Raber, G., Raml, R., Magnes, C., & Francesconi, K. A. (2012). Arsenosugar phospholipids and arsenic hydrocarbons in two species of brown macroalgae. *Environmental Chemistry*, 9(1), 63. <https://doi.org/10.1071/EN11164>
- García-Sartal, C., Barciela-Alonso, M. del C., & Bermejo-Barrera, P. (2012). Effect of the cooking procedure on the arsenic speciation in the bioavailable (dialyzable) fraction from seaweed. *Microchemical Journal*, 105, 65-71. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.08.001>
- García-Sartal, C., Barciela-Alonso, M. del C., Moreda-Piñeiro, A., & Bermejo-Barrera, P. (2013). Study of cooking on the bioavailability of As, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Se and Zn from edible seaweed. *Microchemical Journal*, 108, 92-99. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.10.003>
- Geng, W., Komine, R., Ohta, T., Nakajima, T., Takanashi, H., & Ohki, A. (2009). Arsenic speciation in marine product samples : Comparison of extraction–HPLC method and digestion–cryogenic trap method. *Talanta*, 79(2), 369-375. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.03.067>
- Glabonjat, R. A., Raber, G., Jensen, K. B., Ehgartner, J., & Francesconi, K. A. (2014). Quantification of arsenolipids in the certified reference Material NMIJ 7405-a (Hijiki) using HPLC/Mass Spectrometry after Chemical Derivatization. *Analytical Chemistry*, 86(20), 10282-10287. <https://doi.org/10.1021/ac502488f>
- Hamidatou Alghem L, (2019). *Advanced Technologies and Applications of Neutron Activation Analysis*, 122, IntechOpen, (ISBN 9781789859737 et 9781789859744), DOI: 10.5772/intechopen.69725.
- Han, X., Cao, L., Cheng, H., Liu, J., & Xu, Z. (2012). Determination of iodine species in seaweed and seawater samples using ion-pair reversed phase high performance liquid chromatography coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytical Methods*, 4(10), 3471. <https://doi.org/10.1039/c2ay25871d>
- Hanaoka, K., Yosida, K., Tamano, M., Kuroiwa, T., Kaise, T., & Maeda, S. (2001). Arsenic in the prepared edible brown alga hijiki, *Hizikia fusiforme*. *Applied Organometallic Chemistry*, 15(6), 561-565. <https://doi.org/10.1002/aoc.195>
- Hashimoto, S., & Morita, M. (1995). Analysis of PCDDS, PCDFS, planar and other PCBs in seaweed from Japanese coast. *Chemosphere*, 31 (8), 3887-3897.
- Henriques, B., Rocha, L. S., Lopes, C. B., Figueira, P., Monteiro, R. J. R., Duarte, A. C., Pardal, M. A., & Pereira, E. (2015). Study on bioaccumulation and biosorption of mercury by living marine macroalgae : Prospecting for a new remediation biotechnology applied to saline waters. *Chemical Engineering Journal*, 281, 759-770. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.07.013>
- Holdt, S. L., & Kraan, S. (2011). Bioactive compounds in seaweed : Functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 543-597. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9632-5>
- Hou, X., Chai, C., Qian, Q., Yan, X., & Fan, X. (1997). Determination of chemical species of iodine in some seaweeds (I). *Science of The Total Environment*, 204(3), 215-221. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(97\)00182-4](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(97)00182-4)
- Hwang, Y. O., Park, S. G., Park, G. Y., Choi, S. M., & Kim, M. Y. (2010). Total arsenic, mercury, lead, and cadmium contents in edible dried seaweed in Korea. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 3(1), 7-13. <https://doi.org/10.1080/19440040903532079>

- IARC. (2020). *List of Classifications – IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans*. International Agency for Research on Cancer. Consulté 20 juillet 2020, à l'adresse <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications>
- ICPME. (2020). *Institut de Chimie et des Matériaux Paris-Est—UMR 7182—Parc instrumental*. <http://www.icmpe.cnrs.fr/spip.php?rubrique398&lang=fr>
- INRS. (2016). Fiche méthanalyse—Analyse de Mercure, 2016. *Institut National de Recherche et de Sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles*.
- Intawongse, M., Kongchouy, N., & Dean, J. R. (2018). Bioaccessibility of heavy metals in the seaweed *Caulerpa racemosa* var. *corynephora*: Human health risk from consumption. *Instrumentation Science & Technology*, 46(6), 628-644. <https://doi.org/10.1080/10739149.2018.1427105>
- Iramis-CEA. (2013). *Spectroscopie d'électrons Auger et fluorescence X*. IRAMIS-CEA. Consulté 22 juillet 2020, à l'adresse http://iramis.cea.fr/Phoce/Vie_des_labos/Ast/ast_sstechnique.php?id_ast=2058
- Ishizuki Y., Yamauchi K., & Miura Y. (1989). Transient thyrotoxicosis induced by Japanese Kombu. *Folia Endocrinologica Japonica*, 65(2), 91-98. https://doi.org/10.1507/endocrine1927.65.2_91
- ISO/IEC 17025:2017, Comité international de normalisation. (2017). Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais. *Comité technique ISO/CASCO Comité pour l'évaluation de la conformité*.
- Issa, N. B., Rajaković-Ognjanović, V. N., Jovanović, B. M., & Rajaković, L. V. (2010). Determination of inorganic arsenic species in natural waters—Benefits of separation and preconcentration on ion exchange and hybrid resins. *Analytica Chimica Acta*, 673(2), 185-193. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.05.027>
- Issa, N. B., Rajaković-Ognjanović, V. N., Marinković, A. D., & Rajaković, L. V. (2011). Separation and determination of arsenic species in water by selective exchange and hybrid resins. *Analytica Chimica Acta*, 706(1), 191-198. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.08.015>
- Jayasekera, R., & Rossbach, M. (1996). Use of seaweeds for monitoring trace elements in coastal waters. *Environmental Geochemistry and Health*, 18(2), 63-68. <https://doi.org/10.1007/BF01771133>
- Julshamn, K., Dahl, L., & Eckhoff, K. (2001). Determination of iodine in seafood by Inductively Coupled Plasma/Mass Spectrometry. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 84(6), 1976-1983. <https://doi.org/10.1093/jaoac/84.6.1976>
- Julshamn, K., Maage, A., Norli, H. S., Grobecker, K. H., Jorhem, L., Fecher, P., Collaborators:, Hentschel, A., Martin de la Hinojosa, I., Viehweger, L., Mindak, W. R., Lindholm, K., Holm, K., Olsson, B., Engman, J., Habernegg, R., Hammer, D., Lewis, J., van der Wielen, J., ... Vadset, M. (2007). Determination of Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead by Inductively Coupled Plasma/Mass Spectrometry in Foods after Pressure Digestion: NMKL Interlaboratory Study. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 90(3), 844-856. <https://doi.org/10.1093/jaoac/90.3.844>
- Khan, N., Ryu, K. Y., Choi, J. Y., Nho, E. Y., Habte, G., Choi, H., Kim, M. H., Park, K. S., & Kim, K. S. (2015). Determination of toxic heavy metals and speciation of arsenic in seaweeds from South Korea. *Food Chemistry*, 169, 464-470. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.020>
- Kim, J. K., Kraemer, G., & Yarish, C. (2019). Evaluation of the metal content of farm grown *Gracilaria tikvahiae* and *Saccharina latissima* from Long Island Sound and New York Estuaries. *Algal Research*, 40, 101484. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101484>
- Klimmek, S., Stan, H.-J., Wilke, A., Bunke, G., & Buchholz, R. (2001). Comparative Analysis of the Biosorption of Cadmium, Lead, Nickel, and Zinc by Algae. *Environmental Science & Technology*, 35(21), 4283-4288. <https://doi.org/10.1021/es010063x>
- Koch, I., K. McPherson, et al. (2007). Arsenic bioaccessibility and speciation in clams and seaweed from a contaminated marine environment. *Marine Pollution Bulletin* 54(5): 586-594.

- Korea Food and Drug Administration. (2009). Public announcement No. 2009-179 Advance administrative notice for (proposed) partial revision of « Standards of the cosmetic products and the test methods ».
- Krumhansl, K. A., Lee, J. M., & Scheibling, R. E. (2011). Grazing damage and encrustation by an invasive bryozoan reduce the ability of kelps to withstand breakage by waves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 407(1), 12-18. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2011.06.033>
- Küpper, F. C., Carpenter, L. J., McFiggans G. B., Palmer, C. J., Waite, T. J., Boneberg, E-M., Woitsch, S., Weiller, M., Rafael Abela, R., Grolmund, D., Potin, P., Butler, A., Luther III, G. W., Kroneck, P. M. H., Meyer-Klauckel, W., Feiters, M. C. (2008). Iodide accumulation provides kelp with an inorganic antioxidant impacting atmospheric chemistry. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*, 105(19), 6954-6958.
- Küpper, F. C. (2015). Iodine in Seaweed : Two Centuries of Research. In *Springer handbook of marine biotechnology* (Springer, p. 591-596). Heidelberg.
- Laird, B. D., & Chan, H. M. (2013). Bioaccessibility of metals in fish, shellfish, wild game, and seaweed harvested in British Columbia, Canada. *Food and Chemical Toxicology*, 58, 381-387. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.04.033>
- Laparra, J. M., Vélez, D., Montoro, R., Barberá, R., & Farré, R. (2003). Estimation of Arsenic bioaccessibility in edible seaweed by an *in vitro* digestion method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(20), 6080-6085. <https://doi.org/10.1021/jf034537i>
- Leoz-Garziandia, E., Bocquet, N., Marlière M., Lacroix, G. (2000). Hydrocarbures Aromatiques polycycliques dans l'air ambiant : Laboratoire Central de Surveillance de la Qualité de l'Air. *INERIS DRC/AIRE*, n°570, 52p.
- Li, J.-Y., Yang, F., Jin, L., Wang, Q., Yin, J., He, P., & Chen, Y. (2018). Safety and quality of the green tide algal species *Ulva prolifera* for option of human consumption: A nutrition and contamination study. *Chemosphere*, 210, 1021-1028. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.076>
- Lignell, Å., Roomans, G. M., & Pedersén, M. (1982). Localization of absorbed cadmium in *Fucus vesiculosus* L. by X-ray microanalysis. *Zeitschrift Für Pflanzenphysiologie*, 105(2), 103-109. [https://doi.org/10.1016/S0044-328X\(82\)80002-0](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(82)80002-0)
- Limchoowong, N., Sricharoen, P., Techawongstien, S., Kongsri, S., & Chanthai, S. (2016). A green extraction of trace iodine in table salts, vegetables, and food products prior to analysis by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Vol. 28, N°4, 540-546. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20160193>
- Llorente-Mirandes, T., Ruiz-Chancho, M. J., Barbero, M., Rubio, R., & López-Sánchez, J. F. (2010). Measurement of arsenic compounds in littoral zone algae from the Western Mediterranean Sea. Occurrence of arsenobetaine. *Chemosphere*, 81(7), 867-875. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.08.007>
- Lunde, G. (1973). The synthesis of fat and water soluble arseno-organic compounds in marine and limnetic algae. *Acta Chemica Scandinavia*, 27(5), 1586-1594.
- Lüning, K., & Mortensen, L. (2015). European aquaculture of sugar kelp (*Saccharina latissima*) for food industries : Iodine content and epiphytic animals as major problems. *Botanica Marina*, 58(6). <https://doi.org/10.1515/bot-2015-0036>
- Luvonga, C., Rimmer, C. A., Yu, L. L., & Lee, S. B. (2020). Organoarsenicals in Seafood : Occurrence, Dietary Exposure, Toxicity, and Risk Assessment Considerations – A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(4), 943 960. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b07532>

- Ma, Z., Lin, L., Wu, M., Yu, H., Shang, T., Zhang, T., & Zhao, M. (2018). Total and inorganic arsenic contents in seaweeds: Absorption, accumulation, transformation and toxicity. *Aquaculture*, 497, 49-55. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.07.040>
- Mabeau, S., & Fleurence, J. (1993). Seaweed in food products: Biochemical and nutritional aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 4(4), 103-107. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(93\)90091-N](https://doi.org/10.1016/0924-2244(93)90091-N)
- Mac Monagail, M., Cummins, E., Bermejo, R., Daly, E., Costello, D., & Morrison, L. (2018). Quantification and feed to food transfer of total and inorganic arsenic from a commercial seaweed feed. *Environment International*, 118, 314-324. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.05.032>
- Mac Monagail, M., & Morrison, L. (2019). Arsenic speciation in a variety of seaweeds and associated food products. In *Comprehensive Analytical Chemistry* (Vol. 85, p. 267-310). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2019.03.005>
- Madsen, A.D, Goessler, W., Pedersen, S. N., Francesconi, K. A. (2000). Characterization of an algal extract by HPLC-ICP-MS and LC-electrospray MS for use in arsenosugar speciation studies. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 15, 657-662.
- Maehre, H. K., Malde, M. K., Eilertsen, K.-E., & Elvevoll, E. O. (2014). Characterization of protein, lipid and mineral contents in common Norwegian seaweeds and evaluation of their potential as food and feed: Biochemical composition of marine macroalgae. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(15), 3281-3290. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6681>
- Mahmud, Z. H., Neogi, S. B., Kassu, A., Wada, T., Islam, M. S., Nair, G. B., & Ota, F. (2007). Seaweeds as a reservoir for diverse *Vibrio parahaemolyticus* populations in Japan. *International Journal of Food Microbiology*, 118(1), 92-96. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.05.009>
- Mamun, M. A. A., Rahman, I. M. M., Datta, R. R., Kosugi, C., Mashio, A. S., Maki, T., & Hasegawa, H. (2019). Arsenic speciation and biotransformation by the marine macroalga *Undaria pinnatifida* in seawater: A culture medium study. *Chemosphere*, 222, 705-713. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.185>
- Marfaing, H. (2017). Qualités nutritionnelles des algues, leur présent et futur sur la scène alimentaire. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 52(5), 257-268. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2017.05.003>
- Mariet, C., & Geertsen, V. (2011). *Analyse par spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (ICP-MS)*. CEA-CNRS. Consulté 3 juillet 2020, à l'adresse http://iramis.cea.fr/Phoce/Vie_des_labos/Ast/ast_sstechnique.php?id_ast=348
- Marschner K., Pétursdóttir, Á. H., Bücker, P., Raab, A., Feldmann, J., Mester, Z., Matoušek, T., Musil, S. (2018). Validation and inter-laboratory study of selective hydride generation for fast screening of inorganic arsenic in seafood. *Analytica Chimica Acta*, 1049, 20-28.
- Maruszczak, N. (2010). *Etude du transfert du mercure et du méthylmercure dans les écosystèmes lacustres alpins* [Autre]. Université de Grenoble.
- Maulvault, A. L., Anacleto, P., Barbosa, V., Sloth, J. J., Rasmussen, R. R., Tediosi, A., Fernandez-Tejedor, M., van den Heuvel, F. H. M., Kotterman, M., & Marques, A. (2015). Toxic elements and speciation in seafood samples from different contaminated sites in Europe. *Environmental Research*, 143, 72-81. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.09.016>
- Messer. (s. d.). *Atomic emission spectroscopy (AES)*. Messer Groupe. Consulté 22 juillet 2020, à l'adresse <https://www.messergroup.com/web/specialtygases.de/atomemissions-spektroskopie-aes->
- MFDS. (2013). Act 11985—Testing and Inspection on Food and Drug Act annex 9. *Ministry of Food and Drug Safety (Korea)*.
- Miedico, O., Pompa, C., Tancredi, C., Cera, A., Pellegrino, E., Tarallo, M., & Chiaravalle, A. E. (2017). Characterisation and chemometric evaluation of 21 trace elements in three edible seaweed

- species imported from south-east Asia. *Journal of Food Composition and Analysis*, 64, 188-197. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.09.004>
- Monteiro, M. S., Sloth, J., Holdt, S., & Hansen, M. (2019). Analysis and risk assessment of seaweed. *EFSA Journal*, 17(S2), e170915. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.e170915>
- Montone, R.C., Taniguchi, S., Sericano, J., Weber, R.R., Lara, W.H. (2001). Determination of polychlorinated biphenyls in Antarctic macroalgae *Desmarestia* sp. *The Science of the Total Environment*, 277, 181-186.
- Moreda-Piñeiro, J., Alonso-Rodríguez, E., López-Mahía, P., Muniategui-Lorenzo, S., Prada-Rodríguez, D., Moreda-Piñeiro, A., & Bermejo-Barrera, P. (2007). Development of a new sample pre-treatment procedure based on pressurized liquid extraction for the determination of metals in edible seaweed. *Analytica Chimica Acta*, 598(1), 95-102. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.07.030>
- Morin, P., Amran, M. B., Favier, S., Heimbürger, R., & Leroy, M. (1992). Separation of arsenic anions by capillary zone electrophoresis with UV detection. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 342(4-5), 357-362. <https://doi.org/10.1007/BF00322185>
- Morrison, L., Baumann, H. A., & Stengel, D. B. (2008). An assessment of metal contamination along the Irish coast using the seaweed *Ascophyllum nodosum* (Fucales, Phaeophyceae). *Environmental Pollution*, 152(2), 293-303. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.06.052>
- Morrison, L., Chen, B., Brombach, C., Krupp, E., & Corns, W. (2015). Mercury speciation in commercially important seaweeds using liquid chromatography cold vapour atomic fluorescence spectrometry (SPE-HPLC-CV-AFS), Conference: ICMGP 2015, Jeju, Corée du Sud.
- Müller, E. I., Mesko, M. F., Moraes, D. P., Korn, M. das G. A., & Flores, É. M. M. (2014). Wet Digestion Using Microwave Heating. In *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis* (p. 99-142). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59420-4.00004-0>
- Muñoz, O., Devesa, V., Suñer, M. A., Vélez, D., Montoro, R., Urieta, I., Macho, M. L., & Jalón, M. (2000). Total and inorganic Arsenic in Fresh and processed fish Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4369-4376. <https://doi.org/10.1021/jf000282m>
- Muñoz, O., Vélez, D., Luisa Cervera, M., & Montoro, R. (1999). Rapid and quantitative release, separation and determination of inorganic arsenic [As(III)+As(V)] in seafood products by microwave-assisted distillation and hydride generation atomic absorption spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.*, 14(10), 1607-1613. <https://doi.org/10.1039/A904999A>
- Muse, J. O., Tudino, M. B., d'Huicque, L., Troccoli, O. E., Carducci, C. N. (1995). A survey of some trace elements in seaweeds from Patagonia, Argentina. *Environmental Pollution*, 87(2), 249-253.
- Nagataki, S. (2008). The Average of Dietary Iodine Intake due to the Ingestion of Seaweeds is 1.2 mg/day in Japan. *Thyroid*, 18(6), 667-668. <https://doi.org/10.1089/thy.2007.0379>
- Narukawa, T., Hioki, A., & Chiba, K. (2012). Aqueous extraction of water-soluble inorganic Arsenic in marine algae for speciation analysis. *Analytical Sciences*, 28(8), 773-779. <https://doi.org/10.2116/analsci.28.773>
- Nguyen, P. T., Ruangchuay, R., & Lueangthuwapranit, C. (2018). Patterns of elemental concentration and heavy metal accumulation in edible seaweed, *Gracilaria fisheri* (Xia and Abbott) Abbott, Zhang and Xia (Gracilariales, Rhodophyta) cultivated in southern Thailand. *Journal of Fisheries and Environment*, 42(3), 13-25.
- Nicolas, M. (2010). Etude du transfert du mercure et du méthylmercure dans les écosystèmes lacustres alpins. Thèse de doctorat de l'Université de Grenoble. Soutenu le 26/11/2010.
- Niegel, C., & Matysik, F.-M. (2010). Analytical methods for the determination of arsenosugars—A review of recent trends and developments. *Analytica Chimica Acta*, 657(2), 83-99. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.10.041>

- Niegel, C., Pfeiffer, S. A., Grundmann, M., Arroyo-Abad, U., Mattusch, J., & Matysik, F.-M. (2012). Fast separations by capillary electrophoresis hyphenated to electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry as a tool for arsenic speciation analysis. *The Analyst*, 137(8), 1956. <https://doi.org/10.1039/c2an15944a>
- Nielsen, M. M., Manns, D., D'Este, M., Krause-Jensen, D., Rasmussen, M. B., Larsen, M. M., Alvarado-Morales, M., Angelidaki, I., & Bruhn, A. (2016). Variation in biochemical composition of *Saccharina latissima* and *Laminaria digitata* along an estuarine salinity gradient in inner Danish waters. *Algal Research*, 13, 235-245. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.12.003>
- Nischwitz, V., & Pergantis, S. A. (2005). First report on the detection and quantification of arsenobetaine in extracts of marine algae using HPLC-ES-MS/MS. *The Analyst*, 130(10), 1348. <https://doi.org/10.1039/b509547f>
- Nitschke, U., & Stengel, D. B. (2015). A new HPLC method for the detection of iodine applied to natural samples of edible seaweeds and commercial seaweed food products. *Food Chemistry*, 172, 326-334. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.030>
- NMKL. (2007). NMKL 186 Trace elements—As, Cd, Hg, Pb and other elements. Determination by ICP-MS after pressure digestion. Nordic Committee on Food Analysis. <https://www.nmkl.org/index.php/en/publications/item/tungmetaller-as-cd-hg-og-pb-bestemmelse-med-icp-ms-etter-syreoppslutning-under-trykk-nmkl-186-2007>
- Nunes, M., Marchand, P., Vernisseau, A., Le Bizec, B., Ramos, F., Pardal, M.A. (2011). PCDD/Fs and dioxin-like PCBs in sediment and biota from the Mondego estuary (Portugal). *Chemosphere*, 83, 1345–1352.
- Okanamoto, K. (1988). Preparation and certification of Sargasso seaweed reference material. *Marine Environmental Research*, 26, 199-207.
- Olesik, J. W. (1991). Elemental analysis using : An evaluation and assessment of remaining problems. *Analytical Chemistry*, 63(1), 12-21.
- OMS. (s. d.-a). Annexe 4 Méthode et faisabilité analytique. https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/gdwq4-with-add-fr-annexe4.pdf
- OMS. (s. d.-b). Cadmium. Organisation Mondiale de la Santé ; World Health Organization. Consulté 20 juillet 2020, à l'adresse http://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/cadmium/fr/
- OMS. (s. d.-c). Plomb. Organisation Mondiale de la Santé ; World Health Organization. Consulté 20 juillet 2020, à l'adresse http://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/lead/fr/
- OMS. (2017). Mercure. Organisation Mondiale de la Santé ; World Health Organization. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/mercury-and-health>
- OMS. (2018). Arsenic. Organisation Mondiale de la Santé ; World Health Organization. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/arsenic>
- O'Neill, A., Gupta, B. S., & Phillips, D. H. (2014). Distribution of arsenic and risk assessment of activities on a golf course fertilised with arsenic-containing *Ascophyllum nodosum* seaweed. *Science of The Total Environment*, 482-483, 252-259, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.03.006>
- ONU. (2007). Iodine deficiency in Europe : A continuing public health problem (Maria Andersson, B. De Benoist, I. Darnton-Hill, & F. Delange, Éds.). World Health Organization.
- Owensworth, E., Selby, D., Ottley, C. J., Unsworth, E., Raab, A., Feldmann, J., Sproson, A. D., Kuroda, J., Faidutti, C., & Bückner, P. (2019). Tracing the natural and anthropogenic influence on the trace elemental chemistry of estuarine macroalgae and the implications for human consumption. *Science of The Total Environment*, 685, 259-272. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.263>

- Panebianco, F., Giusti, A., Giarratana, F., & Armani, A. (2019). Ethnic seafood products sold on the Italian market : Labelling assessment and biological, chemical and physical risk characterization. *Food Control*, 105, 198-208. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.05.031>
- Paris, A. (2017). Extractions et analyses des hydrocarbures aromatiques : approches méthodologiques et applications à des matrices fruitières. *Sciences agricoles. Normandie Université*, 2017NORMC246. 331p.
- Park, G., Kang, D., Davaatseren, M., Shin, C., Kang, G.-J., & Chung, M.-S. (2019). Reduction of total, organic, and inorganic arsenic content in *Hizikia fusiforme* (Hijiki). *Food Science and Biotechnology*, 28(2), 615-622. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0501-3>
- Pavoni, B., Caliceti, M., Sperti, L., & Sfriso, A. (2003). Organic micropollutants (PAHs, PCBs, pesticides) in seaweeds of the lagoon of Venice. *Oceanologica Acta*, 26(5-6), 585-596. [https://doi.org/10.1016/S0399-1784\(03\)00052-5](https://doi.org/10.1016/S0399-1784(03)00052-5)
- Paz, S., Rubio, C., Frías, I., Gutiérrez, A. J., González-Weller, D., Revert, C., & Hardisson, A. (2018). Metal Concentrations in wild-harvested Phaeophyta seaweed from the Atlantic Ocean (Canary Islands, Spain). *Journal of Food Protection*, 81(7), 1165-1170. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-038>
- Paz, Soraya, Rubio, C., Frías, I., Gutiérrez, Á. J., González-Weller, D., Martín, V., Revert, C., & Hardisson, A. (2019). Toxic metals (Al, Cd, Pb and Hg) in the most consumed edible seaweeds in Europe. *Chemosphere*, 218, 879-884. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.165>
- Pell, A., Kokkinis, G., Malea, P., Pergantis, S. A., Rubio, R., & López-Sánchez, J. F. (2013). LC-ICP-MS analysis of arsenic compounds in dominant seaweeds from the Thermaikos Gulf (Northern Aegean Sea, Greece). *Chemosphere*, 93(9), 2187-2194. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.08.003>
- Pérez, A. A., Farías, S. S., Strobl, A. M., Pérez, L. B., López, C. M., Piñeiro, A., Roses, O., & Fajardo, M. A. (2007). Levels of essential and toxic elements in *Porphyra columbina* and *Ulva sp.* from San Jorge Gulf, Patagonia Argentina. *Science of The Total Environment*, 376(1-3), 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.11.013>
- Phaneuf, D., Côté, I., Dumas, P., Ferron, L. A., & LeBlanc, A. (1999). Evaluation of the contamination of marine algae (Seaweed) from the St. Lawrence River and likely to be consumed by humans. *Environmental Research*, 80(2), S175-S182. <https://doi.org/10.1006/enrs.1998.3915>
- Polat, A., Polat, S., Simsek, A., Kurt, T. T., & Ozyurt, G. (2018). Pesticide residues in muscles of some marine fish species and seaweeds of Iskenderun Bay (Northeastern Mediterranean), Turkey. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(4), 3756-3764. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0756-x>
- Punín Crespo, M. O., & Lage Yusty, M. A. (2006). Comparison of supercritical fluid extraction and Soxhlet extraction for the determination of aliphatic hydrocarbons in seaweed samples. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64(3), 400-405. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.04.010>
- Raab, A., Newcombe, C., Pitton, D., Ebel, R., & Feldmann, J. (2013). Comprehensive analysis of lipophilic Arsenic species in a brown alga (*Saccharina latissima*). *Analytical Chemistry*, 85(5), 2817-2824. <https://doi.org/10.1021/ac303340t>
- Ratcliff J.J., Wan A.H.L., Edwards M.D., Soler-Vila A., Johnson M.P., Abrue M.H., Morrison L. (2016), Metal content of kelp (*Laminaria digitata*) co-cultivated with Atlantic salmon in an integrated multi-trophic aquaculture system, *Aquaculture*, 40, 234-243.
- Reis, V. A. T., & Duarte, A. C. (2018). Analytical methodologies for arsenic speciation in macroalgae : A critical review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 102, 170-184. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.02.003>

- Rigaux, V. (2017, juillet 27). Analyse des matériaux par spectrométrie de fluorescence X. *MetalBlog*. <https://metalblog.ctif.com/2017/07/27/analyse-des-materiaux-par-spectrometrie-de-fluorescence-x/>
- Ríordáin, C.O. (2019). Overview of use of GC-HRMS for the analysis of dioxins. The State Laboratory. <https://www.statelab.ie/index.html>
- Ródenas de la Rocha, S., Sánchez-Muniz, F. J., Gómez-Juaristi, M., & Marín, M. T. L. (2009). Trace elements determination in edible seaweeds by an optimized and validated ICP-MS method. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(4), 330-336. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.10.021>
- Rodríguez-Martínez, R. E., Roy, P. D., Torrescano-Valle, N., Cabanillas-Terán, N., Carrillo-Domínguez, S., Collado-Vides, L., García-Sánchez, M., & van Tussenbroek, B. I. (2020). Element concentrations in pelagic Sargassum along the Mexican Caribbean coast in 2018-2019. *PeerJ*, 8, e8667. <https://doi.org/10.7717/peerj.8667>
- Roleda, M. Y., Marfaing, H., Desnica, N., Jónsdóttir, R., Skjermo, J., Rebours, C., & Nitschke, U. (2019). Variations in polyphenol and heavy metal contents of wild-harvested and cultivated seaweed bulk biomass: Health risk assessment and implication for food applications. *Food Control*, 95, 121-134. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.07.031>
- Roleda, M. Y., Skjermo, J., Marfaing, H., Jónsdóttir, R., Rebours, C., Gietl, A., Stengel, D. B., & Nitschke, U. (2018). Iodine content in bulk biomass of wild-harvested and cultivated edible seaweeds: Inherent variations determine species-specific daily allowable consumption. *Food Chemistry*, 254, 333-339. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.024>
- Romarís-Hortas, V., Bermejo-Barrera, P., & Moreda-Piñeiro, A. (2012). Development of anion-exchange/reversed-phase high performance liquid chromatography–inductively coupled plasma-mass spectrometry methods for the speciation of bio-available iodine and bromine from edible seaweed. *Journal of Chromatography A*, 1236, 164-176. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.03.019>
- Romera, E., González, F., Ballester, A., Blázquez, M. L., & Muñoz, J. A. (2007). Comparative study of biosorption of heavy metals using different types of algae. *Bioresource Technology*, 98(17), 3344-3353. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.09.026>
- Romera, E., González, F., Ballester, A., Blázquez, M. L., & Muñoz, J. A. (2008). Biosorption of heavy metals by *Fucus spiralis*. *Bioresource Technology*, 99(11), 4684-4693. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.081>
- Ronan, J. M., Stengel, D. B., Raab, A., Feldmann, J., O’Hea, L., Bralatei, E., & McGovern, E. (2017). High proportions of inorganic arsenic in *Laminaria digitata* but not in *Ascophyllum nodosum* samples from Ireland. *Chemosphere*, 186, 17-23. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.076>
- Rose, M., Lewis, J., Langford, N., Baxter, M., Origgi, S., Barber, M., MacBain, H., & Thomas, K. (2007). Arsenic in seaweed—Forms, concentration and dietary exposure. *Food and Chemical Toxicology*, 45(7), 1263-1267. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.01.007>
- Rubio, C., Napoleone, G., Luis-González, G., Gutiérrez, A. J., González-Weller, D., Hardisson, A., & Revert, C. (2017). Metals in edible seaweed. *Chemosphere*, 173, 572-579. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.064>
- Ryan, S., McLoughlin, P., O’Donovan, O. (2012). A comprehensive study of metal distribution in three main classes of seaweed. *Environmental Pollution*, 167, 171-177.
- Salomone, V. N., Riera, M., Cerchietti, L., Custo, G., & Muniain, C. (2017). Seasonal determination of trace and ultra-trace content in *Macrocystis pyrifera* from San Jorge Gulf (Patagonia) by Total Reflection X-ray Fluorescence. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 131, 74-78. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2017.03.009>

- Sanders, J. G., & Windom, H. L. (1980). The uptake and reduction of arsenic species by marine algae. *Estuarine and Coastal Marine Science*, 10(5), 555-567. [https://doi.org/10.1016/S0302-3524\(80\)80075-2](https://doi.org/10.1016/S0302-3524(80)80075-2)
- Santos, I. C., Mesquita, R. B. R., Bordalo, A. A., & Rangel, A. O. S. S. (2015). Iodine speciation in coastal and inland bathing waters and seaweeds extracts using a sequential injection standard addition flow-batch method. *Talanta*, 133, 7-14. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.01.025>
- Saunders, R. J., Paul, N. A., Hu, Y., & de Nys, R. (2012). Sustainable Sources of Biomass for Bioremediation of Heavy Metals in Waste Water Derived from Coal-Fired Power Generation. *PLoS ONE*, 7(5), e36470. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036470>
- Seibel, B. (2016). What is Cold Vapor Atomic Absorption (CVAA) Spectroscopy ? Teledyne Leeman Labs Blog. <http://info.teledyneleemanlabs.com/blog/what-is-cold-vapor-atomic-absorption-cvaa-spectroscopy>
- Selvarajan, R., Sibanda, T., Venkatachalam, S., Ogola, H. J. O., Christopher Obieze, C., & Msagati, T. A. (2019). Distribution, interaction and functional profiles of epiphytic bacterial communities from the rocky intertidal seaweeds, South Africa. *Scientific Reports*, 9(1), 19835. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56269-2>
- Serfor-Armah, Y., Nyarko, B. J. B., Osae, E. K., Carboo, D., & Seku, F. (2011). Rhodophyta seaweed species as bioindicators for monitoring toxic element pollutants in the marine ecosystem of Ghana. *Water, Air and Soil Pollution*, 127, 243-253.
- Shah, M., Wuilloud, R. G., Kannamkumarath, S. S., & Caruso, J. A. (2005). Iodine speciation studies in commercially available seaweed by coupling different chromatographic techniques with UV and ICP-MS detection. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 20(3), 176. <https://doi.org/10.1039/b415756g>
- Shibata, Y., Morita, M., & Edmonds, J. S. (1987). Purification and identification of Arsenic-containing ribofuranosides from the edible brown seaweed, *Laminaria japonica* (MAKONBU). *Agricultural and Biological Chemistry*, 51(2), 391-398. <https://doi.org/10.1080/00021369.1987.10868031>
- Shimshock, N., Sennefelder, G., Dueker, M., Thurberg, F., & Yarish, C. (1992). Patterns of metal accumulation in *Laminaria longicruris* from Long Island Sound (Connecticut). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 22(3), 305-312. <https://doi.org/10.1007/BF00212091>
- Šlejkovec, Z., Kápolna, E., Ipolyi, I., & van Elteren, J. T. (2006). Arsenosugars and other arsenic compounds in littoral zone algae from the Adriatic Sea. *Chemosphere*, 63(7), 1098-1105. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.09.009>
- Smith, J., Summers, G., & Wong, R. (2010). Nutrient and heavy metal content of edible seaweeds in New Zealand. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 38(1), 19-28. <https://doi.org/10.1080/01140671003619290>
- Soares, C., Machado, S., Vieira, E. F., Morais, S., Teles, M. T., Correia, M., Carvalho, A., Domingues, V. F., Ramalhosa, M. J., Delerue-Matos, C., & Antunes, F. (2017). Seaweeds from the Portuguese coast : A potential food resource? *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 231, 012126. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/231/1/012126>
- Souza, G. (2011). Algas marinhas. Dossiê Técnico. *Paraná : Instituto de Tecnologia do Paraná*.
- Squadrone, S., Brizio, P., Battuello, M., Nurra, N., Sartor, R. M., Riva, A., Staiti, M., Benedetto, A., Pessani, D., & Abete, M. C. (2018). Trace metal occurrence in Mediterranean seaweeds. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(10), 9708-9721. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1280-3>
- Squadrone, S., Nurra, N., Battuello, M., Mussat Sartor, R., Stella, C., Brizio, P., Mantia, M., Pessani, D., & Abete, M. C. (2018). Trace elements, rare earth elements and inorganic arsenic in seaweeds

- from Giglio Island (Thyrrhenian Sea) after the Costa Concordia shipwreck and removal. *Marine Pollution Bulletin*, 133, 88-95. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.05.028>
- Stévant, P., Rebours, C., & Chapman, A. (2017). Seaweed aquaculture in Norway : Recent industrial developments and future perspectives. *Aquaculture International*, 25(4), 1373-1390. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0120-7>
- Stévant, P., Marfaing, H., Duinker, A., Fleurence, J., Rustad, T., Sandbakken, I., Chapman, A (2018) Biomass soaking treatments to reduce potentially undesirable compounds in the edible seaweeds sugar kelp (*Saccharina latissima*) and winged kelp (*Alaria esculenta*) and health risk estimation for human consumption. *J Appl Phycol* 30:2047-2060. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1343-8>
- Stévant, P. (2019) Seaweeds in food applications: effects of processing on product quality. PhD Thesis NTNU Trondheim Jun 2019, 186 pp.
- Struck, B. D., Pelzer, R., Ostapczuk, P., Emons, H., & Mohl, C. (1997). Statistical evaluation of ecosystem properties influencing the uptake of As, Cd, Co, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb and Zn in seaweed (*Fucus vesiculosus*) and common mussel (*Mytilus edulis*). *The Science of the Total Environment*, 207 (1): 29-42. [https://doi.org/10.1016/s0048-9697\(97\)00246-5](https://doi.org/10.1016/s0048-9697(97)00246-5).
- Sundhar, S., JeyaShakila, R., Jeyasekaran, G., Shalini, R., Arisekar, U., & Jenishma, J. S. (2019). Safety assessment of edible red seaweeds *Gracilaria* and *Gelidiella* of Gulf of Mannar in terms of OCP residual contamination. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 12, 100245. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2019.100245>
- Suzuki, N., & Iwata, Y. (1990). Determination of arsenic and other elemental abundances in marine macro-algae by photon activation analysis. *Applied Organometallic Chemistry*, 4(3), 287-291. <https://doi.org/10.1002/aoc.590040318>
- Symalab. (s. d.). Analyseur de mercure—Altec AMA 254 | Symalab. *Symalag*. Consulté 22 juillet 2020, à l'adresse <https://www.symalab.fr/analyseur-de-mercure-altec-ama-254/>
- Taylor, V. F., & Jackson, B. P. (2016). Concentrations and speciation of arsenic in New England seaweed species harvested for food and agriculture. *Chemosphere*, 163, 6-13. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.08.004>
- Teas, J., Pino, S., Critchley, A., & Braverman, L. E. (2004). Variability of iodine content in common commercially available edible seaweeds. *Thyroid Research*, 14(10), 836-841.
- Tekin, Z., Öztürk Er, E., Günkara, Ö. T., & Bakırdere, S. (2020). A novel determination method for diuron in seaweed samples: Combination of quadruple isotope dilution strategy with liquid chromatography - quadrupole time of flight - tandem mass spectrometry for superior accuracy and precision. *Journal of Chromatography A*, 1611, 460612. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460612>
- ThermoFisher Scientific. (s. d.). *ICP-OES System and Technologies—FR*. Consulté 3 juillet 2020, à l'adresse <https://www.thermofisher.com/fr/fr/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/spectroscopy-elemental-isotope-analysis-learning-center/trace-elemental-analysis-tea-information/icp-oes-information/icp-oes-system-technologies.html>
- ThermoScientific (2010). Le système ASE – L'extraction accélérée par solvant. 8p.
- Todorov, T. I., & Gray, P. J. (2016). Analysis of iodine in food samples by inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 33(2), 282-290. <https://doi.org/10.1080/19440049.2015.1131337>
- Topcuoğlu, S., Güven, K. C., Kirbaşoğlu, Ç., Güngör, N., Ünlü, S., & Yılmaz, Y. Z. (2001). Heavy metals in marine algae from Şile in the Black Sea, 1994-1997. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67(2), 0288-0294. <https://doi.org/10.1007/s00128-001-0123-x>
- Torres-Escribano, S., Denis, S., Blanquet-Diot, S., Calatayud, M., Barrios, L., Vélez, D., Alric, M., & Montoro, R. (2011). Comparison of a static and a dynamic in vitro model to estimate the bioaccessibility of As, Cd, Pb and Hg from food reference materials *Fucus sp.* (IAEA-140/TM) and

- Lobster hepatopancreas (TORT-2). *Science of The Total Environment*, 409(3), 604-611. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.10.021>
- Union Européenne. (2011). Règlement (UE) n° 835/2011 de la commission du 19 août 2011 modifiant le règlement (CE) n° 1881/2006 en ce qui concerne les teneurs maximales pour les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les denrées alimentaires. Journal officiel de l'Union Européenne
- Union Européenne. (2012). Règlement (UE) n° 231/2012 de la commission du 9 mars 2012 établissant les spécifications des additifs alimentaires énumérés aux annexes II et III du règlement (CE) n° 1333/2008 du Parlement européen et du Conseil. Journal officiel de l'Union Européenne.
- Union Européenne. (2013). Règlement (UE) n°1275/2013 de la Commission du 6 décembre 2013 modifiant l'annexe I de la directive 2002/32/CE du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne les teneurs maximales en arsenic, en cadmium, en plomb, en nitrite, en essence volatile de moutarde et en impuretés botaniques nuisibles. Journal officiel de l'Union Européenne.
- US EPA. (1996). Method 3052 Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. *Revision 0. Washington, DC.*
- Union Européenne. (2017). Règlement (UE) 644/2017 de la Commission du 5 avril 2017 portant fixation des méthodes de prélèvement et d'analyse d'échantillons à utiliser pour le contrôle des teneurs en dioxines, en PCB de type dioxine et en PCB autres que ceux de type dioxine de certaines denrées alimentaires. *Journal officiel de l'Union Européenne.*
- Union Européenne. (2018). Recommandation (UE) 2018/464 de la commission du 19 mars 2018 sur la surveillance des métaux et de l'iode dans les algues marines, les halophytes et les produits à base d'algues marines. Journal officiel de l'Union Européenne.
- US EPA. (1998). Method 7473 (SW-846) : Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation, and atomic absorption spectrophotometry. *Revision 0. Washington, DC.* <https://www.epa.gov/esam/epa-method-7473-sw-846-mercury-solids-and-solutions-thermal-decomposition-amalgamation-and>
- UVED. (2008). *Centro de Investigação marinha e ambiental. Universidade do Algarve. CHIMIE DE L'ENVIRONNEMENT (Geochimie). Mise à niveau et approfondissement—Méthodes analytiques.* http://www.cima.ualg.pt/piloto/UVED_Geochimie/UVED/site/html/1/1-3/1-3-2/1-3-2-4.html
- Van Der Weijden, C. H., & Reith, M. (1982). Chromium(III)—Chromium(VI) interconversions in seawater. *Marine Chemistry*, 11(6), 565-572. [https://doi.org/10.1016/0304-4203\(82\)90003-2](https://doi.org/10.1016/0304-4203(82)90003-2)
- Van Netten, C., Hopton Cann, S. A., Morley, D. R., & van Netten, J. P. (2000). Elemental and radioactive analysis of commercially available seaweed. *The Science of The Total Environment*, 255(1-3), 169-175. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(00\)00467-8](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00467-8)
- Varga I. (2007). Iodine determination in dietary supplement products by TXRF and ICP-AES spectrometry. *Microchemical Journal*, 85, 127-131
- Vella, A., & Attard, E. (2019). Analysis of heavy metal content in conventional and herbal toothpastes available at Maltese pharmacies. *Cosmetics*, 6(2), 28. <https://doi.org/10.3390/cosmetics6020028>
- Verhaeghe, E. F., Fraysse, A., Guerquin-Kern, J.-L., Wu, T.-D., Devès, G., Mioskowski, C., Leblanc, C., Ortega, R., Ambroise, Y., & Potin, P. (2008). Microchemical imaging of iodine distribution in the brown alga *Laminaria digitata* suggests a new mechanism for its accumulation. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 13(2), 257-269. <https://doi.org/10.1007/s00775-007-0319-6>
- Wan AHL, Wilkes RJ, Heesch S, Bermejo R, Johnson MP, Morrison L (2017) Assessment and Characterisation of Ireland's Green Tides (Ulva Species). *PLoS ONE* 12
- Wang, J., & Chen, C. (2009). Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnology Advances*, 27(2), 195-226. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.11.002>

- Wang, S., Song, X., Hu, J., Zhang, R., Men, L., Wei, M., Xie, T., & Cao, J. (2019). Direct speciation analysis of organic mercury in fish and kelp by on-line complexation and stacking using capillary electrophoresis. *Food Chemistry*, 281, 41-48. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.083>
- Welz, B., & Borges, D. L. G. (2009). Atomic Spectrometry and Elemental Analysis. In Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA (Éd.), *Digital Encyclopedia of Applied Physics* (p. 421-476). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. <https://doi.org/10.1002/3527600434.eap032.pub3>
- What Is Six-Sigma.Net, (2019), <https://www.whatissixsigma.net/process-capability-index-cpk/>
- Wifladt, A.-M., Lund, W., & Bye, R. (1989). Determination of iodine in seaweed and table salt by an indirect atomic-absorption method. *Talanta*, 36(3), 395-399. [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(89\)80207-3](https://doi.org/10.1016/0039-9140(89)80207-3)
- Wondimu, T., Ueno, A., Kanamaru, I., Yamaguchi, Y., McCrindle, R., Hanaoka, K-I. (2007). Temperature-dependent extraction of trace elements in edible brown alga hijiki, *Hizikia fusiforme*. *Food Chemistry*, 104 (2), 542-550
- Wright, P. J. & Weber, J. H. (1991). *Environmental Science & Technology*, 25 (2) 287-294
- Wu, S., Lv, G., & Lou, R. (2012). Applications of Chromatography Hyphenated Techniques in the Field of Lignin Pyrolysis. In R. Davarnejad (Éd.), *Applications of Gas Chromatography* (p. 24). InTech. <https://doi.org/10.5772/32446>
- Wuilloud R.G., Altamirano J.C., Smichowskic P.N. and Heitkempera D.T., (2006), Investigation of arsenic speciation in algae of the Antarctic region by HPLC-ICP-MS and HPLC-ESI-Ion Trap MS, *J. Anal. Atomic Spectrometry*, Issue 11.
- Yeh, T. S., Hung, N. H., & Lin, T. C. (2014). Analysis of iodine content in seaweed by GC-ECD and estimation of iodine intake. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(2), 189-196. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.01.014>
- Yong, Y. S., Yong, W. T. L., Ng, S. E., Anton, A., & Yassir, S. (2015). Chemical composition of farmed and micropropagated *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales), a commercially important seaweed in Malaysia. *Journal of Applied Phycology*, 27(3), 1271-1275. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0398-z>
- Yu, L. L., Browning, J. F., Burdette, C. Q., Caceres, G. C., Chieh, K. D., Davis, W. C., Kassim, B. L., Long, S. E., Murphy, K. E., Oflaz, R., Paul, R. L., Sharpless, K. E., Wood, L. J., Yen, J. H., & Zeisler, R. (2018). Development of a kelp powder (*Thallus laminariae*) Standard Reference Material. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(4), 1265-1278. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0766-z>
- Yu, L. L., Wei, C., Zeisler, R., Tong, J., Oflaz, R., Bao, H., & Wang, J. (2015). An approach for identification and determination of arsenic species in the extract of kelp. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(12), 3517-3524. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8567-8>
- Zhang, L., Gionfriddo, E., Acquaro, V., & Pawliszyn, J. (2018). Direct immersion solid-phase microextraction analysis of multi-class contaminants in edible seaweeds by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 1031, 83-97. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.05.066>
- Zhao, J., Tan, Z., Gao, Q., Xu, Y., Jiang, S., & Ashraf, M. A. (2018). Rapid Determination of Mercury Speciation in Marine Products by Molecular Spectrometry. *Journal of Coastal Research*, 82, 77-83. <https://doi.org/10.2112/SI82-010.1>
- Zhao, Y., Shang, D., Ning, J., & Zhai, Y. (2012). Arsenic and cadmium in the marine macroalgae (*Porphyra yezoensis* and *Laminaria japonica*)—Forms and concentrations. *Chemical Speciation & Bioavailability*, 24(3), 197-203. <https://doi.org/10.3184/095422912X13404690516133>

- Zhao, Y., Wu, J., Shang, D., Ning, J., Zhai, Y., Sheng, X., & Ding, H. (2015). Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in the edible seaweed, *Porphyra yezoensis*. *Food Chemistry*, 168, 48-54. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.054>
- Zhao, Y.-F., Wu, J.-F., Shang, D.-R., Ning, J.-S., Ding, H.-Y., & Zhai, Y.-X. (2014). Arsenic species in edible seaweeds using *in vitro* biomimetic digestion determined by High-Performance Liquid Chromatography Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *International Journal of Food Science*. Article ID 436347, 12 pages, <https://doi.org/10.1155/2014/436347>
- Zyglis, A.; Slominska, M.; Namiesnik, J. (2012). Soxhlet extraction and new developments such as soxtec in: *Comprehensive sampling and sample preparation, volume 2// Analytical Techniques for Scientists/ ed. ed. J. Pawliszyn: Elsevier, s.65-82.*

VIII Liste des tableaux

Tableau 1 : Teneurs maximales (mg/kg) de métaux lourds dans les denrées alimentaires (ou additif alimentaire) à base d'algues, selon la législation de chaque pays.	2
Tableau 2 : Espèces d'algues au-dessus du seuil maximal* d'arsenic inorganique en Europe (espace économique européen).....	3
Tableau 3 : Espèces d'algues au-dessus du seuil maximal* d'arsenic préconisé pour les additifs alimentaires.....	4
Tableau 4 : Teneurs maximales en arsenic dans les produits à base d'algues marines destinés aux aliments pour animaux.	4
Tableau 5: Espèces d'algues au-dessus du seuil maximal* de cadmium en Europe (espace économique européen).....	5
Tableau 6 : Espèces d'algues au-dessus du seuil maximal* de mercure en Europe (espace économique européen).....	6
Tableau 7 : Espèces d'algues, récoltées en Europe, au-dessus du seuil maximal* de plomb	7
Tableau 8: Espèces d'algues au-dessus du seuil maximal* d'iode en Europe (espace économique européen) et dans le monde.	8
Tableau 9 : Teneur en HAP dans les algues.....	9
Tableau 10 : Teneur en PCDD, PCDF et PCB dans les algues	10
Tableau 11 : Méthodes analytiques utilisées pour la spéciation de l'As inorganique et des formes organifiées arséno-bétaine, arséno-sucre et -lipides dans les algues marines. .41	

IX Liste des figures

Figure 1 : Extracteur conventionnel soxhlet (modifié de Zygler <i>et al.</i> , 2012)	19
Figure 2 : Etapes d'une extraction MSPD typique (modifié de Barker, 2007)	20
Figure 3 : Schéma générique d'un système ICP-MS (Modifié de Aceto, 2016).....	23
Figure 4 : Schéma générique d'un système ICP-OES. (Modifié de ThermoFischer Scientific, consulté le 03/07/2020)	24
Figure 5 : Schéma générique d'un système CVAAS (INRS, 2016).	25
Figure 6 : Schéma générique d'un système FAAS (Modifié de UVED, 2008).....	25
Figure 7 : Présentation d'un analyseur de mercure (Nicolas, 2010)	27
Figure 8 : Schéma CG-MS (modifié de Wu <i>et al.</i> , 2012).....	28
Figure 9 : Profil de répartition aléatoire, de type gaussien des mesures répétitives sur un même échantillon.	31
Figure 10 : Profil de répartition des mesures d'un même échantillon à proximité de l'USL.	32
Figure 11 : Profils de répartition des mesures d'un même échantillon à proximité de l'USL, lorsque la LOQ de la méthode est proche de l'USL.	32
Figure 12: Valeurs moyennes des capacités (Cp) selon les analytes.	35
Figure 13 : Valeurs moyennes des capacités (Cp) selon les méthodes de détection.	36
Figure 14 : Valeurs moyennes des capacités (Cp) en fonction des limites de quantifications des méthodes (LOQ).....	36
Figure 15 : Valeurs moyennes des capacités (Cp) en fonction de la reproductibilité (incertitude relative) des méthodes.	37
Figure 16 : Extraction de la base bibliographique Web of Science concernant 3 éléments à risques dans les algues marines (Arsenic, Iode, Cadmium)	40
Figure 17 : Distribution de l'As _{total} (bleu) et AS _{inorganique} (rouge) mesurés chez les algues brunes <i>L. digitata</i> (gauche) et <i>A. nodosum</i> (droite). Extrait de Ronan <i>et al.</i> (2017).....	44



Pour LABOCEA : Gaël Durand
Michele Da Silva Pinto

Pour Phycosyris : Yannick Lerat

Pour CNRS : Philippe Potin
Jean Grassien