



Institut Technique de
l'Agriculture Biologique

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES :

CARACTERISATION DES MICROPOLLUANTS

Septembre 2010

Institut Technique de l'Agriculture Biologique

Elsa Bignon



Table des matières

Table des matières	2
Table des illustrations :	4
Tables des abréviations :	6
Introduction.....	9
Partie I : micropolluants susceptibles de contaminer un lait.....	11
Métabolisme de détoxification et facteurs favorisant le transfert d'une substance vers un lait :	11
I. Les POP: des micropolluants à très forte rémanence.....	16
A. Caractérisation.....	16
B. Transferts.....	24
C. Conclusion.....	29
D. Méthodes de caractérisation de la contamination en POP d'une matrice.....	30
II. Les mycotoxines.....	34
A. Caractérisation.....	34
B. Transferts.....	40
C. Conclusion :.....	43
D. Méthode d'analyse des mycotoxines	44
III. Les autres pesticides	47
A. Caractérisation.....	47
B. Transferts.....	50
C. Etat des lieux de la contamination des laits biologiques par les pesticides	54
D. Conclusion.....	55
E. Méthode d'analyse des Pesticides.....	56
IV. Les éléments traces métalliques	58
A. Caractérisation.....	58
B. Transferts.....	63
C. Etat des lieux sur la contamination	64
D. Transformation du lait et transfert des métaux lourds.....	66
E. Conclusion.....	68
F. Méthode d'analyses	68
V. Les phytoestrogènes.....	70
A. Caractérisation	70

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des
micropolluants

B. Etats des lieux sur les contaminations des laits en élevage biologique :.....	73
C. Conclusion.....	74
D. Méthode d'analyse.....	74
VI. Les résidus de soins vétérinaires	76
A. Réglementation :.....	76
B. Les médicaments vétérinaires.....	76
C. Prophylaxie et soin vétérinaire utilisés en Agriculture biologique.....	82
D. Conclusion.....	83
E. Méthodes d'analyse des résidus médicamenteux	83
VII. Autres micropolluants.....	85
A. Analyse des facteurs de risques en AB	91
B. Pistes à intéressantes à approfondir en AB	97
C. Autres pistes de recherche	99
Bibliographie:.....	10889
Bases de données consultées :.....	109
Mots clefs utilisés:.....	110

Table des illustrations :

Figure 1: Routes d'absorption, de distribution et d'excrétion des xénobiotiques.....	12
Figure 2 Structure des molécules PCDD/F, PCB et HAP.....	23
Figure 4: Evaporateur rotatif.....	31
Figure 5 : Dispositif pour l'évaporation avec azote. (caliper).....	32
Figure 3: Cartouche SPE avec échantillons à analyser.....	1
Figure 6 : Chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse.....	32
Figure 7: Mécanisme de transport des pesticides dans l'environnement.....	51
Figure 8: Principaux processus impliqués dans le comportement des pesticides après leur application sur le sol ou la plante.....	1
Figure 9 : Structure chimique de quelques phytoestrogènes.....	71
Tableau 1: Liste des POP établie dans le cadre du Protocole d'Aarhus et de la Convention de Stockolm.....	17
Tableau 2 : Exemple de quelques TEF pour des congénères de dioxines.....	22
Tableau 3 Effet des principales mycotoxines et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés.....	35
Tableau 4 : Principales mycotoxines retrouvées dans les fourrages.....	37
Tableau 5 : Croissance d'Aspergillus fumigatus et production de gliotoxines sur aliments destinés aux ruminants...	42
Tableau 6: Exemple de classification famille/cible de pesticides bien connus.....	1
Tableau 7: Classement des pesticides en fonction des risques liés aux résidus dans l'alimentation animale.....	49
Tableau 8 :Dose hebdomadaire tolérable des principaux métaux toxiques pour l'homme.....	62
Tableau 9: Teneurs maximales en certains métaux pouvant être apportées lors d'amendement.....	65
Tableau 10: Teneur en métaux lourds des échantillons de lait (en µg/L).....	66
Tableau 11: Vue générale de la préparation préalable, les limites de rejet, et les méthodes conseillées en fonction de l'élément à analyser.....	69
Tableau 12: Taux auxquels quelques antibiotiques inhibent les levains dans le lait.....	81
Tableau 13: Evaluation des risques liés à l'agriculture biologique par rapport au conventionnel.....	87
Tableau 14: Facteurs agissant sur la contamination des matrices environnementales par les POP, et facteurs agissant sur la contamination de l'animal et du lait. en rouge, les facteurs favorisant les risques de contamination, en bleu les facteurs diminuant les risques (application à l'agriculture biologique). En gras : les facteurs non négligeables.....	91
Tableau 15 : Facteurs agissant sur la contamination des matrices environnementales par les Pesticides.....	92
Tableau 16: Facteurs agissant sur la contamination des matrices environnementales par les ETM,.....	93
Tableau 17: Facteurs agissant sur la contamination des matrices environnementales par les phytoestrogènes.....	94
Tableau 18 : Facteurs agissant sur la contamination des matrices environnementales par les mycotoxines.....	94
Schéma 1:Vue d'ensemble des transferts des POP depuis l'environnement jusqu'aux herbivores.....	1
Schéma 2:Différentes voies de contamination des hommes par les mycotoxines.....	1
Schéma 3: Routes permettant le transport des éléments traces métalliques dans l'environnement.....	58
Schéma 4:différentes voies d'exposition des bovins aux ETM.....	63
Schéma 5 : récapitulatif des transferts de pénicilline dans un lait entier vers un lait écrémé).....	1

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des
micropolluants

Schéma 6 : Récapitulatif des différentes sources d'exposition d'un animal aux micropolluants. 1
Schéma 7: Rappel sur la répartition des composants dans le lait et le fromage %..... 1
Schéma 8: Synthèse des transferts des micropolluants d'un lait après certains procédés de transformation.
..... 1

Tables des abréviations :

AFB1 : Aflatoxine B1
AFM1 : Milk aflatoxin 1
AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
AJMT : Apport Journalier Maximal tThéorique
ASE : Extraction accélérée par solvant
CCM : Chromatographie sur couche mince
Cd : Caddmium
CE : Communauté Européenne
CIRC: Centre International de Recherche sur le Cancer
CLHP : Chromatographie liquide Haute Performance
CNIEL: Centre National Interprofessionnel de l'économie laitière
CPG : Chromatographie Phase Gazeuse
Cr : chrome
DDE : Dichlorodiphenyldichloroethylene
DDT : dichlorodiphényltrichloroéthane
DGAL : direction générale de l'alimentation
DGCCRF : Direction Générale de la concurrence de la consommation et de la répression des fraudes
DHT: Dose hebdomadaire tolerable
DJA: Dose journalière admissible
ECD: Détecteur à capture d'électron
ED: Equivalent Dioxin
ETM : Eléments trace métallique
ex: exemple
FAO : Food and Agriculture Organization
GCMS : Chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
GNRH: Gonadotropines Releasing Hormone
ha : hectare
HAP: Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
HCH: Lindane
Hg: mercure
IFEN : Institut Français de l'Environnement
IPCS : International Programme on Chemical Safety
ITEQ : Equivalent Toxique International
L : litre
LLE : Extraction liquide liquide
LMR: Limite maximal des Résidus

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des
micropolluants

MAE : Extraction assistée par micro-onde
MS : Masse selectif
OCDD : octa-chlorinated dioxin
OT α : ochratoxine α
OTA: Ochratoxine A
Pb : plomb
PCB : polychlorobiphényles
PCDD/F: polychlorodibenzo-para-dioxines / polychlorodibenzo- furanes
PDP : Pesticide data Program
PFE: pressurized fluid Extraction
POP : Polluant organique Persistant
SDM : Spectromètre de masse
SFE : Extaction par les fluidessupercritiques
SPE : Extraction Phase solide
T°C : Température
TCDD : tétrachlorodibenzo-p-dioxine
TEF: Toxique Equivalent Factor
UNEP: United Nations Environment Programme
USA : United States of America
USDA : United State Department of Agriculture
Zn : zinc

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des
micropolluants

Introduction

L'agriculture Biologique est un secteur en pleine expansion depuis plusieurs années en France et dans de nombreux pays. Ceci est à la fois le résultat d'une demande soutenue des consommateurs et d'une volonté politique affichée de voir l'offre française en produits biologiques se développer. Dans ce contexte, les producteurs de lait biologiques français, en partenariat avec l'ITAB (Institute Technique de l'Agriculture Biologique) aimeraient caractériser la qualité de leur lait et leurs produits laitiers dérivés.

La qualité peu se décomposer en trois aspects : la qualité alimentaire, dans laquelle se distingue la qualité sanitaire, technologique, sensorielle et nutritionnelle ; la qualité psycho-sociale c'est-à-dire l'image du produit ; et enfin, la qualité d'usage, comme par exemple le rapport qualité / prix.

Ce travail bibliographique vient compléter d'autres travaux réalisés sur différents aspects de la qualité, puisqu'il ne s'intéresse qu'à la qualité sanitaire du lait. En effet, le lait, de part ses propriétés physico-chimique, est un aliment très sujet à un certains types de contaminations. L'objectif de cette bibliographie est d'apporter les connaissances nécessaires sur les micropolluants des laits afin d'en limiter leur concentration dans les laits biologiques. Ainsi ce rapport tentera de répondre à la problématique suivante :

Quels sont les micropolluants majeurs susceptibles de se retrouver dans un lait, quelles méthodes existent pour les évaluer, quels sont les facteurs de risque et enfin, quelles sont les molécules prioritaires à rechercher ?

Le terme micropolluant n'étant pas défini de manière légale, nous entendrons par micropolluant, tout produit toxique, minéral ou organique, susceptible d'être retrouvé en très faible concentration dans un lait, et pouvant entraîner des préoccupations sanitaires.

Afin de rédiger ce rapport, de nombreuses bases de données furent consultées et plusieurs chercheurs et acteurs spécialisés sur ces sujets interrogés.

Ce rapport est divisé en deux majeures parties. La première caractérise sept principaux groupes de micropolluants susceptibles de contaminer un lait, à savoir, les polluants organiques persistants, les mycotoxines, les autres pesticides, les éléments traces métalliques, les phytoestrogènes les substances utilisées en tant que soin vétérinaire et les « autres micropolluants ». Dans chacune de ces sous-parties, les principales caractéristiques des micropolluants sont présentées, en particulier leurs structures, propriétés physico –chimiques et toxicités, de façon à comprendre pourquoi et comment il est possible de les retrouver dans un lait. De plus, chaque sous-partie présente un état des lieux sur la contamination des laits biologiques par ces micropolluants. Enfin, les parties se terminent par un aperçu des méthodes d’analyses des contaminants. En outre, lorsque les données sont disponibles, les transferts d’un lait contaminé vers un produit laitier sont également caractérisés.

La deuxième partie est axée sur les conclusions et résultats qui découlent de la recherche bibliographique. Elle développe des hypothèses et des pistes de recherches de façon à approfondir ou confirmer certains points estimés comme importants pour tenter de diminuer la teneur en micropolluants dans les laits issus de systèmes biologiques.

Partie I : micropolluants susceptibles de contaminer un lait

Cette première partie commence par une brève explication des mécanismes de détoxification chez l'animal producteur de lait afin de comprendre quelles sont les caractéristiques des molécules qui auront tendance à contaminer un lait. Puis, après avoir défini les polluants organiques persistants (POP), cette partie décrit les principaux POP en les classant en 3 grands groupes : les pesticides organochlorés, les produits industriels et les sous-produits involontaires des processus industriels. Chaque grand groupe est caractérisé par ses propriétés chimiques, son mode de production et un exemple de composé connu, représentatif du groupe est décrit plus spécialement. La partie traite ensuite les caractéristiques et les modes de transfert des POP vers les plantes, puis des plantes vers les bovins laitiers. Enfin, les principales méthodes d'analyses des POP sont brièvement résumées.

Métabolisme de détoxification et facteurs favorisant le transfert d'une substance vers un lait :

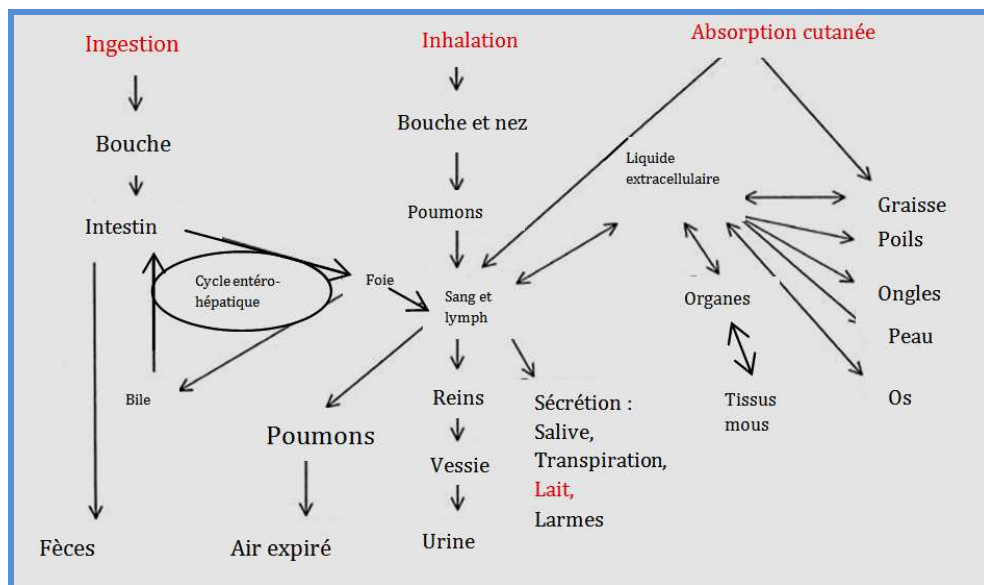
Cette partie explique brièvement les différentes routes d'absorption d'une substance toxique dans le corps et les mécanismes de détoxification.

Une fois dans le corps, les substances toxiques (ou xénobiotiques) peuvent être éliminées par plusieurs routes, dont la salive, la transpiration, les urines, les fèces, les larmes et le lait. Elles doivent être transformées en substances (plus) hydrophiles avant de pouvoir être excrétées dans les urines (KLASSEN et WATKINS, 2003). Les transformations de la substance active après absorption ont majoritairement lieu dans le foie (BERTRAND et DUHEM., 2004). Les substances les plus lipophiles ont tendances à se concentrer dans les tissus gras tels les tissus adipeux, le cerveau, le foie les reins et le lait (TSIPLAKOU et *al.*, 2010). Cependant, le stockage et la diversité des voies d'élimination ainsi que les formes chimiques excrétées (métabolites du composé de départ) sont complexes et multiples. Ainsi, par exemple, la molécule mère peut être dégradée dans l'organisme en un métabolite plus

toxique, inactif ou encore doté de propriétés pharmacologiques différentes (BERTRAND et DUHEM., 2004).

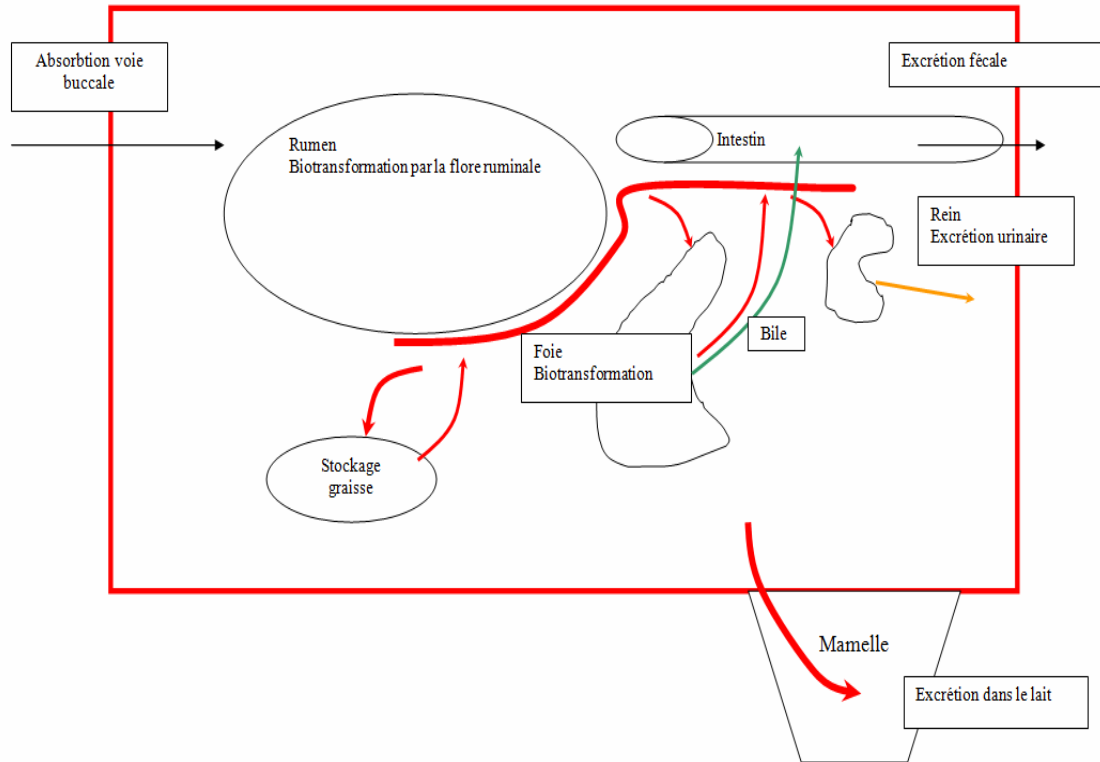
La figure 1 présente les différentes routes d'absorption, de distribution et d'excrétion des xénobiotiques dans le corps (KLASSEN et WATKINS, 2003).

Figure 1: Routes d'absorption, de distribution et d'excrétion des xénobiotiques



Source : d'après le site internet de l' IPCS, 1980

Schéma 1: Schéma des compartiments métabolique, biotransformation des toxiques



Les toxiques une fois absorbés par la vache par voie buccales peuvent être :

- Biotransformés par la flore du rumen. (Ils sont soit détoxiqués ou transformés en métabolites dérivés)
- Absorbés par la muqueuse ruminale (très faiblement)
- Absorbés par la muqueuse intestinale

Ensuite, ces composés toxiques passent dans le sang puis dans la mamelle (pour la formation d'un litre de lait chez la vache, 500 litres de sangs passent dans la mamelle (DELAVAL, 2009).) ou bien passent dans le sang puis dans le foie. Dans le foie, il y a détoxification des composés notamment par le cytochrome P450. Les métabolites sont éliminés par voies digestives (cycle entérohépatique par la bile) ou par le sang puis les reins.

- Passent dans le sang puis dans le foie
 - Foie : détoxification notamment par le cytochrome P450 élimination par voie digestive (cycle entérohépatique par la bile) ou par le sang puis le rein
- Passent dans le sang > rein et excrétion par l'urine

- Passent dans le sang >stockage dans les tissus et notamment les tissus graisseux avec relargage possible dans les phases d'amaigrissement
- Excrétés dans les bouses

La sécrétion des substances toxiques par le lait se fait par simple diffusion. Parmi les propriétés physico chimiques liées aux molécules qui vont favoriser ou non leurs transferts vers le lait, nous pouvons citer: le degré d'ionisation, la polarité, l'affinité pour les protéines, la liposolubilité ainsi que le poids moléculaire (ADIB, 2009).

Par exemple :

- ❖ Plus un xénobiotique aura de l'affinité pour les protéines plasmatiques, moins il aura de facilité à s'en détacher et passer dans le lait (ADIB, 2009).
- ❖ Le lait étant plus acide que le plasma (pH= 6.5), les composés basiques auront tendance à se concentrer dans le lait, tandis que les composés plus acides seront en plus forte concentration dans le plasma (KLASSEN et WATKINS, 2003).
- ❖ Plus un composé est lipophile et plus il traversera rapidement une membrane biologique, de façon passive (ADIB, 2009).
- ❖ Les substances de poids moléculaire inférieur 1000 Daltons sont celles qui traversent le mieux les membranes plasmiques (KECK, 1979, in ADIB, 2009).

D'autres facteurs peuvent également intervenir, comme la composition du lait ou l'état physiologique de la mamelle.

Ainsi, après absorption d'un xénobiotique les mécanismes de détoxifications qui entrent en jeu auront pour but la détoxification de l'animal, et ce, par divers voie, dont le lait.

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des micropolluants

L'excrétion par le lait concerne un certains type de substances ayant des caractéristiques bien propre, l'une des principale étant la solubilité dans les graisses.

I. Les POP: des micropolluants à très forte rémanence

A. Caractérisation

1. Définition

La rémanence peut se définir comme la persistance d'action. En élargissant, on peut parler de rémanence environnementale, qui serait la persistance d'une molécule dans l'environnement (FRISSUR et al., 2007) .

Selon la convention de Stockholm (2001), les polluants organiques persistants (POP) « possèdent des propriétés toxiques, résistent à la dégradation, s'accumulent dans les organismes vivants et sont propagés par l'air, l'eau et les espèces migratrices par delà les frontières internationales et déposés loin de leur site d'origine, où ils s'accumulent dans les écosystèmes terrestres et aquatiques ».

Le Protocole d'Aarhus de 1998 les définit à partir de cinq caractéristiques : ce sont des « substances organiques » qui i) possèdent des caractéristiques toxiques ; ii) sont persistantes ; iii) sont susceptibles de bioaccumulation ; iv) peuvent aisément être transportées dans l'atmosphère au-delà des frontières sur de longues distances et se déposer loin du lieu d'émission ; v) risquent d'avoir des effets nocifs importants sur la santé et l'environnement aussi bien à proximité qu'à une grande distance de leur source.

L'exposition chronique à ces polluants entraîne de nombreux risques sanitaires connus : malformations, cancers, déficiences immunitaires, altération de la croissance et de la fertilité (GARBAN et al., 2002, in RYCHEN et al., 2005). Puisque plusieurs molécules possèdent ces critères, la réglementation internationale a dressé une liste nominative des POP via le Protocole d'Aarhus et la Convention de Stockholm dans le cadre du Programme des Nations Unies pour l'Environnement. Ainsi, sont inclus dans les POP, tous les composés non polaires et chlorés, dont les dioxines, furannes, PCB (polychlorobiphényles), DDT(dichlorodiphényltrichloroethane), heptachlore, endrine, dieldrine, aldrine, dieldrine, toxaphène, Mirex, chlordane, HCB (hexachlorobenzène) et lindane. Sont aussi inclus les retardateurs de flamme (composés bromés) et les autres composés non polaires et halogénés (Dr Glenn Miller, 2010, communication personnelle).

Les POP peuvent se répartir en trois catégories selon leur origine (cf Tableau 1).

Tableau 1: Liste des POP établie dans le cadre du Protocole d'Aarhus et de la Convention de Stockolm.

Produits de synthèse	
Pesticides	Produits industriels
Hexachlorobenzène Mirex Toxaphène DDT Lindane (HCH) Aldrine Chlordane Dieldrine Heptachlor Endrine	Hexabromobiphényl PCB (PolyChloroBiphéniles)
Sous-produits involontaires des processus industriels et de combustion	
HAP (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques) PCDD (PolyChloroDibenzo-para-Dioxines) PCDF (PolyChloroDibenzoFuranes)	

Source: RYCHEN , et al., 2005

2. Présentation des POP

Cette partie présente, pour chacune des trois catégories de POP identifiées ci-dessus, l'usage et la provenance des molécules, leurs propriétés chimiques et leurs toxicologies.

2.1 Les produits de synthèse

- Les substances utilisées comme pesticides : les pesticides organochlorés

Les pesticides sont des substances ou mélanges de substances utilisés pour prévenir, détruire repousser ou réduire toutes pestes (KLASSEN et WATKINS ; 2003).

Les composés organochlorés possèdent une faible volatilité, sont stables, très liposolubles et se dégradent très lentement. Ces caractéristiques contribuent à leur persistance dans l'environnement et leur bioconcentration dans les chaînes alimentaires (KLASSEN et WATKINS ; 2003). Ces composés sont interdits dans les pays industrialisés dont la France depuis 1969, dans le cadre de la désinsectisation des étables selon l'arrêté du 15 Octobre 1969 et la circulaire du 20 Juillet 1970 (sauf le lindane qui fût interdit en 1998) (NICOLAS et *al.*, 1974). Pourtant, ces pesticides continuent à être

utilisés dans les pays en voie de développement car ils sont très efficaces et peu onéreux (KLASSEN et WATKINS, 2003).

Malgré leur interdiction dans de nombreux pays, ces molécules sont toujours présentes dans notre environnement et peuvent présenter un risque de contamination (BERTRAND et DUHEM, 2004).

▪ **Le DDT, un exemple représentatif de la famille des organochlorés**

L'un des plus célèbres POP, le DDT (1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane) a été l'insecticide le plus utilisé au monde pour lutter contre l'anophèle femelle, vecteur de la malaria . Pendant l'éradication de cette maladie, des centaines milliers de tonnes furent utilisées (WALKER, 2000). La toxicité aiguë du DDT, sa forte rémanence et sa tendance à s'accumuler dans les tissus en font un composé potentiellement nocif pour la santé humaine, même suite à de faibles expositions de manière chronique (LONGNECKER et *al.*, 1997 in PARDI'O et al., 2003). Un empoisonnement au DDT affecte les fonctions du système nerveux chez l'homme, mais les plus importants effets sont observés dans le foie et les organes reproductifs (KLASSEN et WATKINS, 2003).

Si l'exposition au DDT se fait de manière aiguë, ce dernier n'est pas considéré comme hautement toxique sur des animaux de laboratoire, (toxicité aiguë : DL50¹ qui varie entre 100 mg/kg de masse corporelle pour les rats à 1,770 mg/kg pour les lapins) (UNEP, 1995).

Le DDT a été reconnu cancérigène chez les animaux de laboratoire, mais les preuves qu'il le soit aussi pour l'homme sont encore insuffisantes. C'est pourquoi, l'CIRC (Centre International de Recherche sur le Cancer) l'a classifié comme un cancérigène probable pour les humains. Par contre, le DDT est très toxique chez les poissons et affecte même leurs comportements. Il joue également sur les oiseaux et leur reproduction (UNEP, 1995).

Le DDT et les composés chimiques qui lui sont proches sont très persistants dans l'environnement, 50% du composé pouvant toujours être présent dans le sol 10 à 15 ans après son application. Cette rémanence associée à un fort coefficient de partage octanol-eau² (log KOW = 4.89-6.91) donnent les

¹ Dose Létale: la dose d'un produit chimique causant la mort de 50% des animaux testés.

² Le coefficient de partage octanol / eau permet de prédire la capacité de la substance à s'accumuler dans les tissus adipeux. Ce coefficient est souvent exprimé par son logarithme, log P, et est d'autant plus élevé que la substance est lipophile. On considère que les valeurs de log P supérieures à 3, sont associées à un risque de bioconcentration dans les graisses (BERTRAND et DUHEM, 2004).

conditions nécessaires au DDT et aux autres composés similaires à se bio-concentrer dans les organismes (UNEP, 1995). Par ailleurs, le DDT et ses métabolites (principalement le DDE) ont été détectés dans les aliments du monde entier. La nourriture représente la première source d'exposition pour la population (UNEP, 1995). Le DDT peut aussi être présent dans le lait maternel. Même si les doses sont souvent inférieures aux seuils réglementaires, cela pose de potentiels risques pour la santé des enfants dans les pays en voie de développement (UNEP, 1995). En plus d'être présent dans les laits maternels, on le retrouve dans les laits de consommation. Ainsi, PARDI'Ó et *al.*, dans une étude menée en 2003 montrent que des bovins exposés HCH (lindane) et au DDT au Mexique (où ces organochlorés sont toujours autorisés) produisent un lait hautement contaminé, qui pourrait avoir un potentiel impact sur la santé du consommateur.

- Les produits industriels :

- **Les Hexabromobiphényles**

Les hexabromobiphényles appartiennent au large groupe des polybrominated biphényles (PBB). Ce sont des hydrocarbon brominés fabriqués par l'homme. Il existe 42 isomères.

Dans de nombreux pays, les hexabromobiphényles furent utilisés comme retardateur de flammes dans les thermoplastiques acrylonitrile-butadiène-styrène (ABS), les carters de machines, les produits industriels et électriques et la mousse de polyuréthane pour la garniture automobile. Les PBB sont des composés très stables et insolubles dans l'eau, mais hautement liposolubles. Ces propriétés en font un composé très stable dans l'environnement.

Une exposition chronique peut entraîner des effets toxiques, sur le foie et la thyroïde du rat. Le Centre international de Recherche sur le Cancer a classé l'hexabromobiphényle comme étant un possible cancérigène pour l'homme (CIRC : groupe 2B). Par ailleurs, les PBB sont des perturbateurs endocriniens et des effets ont été observés sur la capacité reproductrice des rats, et des singes. Ces composés seraient également responsables d'une augmentation des taux de cancer du sein chez les femmes exposées à la substance chimique. (UNE., 2006)

- **Les polychlorobiphényles (PCBs)**

Les PCB sont des composés manufacturés par l'homme. Ils sont composés d'une famille de 209 congénères³ qui diffèrent entre eux par le nombre et la position des atomes de chlore (dont le nombre peut varier de 1 à 10) associés à deux groupes phényles (Figure 2) (KHAN et al., 1976; KIMBROUGH, 1988). Ils étaient utilisés en France principalement dans les transformateurs et condensateurs du fait de leurs stabilités. En effet, grâce à leur point d'ébullition élevé, ils sont très stables thermiquement, sont lipophiles et très difficilement inflammables. C'est pourquoi ils sont très solubles dans la plupart des composés organiques (INRS, 2007). Malheureusement, ces propriétés qui rendaient les PCB indispensables industriellement sont celles qui font qu'ils persistent dans notre l'environnement (KHAN et al., 1976; KIMBROUGH, 1988).

Selon SAFE, en 1984, la principale source de contamination pour l'homme était la nourriture contaminée (lait, poisson, viande, céréales...). Aujourd'hui, cependant, puisque les PCB sont interdits, le poisson contaminé est le principal risque lié à l'alimentation (KIMBROUGH, 1988).

Selon KHAN et al., (1976), une exposition chronique aux PCB peut entraîner des problèmes de peau (chloracnée) et du foie. Par ailleurs, les PCB perturbent la reproduction (malformation génital, diminution du nombre de spermatozoïdes...), et le développement de l'embryon (EPA, 2009 ; SAFE, 1984). Ils influencent également le développement neurologique de jeunes singes et impliquent des troubles de l'immunité (EPA, 2009). L'agence de protection de l'environnement des Etats-Unis a classé les PCB comme des « cancérigènes probables ».

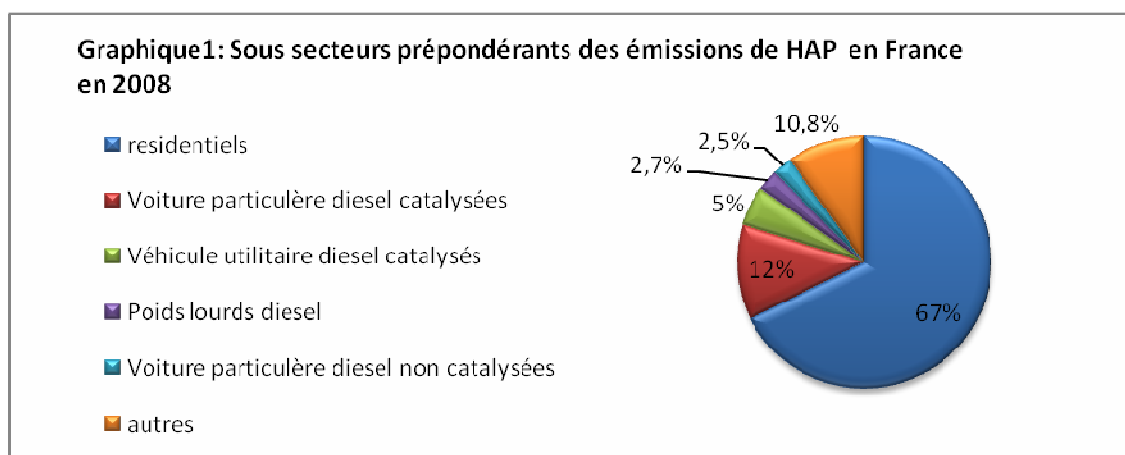
Aujourd'hui, bien que les PCB soient interdits depuis 1985, on les retrouve encore dans l'environnement. Sur une production mondiale de 1,2 millions de tonnes en 1988, 4 % seulement auraient été détruits, 30 % déjà dispersés et le reste encore en service ou en décharge (GARBAN et al., 2002 in RYCHEN, et al., 2005)

2.2 Les substances produites non intentionnellement par des activités humaines (dioxines, furannes, HAP).

³ Mélange d'isomères

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des micropolluants

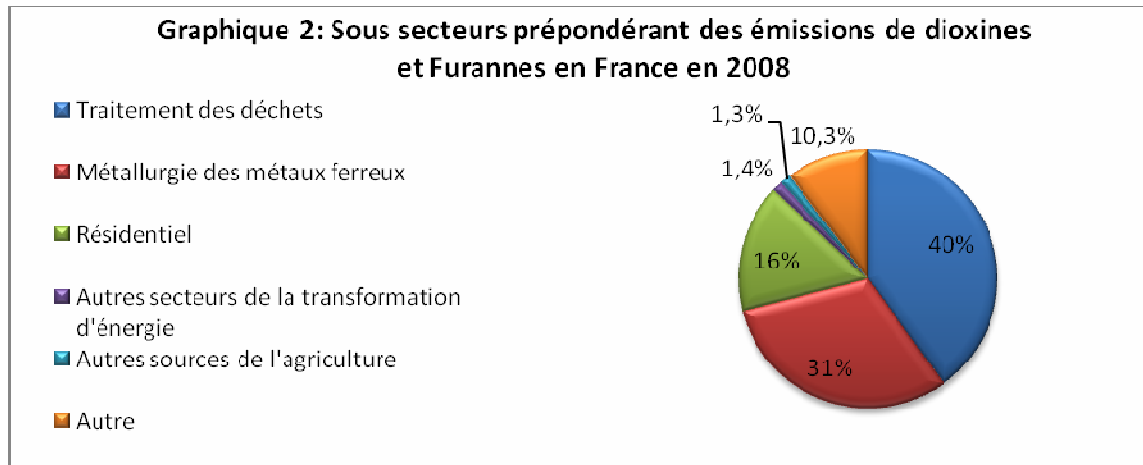
La combustion incomplète de matière organique d'origine naturelle (feux de forêt, éruptions volcaniques...) ou les productions anthropiques via les procédés industriels par exemple sont à l'origine de la création des HAP (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques) et des PCDD /F. En 2008, les émissions de HAP⁴ atteignaient 18,7 tonnes, avec les secteurs résidentiels / tertiaires qui représentaient 67% des émissions (combustion de la biomasse) et le transport routier 25,1%. Les autres secteurs contribuent faiblement aux émissions (moins de 3% chacun) (Graphique 1)



Source : d'après CITEPA, 2010

La formation de dioxines et furannes a lieu dans des conditions particulières de combustion (potentiellement rencontrées dans tous les secteurs) mais plus particulièrement lors de l'incinération des déchets et de la production d'agglomérés pour les hauts-fourneaux. Les émissions de dioxines et furannes représentaient en 2008 101 g ITEQ (équivalent toxique international). Les secteurs qui participaient le plus aux émissions étaient l'industrie manufacturière (76,2%), le résidentiel/tertiaire (16,6%), et la transformation de l'énergie (3,9%) (Graphique 2) (CITEPA, 2010).

⁴ Les HAP concernés sont le Benzo(a)pyrène, le benzo(b)fluoranthène, le benzo(k)fluoranthène et l'indeno(1,2,3-cd)pyrène. Ces 4 HAP sont ceux définis par le Protocole d'Aarhus relatif aux POP (Polluants Organiques Persistants) de 1998 et par le règlement n°850/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 Avril 2004 (CITEPA, 2010) .



Source : d'après CITEPA, 2010

▪ **Les dioxines et furane : PCDD/F**

Les PCDD/F (polychlorodibenzo-para-dioxines, PCDD et les polychlorodibenzo-furanes, PCDF) forment une famille de 210 composés chimiques. Ils ont en commun deux noyaux benzéniques et diffèrent les uns des autres par le nombre et la position des atomes de chlore sur ces deux noyaux (figure 2) (RYCHEN *et al.*, 2005). Les PCDD/ F se caractérisent par une faible volatilité une très forte liposolubilité et une stabilité très haute. Leur décomposition thermique n'étant possible qu'au-delà de 750°C , et une des rares voies de dégradation dans l'environnement est la photodéchloration (KAMMERER et LE BIZEC , 2009). Leur durée de demi-vie chez l'homme est comprise entre 4 et 16 ans. Ils sont considérés comme mutagènes et cancérigènes chez les êtres vivants. Deux indicateurs ont été créés pour évaluer leur toxicité : « un équivalent dioxine » (ED) ou « toxicity-equivalent factor » (TEF), la molécule de référence étant la 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine (TCDD), isomère le plus toxique quel que soit l'effet biologique étudié. On lui attribue la valeur TEF de 1, les autres isomères ont une valeur inférieure (KECK, 1998) (tableau 2).

Tableau 2 : Exemple de quelques TEF pour des congénères de dioxines

Composés	TEF
2,3,7,8 TCDD	1
1,2,3,7,8 PCDD	0,5

1,2,3,4,7,8 HCDD	0,1
2,3,7,8 TCDF	0,1
1,2,3,7,8 TCDF	0,05

Source : d'après KAMMERER et LE BIZEC, 2009

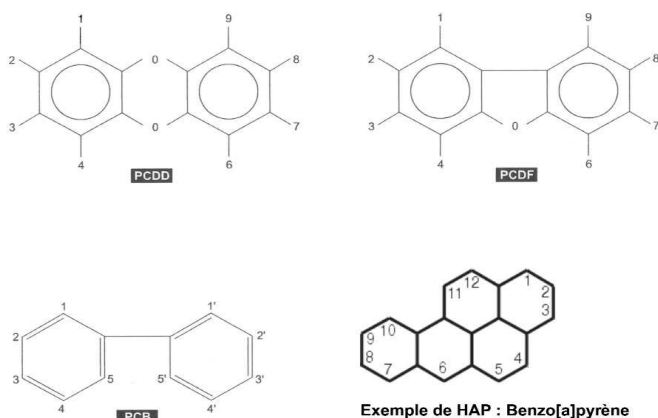
▪ Les hydrocarbones aromatiques polycycliques (HAP)

Les HAP sont des molécules constituées d'atomes de carbone et d'hydrogène organisés sous forme de cycles aromatiques (figure 2). Les HAP sont lipophiles très peu solubles dans l'eau et, en fonction du nombre croissant de cycles aromatiques, leurs volatilités diminuent (RYCHEN et *al.*, 2005).

Plusieurs HAP ont causé des tumeurs à des animaux exposés en laboratoire (nourriture contaminée, air contaminé et application sur la peau). Des problèmes de reproduction et de malformation ont aussi été observés suite à des teneurs élevées en HAP (en particulier le benzo(a)pyrène). D'autres effets incluent des problèmes de peau et du système immunitaire. Même si le manque d'étude sur les hommes ne permet pas d'établir les effets d'une exposition aux HAP, il semble qu'un contact avec ces molécules via la respiration et la peau soit cancérigène pour l'homme (EPA, 2008).

La toxicité est mesurée en TEF avec pour molécule référence (TEF égal à 1) le benzo(a)pyrène, considéré comme la molécule la plus toxique (RYCHEN et *al.*, 2005).

Figure 2 Structure des molécules PCDD/F, PCB et HAP.



Source : Rychen et *al.*, 2005

Ainsi, à cause de leurs propriétés physico-chimiques et de leur mode d'émission, les POP sont responsables de la contamination de matrices environnementales et biologiques. Ceci les amène à être à l'origine d'un risque de transfert dans la chaîne alimentaire à partir d'un fourrage contaminé par dépôt atmosphérique jusque vers le lait où ils peuvent être stockés dans la matière grasse (RYCHEN *et al.*, 2005).

B. Transferts

Cette partie présente le mécanisme de contamination des matrices ingérées par les animaux (végétal, sol) et le transfert des micropolluants vers le lait.

1. La contamination des matrices végétales et du sol

1.1 Transport atmosphérique

Comme vu précédemment, la production des POP (volontaire ou non) a lieu sur l'ensemble du territoire et contamine les parcelles agricoles par dépôt atmosphérique (RYCHEN *et al.*, 2005). Ce dernier joue un rôle très important dans le transport des particules car il est responsable de la contamination de sites éloignés de toutes sources d'émissions (GARBAN *et al.*, 2002 in RYCHEN *et al.* 2005). Les propriétés chimiques de ces composés (faible solubilité dans l'eau, très forte stabilité, et volatilité) favorisent leurs transports sur toute la planète. Le DDT, certains de ses métabolites, hexabromobiphényle et quelques PCB ont été retrouvés dans les eaux d'Arctique ou la faune Arctique, bien qu'ils n'aient jamais été manufacturés dans ces endroits (EPA, 2009 ; SAFE, 1984 ; UNEP, 1995).

Selon certains auteurs (BENETT *et al.*, 1998 ; VAN PUL *et al.*, 1998 ; BEYER *et al.*, 2000 in RYCHEN *et al.*, 2005), certaines dioxines (TCDD et OCDD (octa-chlorinated dioxin)) peuvent parcourir des centaines de kilomètres. D'autres auteurs (BAKER et HITES, 1999 in RYCHEN *et al.*, 2005) précisent à l'inverse que les émissions de PCDD/F sont responsables d'une pollution locale lorsqu'elles sont associées à un dépôt particulaire.

1. 2 Contamination des matrices végétales

La contamination des plantes par les POP peut se faire par 4 voies:

- ❖ Le dépôt gazeux
- ❖ Le dépôt sec de particules
- ❖ Le dépôt humide de particules
- ❖ L'absorption racinaire.

Les deux dernières voies étant négligeables (RYCHEN et *al.*, 2005), la contamination du fourrage se fait essentiellement par le **dépôt gazeux** des polluants les plus volatils et par le **dépôt particulaire** des autres composés (THOMAS et *al.*, 2002).

Le **dépôt gazeux** concerne les composés les plus **volatiles** c'est-à-dire les PCB les moins chlorés et les HAP de faible poids moléculaire (HOWSAM et *al.*, 2000 in RYCHEN et *al.*, 2005). Par ailleurs, on retrouve sous forme de **dépôt particulaire** les composés les **moins volatiles** (WELSCH-PAUSCH et *al.*, 1995), comme les PCDD/F. Les HAP se retrouvent sous l'une ou l'autre forme ou sous les deux formes en fonction du nombre de cycles présents dans la molécule et de la température (HOWSAM et *al.*, 2000 in RYCHEN, et *al.*, 2005).

La nature du fourrage ne joue aucun rôle dans le dépôt particulaire. Cependant, ce n'est pas le cas pour un dépôt gazeux où la végétation peut accélérer ou diminuer la vitesse de descente depuis l'atmosphère jusqu'au sol (WELSCH-PAUSH et MACLACHLAN 1998 in RYCHEN et *al.*, 2005). Ainsi, la concentration des POP dans les végétaux dépendra à la fois de leur distribution, leur nature et de leurs propriétés influençant leur forme de dépôt (RYCHEN, et *al.*, 2005). Le schéma 2 résume les différents transferts des POP depuis l'environnement vers les herbivores.

1.3 Facteurs influençant les dépôts

La teneur en POP des végétaux est influencée principalement par la température, les précipitations et le vent, mais aussi par les caractéristiques du végétal.

La **température** influencera la forme sous laquelle les POP seront présents dans l'atmosphère : gaz ou particules (HOWSAM et *al.*, 2000, BAKKER et *al.*, 2001, BLAIS et *al.*, 2003 in RYCHEN et *al.*, 2005). Par exemple, la TCDD est exclusivement présente sous forme gazeuse pendant l'été (WELSCH PAUSH et MACLACHLAN 1998 in RYCHEN et *al.*, 2005). La température influence aussi la concentration des polluants dans la végétation : elle augmente d'un facteur 30 à 2000 quand la température passe de 5 à 50°C (BAKKER et *al.*, 2001 in RYCHEN et *al.*, 2005).

La vitesse et la direction du **vent** peuvent également affecter la concentration présente sur les végétaux, en changeant la répartition des composés dans l'atmosphère.

Enfin, la **pluie** peut jouer un rôle sur le dépôt en agissant par lessivage ou par augmentation des dépôts humides. Les précipitations peuvent lessiver certains composés en fonction de leur nature et du végétal concerné : une laitue lavée à l'eau entraîne l'extraction d'une part importante des HAP de haut poids moléculaire, tandis que sur un maïs, l'eau n'entraîne l'extraction que d'une faible part des HAP et PCDD/F à haut poids moléculaire (BAKKER et al., 2001 in RYCHEN et al., 2005).

Les **caractéristiques du végétal** sont parmi les principaux facteurs de variation connus à l'origine des différences de concentrations en POP. Lorsque la feuille est rugueuse le dépôt particulaire augmente (HOWSAM et al., 2000 in RYCHEN et al., 2005) car les particules sont piégées et se décrochent difficilement (BAKKER et al., 2001 in RYCHEN et al., 2005).

2. Transfert vers le lait après ingestion

La contamination des ruminants laitiers se fait par différentes voies : l'ingestion, l'inhalation et l'absorption par contact cutané (schéma 2). Chez la vache en lactation, l'exposition par inhalation d'air contaminé et l'ingestion d'eau polluée sont des voies de contamination négligeables face à celle de l'alimentation. En effet, la contribution de l'inhalation à la prise de micropolluants organiques pour un troupeau laitier exposé à des teneurs normales serait inférieure à 1 %. De plus, la contamination des ruminants par voie cutanée est négligeable dans les conditions d'élevages conventionnels. C'est pourquoi la principale forme de contamination se fait par voie alimentaire : ingestion de fourrage ou de sol contaminés). En effet, une part non négligeable de sol (1-10 % de la quantité de matière sèche journalière) est ingérée par le ruminant laitier en période de pâturage (RYCHEN et al., 2005).

La contamination du lait par les POP est multifactorielle. Elle dépend à la fois (RYCHEN et al., 2005) :

- ❖ de facteurs environnementaux (telles les saisons ou la température),
- ❖ de facteurs propres au système d'élevage (fourrage et sol potentiellement contaminés, stade de lactation, régime alimentaire, état sanitaire du troupeau)

❖ des caractéristiques des contaminants.

Par exemple, l'ingestion de sol est assez liée à la saison. Les animaux hivernants sur des pâturages dégradés (ou bien en milieu aride ou en cas de sécheresse estivale) ont tendance à ingérer davantage de sol. Par ailleurs, une température élevée et un air sec sont plutôt propices à la volatilisation des POP, qui seraient transportés plutôt que déposés (vers le pôle nord ou sur massifs montagneux) (FEIDT, 2010, communication personnelle).

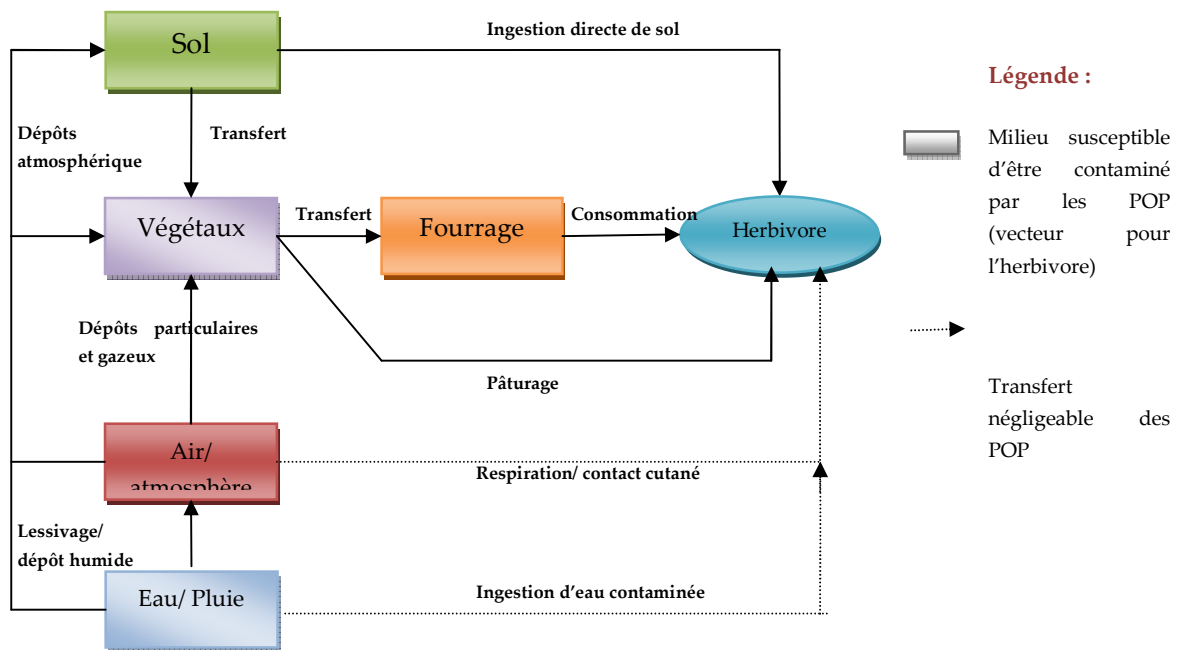


Schéma 2: Vue d'ensemble des transferts des POP depuis l'environnement jusqu'aux herbivores

2.1 Le cas des PCB

Généralement, les concentrations en PCB dans les laits sont de l'ordre du pg/g de matière grasse.

Une étude menée par ALOUNNAS et *al.*, (2010) démontre que le taux de transfert des PCB présent dans le sol vers lait est compris entre 6 et 62 %. Ces résultats suggèrent qu'une part importante des PCB de sol contaminé se retrouve dans le lait. De plus, cette étude montre que les

congénères faiblement bromés sont davantage métabolisés que la plupart des PCB. En effet, les PCB sont très faiblement métabolisés, c'est pourquoi les PCB ne sont quasiment jamais recherchés sous forme de métabolites dans les produits animaux, mais plutôt lors des études de toxicité en termes de compréhension mécanistique (FEIDT, 2010, communication personnelle).

2.2 Le cas des HAP

Une étude (FEIDT et *al.*, 2002) réalisée sur les transferts des hydrocarbures aromatiques polycycliques chez le ruminant laitier montre une contamination significativement supérieure de l'herbe en HAP dans les zones exposées à un fort trafic routier. Cependant, une autre étude menée par GROVA et *al.*, (2000) montre que les concentrations en HAP du lait ne sont pas significativement différentes entre une ferme située en zone urbaine et une autre en zone rurale ; et donc que les teneurs en HAP du lait changent peu en fonction de la distance entre une source de pollution et l'exploitation laitière. Par ailleurs, le transfert des HAP vers le lait dépendrait des molécules. Les plus lourdes (souvent les plus toxiques) semblent être excrétées dans le lait avec un rendement moindre (FEIDT et *al.*, 2002).

Trois hypothèses sont émises concernant les types de HAP communément retrouvés dans un lait (RYCHEN et *al.*, 2005)

- les HAP de faible poids moléculaire sont présents dans l'environnement en plus fortes concentrations que les autres congénères, engendrant ainsi leur présence dans les produits d'origine animale,
- seuls les HAP de faible poids moléculaire (nombre de cycles strictement inférieur à 5) peuvent franchir les barrières épithéliales intestinales et mammaires,
- la différence entre le profil des HAP de l'environnement et celui du lait peut résulter d'un métabolisme sélectif de ces molécules chez les ruminants laitiers.

Certains HAP (le Pyrène et le phénanthrène) sont métabolisés dans l'organisme et se retrouvent peu dans le lait, contrairement à leurs métabolites (respectivement : 1-OH pyrene et 3-OH phenanthrene). 1-OH pyrene est un métabolite majeur et est considéré comme marqueur à une exposition aux HAP des ruminants laitiers (LAPOLE et *al.*, 2007 ; CHAHIN et *al.*, 2008) .

Cependant, il est important de noter que les HAP (notamment le phénanthrène) ne sont pas des contaminants problématiques, car ceux que l'on retrouve dans le lait sont peu toxiques et le taux de

transfert reste très faible (FEIDT, 2010, communication personnelle; GROVA et *al.*, 2008). Cependant, leurs métabolites peuvent poser des questions de sécurité alimentaire (RYCHEN et *al.*, 2005).

2.3 Le cas des PCDD/F

Les teneurs en PCDD/F dans le lait varient en fonction des facteurs d'élevage. Les concentrations peuvent fluctuer en fonction de l'état physiologique, ou bien de l'état sanitaire de l'animal. Ainsi, FRIES et *al.*, (1999) ont constaté une augmentation des concentrations en PCDD/F fortement chlorés lorsque la glande mammaire était infectée. Ce phénomène pourrait être dû à des modifications structurales des cellules de la glande mammaire lors d'une mammité avec une augmentation de la perméabilité des barrières épithéliales mammaires (FRIES et *al.*, 1999).

2.4 Transfert lors de la transformation du lait

Les informations sur le transfert des POP lors de la transformation du lait sont peu nombreuses, mais compte tenu de leur propriétés physico-chimique, les POP étant très lipophiles, nous pouvons penser qu'ils seront extraits du lait avec la matière grasse (FEIDT, 2010, communication personnelle). La plupart des polluants se concentrant dans la matière grasse, lors de la transformation en lait demi-écrémé, la concentration en polluant liposoluble aura tendance à diminuer, à l'inverse, dans le beurre elle aura tendance à être multipliée par 20 et multipliée par 10 dans une crème (LEVEQUE, 2010, communication personnelle).

C. Conclusion

En fonction des conditions environnementales et de leurs propriétés physicochimiques, la contamination par les POP des fourrages et des sols peut varier. De nombreuses études décrivent les facteurs de contaminations. A contrario, les transferts des POP des fourrages ou du sol vers les laits sont pour le moment difficiles à prédire. Cependant, on peut séparer les POP en deux grandes familles : les PCDD/F et les PCB, qui sont considérés comme rémanents et bioaccumulables dans les produits animaux et très peu métabolisés, et les HAP, qui sont très largement métabolisés. Actuellement, les contaminations, quand elles ont lieu, restent sous les valeurs réglementaires. DURAND et *al.*, (2007) ont entrepris une étude nationale en France pour caractériser la

contamination en PCDD/F et PCB dioxin-like dans les laits crus. Tous les laits échantillonnés (239) présentaient des concentrations inférieures aux seuils définis par la réglementation de l'Union Européenne à l'exception de deux échantillons (du à des feux réalisés à proximité des cultures).

Dans son rapport de 2003, l'AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) atteste que « *les animaux élevés en plein air (en agriculture biologique et en productions labellisées) dans des zones contaminées sont plus exposés (aux dioxines et composés apparentés) que les animaux élevés dans des espaces confinés, à moins que les ressources alimentaires de ces derniers ne proviennent pour l'essentiel de productions locales elles-mêmes contaminées* ». Ainsi, ce « *type de pollution n'est pas spécifique d'un mode de production particulier* ». En effet, une étude menée en France par l'Institut National de la Consommation en 1998 a montré que les teneurs en dioxine étaient similaires dans des laits biologiques et conventionnels (INC, 1998 in KOUBA, 2002). Plus récemment, une étude comparative des teneurs en pesticides organochlorés et des PCB contenus dans les laits biologiques et conventionnels du Nord de l'Italie (GIDHINI et al., 2004), ne montre aucune différence de contamination des laits issus des deux modes de productions. Ceci est dû à l'interdiction des pesticides organochlorés en Europe. Ces taux devraient être évidemment plus élevés dans leur pays qui continue à utiliser ces pesticides. Par ailleurs, la FAO (Food and Agriculture Organization) a déclaré dans son rapport de 2000 que l' « *agriculture biologique ne réduit pas les niveaux de polluants rémanents dans les produits qui en sont issus* ».

Les pollutions par les POP dans les pays développés ne sont pas spécifiques à un mode de production particulier. Ce type de pollution est très difficilement contrôlable.

D. Méthodes de caractérisation de la contamination en POP d'une matrice

1. Méthode d'analyse

Cette partie s'inspire largement du « Guide pour l'Analyse des Polluants Organiques Persistants (POP), mars 2007 » de PNUE et al. (2007) auquel il faudra se référer pour de plus amples détails.

- Echantillonnage

Il est indispensable d'assurer la représentativité et l'intégrité de l'échantillon tout le long du processus d'échantillonnage. Ainsi, par exemple, l'analyte (le POP d'intérêt), la matrice, le site de prélèvement, le temps ou la fréquence, et les conditions doivent être déterminés en fonction de l'objectif de l'échantillonnage.

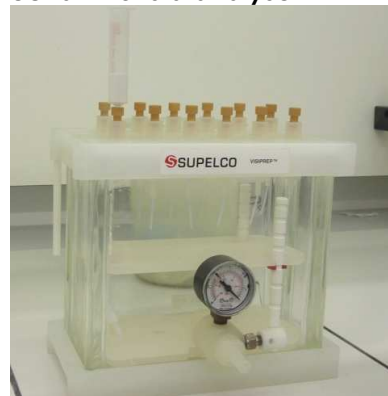
- Extraction

Il existe diverses méthodes pour l'extraction, parmi lesquels le Soxhlet ⁵, l'Extraction par les fluides supercritiques (SFE), la Pressurised Fluid Extraction (PFE), l'extraction liquide - liquide, etc. Après l'extraction, l'extrait sera concentré. Typiquement cette étape comprend : l'évaporation sous vide ou avec de l'azote. (Figure 2, 3 et 4)

Figure 4: Evaporateur rotatif



Figure 3: Cartouche SPE avec échantillons à analyser



⁵ L'extracteur de Soxhlet permet de faire l'extraction par solvant continue d'une espèce chimique contenue dans une poudre solide

Figure 5 : Dispositif pour l'évaporation avec azote. (caliper)



- **Purification**

La purification est effectuée pour enlever les substances/matériels interférents avec l'analyte afin d'obtenir de meilleurs résultats.

La purification est réalisée avec divers types d'adsorbants, avec différents solvants selon la sélectivité, le conditionnement et le débit dans la colonne.

- **Séparation**

La séparation des POP est effectuée à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse avec le détecteur à capture d'électron (ECD), le détecteur de masse sélectif (détecteur MS) ou, la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GCMS) qui est une méthode très couramment utilisée (Figure 4 et 5) ;

Figure 6 : Chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse (GCMS) (ouverte à gauche et fermée à droite)



2. Modélisation

Il est possible de modéliser la contamination des fourrages par les POP en prenant en compte les facteurs affectant les dépôts (caractéristiques de la plante, propriétés physico-chimiques des composés et conditions environnementales). Pour MENESES et al., (2002) (in RYCHEN et al., 2005) , la concentration dans la plante peut s'écrire sous la forme :

$$C = Cva + Cddp + Cwdp + Cur$$

Avec :

Cva la concentration en polluants due au dépôt gazeux

Cddp la concentration due à la phase particulaire sèche

Cwdp la concentration due à la phase particulaire humide

Cur la concentration due à l'absorption racinaire

Chaque paramètre est ensuite développé en fonction de différents critères tels que les caractéristiques du composé (K_{oa}) (coefficient de répartition octanol-air), la vitesse de dépôt de l'atmosphère vers la plante ou la surface de la plante.

L'intérêt des modèles est de pouvoir évaluer un niveau de contamination à partir de la connaissance des concentrations des polluants sous forme gazeuse ou particulaire présents dans l'atmosphère à un temps donné. Ces modèles pourraient permettre d'anticiper les risques de transfert vers le fourrage et le lait après ingestion de matrices contaminées. Cependant, les facteurs de variation de la contamination sont nombreux et les modèles encore en cours d'études (Rychen et al., 2005).

II. Les mycotoxines

Cette partie caractérise tout d'abord les mycotoxines en les définissant et en présentant également leurs effets toxiques sur l'animal et l'homme. Elle traite ensuite des principales mycotoxines susceptibles de se retrouver dans un fourrage et se penche spécialement sur l'aflatoxine et l'ochratoxine, deux mycotoxines majeures susceptibles de se retrouver dans un lait.

Puis, une vue d'ensemble sur les facteurs de risques de contamination des laits est abordée, avec des pistes d'explication des différences rencontrées entre les risques de contamination d'un lait biologique et celles d'un lait conventionnel.

Pour finir, cette partie présente succinctement les méthodes d'analyses des mycotoxines.

A. Caractérisation

1. Définition

Les mycotoxines sont des sous-produits toxiques (toxines) issues du métabolisme secondaire des moisissures (champignons) des aliments de l'homme et des animaux (BOUDRA, 2009 ; FAO, 2000 ; KAMMERER et LE BIZET, 2009).

Il existe des dizaines de champignons potentiellement producteurs de toxines, mais les groupes de mycotoxines les plus importants du point de vu sanitaire et agroalimentaire sont les suivants : les aflatoxines, les ochratoxines (particulièrement l'ochratoxine A), la patuline, la zéaralénone, les fumosines, les trichothécènes et tout spécialement le déoxynivalénol. Il est intéressant de noter que dans un groupe de mycotoxines, la toxicité peut varier considérablement d'une toxine à une autre et que le danger n'est pas toujours lié à la toxine elle-même, mais peut aussi provenir de ses métabolites (AFSSA, 2009).

2. Toxicité des mycotoxines

2.1 Pour le consommateur

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des micropolluants

La toxicité des mycotoxines peut être aiguë ou chronique (d'après AFSSA, 2009). Certaines ont une toxicité aiguë très forte, mais cela reste exceptionnel en Europe, le risque d'être exposé à des doses toxiques en une seule ingestion d'aliment contaminé étant très faible.

Les effets sont divers (tableau 2). Certaines toxines exercent un pouvoir hépatotoxique (aflatoxines), d'autres se révèlent oestrogéniques (zéaralène), immuno/hématotoxiques (patuline, trichothécènes, fumonisines), dermonécrosantes (trichothécènes), néphrotoxiques (ochratoxine A) ou neurotoxiques (toxines trémorgènes). Par ailleurs, certaines mycotoxines sont reconnues ou suspectées d'être cancérogènes.

Tableau 3 Effet des principales mycotoxines et mécanismes d'action cellulaires et moléculaires identifiés

Toxine	Effets	Mécanismes d'action cellulaires et moléculaires
Aflatoxine B1 + M1	Hépatotoxicité Génotoxicité Cancérogénicité Immunomodulation	Formation d'adduit à l'ADN Peroxydation lipidique Bioactivation par des cytochromes P450 Conjugaison aux Glutathion-transférases
Ochratoxine A	Néphrotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Impact sur la synthèse des protéines. Inhibition de la production d'ATP Détoxification par les peptidases
Patuline	Neurotoxicité Mutagenèse <i>in vitro</i>	Inhibition indirecte d'enzymes
Trichothécènes (groupes A et B)	Hématotoxicité Immunomodulation Toxicité cutanée	Induction de l'apoptose sur progéniteur hématopoïétique et cellules immunitaires Impact sur la synthèse des protéines Altération des immunoglobulines
Zéaralène	Fertilité et Reproduction	Liaison aux récepteurs œstrogéniques Bioactivation par des déshydrogénases Conjugaison aux glucuronyltransférases
Fumonisine B1	Lésion du système nerveux central Hépatotoxicité Génotoxicité Immunomodulation	Inhibition de la synthèse de céramide Altération du rapport sphinganine/sphingosine Altération du cycle cellulaire

Source : AFSSA, 2009

2.2 Pour les animaux

La présence de mycotoxines dans les aliments destinés aux animaux peut entraîner, selon la dose, des effets allant d'une simple diminution de l'ingestion jusqu'à la mort de l'animal. Cependant, les effets spectaculaires des mycotoxicoses aiguës (maladie causée suite à l'ingestion d'aliments contaminés par les mycotoxines) deviennent de plus en plus rares suite à l'amélioration des techniques de récolte et de conservation (BOUDRA, 2009).

Certaines toxines présentent des activités cancérigènes, mutagènes, tératogènes, immunosuppressives, œstrogènes et neurotoxiques chez l'animal d'expérience (BOUDRA, 2009 ; KOPPEN *et al.*, 2010) . Les mycotoxicoses touchent particulièrement les reins et le foie des animaux (WYSS, 2005). Les mycotoxines dans les aliments des animaux entraînent également une altération des qualités organoleptiques et nutritives des fourrages qui peut conduire à une diminution des performances zootechniques (ex : perte de poids) et à l'apparition d'affections variées telles les mycoses, allergies, etc. (BOUDRA, 2009). Les effets synergiques entre mycotoxines sont aussi à prendre en compte. Ainsi, le déoxynivalénol et l'acide fusarique ou la fumonisine B1 ont un effet synergique négatif sur la croissance des animaux d'élevage (HARVEY *et al.*, 1996 ; SMITH *et al.*, 1997 in BOUDRA, 2009).

3. Principales moisissures contaminant un fourrage

La contamination des fourrages par les moisissures est inéluctable; mais leur nombre et leur nature peuvent varier avec les espèces végétales, la saison et les conditions de stockage (AFSSA, 2004 ; BOUDRA, 2009). La plupart des champignons est apportée durant la récolte par la terre et les débris végétaux moisiss restés aux champs. La contamination peut dépendre également de l'état sanitaire de la culture précédente, des conditions météorologiques et des techniques de récolte, des délais et conditions hydro-thermiques avant et lors de la conservation (BELKACEM, 2007). Ainsi, même avec un maximum de précaution, tous les fourrages conservés et stabilisés hébergent à l'état latent, sous forme de spores, de nombreuses moisissures. Ceci est sans conséquence préjudiciable pour l'animal consommateur tant que les conditions ne sont pas favorables à un développement fongique. Le développement fongique et/ou la production de mycotoxines sont principalement régis par des facteurs environnementaux, notamment la teneur en eau du fourrage, la température mais aussi le degré de confinement durant la conservation (BOUDRA, 2009).

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des micropolluants

Bien que la contamination des fourrages débute en champs, les processus de récolte et de stockage jouent aussi un rôle important dans la contamination. En effet, la réalisation du fourrage peut stabiliser ou aggraver la contamination si elle n'est pas réalisée en suivant les « Bonnes Pratiques Agricoles » (BOUDRA, 2009).

Les moisissures sont aérobies strictes et ont un optimum de température entre 20°C à 35°C. En l'absence d'oxygène, elles ne se développent pas, leur sporulation est inexistante. Au contact de l'oxygène, elles pourront se développer et provoquer des colorations de l'ensilage (blanc, gris, gris verdâtre, bleu, rose, orangé, rouge brun). Cette coloration, peut permettre de les repérer (AFSSA, 2004).

Les principales mycotoxines retrouvées dans les fourrages sont présentées dans le tableau 2. Parmi ces espèces, celle que l'on retrouve le plus est *Aspergillus fumigatus* (COLE et al., 1977 in BOUDRA, 2009) ; de couleur verte-grise, elle se trouve souvent associée à l'échauffement des balles rondes de foin (BOUDRA, 2009).

Tableau 4 : Principales mycotoxines retrouvées dans les fourrages.

Espèce	Principales mycotoxines	Retrouvées dans :		
		Pâturage	Foin	Ensilage
<i>Aspergillus sp.</i>				
- <i>A. fumigatus</i>	Gliotoxine, fumigaclavines, verruculogène	-	++	+
- <i>A. ochraceus</i>	Ochratoxine A	-	+	-
- <i>A. flavus</i>	Aflatoxines	-	+	-
- <i>A. versicolor</i>	Sterigmatocystine	-	+	-
<i>Fusarium sp.</i>				
	Zéaralénone	+	+	+
	Fumonisines	-	+	++
	Trichothécènes	-	-	-
<i>Penicillium sp.</i>				
	Patuline, acide mycophénolique, PR toxine, citrinine		+	+
	Acide pénicillique, roquefortines, ochratoxine A		-	+
Endophytes				
<i>Acremonium lolii</i>				
	Ergovaline, lolitrème	++	+	-
	Coumestrol	+	+	-
Autres moisissures				
- <i>Byssosclamyces nivea</i>	Patuline	-	+	++
- <i>Claviceps sp.</i>	Ergotamine et dérivés	-	-	+
- <i>Monascus purpureus</i>	Citrinine, monacolone KA, monacolone KL	-		
- <i>Paecilomyces variotii</i>	Patuline.	-	+	+
- <i>Pithomyces chartarum</i>	Sporidesmine	+	-	+

Source : BOUDRA, 2009

Comme le montre le tableau précédent, une même moisissure peut synthétiser différentes toxines et une même mycotoxine pourra être produite par différentes moisissures (AFSSA, 2009).

Après l'ingestion des toxines via leur alimentation, les bovins excrètent les mycotoxines et leurs métabolites par différentes voies dont les urines, les fèces et le lait. Ainsi, la présence de mycotoxines dans les produits laitiers révèle la contamination de la ration.

4. L' AFB1 et l'OTA, deux mycotoxines problématiques du lait

L'AFB1 (aflatoxine B1) et l'OTA (ochratoxine A) sont des mycotoxines très toxiques et susceptibles de se retrouver dans le lait (BOUDRA *et al.*, 2007).

4.1 L'aflatoxine B1

L'aflatoxine B1 (AFB1) est le représentant majeur du groupe des aflatoxines, et la seule toxine réglementée. Bien qu'elle soit peu dégradée (KIESSLING *et al.*, 1984 in BOUDRA *et al.* 2007), son métabolite majeur est connu sous le nom de "Milk Aflatoxin 1" ou AFM1 (AFSSA, 2009 ; BOUDRA, 2009). Ainsi, l'AFB1 absorbée par une vache laitière est excrétée dans son lait sous forme d'AFM1. Son taux de transfert est le plus important parmi les mycotoxines (JOUANY *et al.*, 2009). Les aflatoxines, et par extension des mycotoxines, peuvent contaminer l'homme par différentes voies (AFSSA, 2009) (schéma 2).

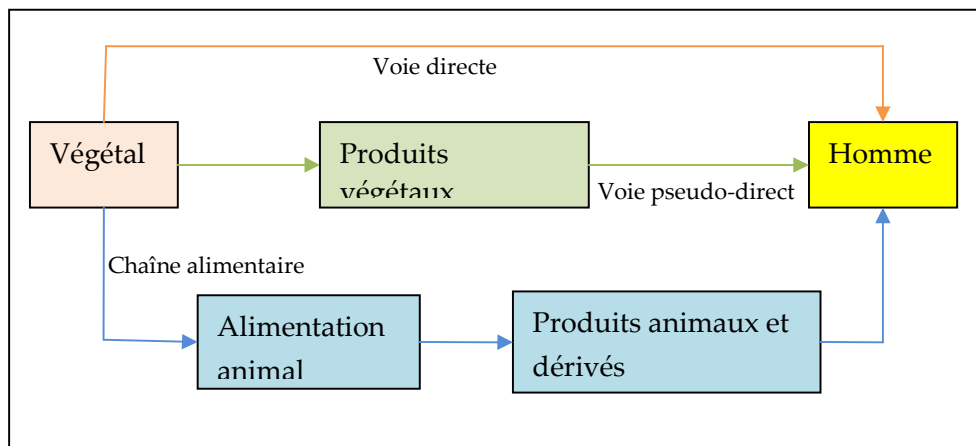


Schéma 3: Différentes voies de contamination des hommes par les mycotoxines

L'aflatoxine B1 est reconnue comme étant l'un des plus puissants cancérigènes d'origine naturelle ; elle est à ce jour la seule mycotoxine identifiée comme cancérigène avéré chez l'homme (AFSSA, 2009 ; JOUANY *et al.*, 2009) .

Les aflatoxines sont des molécules de faible poids moléculaire (312 à 330), très peu solubles dans l'eau, et très solubles dans les solvants organiques moyennement polaires (chloroforme et méthanol), ce qui facilite leur extraction. Leur capacité à se lier aux protéines plasmatiques et leur lipophilie en font des toxiques capables de persister dans l'organisme (AFSSA, 2009). Elles sont également très stables à la chaleur, ce qui les rend peu sensibles à la plupart des traitements thermiques du lait (stérilisation, pasteurisation) (AFSSA, 2009 et KAMMERER et LE BIZET., 2009). Cependant, la stérilisation permet de détruire 20 à 25 % des aflatoxines ; la transformation en poudre et la concentration, 65 à 75 %. On peut également détruire une partie des aflatoxines par les UV (KAMMERER et LE BIZET., 2009).

En France, à cause de son fort potentiel toxique, des plans de surveillance évaluent tous les ans le niveau et la fréquence de contamination des aliments par l'AFM1. En 2007, une enquête nationale, réalisée sur des laits provenant de 128 exploitations du sud-ouest de la France, a montré que les taux sont en conformité avec la teneur maximale réglementaire de 0,05 µg/l (BOUDRA et *al.*, 2007).

Concernant les autres laits (brebis) le groupe d'Experts Européens (EFSA, 2004 in AFSSA, 2009) a conclu que le lait de brebis contiendrait, en moyenne, davantage d'aflatoxine M1 que le lait de vache.

4.2 L'ochratoxine A (OTA)

L'ochratoxine A est produite par *Aspergillus ochraceus* et par *Aspergillus carbonarius* en régions chaudes et tropicales et par *Penicillium verrucosum* sous les climats froids et tempérés. Ce dernier, spécifiquement associé aux céréales stockées, est très commun en Europe du Nord et au Canada. Les denrées alimentaires à haut risque de contamination par les ochratoxines sont les céréales (maïs, orge, blé, sorgho, avoine et riz).

L'OTA est un néphrotoxique, immunotoxique, tératogène et neurotoxique. Son pouvoir cancérogène est établi chez l'animal, mais les preuves sont encore insuffisantes chez l'homme (AFSSA, 2009).

Suite à l'ingestion d'aliment contaminé, l'OTA est largement transformée par les microorganismes du rumen en métabolites moins toxiques : ochratoxine α (OT α). L'OTA et l'OT α sont majoritairement éliminées dans les urines et fèces, mais on peut les retrouver dans le lait (BOUDRA et *al.* 2007).

Cependant, il semble que le transfert de l'OTA dans le lait des ruminants soit très limité et ainsi, ne conduise pas à une contamination significative.

B. Transferts

1. Etats des lieux

Les études sur les contaminations par les mycotoxines en agriculture biologique sont assez nombreuses en raison de l'interdiction d'utilisation des fongicides dans la production biologique et des risques importants qu'elles impliquent sur la santé. Cependant, la FAO a déclaré en 2000, que les études (KUHN, 1999 ; JORGENSEN et al. 1995 ; MARX et al. 1995 ; OLSEN et MOLLER, 1995 in FAO, 2000) « ne portent pas à conclure que l'agriculture biologique entraîne un risque accru de contamination par mycotoxines ».

WYSS (2005) en vient à la même conclusion suite à des études comparatives sur les laits biologiques et conventionnels.

Dans son rapport de 2009 sur l'« Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale », l'AFSSA déclare : « Les données disponibles de contamination de produits issus de l'agriculture biologique par les mycotoxines, bien que limitées, montrent des taux de contamination variables, sans qu'il puisse être dégagé de grandes différences avec ceux des produits issus de l'agriculture conventionnelle. »

Cependant, il est important de souligner que ce sujet est très controversé et que tous les scientifiques ne s'entendent pas sur ce point.

En effet, en 2004, GHIDINI et al., dans une étude sur les contaminants des laits conventionnels et biologiques, trouvaient des concentrations en aflatoxine M1 dans les échantillons de lait biologiques statistiquement significativement plus hautes que celles des échantillons conventionnels. Cette étude démontre également qu'il n'y aurait pas de corrélation entre les saisons et les contaminations en aflatoxine M1.

En Norvège, SKAUG (1999) n'a pas trouvé de différence de contamination en OTA entre des laits biologiques et conventionnels.

En revanche, deux études révélées par WOESE et *al.*, (GRAVET et *al.*, 1981; FRANK HANSEN, 1990 in WOESE et *al.* 1997) montrent que les niveaux d'aflatoxine M1 sont plus faibles dans le lait biologique. Une étude menée par la Food Standards Agency (FSA, 2001), a analysée la teneur en aflatoxines M1 et ochratoxines (AFM1 et OTA) des laits conventionnels et biologiques. Seule l'AFM1 a été décelée dans 3% des échantillons conventionnels (en dessous des limites réglementaires fixées par la commission européenne) et rien n'a été décelé dans les laits biologiques.

2. Pistes explicatives :

2.1 Une alimentation différente

Selon la FAO (2000), ces différences de contaminations pourraient être dues à l'alimentation : les animaux d'élevages biologiques consomment davantage de fourrages, que de maïs, plus sujet aux contaminations. En effet, la nature du substrat (composition chimique en relation directe avec la richesse de la plante en glucides et secondairement en lipides) est primordiale pour la production de mycotoxines. Ainsi, BOUDRA et MORGAVI (2005) ont montré, un développement fongique et surtout une production de mycotoxines, (gliotoxine⁶) plus importante dans les céréales que sur les fourrages, moins riches en nutriments, notamment en glucides (tableau 5). Ceci explique également pourquoi les mycotoxines sont plutôt présentes dans les ensilages qui renferment des grains notamment les ensilages de céréales immatures et les ensilages de maïs (AFSSA, 2004).

⁶ Mycotoxine aux effets immunosuppresseurs produite par *Aspergillus Fumigatus*

Tableau 5 : Croissance d'Aspergillus fumigatus et production de gliotoxines sur aliments destinés aux ruminants

Aliments	Croissance fongique	Gliotoxine* (µg/g)	
		6 jours	14 jours
Blé	+++	8,9	3,9
Maïs	+++	nd	nd
Orge	+++	5,6	1,4
Triticale	+++	17,5	3,6
Dactyle	++	na	1,5
Fétuque	+	na	nd
Luzerne	-	na	nd
Ray-grass	++	na	0,9
Trèfle	+/-	na	nd

* na : non analysé ; nd : non détecté

Source : BOUDRA, 2009

2.2 Des animaux à plus ou moins fort potentiel de production

L'exposition aux mycotoxines des ruminants est liée à deux facteurs principaux : animal et alimentaire. Par exemple, seul le déoxynivalénol⁷ et l'OTA font partis des mycotoxines qui sont dégradées par le ruminant. Certaines mycotoxines comme la zéaralénone⁸, augmentent leur toxicité lors de leur métabolisation dans le rumen ; d'autres, comme l'AFB1, sont peu détoxifiées (MORGAVI et al., 2008 in BOUDRA, 2009). Afin d'optimiser la détoxification, il faut que le rumen et sa flore soient maintenus dans de certaines conditions (en particulier le pH). Or, les ruminants à fort potentiel de production, sont souvent alimentés par des régimes riches en concentré pour maximiser leurs performances. Ces régimes peuvent être à l'origine de modifications importantes de la flore ruminale, du fait de l'évolution du pH (acidose), notamment d'une diminution du nombre de protozoaires (BROSSARD et al., 2004), responsables de la dégradation de certaines mycotoxines (GALTIER et ALVINERIE, 1976).

⁷ Le déoxynivalénol appartient au groupe des mycotoxines trichothécènes. Les trichothécènes sont produits par diverses espèces de fusarium. Ces moisissures se développent particulièrement sur les céréales (KAMMERER et LE BIZEC, 2009).

⁸ La zéaralénone est une mycotoxine à effet oestrogénique se développant dans les céréales (AFSSA, 2009). (Voir partie phytoestrogènes).

Des études sur le transfert des aflatoxines conduites chez des vaches produisant 10 à 20 litres de lait par jour ont mis en évidence des taux de transfert très faibles : 0,5 à 0,6% (HARVEY et *al.*, 1991, GALVANO et *al.*, 1996 in AFSSA, 2009). A contrario, un taux de transfert élevé de 6,2% a été mesuré chez des vaches à forte production (plus de 40 litres de lait par jour) (VELDMAN et *al.*, 1992 in AFSSA, 2009). Ainsi, les capacités de détoxification du rumen semble se limiter chez ces animaux qui ont une forte ingestion et un rapide turn-over des aliments dans le rumen (VELDMAN et *al.*, 1992, in BOUDRA, 2009).

2.3 Des systèmes de production différents

Des concentrations variables en mycotoxines dans les aliments produits par différents systèmes de production peuvent être causées par i) une différence dans les systèmes de production avant récolte (utilisation de fongicides), ii) la différence dans la gestion après récolte (conditions de stockage et de transport) et iii) les différences lors des procédés de transformation de la matière première. Bien-sûr les différences peuvent aussi venir des équipements utilisés et des qualifications du personnel (WYSS, 2005).

Le mode d'élevage des animaux peut influencer la contamination, par exemple, le temps que les vaches passent au pâturage. Plus cette période est longue, moins les vaches sont exposées aux poussières et aux spores fongiques qu'elles inhalent lors de la distribution fourragère. Par ailleurs, l'usage restrictif des produits fongicides peut augmenter le risque de contamination de la nourriture (SKAUG, 1999).

C. Conclusion :

Les mycotoxines ne constituent pas un risque plus important en AB (Agriculture biologique) qu'en agriculture conventionnelle. Ces conclusions révèlent que certains aspects du cahier des charges de l'AB contribueraient à réduire le risque lié aux mycotoxines. L'alimentation étant la voie par laquelle les mycotoxines contaminent un animal, c'est ce facteur qu'il convient de contrôler. Ainsi, une alimentation contrôlée et un bon respect des Bonnes pratiques Agricoles peuvent contribuer à réduire le risque lié aux mycotoxines.

Les mycotoxines ne sont pas plus présentes dans les laits biologiques que dans les laits conventionnels. Plusieurs facteurs pourraient expliquer ces différences, notamment le régime alimentaire.

D. Méthode d'analyse des mycotoxines

Cette partie a été réalisée à l'aide de l'annexe 1 du rapport sur les mycotoxines de l'AFSSA (2009) : « Analyse des mycotoxines dans les aliments ».

- **L'ECHANTILLONNAGE**

L'échantillonnage doit être fait de manière très stricte de façon à produire un échantillon représentatif du produit à analyser. Les facteurs requis sont les suivants :

- Les échantillons doivent être collectés par du personnel formé
- Utilisation d'outils appropriés
- Les échantillons doivent être pris seulement lorsque l'ensemble du lot est accessible.
- Le transport et la conservation des échantillons doivent permettre de respecter leur intégrité.
- Identification non ambiguë et sécurisée de l'échantillon.

- **LES METHODES ANALYTIQUES DE MESURE**

La mise en évidence des mycotoxines requiert l'utilisation de méthodes analytiques performantes. Elles doivent associer sensibilité, notamment lorsqu'il s'agit de quantifier des ultra-traces (la limite maximale de résidus a été fixée à 0,05 µg/L pour l'aflatoxine dans le lait), et spécificité, puisque la recherche des analytes est effectuée généralement dans des échantillons biologiques complexes (céréales, produits laitiers...). Aucune méthode n'est réellement applicable à l'ensemble des mycotoxines, tant les caractéristiques physico-chimiques des analytes (nature chimique, poids moléculaire et polarité) sont variées.

- **LES TYPES DE METHODES ET LEURS PRINCIPES GENERAUX**

- L'analyse des mycotoxines dans les aliments, est articulée autour de deux types de méthodes :
- **Méthodes de dépistage** : Elles permettent de déceler rapidement les échantillons négatifs ou suspects. Elles sont généralement caractérisées par une excellente sensibilité mais peuvent être limitées en termes de spécificité.

- **Méthode de confirmation** : Elles permettent de confirmer la présence et l'identité d'un analyte suspecté. Elles sont très sensibles et doivent être suffisamment spécifiques pour identifier à coup sûr la nature de la molécule recherchée et interdire toute conclusion erronée.

Il existe deux approches possibles concernant l'usage de méthodes appliqués à l'analyse de traces de mycotoxines dans les aliments : les approches immunologiques et les approches physico-chimiques .

- ❖ Les méthodes immunologiques s'appuient sur la reconnaissance plus ou moins spécifique de l'analyte à doser par un anticorps produit et interagissant avec l'analyte. Ce principe est utilisé à la fois pour purifier les analytes cibles mais également pour doser rapidement les mycotoxines.
- ❖ Les méthodes physico-chimiques sont à la fois utilisées à des finalités séparatives (extraction et purification de l'échantillon) ou analytiques (identification et dosage des analytes). Elles s'appuient sur les caractéristiques structurales de la molécule, à savoir sa polarité ou sa taille, mais encore sa capacité à absorber dans l'UV ou à produire des signaux spectrométriques caractéristiques.

- **L'EXTRACTION ET LA PURIFICATION**

L'extraction liquide-liquide (LLE) permet le transfert de l'analyte issu d'un milieu complexe et difficile à travailler (l'échantillon) vers un solvant. Après extraction, le solvant, selon sa nature, organique ou aqueuse, est évaporé (sous flux d'azote, sous vide...) ou transféré vers une colonne chromatographique en vue d'une purification ultérieure. L'étape LLE est une technique presque incontournable quel que soit le protocole utilisé. Cependant, lorsque l'échantillon est liquide, cette étape peut être remplacée par une extraction en phase solide (SPE).

Il existe également des kits SPE qui permettent la recherche des mycotoxines, il s'agit par exemple des colonnes Mycocosep™.

D'autres techniques moins répandues parce que parfois plus coûteuses, plus difficiles à mettre en œuvre ou moins efficaces, sont utilisées pour l'extraction et la purification des mycotoxines dans les aliments. On peut citer la SFE, l'extraction accélérée par solvants et l'extraction assistée par micro-ondes. Elles présentent toutes une excellente efficacité en termes de récupération de l'analyte. Concernant les autres techniques de purification, la chromatographie liquide haute performance semi

- préparative (HPLC) est considérée comme particulièrement sélective, même si elle reste fastidieuse à mettre en œuvre et relativement coûteuse.

- **LE DOSAGE :**

Trois types de techniques chromatographiques sont principalement utilisés pour doser les mycotoxines :

- la chromatographie en couche mince (CCM)
- la chromatographie liquide haute performance (CLHP)
- la chromatographie en phase gazeuse (CPG).

La CCM ne nécessite pas d'équipement sophistiqué. Elle est à considérer comme une technique plutôt qualitative ou semi quantitative, avec généralement une limite de détection assez élevée. De ce fait, elle n'est pas utilisable comme outil de contrôle de conformité à des limites réglementaires.

Les deux autres techniques séparatives doivent être couplées à un détecteur permettant la caractérisation et le dosage de l'analyte. Le détecteur le plus performant en CPG est le spectromètre de masse (SDM). C'est la raison pour laquelle la CPG-SDM est utilisée de manière presque incontournable en méthode de confirmation, tout au moins pour les mycotoxines qui se prêtent à une séparation par chromatographie en phase gazeuse.

III. Les autres pesticides

Cette partie caractérise tout d’abord les pesticide en développant les principales familles et leurs effets toxiques. Ensuite, un état des lieux sur la contamination des aliments est fait. Pour finir, cette partie résume les techniques d’analyse des pesticides.

A. Caractérisation

1. Définition et classification

Les produits pesticides ont des propriétés chimiques ayant pour objectif la protection des végétaux. Ainsi, ils détruisent, limitent ou repoussent les insectes, les parasites et les adventices.

Leur action peut être directe, (destruction ou répulsion de l’élément nuisible), ou indirecte (pénétration dans la plante hôte), on parle dans ce cas d’action systémique. Parmi les produits phytosanitaire, les pesticides de synthèse sont les plus importants. On peut les classer par grandes familles selon un double classement :

- ❖ un classement par cible : insecticides, fongicides, herbicides
- ❖ un classement par famille chimique : organochlorés (DDT, aldrine, dieldrine, lindane..), organophosphorés (chlorpyrifos, dichlorvos), carbamates, phénoxy (2-4 D), organo -azotés (atrazine, simazine...), urées (isoproturon..)...

Cette classification est présentée dans le tableau 6 pour les pesticides les plus connus.

Tableau 6: Exemple de classification famille/cible de pesticides bien connus

	<i>Insecticides</i>	<i>Fongicides</i>	<i>herbicides</i>
Organo-chlorés	lindane dieldrine		
Organo-phosphorés	endosulfan malathion chlorpyrifos		
Carbamates	carbofuran	thirame	asulame
Pyréthroïdes	cyperméthrine deltaméthrine		
Triazoles		tébuconazole epoxiconazole	atrazine
Strobilurines		asoxystrobine	
Urées			isoproturon

Source : BERTRAND et DUHEM, 2004.

L’appartenance à une famille chimique est l’un des facteurs déterminant le type d’activité biologique, la rémanence et la mobilité des molécules.

Les organophosphorés, les carbamates et les pyrétroïdes sont par ordre d’importance les insecticides les plus souvent utilisés en agriculture conventionnelle. Les herbicides les plus utilisés sont les urées, suivis par les triazines (BERTRAND et DUHEM,

2. Principaux pesticides

2.1 Les organophosphorés

Les organophosphorés demeurent avec les carbamates les pesticides les plus utilisés d'où l'intérêt d'une bonne surveillance. Ils présentent une très bonne absorption ainsi qu'une forte biotransformation. Leur élimination par les animaux est rapide et se fait essentiellement par voie urinaire, biliaire et lactée (ADIB, 2009).

2.2 Les carbamates

Les carbamates sont pour la plupart des insecticides qui traversent facilement la barrière digestive et subissent un métabolisme et une élimination rapide qui se fait essentiellement par voie urinaire, biliaire et lactée. Cependant, leur application directe sur certaines cultures est susceptible d'entraîner une ingestion de quantité considérable de produit par les vaches laitières (ADIB, 2009).

2.3 Les pyréthrinoïdes

Les substances appartenant à cette famille sont utilisées en tant qu'insecticide ou antiparasitaires. Toutes ces substances demeurent très peu hydrosolubles (mais peuvent aisément se dissoudre dans les solvants organiques et sont extrêmement liposolubles). Du fait de leurs faibles doses répandues par hectare, ces composés semblent ne pas causer de réels problèmes de contamination du lait et des produits laitiers (ADIB, 2009).

3. Toxicologie

Le danger est fonction de la toxicité intrinsèque de la molécule. Les organophosphorés sont une classe d'insecticides toxiques à très toxiques, mais de faible rémanence dans l'environnement. Leur mode d'action est le même sur les mammifères que sur les insectes. Les carbamates et les organophosphorés inhibent l'acétylcholinestérase, bloquant ainsi chez les insectes la transmission de l'influx nerveux. A des doses plus fortes, ces effets peuvent se manifester chez l'homme. Cependant, concernant l'ensemble des familles, il est difficile de définir des caractéristiques générales, chaque

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des micropolluants

molécule présentant des spécificités (BERTRAND et DUHEM., 2004), notamment de rémanence et d'emploi (AFSSA, 2000). Les risques liés aux pesticides rencontrés dans l'alimentation animale sont classés dans le tableau 6.

Tableau 7: Classement des pesticides en fonction des risques liés aux résidus dans l'alimentation animale selon leur rémanence et leur toxicité potentielle.

Echelle de risque	Score	Types de pesticides
Risques faibles	Score 1	herbicides de pré-émergence
	Score 2	herbicides sélectifs ; certains fongicides
	Score 3	la plupart des insecticides utilisés en phase de végétation des plantes
Risques modérés	Score 4	certaines insecticides de pré-récolte : méthiocarbe, méthidation, etc. certains insecticides de post-récolte : phénothrine, phosphures, pirimiphosmethyl, etc.
	Score 5	certaines insecticides de pré-récolte : diazinon, dichlorvos certains fongicides
	Score 6	résidus d'organochlorés persistants
Risques plus élevés	Score 7	insecticides de post-récolte : carbaryl, bioresmethrine, etc. insecticides de pré-récolte : fenvalerate, etc.
	Score 8	insecticides de post-récolte : cyperméthrine insecticides de pré-récolte : chlorpyrifos
	Score 9	insecticides de post-récolte : bifenthrine, deltaméthrine, fenitrothion, insecticides de pré-récolte : endosulfan

- **Exposition à court terme :**

Certains pesticides peuvent entraîner des effets aigus ou subaigus après la consommation d'une quantité de résidus présente dans les denrées alimentaires : par exemple, des troubles sur le système nerveux après consommation d'un aliment contaminé par un insecticide organophosphoré (KAMMERER et LE BIZEC, 2009).

- **Exposition à long terme :**

Tous les pesticides commercialisés en Europe ont fait l'objet d'une détermination de la DJA⁹ (Dose Journalière Admissible). Cependant, la difficulté liée à l'évaluation du risque est le fait que les

⁹ Quantité d'une substance qu'un individu moyen de 60 kg peut théoriquement ingérer quotidiennement, sans risque pour la santé.

denrées peuvent être contaminées non pas par une, mais plusieurs substances. L'effet pouvant être synergique, antagoniste ou additif (KAMMERER et LE BIZEC, 2009).

3. Substances prioritaires à risques

Un risque se définit par le croisement d'une exposition avec un danger. Le risque de présence d'un pesticide dans le lait sera la résultante du niveau d'exposition de la vache laitière avec les caractéristiques biologiques propres à la molécule considérée (toxicité intrinsèque, distribution, métabolisme, élimination) (BERTRAND et DUHEM., 2004).

Il faut prendre en compte à la fois :

- **Les critères d'exposition** : résidus possibles dans l'eau, l'air ou l'alimentation animale, quantité utilisée, période de traitement, persistance.

- **Les critères de danger** : DJA, DL50, liposolubilité, classement de la molécule en potentiel perturbateur endocrinien, cancérigène ou mutagène.

Le CNIEL (Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière) et l'institut de l'élevage ont réalisé un classement des pesticides prioritaires à rechercher dans un lait en fonction des critères de toxicité et d'exposition. Cent cinquante molécules furent identifiées, et ce sont les insecticides utilisés lors du stockage des aliments qui présentent le plus de risques de transfert dans le lait (BERTRAND, 2004 in BERTRAND et DUHEM., 2004).

B. Transferts

4. Devenir des produits phytosanitaires dans l'environnement

Après traitement d'une culture, différents phénomènes peuvent intervenir (BERTRAND ET DUHEM, 2004) (figure 7):

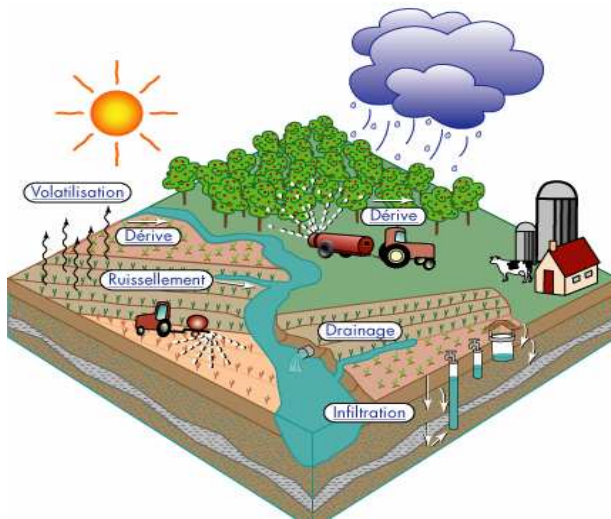
- l'immobilisation et le relargage du pesticide. La matière organique du sol retient les substances actives (jusqu'à 90 % de la quantité de produit). Les molécules adsorbées peuvent se désorber, après un certain temps.

- la dégradation des molécules peut se faire chimiquement ou par les micro-organismes du sol.

- Transfert dans l'eau par ruissellement à la surface du sol ou par lessivage dans les eaux souterraines.

- Dérive par l'air au moment de l'application

Figure 7: Mécanisme de transport des pesticides dans l'environnement



Source : site internet du ministère de l'environnement Québec, 2004

Ainsi, après son application, un pesticide peut être présent dans différentes matrices de l'environnement et être en contact avec les animaux par de nombreuses voies.

5. Transfert des pesticides vers les ruminants laitiers

Un lait peut présenter des traces de pesticides car la vache peut être exposée aux produits phytosanitaires par les voies suivantes :

- ❖ L'utilisation des substances phytosanitaires directement sur l'animal. Par exemple application de produits antiparasitaires externe (GONZALEZ et al., 2005 , KAMMERER M et LE BIZEC B, 2009). Cependant, cette voie ne sera pas développée car les références bibliographiques sont rares. Il est important de rappeler qu'en agriculture biologique lorsqu'un traitement pesticides de synthèse est utilisé, le délai d'attente est doublé par rapport au délai d'attente légal ou en cas d'absence de délai d'attente, il est fixé à 48 heures (Règlements CE).

- ❖ La voie digestive avec la consommation d'aliment contenant des pesticides et l'eau d'abreuvement,
- ❖ L'air que l'animal respire (BERTRAND et DUHEM., 2004).

On peut également caractériser l'exposition effective de la vache laitière à un contaminant chimique par la résultante du couple : "**concentration en polluants/durée d'exposition**". Plusieurs paramètres interviennent dans la notion d'exposition : la voie d'exposition et les facteurs qui vont jouer sur le devenir et sur la persistance du polluant. Ces derniers dépendent en grande partie des propriétés physico-chimiques du polluant (BARRIUSO, 2003 in BERTRAND et DUHEM., 2004).

2.1 La voie digestive : alimentation et eau

- L'eau d'abreuvement

Une vache laitière consomme journalièrement entre 85 à 120 litres d'eau. Selon le bilan de l'Institut Français de l'Environnement (IFEN, 2006), la contamination des eaux de surface par les pesticides est toujours un problème. En 2004, les principales molécules retrouvées dans les eaux superficielles étaient le glyphosate et son métabolite l'AMPA, l'atrazine et ses deux métabolites l'atrazine déséthyl et la 2-hydroxy atrazine, le diuron, l'isoproturon et l'aminotriazole (BERTRAND et DUHEM., 2004).

L'atrazine a été utilisé largement sur le maïs, mais est interdite depuis septembre 2003. Les études de métabolisme réalisées sur la vache laitière montrent qu'elle peut éliminer plus de 50 % de l'atrazine ingérée par voie urinaire et 33 % par voie digestive. La part apportée par l'eau d'abreuvement serait de 10 % de l'atrazine totale ingérée, le reste l'étant par le fourrage et par voie aérienne. On estime que 0,5 à 2 % de la quantité d'atrazine consommée est éliminée par la mamelle (NABUURS, 1986 in BERTRAND et DUHEM., 2004). Des pics de 2 µg / L d'atrazine dans les cours d'eau ou les puits ayant été souvent relevés, une vache consommant 100 l d'eau par jour, pourrait en théorie ingérer 0,2 mg d'atrazine par jour (BERTRAND et DUHEM., 2004).

Pour éviter au maximum les contaminations en agriculture biologique par l'eau d'abreuvement, des analyses d'eau peuvent être effectuées ou bien il est possible d'utiliser l'eau du réseau, comme le font certains éleveurs (LEVEQUE, 2010 communication personnelle).

- **Les fourrages et concentrés**

La présence de résidus de pesticides dans l'alimentation animale est la principale source de contamination des produits laitiers (TSIPLAKOU *et al.*, 2010).

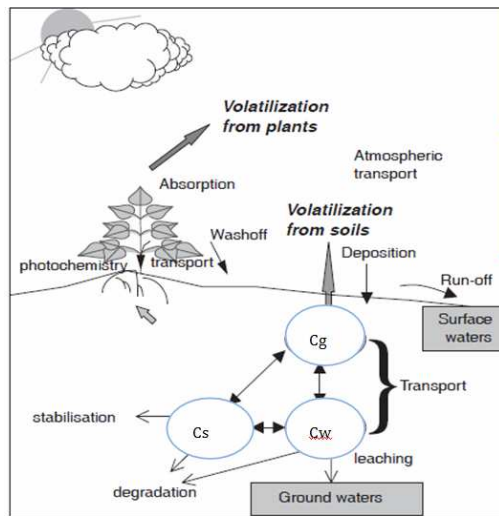
Le plan de contrôle réalisé en 2001 par la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF, 2001) a révélé que les matières actives retrouvées sur les aliments destinés aux animaux, tant en conventionnel qu'en biologique, résultaient très majoritairement des traitements de stockage (insecticides à base d'organophosphorés) généralement mis en œuvre pour les céréales. Ces résultats ont été confirmés par une autre étude de la DGCCRF en 2003. Ces résidus de pesticides présents dans les aliments biologiques destinés aux animaux pourraient provenir des contaminations technologiques pouvant avoir lieu lors des transports, du stockage (sur des sites mixtes et en conversion), et sur les chaînes de fabrication des aliments. En effet, comme le souligne l'AFSSA (2003), le stockage et le transport constituent les points critiques de ces contaminations, notamment en raison du risque de contaminations croisées. Par conséquent, le meilleur moyen pour un agriculteur biologique d'éviter ces contaminations est d'être autonome et de fournir à ces animaux une alimentation produite sur la ferme.

2.2 La voie aérienne : volatilisation dans l'atmosphère

La volatilisation des pesticides appliqués sur le sol ou les cultures peut représenter une voie de dissipation majeure, pouvant atteindre dans certains cas 90 % de la dose appliquée (BEDOS *et al.*, 2002). Le transfert dans l'atmosphère peut se produire au moment de l'application et être suivi d'une re-déposition, notamment par la pluie (figure 8). Ainsi, l'herbe ingérée au pâturage par un animal peut avoir été contaminée par un brouillard ou une pluie contenant des pesticides (BERTRAND *et* DUHEM., 2004).

Figure 8: Principaux Processus impliqués dans le comportement des pesticides après leur application sur le sol ou la plante
C_g C_w et C_s représentent respectivement la concentration en pesticide dans la phase gazeuse, aqueuse, et solide.

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des micropolluants



Source : BEDOS *et al.*, 2002

Par ailleurs, en 2002, une étude (KUANG *et al.*, 2003) menée aux USA, met en évidence dans l'atmosphère d'un site, de fortes concentrations en pesticides, même si ces derniers étaient peu utilisés à cet endroit. Ceci suggère un transport des polluants sur des distances plus ou moins longues, selon leur persistance dans l'atmosphère. Ce type de pollution met en contact directement et de manière quasi permanente, le polluant avec le sang de l'animal par le biais de la respiration. Les vaches laitières sont donc susceptibles de respirer un pesticide lors du traitement d'un champ voisin de la prairie où elles pâturent. Les quantités de produit utilisées ainsi que les périodes de traitement sont donc des facteurs importants de l'exposition à prendre en compte (BERTRAND et DUHEM., 2004).

C. Etat des lieux de la contamination des laits biologiques par les pesticides

Selon une étude américaine réalisée en 2005 (WHOLE FOOD MARKET, 2005), 70% des consommateurs achètent des produits biologiques pour éviter les pesticides. C'est en effet l'un des aspects qui distingue clairement un produit issu de l'agriculture Biologique d'un issu de l'agriculture conventionnelle (WINTER et DAVIS, 2006).

BAKER *et al.*, (2002) ont entrepris une étude très complète en s'intéressant à la relation entre les résidus des pesticides dans les produits (dont le lait) biologiques et conventionnels. Cette étude est basée sur 3 bases de données sur les pesticides : USDA Pesticide Data Program, Market place

surveillance program of the California Department of Pesticide Regulation, et Consumers Union private residue-testing program. Chaque programme diffère par ses procédures analytiques et ses méthodes d'échantillonnages, rendant leur comparaison inappropriée. Néanmoins, toutes les bases de données analysées individuellement ont présenté des relations similaires entre les résidus de pesticides dans les aliments conventionnels et biologiques. En les rassemblant, Baker *et al.* démontrent que les produits issus de l'agriculture biologique contiennent moins de pesticides que les produits conventionnels, et que les résidus, quand ils sont présents, sont en moins grande quantité dans les produits biologiques. Cependant, aucun produit disponible sur le marché n'est complètement exempt de résidus de pesticides. Les produits biologiques contiennent des résidus qui sont la plupart du temps inévitables (BAKER *et al.*, 2002).

Dans l'étude nationale entreprise par l'USDA (United States department of Agriculture) aux USA (USDA, 2006) sur les résidus de pesticides dans les aliments, 739 échantillons de laits furent testés, dix d'entre eux étaient biologiques. Deux différences majeures entre les laits biologiques et les laits conventionnels furent observées :

- ❖ Les pyréthroïdes de synthèse ont été trouvés dans 24% des échantillons conventionnels, et dans aucuns échantillons biologiques.
- ❖ Un produit de décomposition d'un insecticide appartenant de la famille des carbamates a été retrouvé dans 8.8 % du lait conventionnel et dans aucun lait biologique.

GAZZOTTI *et al.* (2009), dans une étude en Italie, ont mesuré les résidus de quinze pesticides organophosphorés utilisés en élevage laitier comme antiparasitaire ou comme insecticide dans les cultures pour nourrir les animaux. Environ 4.4 % des 298 échantillons analysés contenaient des résidus sous forme de traces. Les principaux pesticides rencontrés étaient le chlorpyrifos-ethyl (neuf échantillons positifs), suivi par le parathion ethyl (deux échantillons) et le disulphothion et l'acephate (un échantillon chacun).

D. Conclusion

Les plans de contrôles nationaux de résidus de pesticides rencontrés dans les laits réalisés par la DGCCRF et la Direction Générale de l'Alimentation n'ont jamais mis en évidence des concentrations de résidus de pesticides dans le lait supérieur aux Limites Maximales des Résidus (LMR)¹⁰. Cependant, les pesticides potentiellement utilisés dans les fermes constituent un risque car la vache laitière peut y être exposée par l'air, l'eau ou l'alimentation. Les insecticides de stockage seraient les composés présentant le plus de risque de transfert vers le lait (BERTRAND et DUHEM, 2004). Compte tenu des restrictions d'usages des pesticides en agriculture biologique, les produits issus de ce mode d'agriculture sont pratiquement exempts de résidus de pesticides, se démarquant en cela de ceux provenant de l'agriculture conventionnelle (AFSSA, 2003). Les produits biologiques se démarquent entre autres, par des concentrations en insecticides inférieures (CRINNION, 2010). De plus, l'ensemble des études montre que la grande majorité des produits biologiques ne contiennent pas de résidus de pesticides interdits en agriculture biologique. Pour ceux qui en contiennent, les teneurs en ces résidus sont inférieures aux LMR. Les huiles, les produits laitiers, les plantes médicinales et aromatiques sont les produits les plus exposés (AFSSA, 2003). Les faibles concentrations de pesticides détectées dans les aliments biologiques, (quelques microgrammes par kilogramme) peuvent présenter un problème d'image (VAN DE VIJVER, 2007). Ces traces de résidus pourraient être liées à des contaminations accidentelles environnementales, technologiques ou à l'historique de la parcelle (AFSSA, 2003).

**Les insecticides de stockage sont les composés présentant le plus de risque de transfert vers le lait.
La plupart des contaminations ont lieux durant le transport et le stockage des aliments.
(Contaminations croisées).**

E. Méthode d'analyse des Pesticides

- Principales méthodes analytiques existantes :

¹⁰ Les résidus de pesticides retrouvés dans les denrées alimentaires ne doivent pas dépasser des limites réglementaires appelées Limites Maximales de Résidus (LMR). La LMR est une limite réglementaire qui s'exprime en mg/kg. Elle s'applique à une substance active, sur un produit alimentaire, pour un pays ou un groupe de pays (site internet SRPV (service de la protection des végétaux))

Toutes les méthodes analytiques existantes pour analyser les pesticides ne vont pas être développées. Le but ici est d'apporter un aperçu général. Deux types de méthodes pour détecter les pesticides peuvent être utilisés (d'après ADIB, 2009) :

- ❖ Les **méthodes multi résidus**, souvent appelés QUECHERS, sont des méthodes automatisables, capables de détecter un ou plusieurs substances à partir de diverses matrices alimentaires en utilisant de très faibles volumes de solvant et peu ou pas de purification. Les méthodes les plus souvent utilisées pour séparer les résidus de pesticides sont la chromatographie classique, gazeuse et la HPLC.
- ❖ Les **méthodes mono résidus**, ne pouvant détecter qu'une seule substance ou famille de pesticides.

L'objectif de chaque méthode analytique est d'atteindre la bonne sensibilité, l'exactitude et la précision requise en minimisant le nombre d'étapes. Le développement de méthodes de plus en plus sélectives permettant l'analyse des pesticides présents sous forme de trace, devrait produire des bases de données plus fiables pour des études d'évaluation de risque et de sécurité alimentaire.

IV. Les éléments traces métalliques

Les métaux lourds, ou éléments traces métalliques sont présents partout dans notre environnement et de cette manière sont susceptibles de contaminer un lait.

Cette partie s'intéressera tout d'abord à une description globale des métaux lourds (distribution et effets toxiques principalement), puis elle fera un état des lieux sur les contaminations en métaux lourds dans les laits. Un paragraphe présentera également les effets des procédés de transformation sur la teneur en métaux lourds des produits finis à base de lait. Enfin, cette partie résume dans un tableau les principales méthodes d'analyse des métaux lourds.

A. Caractérisation

1. Définition

Les éléments traces métalliques (ETM) sont des éléments chimiques au sens de la classification périodique des éléments. Les plus répandus sont le cadmium, le chrome, le cuivre, le mercure, le nickel, le plomb et le zinc (Institut de l'élevage, 2010). Certains sont des macro ou oligo éléments essentiels (fer, cuivre, zinc). Mais d'autres, sont purement toxiques (comme le plomb, cadmium, mercure) (INSTITUT DE L'ELEVAGE, 2010). Le caractère cumulatif de ces éléments fait que la caractérisation des risques conduit généralement à l'évaluation d'une Dose Hebdomadaire Tolérable (DHT) plutôt qu'une DJA.

Les métaux sont redistribués naturellement dans l'environnement par les cycles géologiques et biologiques (schéma 3). Les cycles biologiques incluent la bioconcentration par les plantes et les animaux, ainsi que l'incorporation dans la chaîne alimentaire. L'activité humaine peut raccourcir le cycle ou bien augmenter la répartition mondiale des métaux lourds en les rejetant dans l'eau, sur les sols et l'atmosphère (KLASSEN et WATKINS, 2003).

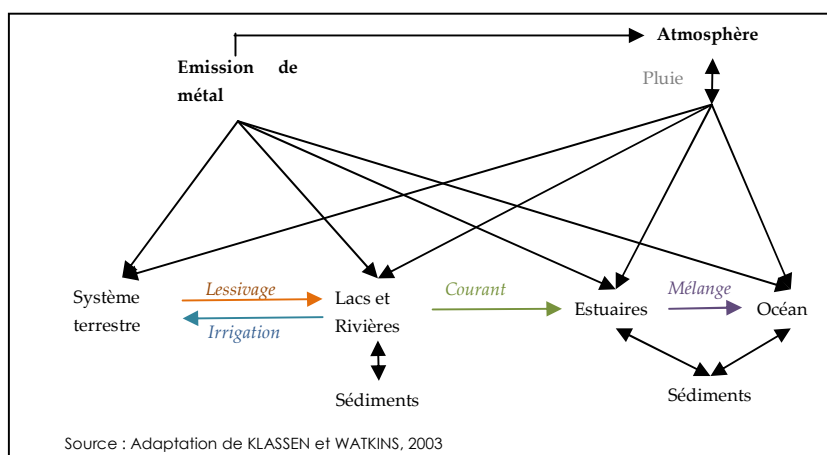


Schéma 4: Routes permettant le transport des éléments traces métalliques dans l'environnement

2. Toxicité des principaux métaux

Un certain nombre de facteurs influencent la toxicité des métaux lourds. Il existe par exemple des interactions entre des métaux toxiques et des métaux essentiels qui peuvent avoir lieu lorsque le métabolisme d'un métal toxique est similaire à celui de d'un métal essentiel. Les jeunes enfants ou les personnes âgées sont les plus susceptibles à la toxicité des métaux lourds. En effet, les enfants ont un taux d'absorption intestinal des ETM plus important que les adultes, particulièrement pour le plomb. La principale source d'exposition à la plupart des métaux lourds est par l'ingestion de nourriture contaminée (KLASSEN et WATKINS, 2003).

Les métaux très souvent recherchés dans le lait ou les fromages d'après les recherches bibliographiques effectuées sont le cadmium, le mercure, le plomb, et le zinc. C'est pourquoi, ces métaux seront développés plus particulièrement dans cette partie.

2.1 Le cadmium (Cd)

Le cadmium est naturellement présent dans l'environnement (origine volcanique, érosion éolienne) mais sa concentration est multipliée par dix par les activités anthropiques industrielles (KAMMERER et LE BIZEC, 2009). Le Cd est utilisé par l'homme dans les industries de transformation : pigment, accumulateur (batteries), protection des métaux et électroplacage, traitement des minerais de zinc et plomb. Le Cd est présent à la fois dans l'atmosphère, le sol et les eaux usées. Sa présence dans le sol est particulièrement due aux dépôts atmosphériques et à l'utilisation de fertilisants minéraux tels que les superphosphates en agriculture conventionnelle (OLSSON *et al.*, 2001).

La majeure source d'exposition au Cd est la nourriture contaminée (KLASSEN et WATKINS, 2003). Par ordre d'importance décroissante, les denrées les plus dangereuses sont les suivantes (KAMMERER et LE BIZEC, 2009) :

- ❖ Légumes et fruits (environ 35% de l'apport) et les céréales et produits dérivés (23, 5%).
L'absorption du Cd par les végétaux peut se faire par voie racinaire. Le taux d'absorption est très variable et dépend de l'espèce végétale, et même de la variété. Le soja et la betterave à

sucres, constituant majeur des concentrés, sont tous deux connus pour avoir un fort potentiel de transfert du Cd du sol *via* leur système racinaire (HAGHIRI, 1973 ; in OLSSON *et al.*, 2001).

La concentration en Cd dans les végétaux dépendra également de la concentration de Cd dans le sol, mais aussi des caractéristiques physico-chimiques, du pH et du type de sol, de la saison, de l'utilisation d'engrais ou non, ... L'absorption du Cd par les végétaux étant assez courante, ces derniers représentent une source de contamination assez importante pour les herbivores.

- ❖ Les produits de la mer (18%)
- ❖ Le lait et les produits laitiers (9%)

- Toxicité

Toxicité aiguë: Une forte ingestion de Cd cause des nausées et douleurs abdominales. L'inhalation de fumées de matériel contenant du Cd peut produire un œdème pulmonaire (KLASSEN et WATKINS, 2003).

Toxicité chronique : Une exposition de long terme au Cd cause des troubles pulmonaires et rénaux. Cela peut aussi engendrer des troubles cardiovasculaires et du système squelettique (KLASSEN et WATKINS, 2003). Il est également considéré comme immunodépresseur et cancérigène (le Cd et ses composés sont considérés par le CIRC comme cancérogène certain). La DHT est de 7 µg/kg de poids corporel pour un adulte sur 50 ans (Tableau 7) (KAMMERER et LE BIZEC, 2009).

L'élimination est très lente, le cadmium étant un toxique cumulatif dont la demi-vie chez l'homme est de l'ordre de 10 à 40 ans. L'élimination se fait principalement par voies fécales et urinaires, la voie mammaire étant négligeable (KAMMERER et LE BIZEC, 2009).

2.2 Le plomb (Pb)

Le plomb est un métal assez répandu dans la croûte terrestre, et est présent sous forme de sulfure, carbonate et sulfate. Même si aujourd'hui, beaucoup de ses usages sont très restreints à cause de sa toxicité, le Pb est utilisé dans les batteries et accumulateurs, tuyaux et soudures, vêtements de protections aux rayons X, peintures...

La pollution dans l'environnement est liée à l'industrie minière, à une mauvaise gestion des déchets, à une pollution automobile. De plus, l'épandage de boue de stations d'épuration peut conduire à la pollution des terres agricoles (KAMMERER et LE BIZEC, 2009).

La principale voie d'exposition pour la population et les animaux est la nourriture contaminée et les sources environnementales comme les anciennes maisons peintes à base de peinture contenant du plomb (KLASSEN et WATKINS, 2003).

Les aliments les plus susceptibles de contenir des traces de plomb sont par ordre décroissant (KAMMERER et LE BIZEC, 2009) : les légumes et fruits, le lait et les produits laitiers, les abats et les produits carnés, le vin, les produits de la mer.

L'absorption digestive du plomb est favorisée par la vitamine D, par un régime riche en graisses, et par des carences en fer, calcium, phosphore, zinc, magnésium, vitamine B1 et en fibre végétales. Dans le sang, le plomb est à 95% sous forme fixée aux protéines plasmatiques et à 5% sous forme libre. Il diffuse ensuite dans les tissus et on le retrouve dans l'os à 80%, dans lequel il entre en compétition avec le calcium. On le retrouve également dans les tissu mou (ex : reins, foie, rate...), dans les dents, les ongles ou les cheveux. Il passe facilement dans le lait et le placenta. Par ailleurs, le plomb osseux peut être stocké durant plusieurs années et dans certaines circonstances, comme par exemple une grossesse, une fracture ou un allaitement on pourra assister à un relargage de ce plomb. L'excrétion se fait à 75% par voie urinaire (KAMMERER et LE BIZEC, 2009).

- **Toxicité**

L'absorption du plomb est largement supérieure chez les jeunes organismes, ce qui augmente les effets toxiques. A cause de ses caractéristiques chimiques, il passe facilement dans le placenta et le lait (KLASSEN et WATKINS, 2003 et KAMMERER et LE BIZEC, 2009).

Le Plomb est à l'origine de nombreux effets chez l'homme :

- ❖ Effet sur le système nerveux
- ❖ Anémie
- ❖ Troubles rénaux
- ❖ Effet endocrinien
- ❖ Affaiblissement du système immunitaire
- ❖ Probable effet cancérigène

La DHT fixée par l’OMS est de 25 µg/kg de poids corporel (Tableau 7).

2.3 Le mercure (Hg):

Le mercure est le seul métal liquide à température ambiante. Les vapeurs de mercure sont bien plus toxiques que le mercure liquide (KLASSEN et WATKINS, 2003). Le mercure est/a été utilisé dans l’industrie électrique et chimique, en dentisterie, comme fongicide... Il peut également être apporté dans le sol via les boues de station d’épuration (KAMMERER et LE BIZEC, 2009).

Le mercure s’accumule dans l’environnement (sédiment) et dans les chaînes alimentaires. On peut en retrouver dans les denrées d’origine aquatique à cause du phénomène de bioaccumulation. Il est très faiblement résorbé par les racines et les feuilles des végétaux. Il est présent dans l’atmosphère et dans l’eau mais les doses sont très faibles et ne constituent pas une source d’exposition importante pour l’homme (KLASSEN et WATKINS, 2003).

- **Toxicité**

La toxicité du mercure est due au méthyle mercure. A des concentrations importantes, il peut provoquer chez l’homme des troubles sensoriels, moteurs, psychiques, tératogéniques, reproductifs, immunitaires... (KAMMERER et LE BIZEC, 2009). La DHT du méthyle mercure est fixée à 1,6 µg/kg. (Tableau 8)

Tableau 8 :Dose hebdomadaire tolérable des principaux métaux toxiques pour l’homme

Métal lourd	<i>Dose hebdomadaire tolérable</i>
Plomb	<i>25 µg/kg de poids corporel</i>
Cadmium	<i>7 µg/kg de poids corporel</i>
Méthyle mercure	<i>1.6 µg/kg de poids corporel</i>
Étain	<i>840 mg/pers</i>
Arsenic inorganique	<i>15 µg/kg de poids corporel</i>

(d’après KAMMERER et LE BIZEC, 2009)

2.4 Le zinc (Zn) :

Le zinc est un métal essentiel nutritionnellement. Une exposition excessive au zinc est relativement peu commune mais serait toxique. Le zinc est présent dans la plupart des aliments, l'eau et l'air. La dose journalière recommandée est de 15mg / jour pour l'homme. Une vache en lactation ou tarie a besoin de 75 mg/ kg (matière sèche intégrale) de zinc dans le régime (GNBCA, 2000) .

Les produits dont les teneurs en zinc sont les plus importantes sont les suivants : Produits de la mer, viande, céréales complètes, produits laitiers, cacahuète et légumes. Les végétaux peuvent prélever le zinc du sol (KLASSEN et WATKINS, 2003).

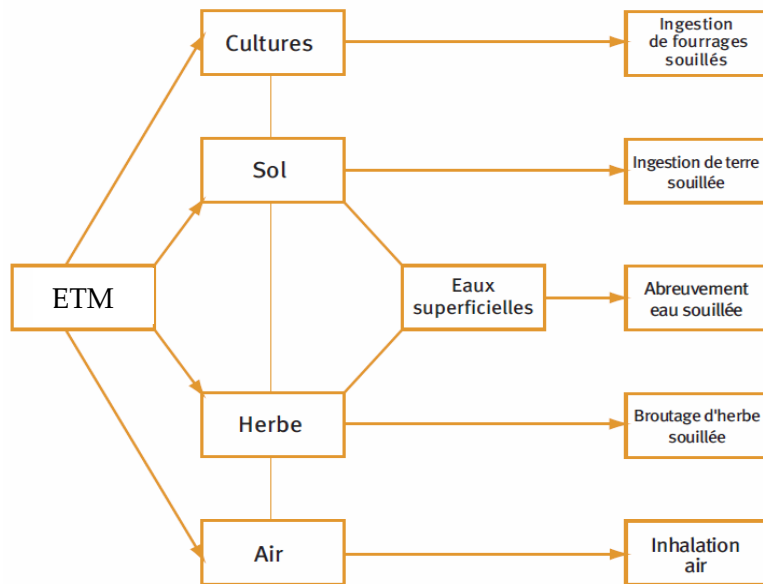
- **Toxicité**

Des problèmes gastro-intestinaux, diarrhées, fortes fatigues et fièvres peuvent être les effets d'une ingestion importante de zinc (KLASSEN et WATKINS, 2003).

B. Transferts

Les principales voies d'expositions aux métaux lourds sont l'air, l'eau et la nourriture. Ainsi, le transfert des ETM vers l'animal intervient par l'inhalation ou l'alimentation. Le schéma 4 résume les principales voies d'exposition des ruminants aux ETM.

Schéma 5:différentes voies d'exposition des bovins aux ETM



Source : d'après l'Institut de l'Élevage, 2010

L'une des principales voies d'exposition pour les vaches est par l'ingestion de terre et herbe amendées par les boues de station d'épuration. En effet, lorsque les boues sont épandues, elles sont susceptibles de contaminer l'herbe fraîche, le sol, les fourrages, l'air, et l'eau en ETM (INSTITUT DE L'ELEVAGE, 2010). Cependant, cela ne concerne pas l'agriculture biologique où l'épandage de boues de station d'épuration est interdit. Toutefois, tout animal peut ingérer un sol contaminé en ETM, cette ingestion pouvant augmenter en fonction de la plus ou moins grande disponibilité alimentaire (surpâturage). La contamination peut intervenir également par inhalation de poussière et par contact directes et indirectes avec des boues. Ainsi, les facteurs de transfert des ETM vers l'animal sont nombreux. Néanmoins, une fois contaminé, l'animal absorbera les ETM de manière plus ou moins importante selon : les métaux lourds (Pb < Cd < Hg), l'âge de l'animal et la quantité absorbée (INSTITUT DE L'ELEVAGE, 2010). Enfin, comme le conclut l'Institut de l'Élevage (INSTITUT DE L'ELEVAGE, 2010), les risques de transfert des ETM vers le lait sont faibles, mais leur accumulation dans les sols pourraient augmenter ce risque.

C. Etat des lieux sur la contamination

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des micropolluants

En agriculture biologique, les boues sont interdites et les concentrations en métaux dans les amendements sont très réglementées (tableau 10) .

Tableau 9: Teneurs maximales en certains métaux pouvant être apportées lors d'amendement à base de déchets ménagers compostés ou fermentés en agriculture biologique.

métal	Teneur maximal en mg/kg de matière sèche
cuivre	70
nickel:	25
plomb:	45
zinc:	200
mercure	0,4
Chrome (total)	70
cadmium	0,7

D'après la réglementation européenne de septembre 2008

Ces deux facteurs sont particulièrement susceptibles de contaminer les sols en métaux lourds, puis un herbivore (soit par ingestion directe de sol contaminé, soit par ingestion de végétaux contaminés). En se basant sur ces constats, OLSSON et *al.* (2001) ont cherché à caractériser la potentielle différence de contamination (en Cd et Zn) des tissus animaux qu'il pourrait y avoir entre des vaches laitières biologiques et conventionnelles. Les résultats de cette étude montrent des taux de Cd dans les reins, le foie, et les tissus mammaires des vaches biologiques significativement inférieurs à ceux des vaches conventionnelles. Le fait d'avoir des apports en fertilisants très contrôlés décroît certainement la concentration en Cd dans les fibres, qui sont les principales composantes de l'alimentation des systèmes biologiques. De plus, il y a des différences dans la composition de l'alimentation entre les deux systèmes. Les vaches conventionnelles (de l'étude) recevaient 55 % de plus de concentrés que les vaches biologiques. Comme vu précédemment, certaines espèces constituant les concentrés (soja, betterave à sucre) ont un fort taux de transfert du Cd du sol vers la plante. Par ailleurs, certaines protéines et minéraux présents dans les concentrés peuvent contenir des taux considérables de Cd, et, même s'ils constituent seulement une faible part de la ration, ils contribuent largement à l'apport total de Cd dans l'alimentation (LINDEN et *al.*, 1999 in OLSSON et *al.*, 2001).

Ainsi, cette différence de concentration en Cd dans les organes des animaux pourrait être expliquée par le fait que d'un part, les vaches biologiques reçoivent principalement des fibres, faiblement

concentrées en Cd ; et d'autre part, les vaches conventionnelles ont un apport plus élevé en concentré qui contiennent une large teneur en Cd.

Un autre facteur à prendre en compte est la différence de la biodisponibilité du Cd. Par exemple les acides phytiques (présents dans de nombreuses céréales et légumineuses) réduisent l'absorption du Cd dans le tube digestif, alors que les phytases l'augmentent. Sans analyses de la nourriture ou du fumier des deux systèmes, il était impossible de déterminer lequel avait la plus importante exposition au Cd au travers de l'alimentation. Cependant, les concentrations en Cd du foie, des reins, et des glandes mammaires indiquent que les vaches conventionnelles ont été exposées à des niveaux en Cd plus élevés, ou bien que le Cd du système conventionnel avait une biodisponibilité plus importante que celui présent dans le système biologique.

Enfin, cette étude démontre que l'âge de l'animal et sa productivité influencent positivement la concentration en Cd dans les tissus mammaires (OLSSON *et al.*, 2001).

Cependant, il n'est pas prouvé que les laits biologiques soient moins concentrés en ETM. En effet, GHIDINI *et al.*, (2005) ont étudié la différence de contamination en métaux lourds (Pb et Cd) des laits biologiques et conventionnels et il n'en ressort aucune différence du point de vue statistique. (Tableau 10).

Tableau 10: teneur en métaux lourds des échantillons de lait (en µg/L).

	Pb organic	Pb conventional	Pb all	Cd organic	Cd conventional	Cd all
Number of samples	78	78	156	78	78	156
Mean	1.85	1.68	1.76	0.09	0.16	0.12
Median	<1	<1	<1	<0.1	<0.1	<0.1
Range	<1-11.37	<1-10.49	<1-11.37	<0.1-1.69	<0.1-1.94	<0.1-1.94

Source : GHIDINI *et al.*, 2005

Une autre enquête (MALMAURET, *et al.*, 2002) a été conduit sur quinze produits biologiques et conventionnels, dont le lait, la viande, les oeufs, les légumes, et les céréales. Les concentrations en métaux lourds furent testés (Pb, Cd, arsenic (As), et Hg). Le Pb et le Cd ont été détectés au dessus de la limite de détection dans les deux laits conventionnels et biologiques. En revanche, l'As et le Hg n'ont été décelés dans aucun des laits au dessus de la limite de quantification.

D. Transformation du lait et transfert des métaux lourds

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des micropolluants

Un travail (ANASTASIO et al., 2006) réalisé en Italie avait pour objectif la détection des concentrations en métaux lourds (Pb, chrome (Cr), Cd et Hg) dans les laits crus de brebis et les produits laitiers dérivés (fromages (frais et affinés) et ricotta¹¹).

Les résultats montrent une concentration en Chrome qui a augmenté lors de la transformation du lait cru en fromage. Ceci peut être dû au fait que le Chrome se lie au composants du lait, comme la caséine et, pendant la coagulation passe dans le lait caillé. Le chrome est utilisé dans l'industrie du cuire dans les encres et l'aciérie. Aux alentours des zones d'échantillonnages, se trouvaient des industries de ce type. La législation européenne n'a pas encore fixé de réglementation sur le chrome dans le lait et les produits laitiers.

La concentration en Pb a fortement augmenté lors de la transformation du lait (0, 18 µg/g), en ricotta (0.39 µg/g). Cette augmentation peut être la conséquence d'une contamination durant la fabrication du fromage puisque les métaux présents dans le lait à l'origine restent fixés aux protéines durant la transformation. En effet, selon BEACH et HENNING (1988), dans le lait de rate, presque 90% du Pb est associé aux micelles de caséines. En outre, l'augmentation de la concentration en Pb sur le fromage affiné ne peut être expliquée par les pertes en eau, mais est certainement causée par les conditions environnementales du site d'affinage. Par ailleurs, le Pb, à cause de sa large utilisation dans les procédés industriels, se place parmi les métaux dont la diffusion par l'atmosphère est la plus élevée. Ceci pourrait expliquer les hautes concentrations trouvées dans les sites relativement éloignés des lieux urbains et industriels.

La concentration en Cadmium n'a pas variée énormément entre le lait et le produit fini, ce qui suggère que ce composé n'est pas vraiment associé à la fraction soluble et probablement distribué indifféremment entre les caséines et les composés de faibles poids moléculaires.

La plus haute teneur en mercure fut détectée dans le fromage frais. La concentration décroissante depuis le lait vers la ricotta est due au procédé de transformation.

¹¹ La ricotta est un produit laitier italien à base de lait (brebis, chèvre, vache ou bufflonne) il n'est pas obtenu par coagulation de la caséine du lait mais par celle des séroprotéines, contenues dans la partie liquide du lait qui se sépare durant la précipitation. Le processus de coagulation de cette protéine est possible à haute température (80-90 °C) : on parle donc de partie recuite (*ri-cotta* en italien)

E. Conclusion

On pourrait penser que les concentrations en ETM sont moins importantes dans les laits biologiques car le cahier des charges est rigoureux. Ceci concourt en effet à limiter le risque de contamination des denrées végétales et animales issues de l'agriculture biologique (AFSSA, 2003). Cependant, les métaux lourds peuvent être déjà présents dans le sol, ou facilement transportés par l'atmosphère, l'eau, les rivières, ingéré *via* l'alimentation et l'eau contaminés (notamment de foin provenant de sites proches des routes (ZAGORSKA, 2007) . Par ailleurs sous certaines conditions, ils peuvent être apportés en Agriculture Biologique, ce qui pourrait également expliquer leur présence dans les sols.

L'absorption du Cd dépend à la fois de la composition de la nourriture, et de la biodisponibilité de ce dernier. Néanmoins, les vaches filtrent très bien le Cd et la proportion retrouvée dans le lait reste extrêmement faible (ZAGORSKA, 2007).

Les procédés de transformation peuvent jouer sur la concentration finale en métaux lourds, l'augmentant ou la réduisant en fonction du produit final. Ainsi, le Cr et le Pb auront tendance à se lier aux micelles de caséine, leur concentration pouvant augmenter dans un fromage.

Pas de différences majeures entre les concentrations en métaux lourds en AB et en conventionnelle.

Les procédés de transformations peuvent augmenter la teneur en certains métaux (en particulier Cr et Pb).

F. Méthode d'analyses

Globalement, en fonction des métaux lourds, les méthodes qui peuvent être appliquées sont résumées dans le tableau suivant (tableau 11) :

Pour de plus amples informations concernant l'analyse des métaux lourds, se référer au dossier sur l'analyse des métaux lourds réalisé par l'Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne (Ecole des Mines, 1997).

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des
micropolluants

Tableau 11: Vue générale de la préparation préalable, les limites de rejet, et les méthodes conseillées en fonction de l'élément à analyser

	limite de rejet mg/l	Echantillonnage	Délai d'analyse	Conservateur	Prétraitement	Méthodes conseillées	Technique de terrain
Cadmium	0,2	réipient en polyéthylène ou verre borosilicaté, lavé avec HNO ₃ , puis rincé à l'eau distillée	1 mois après ajout du conservateur Filtration in-situ si dosage de Cd dissous	Acidification HNO ₃ à pH < 2	Digestion acide : - destruction mat. orga. - dissolution Cd en suspension	- Polarographie - Spectrométrie d'absorption atomique	Colorimétrie
Chrome III	3,0	Comme Cd	filtration immédiate si détermination du Cr total dissous	Comme Cd	Digestion acide pour dissoudre CrIII en suspension	Spect. D'abs.at. du Cr total et différence avec le CrIV	Colorimétrie
Chrome IV	0,1	Comme Cd	24 h après ajout de conservateur Filtration in-situ	Acidification à pH < 2 avec H ₂ SO ₄		Colorimétrie à la diphénylcarbazine	Colorimétrie
Aluminium	5,0	réipient en verre ou polyéthylène lavé avec HNO ₃ puis rincé à l'eau distillée	1 mois après ajout de conservateur Filtration immédiate si nécessité de doser l'Al en solution uniquement	Acidification pH < 2 avec HCl ou HNO ₃		Comme Cd	Colorimétrie
Plomb	1,0	Comme Cd	Comme Cd	Comme Cd	Comme Cd	Comme Cd	Colorimétrie
Cuivre	2,0	comme Cd avec homogénéisation avant prélèvement nécessaire au dosage.	Comme Cd	Comme Cd	Minéralisation avec HCl pour détruire les complexes du cuivre puis ajustement du pH à 5-6.	Comme Cd	Colorimétrie
Etain	2,0	Comme Cd	1 mois maximum après ajout de conservateur	Comme Cd	Minéralisation des organostanniques (si nécessaire)	Aucune méthode en particulier	Colorimétrie

Source : Ecole des Mines, 1997

V. Les phytoestrogènes

Les phytoestrogènes sont des composés issus de plante, semblables à aux hormones œstrogènes. Elles jouent un rôle primordial dans la physiologie de la reproduction animale car elles interviennent dans les processus d'ovulation, de fertilisation, d'implantation, de développement, de croissance mammaire et de lactation. Les végétaux qui contiennent des phytoestrogènes et les moisissures productrices de mycotoxines sont les majeures sources de substances *estrogen like*, qui peuvent se lier à des récepteurs à œstrogène et provoquer des effets chez les animaux et les hommes. Les ruminants étant grands consommateur de produits herbagés et céréales y sont fortement exposés (DUQUESNOY, 2005).

Cette partie expliquera tout d'abord ce que sont les phytoestrogènes ainsi que leurs principales sources et majeurs effets. Puis, un état des lieux sur la contamination des laits biologique sera présenté. Une dernière partie s'attachera aux méthodes d'analyses des phytoestrogènes.

A. Caractérisation

1. Les substances à effets oestrogeniques

1.1 Les phytoestrogènes

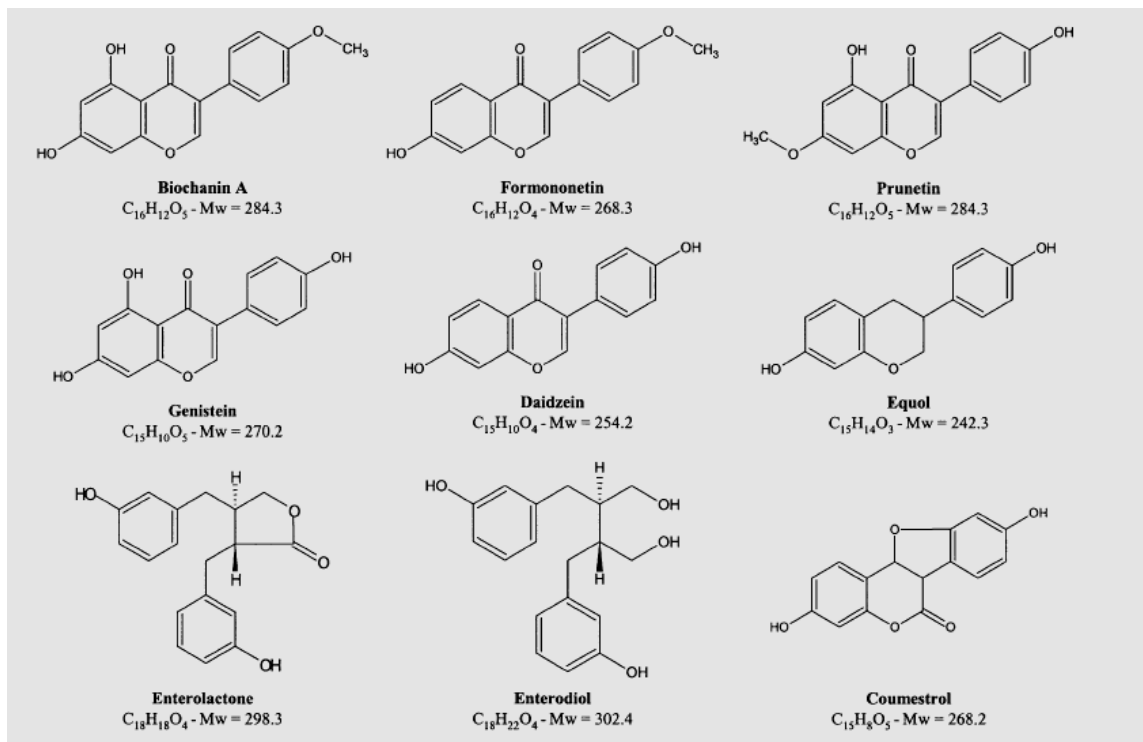
Les Coumestrans, isoflavones et lignans forment les trois principales classes de phytoestrogènes. Chimiquement, la présence et la position (4',7) de deux groupes hydroxyles déterminent l'activité oestrogénique de ces substances (figure 10) (DUQUESNOY, 2005).

Les isoflavones sont largement répandus dans la famille des légumineuses avec des taux assez importants dans le soja, le trèfle et la luzerne (SALONIEMI et *al.*, 1995 in DUQUESNOY, 2005).

Certaines isoflavones (la daïdzéine et la génistéine) sont aussi abondantes dans les ray-grass mais surtout durant les premiers stades de germination et de la croissance des végétaux. Par contre, on ne les retrouve pas dans la luzerne conservée sous forme de fourrages et dans les céréales. Le trèfle

violet (*Trifolium pratense*) est une source importante de biochanine A et de formononétine deux précurseurs de la daidzéine et de la génistéine .

Figure 9 : Structure chimique de quelques phytoestrogènes



Source : ANTIGNAC et al., 2003

Les céréales contiennent aussi des lignans qui se trouvent dans les couches fibreuses externes de la céréale et majoritairement au niveau de l'aleurone. Cette couche, fortement adhérente à la graine, n'est pas éliminée lors des traitements tels que l'aplatissage ou le flacottage, à l'exception du meulage ou lors de l'obtention de farines. On ne connaît pas le pouvoir que pourrait avoir la flore microbienne du rumen sur l'augmentation ou non de la disponibilité de ces molécules (DUQUESNOY, 2005).

1.2 Les mycotoxines

La mycotoxine zéaralénone peut se retrouver dans le maïs, le sorgho, les graines de sésame, l'orge, le blé et l'avoine. Malgré son apparente dissimilitude structurale avec les œstrogènes, la zearalénone possède un groupe hydroxyle phénolique qui est un site potentiel d'interaction avec les récepteurs des hormones œstrogènes. Ainsi, elle peut se lier à ces récepteurs dans un grand nombre de tissus cibles et provoquer des troubles hormonaux (DUQUESNOY, 2005).

L'absorption par l'animal de substances à effets oestrogéniques se fait exclusivement par l'alimentation.

2. Principaux effets biologiques des substances à effet oestrogénique

Cette partie développe les effets favorables sur l'humain et les effets défavorables sur les animaux. Les effets favorables sur les animaux ou défavorables sur l'homme n'ayant pas été trouvés lors de la recherche bibliographique.

2.1 Les effets favorables

On attribue aux phytoestrogènes des effets anti-cancérogènes (cancer du sein et de la prostate), anti-athérosclérotiques et anti-oxydatives. Ils pourraient aussi éviter certains effets de la ménopause (ADLERCREUTZ *et al.*, 1991 ; CORNWELL *et al.*, 2004 in STEINSHAMN *et al.*, 2008). Ainsi, la luzerne et le trèfle rouge peuvent être utilisés sous forme d'extrait ou de poudre comme supplément alimentaire (DUQUESNOY, 2005), c'est pourquoi ils ont été commercialisés sur le marché américain et dans certains pays européens pendant plusieurs années (PURUP *et al.*, 2005).

2.2 Les effets défavorables

Chez les bovidés, la toxicité des substances à effets oestrogéniques se manifeste généralement par des troubles de la reproduction et des modifications physiques des organes génitaux : œdème et hypertrophie des organes génitaux des femelles pré-pubères, diminution du taux de survie de l'embryon chez les femelles en gestation, diminution des quantités de lutéotropine et de progestérone produites, modification de la morphologie des tissus utérins, diminution de la production de lait, féminisation des jeunes mâles par la diminution de la production de testostérone, infertilité et mortalité (DUQUESNOY, 2005). Ceci est illustré dans une étude (KALELLA *et al.*, 1984 in DUQUESNOY, 2005) sur un troupeau de bovins nourri à base d'un ensilage presque exclusivement

composé de trèfle violet. Les bovins ont montré des troubles de chaleurs et d'ovulation, des problèmes d'avortement, de vêlages prématurés et de kystes ovariens.

B. Etats des lieux sur les contaminations des laits en élevage biologique :

La concentration en phytoestrogènes varie en fonction des plantes, celle dans le trèfle violet étant particulièrement importante. Néanmoins, d'autres facteurs, tels que le stade de maturité, et la partie de la plante peuvent influencer cette teneur (DUQUESNOY, 2005).

Les quelques études concernant les différences de teneur en phytoestrogènes dans les laits biologiques et conventionnels en arrivent toutes aux mêmes conclusions : les laits biologiques contiennent davantage de phytoestrogènes.

Ainsi, ANTIGNAC *et al.* (2004) en France et HOIKKALA *et al.* (2007) en Finlande ont analysé des laits de vaches commercialisés, et les deux études révèlent que les laits provenant de fermes biologiques ont un taux en isoflavonoïde plus haut que les laits conventionnels.

PURUP *et al.* (2005) trouvent également des différences significatives entre la concentration d'un lait biologique et conventionnel. Par exemple, la concentration en equol était cinq fois plus haute dans les échantillons biologiques, et la moyenne des concentrations en daidzein était plus de trois fois plus importante dans les laits biologiques que dans les laits conventionnels.

Ces différences seraient très certainement la cause de l'importance des légumineuses dans l'alimentation des vaches biologiques. Effectivement, parce que les légumineuses sont utilisées pour la production de nitrates, (pour les cultures et pour les protéines qu'elles apportent), elles sont fortement présentes dans l'alimentation des vaches laitières biologiques. C'est pourquoi des taux plus hauts en flavonoïdes sont observés dans le lait biologique. Mais les teneurs en phytoestrogènes dépendent de la composition de l'alimentation en particulier des espèces de trèfles qui la compose (STEINSHAMN *et al.*, 2008). Ainsi, l'étude menée par STEINSHAMN *et al.*, (2008) sur des vaches en Norvège, montre que nourrir des vaches à l'ensilage comportant du trèfle violet accroît la concentration du lait en flavonoïdes, et diminue sa teneur en lignans, si l'on compare à des vaches nourries à base de concentré contenant du trèfle blanc. En effet, les vaches nourries au trèfle blanc ont des teneurs en lignan (enterodiol et enterolactone) dans leur lait plus élevées que celles des vaches

alimentées avec du trèfle violet. Ils en concluent que la teneur du lait en flavonoïde est facilement modulable par le choix des légumineuses, ce qui peut être utilisé pour produire du lait possédant les caractéristiques désirées.

C. Conclusion

De part leur présence plus importante dans certaines légumineuses qui représentent une part non négligeable de l'alimentation des vaches laitières biologiques, les phytoestrogènes ont tendance à se retrouver en plus grande quantité dans les laits biologiques. Les phytoestrogènes ont des effets positifs, mais aussi négatifs pour la santé. Toutefois, la concentration à partir de laquelle cela représente un bénéfice ou un problème pour la santé animale et humaine reste à définir et les interactions entre les phytoestrogènes présents dans un lait seraient également intéressantes à étudier.

Les phytoestrogènes sont en plus grande quantité dans les laits issus de l'AB. Ils peuvent avoir de nombreux effets positifs et négatifs, tout dépend de leur concentration dans l'alimentation humaine et animale. Cette concentration est facilement modulable chez le ruminant puisque liée principalement à la teneur en légumineuse de la ration.

D. Méthode d'analyse

1. Méthodes biologiques

Certains paramètres visibles sur les animaux peuvent être utilisés pour détecter des doses anormales de phytoestrogène: l'avortement, la libido, le volume testiculaire, la fertilité des éjaculats... grâce à un test au GNRH (Gonadotropines Releasing Hormone). Ces symptômes peuvent permettre de mettre en évidence une activité oestrogénique anormale -DUQUESNOY, 2005).

2. Méthodes analytiques (d'après DUQUESNOY, 2005)

- Chromatographie liquide de haute performance

Une méthode de chromatographie liquide avec détection UV ou fluorescence a été décrite pour le dosage de certaines phytoestrogènes (la daidzéine, la formononétine et le coumestrol) dans le plasma et l'urine de bovins (LUNDH *et al.*, 1988 in DUQUESNOY, 2005.).

- Dosages radio-immunologique et immuno-enzymatique

Le dosage radio-immunologique (RIA) est une technique utile pour doser de faibles quantités d'analytes et pour des échantillons de faibles volumes comme les liquides physiologiques (sang, urine...). La compétition pour des anticorps entre l'analyte et un radio-ligand (substance biochimique radioactive) permet de quantifier la substance à doser.

Basés sur le même principe de compétition que les RIA, des tests immuno-enzymatiques (EIA) ont été développés pour les isoflavones et la zéaralénone.

Grâce à la sélectivité des anticorps, ces deux les techniques EIA et RIA permettent de simplifier les étapes d'extraction. Ces procédures sont en général utilisées pour le screening d'échantillons afin de n'avoir à analyser par les méthodes physico-chimiques que les échantillons suspects.

VI. Les résidus de soins vétérinaires

Cette sixième partie est divisée en deux sous-parties . La première partie après avoir rappelée la réglementation en vigueur concernant l'utilisation de médicaments vétérinaires en AB, caractérise les risques liés aux médicaments vétérinaires. Ensuite, un court état des lieux sur les contaminations des laits et sur les facteurs de risques est fait. Une courte partie s'attache également à décrire les transferts des antibiotiques d'un lait contaminé vers un produit dérivé.

La deuxième sous parties s'intéresse aux Prophylaxie et soin vétérinaire utilisés en Agriculture biologique. Enfin, cette partie se termine par les méthodes permettant de déceler les médicaments dans les laits.

A. Réglementation :

Selon les règlements CE (CE n° 834/2007 et 889/2008), l'agriculture biologique exclue l'utilisation préventive de médicaments allopathiques de synthèse chimique pour la gestion de la santé animale. La santé des animaux repose donc essentiellement sur la prévention par des mesures comme le choix et la sélection de races et de souches appropriée, un régime alimentaire équilibré de bonne qualité et un environnement favorable. Par ailleurs, la prévention des pathologies repose sur des compléments alimentaires tels les oligo-éléments ou les algues, des mesures de prophylaxie, l'utilisation de l'homéopathie ou de la phytothérapie (KOUBA, 2002). Si malgré la prévention mise en œuvre, une pathologie survient, l'éleveur doit privilégier le recours à des médecines naturelles (homéopathie, phytothérapie, aromathérapie...). Si ces thérapies se révèlent insuffisantes, il est possible de recourir à des médicaments vétérinaires allopathiques de synthèse, à titre curatif uniquement, dans le strict respect du nombre de traitements individuels autorisés et en adoptant un temps d'attente avant abattage ou commercialisation des produits, double du délai légal (AFSSA, 2003) et dans tous les cas au minimum 48h.

B. Les médicaments vétérinaires

1. Définition

D'après le code de la santé publique (LEGIFRANCE site internet) : « On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique.

Sont notamment considérés comme des médicaments les produits diététiques qui renferment dans leur composition des substances chimiques ou biologiques ne constituant pas elles-mêmes des aliments, mais dont la présence confère à ces produits, soit des propriétés spéciales recherchées en thérapeutique diététique, soit des propriétés de repas d'épreuve. Les produits utilisés pour la désinfection des locaux et pour la prothèse dentaire ne sont pas considérés comme des médicaments. »

2. Caractérisation du risque :

Les résidus de médicaments vétérinaires peuvent provoquer chez le consommateur :

- **Un effet pharmacologique ou toxique « aigue »**, après une ingestion ponctuelle. Ceci est très rare (KAMMERER et LE BIZEC, 2009).

- **Un effet allergène** (MITCHELL M., 2005 ; KAMMERER et LE BIZEC, 2009 ; KASTLI, 1966). Il est intéressant de noter que pour qu'un individu présente une allergie, il faut qu'il ait été dans un premier temps sensibilisé à la substance responsable par une exposition à un niveau relativement élevé. Ensuite, tout contact avec la substance, même à très faible dose pourra déclencher des réactions allergiques. Les résidus de médicaments vétérinaires ne sont pas présents en concentration suffisante dans les denrées alimentaires pour sensibiliser un individu. Cependant, chez un consommateur sensibilisé par ailleurs (par exemple par un traitement à base d'un médicament utilisé en médecine humaine), la consommation de denrée provenant d'un animal traité pourra être à l'origine de troubles allergiques. Ceci est le cas des résidus de pénicillines dans le lait (KAMMERER et LE BIZEC, 2009).

- **Des effets microbiologiques** : Les résidus d'antibiotiques peuvent présenter différents dangers :

- ❖ Une perturbation de la flore digestive (KASTLI, 1966 ; KAMMERER et LE BIZEC, 2009) qui peut se traduire par une diminution de l'effet barrière de la flore intestinale, un développement de population pathogène, ou une apparition de troubles digestifs .
- ❖ La sélection des bactéries résistantes, qui représente d'ailleurs un point de préoccupation majeur (STOLKER *et al.*, 2008 ; KAMMERER et LE BIZEC, 2009).

- **Des effets hormonaux** : les médicaments vétérinaires à action hormonale, s'ils sont présents dans les denrées alimentaires, peuvent exercer un effet hormonal lors d'ingestion répétée et prolongée (KAMMERER et LE BIZEC, 2009).

2. Classification des antibiotiques et utilisation (d'après MITCHELL, 2005).

Les antibiotiques sont utilisés chez les animaux pour le traitement et la prévention des maladies bactériennes ainsi qu'à titre de facteur de croissance, depuis une cinquantaine d'années. Ce dernier usage est interdit en agriculture biologique.

Les antibiotiques sont administrés aux animaux par différentes voies : sous forme d'injection, par voie orale dans l'eau ou la nourriture, par voie cutanée ou par des injections intra-mammaires ou intra-utérines. Toutes ces voies entraînent le transfert de résidus dans les aliments d'origine animale comme le lait, d'où l'instauration de délais d'attente obligatoires.

Chez les animaux destinés à l'alimentation, les antibiotiques les plus couramment utilisés peuvent être regroupés en cinq classes :

- ❖ Les bêta-lactamines (ex. : la pénicilline et la céphalosporine)
- ❖ Les tétracyclines (ex. : l'oxytétracycline, la tétracycline et la chlortétracycline),
- ❖ Les aminoglycosides (ex. : la streptomycine et la gentamicine),
- ❖ Les macrolides (ex. : l'érythromycine)
- ❖ Sulfamides (ex. : la sulfaméthazine)

3. Contamination des laits par les résidus médicamenteux : Etat des lieux

Une enquête menée auprès de vétérinaires américains (MITCHELL, 2005), révèle que les antibiotiques sont les médicaments les plus souvent prescrits ou utilisés chez les vaches laitières en lactation. La pénicilline G est l'antibiotique utilisé le plus souvent. Par ailleurs, à l'exception de l'oxytétracycline, les cinq médicaments les plus prescrits étaient l'ensemble des lactamines dont l'usage est approuvé chez les vaches laitières en lactation : la pénicilline G, le sodium de ceftiofur, la cloxacilline, la céphapirine et l'ampicilline.

Très peu d'études sont disponibles sur la contamination du lait biologique par les antibiotiques. Cependant, concernant les laits conventionnels, une étude menée par SRAÏRI et al. (2004) concluent que la contamination des laits conventionnels par les antibiotiques au Maroc est toujours importante (taux de contamination de 25 %). Cela serait surtout la cause d'un manque de contrôle et d'un fort traitement contre les mammites.

La FAO (2000) dans son rapport déclare qu'il a été démontré que les aliments issus de l'agriculture biologique contiennent moins de résidus de médicaments vétérinaires. De plus, selon KOUBA (2002), il semble que les produits animaux biologiques contiennent moins de résidus produits médicamenteux que les produits conventionnels.

D'autre part, comme vu précédemment, le phénomène des bactéries résistantes aux antibiotiques devient une problématique majeure en termes de santé publique. Très peu d'études ont été réalisées sur les phénomènes de résistance dans les élevages biologiques. Néanmoins, quelques études menées dans certains pays européens sur la relation entre l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance et le niveau de résistance chez les bactéries indicatrices (*Enterococcus faecium* et *Escherichia coli*), concluent que le taux de résistance est nul ou très faible dans les élevages n'utilisant pas d'additif antibiotique comparé à un élevage en utilisant (AFSSA, 2003).

4. Facteurs de risque

Tout d'abord, il y a des variations saisonnières importantes dans les productions de laits contenant des antibiotiques. Ainsi les pourcentages de lait contaminés par les antibiotiques sont plus élevés en hiver qu'en été : 8% contre 1 ou 2% en été (MOCQUOT, 1998). De telles variations saisonnières ont déjà été observées et attribuées aux conditions d'élevage des vaches laitières, à

l'accroissement des mammites en hiver probablement du aux déséquilibres alimentaire plus fréquent dans les rations hivernales, ou encore à l'augmentation de la production laitière en été. Mais ces variations peuvent avoir une autre cause : les échantillons de lait prélevés au stade de l'arrivée aux usines d'embouteillage correspondent à du lait récolté dans les 24 ou 48 heures. Au cours du transport, la flore de contamination se développe. Cette flore de contamination peut contenir un certain nombre de germe producteurs de pénicillinase. C'est en été que la pollution du lait par les germes est la plus importante et c'est donc en été que la pénicilline a le plus de chance d'être détruite au cours du transport et de la conservation du lait. Ceci contribuerait également à expliquer la fréquence beaucoup plus faible d'échantillons contaminés par la pénicilline en été qu'en hiver (MOCQUOT, 1998).

Ensuite, il existe des différences notables sur la durée d'élimination, non seulement suivant la nature de l'antibiotique et la voie d'administration L'élimination des antibiotiques dure plus longtemps suite à une application intra-mammaire comparativement aux autres voies de traitements. La moitié (en moyenne) des quantités d'antibiotiques administrées par voie intra-mammaire est éliminée avec le lait et ceci en majeure partie dans la première ou deuxième traite qui suit le traitement (KASTLI, 1966). De plus, la période de lactation et le rendement laitier des vaches influent sur la durée d'élimination (KASTLI, 1966). Par ailleurs, le métabolisme de l'animal peut être plus lent que la normale, ce qui ralentit le rythme d'élimination du médicament de son système. En outre, le recours à une combinaison de médicaments pour traiter un animal peut rallonger la durée d'attente nécessaire pour un médicament en particulier. (MITCHELL, 2005).

Une enquête (SERIEYS et *al.*, 1995) dans des élevage laitiers de l'Ouest de la France a été réalisée pour déterminer les facteurs de risque de pollution du lait par des résidus inhibiteurs. Les risques de pollution étaient multipliés par plus de deux lorsque le trayeur se trompait sur les délais d'attente des spécialités intra-mammaires.

Les systèmes conventionnels, lorsqu'ils ont recours à des traitements préventifs *via* l'alimentation (aliments médicamenteux) exposent les animaux soit, par la contamination croisée des aliments qui contiennent des médicaments, et ceux qui n'en contiennent pas, soit au moment de la fabrication, du transport ou du stockage chez l'éleveur. Ceci peut avoir pour conséquence des effets sur les animaux et la possibilité de retrouver des résidus de médicaments vétérinaires dans les productions. Parce que l'agriculture biologique n'autorise pas les traitements préventifs de groupe, elle réduit ce risque

seulement si les systèmes de production, de fabrication et distribution des aliments biologiques sont bien séparés de la filière conventionnelle (AFSSA, 2003).

5. Transformation du lait et transfert des résidus médicamenteux

Les laits sont testés à l'arrivée des camions en laiterie de façon à contrôler si des contaminations accidentelles ont eu lieu. Ces résidus peuvent causer d'importantes pertes économiques lorsque des lots de produits sont déclassés ou retirés (MITCHELL, 2005).

Au delà des risques pour la santé publique, le déclassement des laits contenant des résidus médicamenteux est aussi dû à l'action inhibitrice des antibiotiques sur le développement normal des levains utilisés en fromagerie (JEPSEN, 1996). Le tableau 12 indique les taux approximatifs auxquels quelques antibiotiques inhibent certains levains.

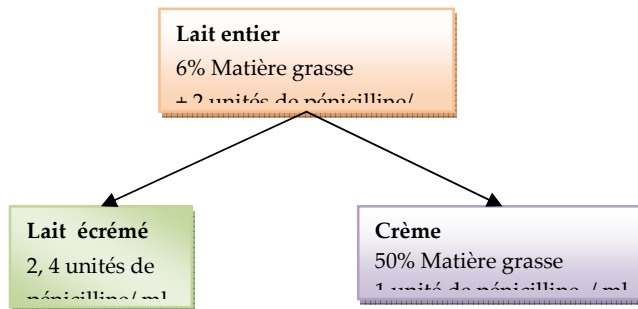
Tableau 12: Taux auxquels quelques antibiotiques inhibent les levains dans le lait

Antibiotique	Début d'inhibition (quantité/ml)	Inhibition totale (quantité/ml)
Pénicilline (unités)	0,05	0,1
Chlortétracycline (µg)	0,02	1,0
Oxytétracycline (µg)	0,01	2,0
Chloramphénicol (µg)	0,20	10
Streptomycine (µg)	0,04	10

Source : JEPSEN, 1996

Les antibiotiques suivent la phase aqueuse du lait. En effet, après avoir écrémé du lait entier contaminé par les antibiotiques, on trouve une plus forte concentration de médicament dans le lait écrémé et une concentration moindre dans la crème. (Schéma 5) Concernant la stabilité de la pénicilline, elle est maximale aux environs du pH normal du lait, et la pasteurisation influe peu l'altération de ce médicament. De même un chauffage momentané du lait n'altère pas l'activité biologique des tétracyclines, du chloramphénicol, ni de la streptomycine. De plus, des antibiotiques actifs ont déjà été décelés dans le fromage, le beurre et le lait en poudre préparé par atomisation (JEPSEN, 1996).

Schéma 6 : récapitulatif des transferts de pénicilline dans un lait entier vers un lait écrémé (d'après JEPSEN, 1996)



C. Prophylaxie et soin vétérinaire utilisés en Agriculture biologique.

Les traitements thérapeutiques privilégiés en cas de maladies sont la phytothérapie, l'aromathérapie, l'homéopathie et la métallothérapie (AFSSA, 2003).

1. La Phytothérapie

La phytothérapie désigne le traitement par les plantes utilisées en nature ou sous forme de poudre ainsi que leurs préparations : sucs, tisanes, teintures mères, extraits, etc. (AFSSA, 2003).

Il est bien connu que les plantes peuvent présenter des propriétés pharmacologiques et les effets peuvent être toxiques. Les vétérinaires sont souvent confrontés à des intoxications accidentelles par les plantes. Il peut être intéressant de s'interroger sur la présence de résidus provenant des plantes dans les produits animaux ou issus d'animaux, comme le lait. D'un point de vue réglementaire, cette question a déjà été prise en compte, car les produits phytothérapeutiques doivent se conformer à la réglementation européenne en matière de résidus. Ainsi, une liste de plantes accompagnée de leurs conditions d'emploi a été élaborée. (AFSSA, 2003).

2. Médecine utilisée en agriculture biologique et transferts dans le lait : élément de connaissance

L'homéopathie est une méthode thérapeutique qui repose sur la dilution. Les concentrations en matière active dans les granules administrées aux animaux sont quasi nulles. Il n'y a donc pas de trace possible de résidus homéopathiques dans le lait (HEITZ, 2010, communication personnelle).

Concernant les plantes phytopharmaceutiques et surtout les huiles essentielles (aromathérapie) il y a effectivement passage dans le lait, et beaucoup d'études sur des humains sont réalisées. De nombreuses huiles essentielles, et même certaines plantes sont interdites aux femmes allaitantes. En élevage bovin, on sait que des éléments aromatiques issus de l'huile essentielle d'ail passent dans le lait car après traitement, les veaux refusent de boire le lait de leur mère. Les huiles essentielles à phénols en général provoquent des problèmes de caillé pour les fromages (HEITZ, 2010, communication personnelle).

D. Conclusion

Les études sur les contaminations des laits biologiques par les résidus de médicaments vétérinaires sont peu nombreuses, mais le règlement concoure à limiter les risques de contaminations.

Les traitements utilisés en phytothérapie et aromathérapie doivent être étudiés car des transferts peuvent effectivement avoir lieu de la mamelle vers le lait. Ceci est actuellement en cours d'étude.

Réglementation stricte : Risque quasiment nul de médicaments dans les laits biologiques. Des recherches sur la phytothérapie et les transferts dans le lait doivent être menées.

E. Méthodes d'analyse des résidus médicamenteux

Pour détecter les résidus médicamenteux dans l'alimentation, des techniques microbiologiques ou les « biological assay » sont des méthodes de screening très largement utilisées. Ces méthodes ne distinguent généralement pas les classes d'antibiotiques, mais fournissent une estimation semi-quantitative des résidus totaux détectés (STOLKER et al., 2008).

Les méthodes d'analyses des antibiotiques font toujours l'objet de recherches. Ainsi, BOHM et al. (2009) ont développé une méthode multiple qui permet d'analyser simultanément quarante-sept substances appartenant à différents classes d'antibiotiques (tetracycline, quinolones, macrolide,...). D'après le site internet du gouvernement australien, les méthodes analytiques actuellement disponibles pour déterminer les résidus de médicaments vétérinaires sont les suivantes :

- ❖ « Bioassays ou biological assay »: Cette méthode est largement utilisée en Australie pour évaluer de manière routinière les contaminants médicamenteux dans les urines, le lait et les reins. Cette méthode n'est pas très adaptée à l'obtention de données quantitatives. Il existe également des bioassays spécifiques qui sont utilisés pour quantifier certains antibiotiques.
- ❖ Méthodes instrumentales : comme la GLC (Chromatographie Gaz Liquid) ou HPLC (High-Performance Liquid Chromatography), qui, utilisées avec d'autres détecteurs, peuvent être servir à la fois pour les analyses routinières de la plupart des médicaments vétérinaires mais aussi pour confirmer et quantifier les résidus.
- ❖ Les autres méthodes instrumentales, dont les méthodes spectroscopiques, sont moins utilisées pour quantifier les résidus médicamenteux.

VII. Autres micropolluants

Il existe bien sûr d'autres micropolluants susceptibles de contaminer un lait. Parmi ces autres sources de contamination, on ne peut écarter celle de l'accident. C'est-à-dire un mauvais nettoyage par exemple qui entraîne des résidus de savons ou de lait conventionnels dans un lait biologique. Ceci est en effet arrivé au Canada, comme le relate le site Cyberpress en février 2010: « la certification du lait bio encore en suspens », à cause de la difficulté de certifier des laits biologiques qui sont transportés dans les mêmes camions que les laits conventionnels.

On pourrait également mentionner les risques de contamination liés à la radioactivité de certains sites. Ainsi, l'IFEN (2006 b), dans son rapport sur l'environnement et la santé mentionne que certains mode de vie ont pu contribuer à augmenter les expositions à la radioactivité de certaines personnes, notamment par la consommation de lait de chèvre dans les mois qui ont suivi l'accident de Tchernobyl.

Par ailleurs, les contaminations par les nitrates n'ont pas été développées car elles ont été considérées comme non pertinentes.

Conclusion

Le lait, et les produits dérivés, de part leurs apports nutritionnels sont souvent considérés comme des aliments indispensables pour notre santé. Néanmoins, les caractéristiques physico chimique du lait en font un produit susceptible de contenir de nombreux micropolluants, principalement liposolubles. Ces derniers sont assez nombreux et entre en contact avec les animaux par de nombreuses voies, et l'alimentation est la principale (schéma 6).

Les majeures différences de contamination d'un lait biologique par rapport à un lait conventionnel concernent deux catégories de micropolluants : les pesticides et les phytoestrogènes. Il est effectivement prouvé qu'une plus faible concentration en pesticides, et une plus forte concentration en phytoestrogènes sont retrouvées dans les laits biologiques (tableau 13). Tout ceci s'explique par le cahier des charges, qui interdit l'utilisation de pesticides et privilégie une alimentation à base de légumineuses.

La plupart des contaminations sont inévitables, et les réduire semble impossible. Ainsi, essayer de limiter la pollution en POP n'est pas forcément une priorité puisque les taux sont très faibles et ces polluants sont déjà interdits en France. De même, concernant les produits vétérinaires, le cahier des charges de l'agriculture biologique rend le risque de contamination quasiment nul. Il limite également au maximum les contaminations par les ETM, même si certaines, notamment les contaminations historiques semblent difficilement évitables.

En revanche, il est davantage possible de jouer sur la teneur en mycotoxines, phytoestrogènes et pesticides qui sont principalement apporté par l'alimentation et donc contrôlables par l'homme. En effet, l'éleveur peut surveiller ses fourrages et respecter aux mieux les « Bonnes Pratiques Agricoles ». Concernant les phytoestrogènes, on sait que la concentration en trèfles violet à une influence non négligeable sur la teneur finale en substances à effet oestrogénique dans le lait. La teneur final en phytoestrogène étant corrélée à l'alimentation, elle est facilement modulable,

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des micropolluants

tout dépend des teneurs et phytoestrogènes désirés. En effet, il faut rappeler que les phytoestrogènes ne sont pas que nocifs pour la santé puisqu'ils peuvent présenter de nombreux effets positifs sur les hommes. Cependant les études à leur sujets sont récentes et peu nombreuses. Il serait intéressant d'étudier une alimentation animale permettant d'obtenir un lait dont les concentrations en phytoestrogènes auraient des effets positifs sur la santé humaine.

Enfin, les accidents de contaminations lors du transport des aliments (contamination croisées), sont des pollutions qui peuvent être réduite, notamment par la production d'aliment sur la ferme.

En outre, les taux de transfert des micropolluants d'un lait vers un produit laitier sont également peu documentés. On peut cependant prédire certains transferts de part les propriétés des molécules (schéma 7 et 8).

Tableau 13: Evaluation des risques liés à l'agriculture biologique par rapport au conventionnel

POP	ETM	Pesticides :	Mycotoxines	Phytoestrogènes	Résidus médicamenteux	Autres
Mêmes risques qu'en conventionnel	Mêmes risques qu'en conventionnel	Moins de risques	Mêmes risques qu'en conventionnel	Plus de risques qu'en conventionnel	Moins de risques qu'en conventionnel	Mêmes risques

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des micropolluants

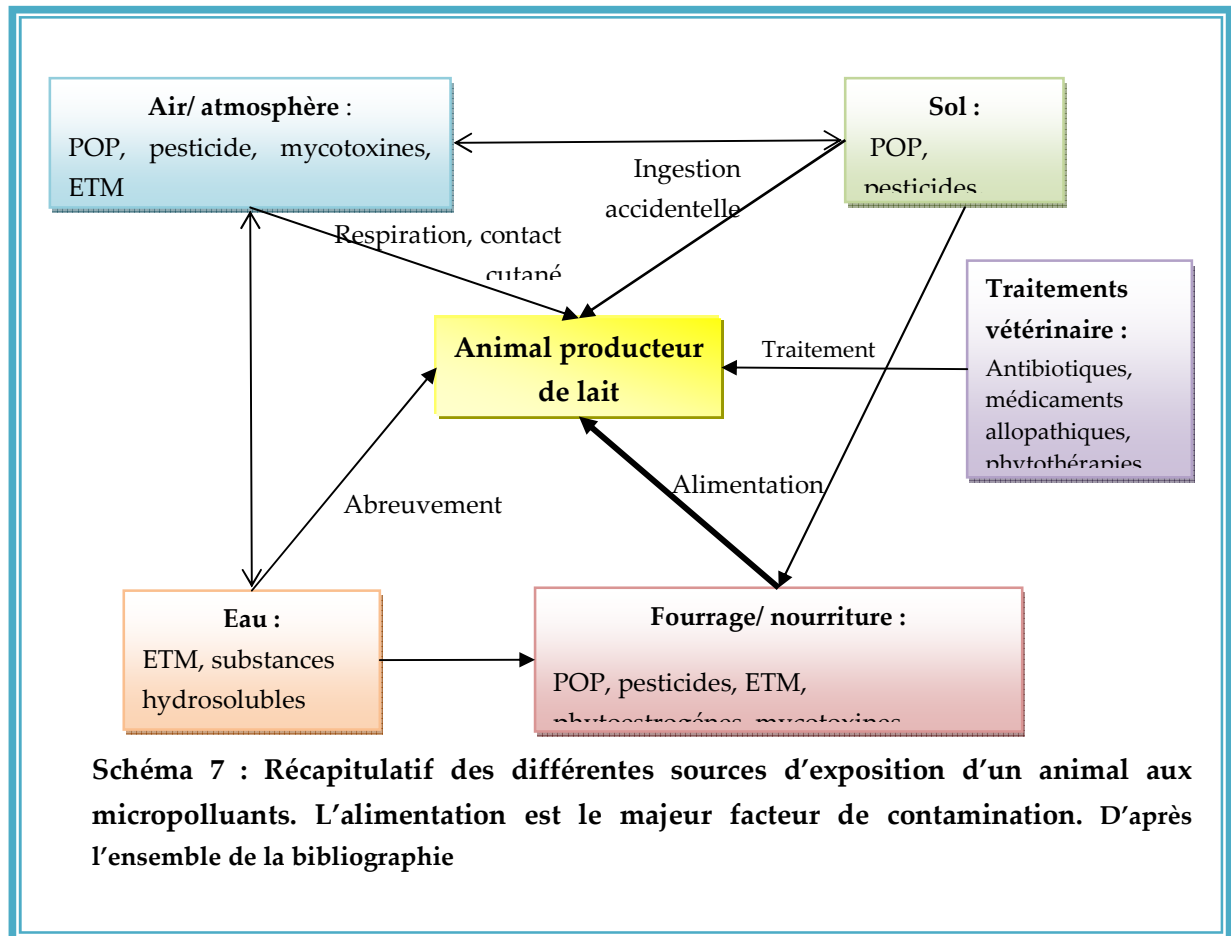


Schéma 7 : Récapitulatif des différentes sources d'exposition d'un animal aux micropolluants. L'alimentation est le majeur facteur de contamination. D'après l'ensemble de la bibliographie

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des micropolluants

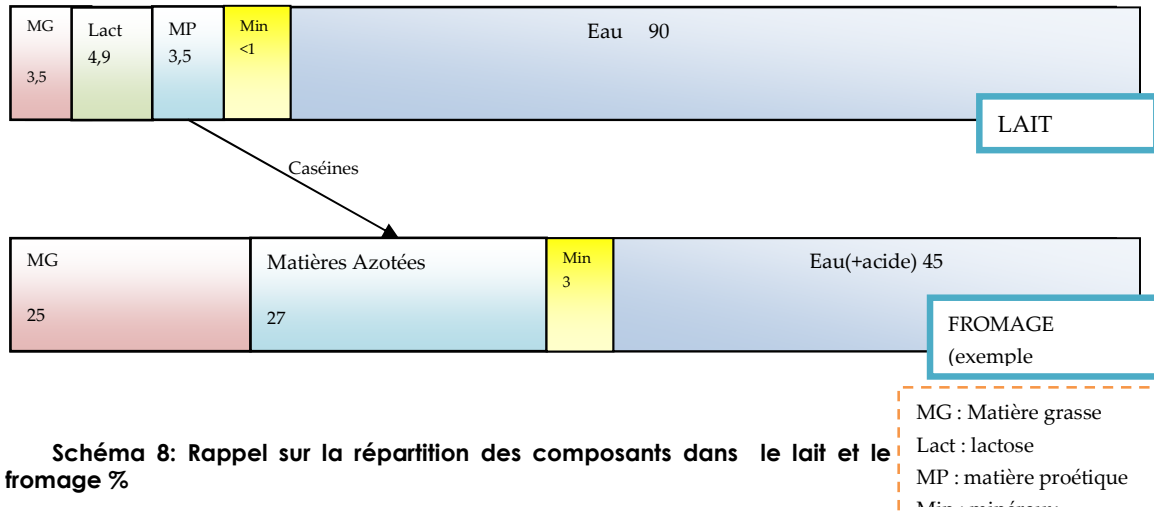
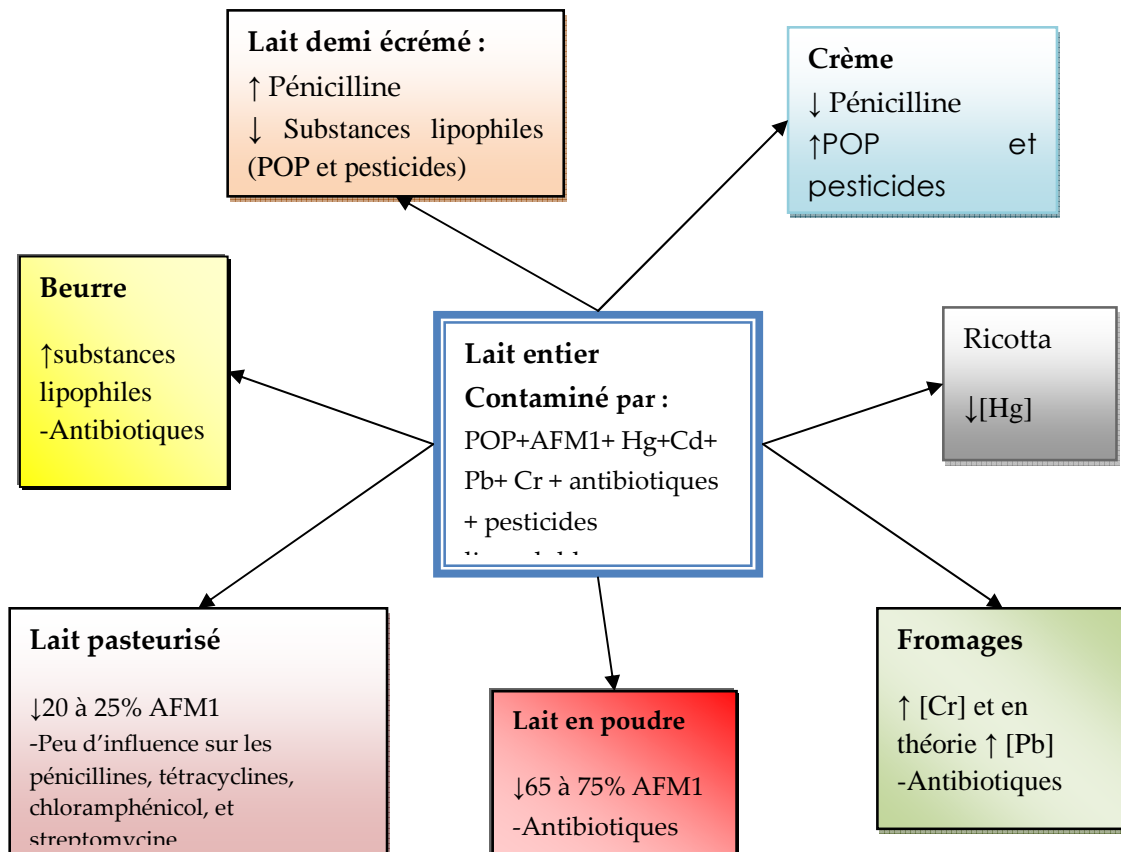


Schéma 9: Synthèse des transferts des micropolluants d'un lait après certains procédés de transformation. D'après l'étude bibliographique



La concentration en Cd ne varie pas depuis un lait jusqu'un fromage. Le Pb et le Cr se lient aux micelles de caséines.

Les substances lipophiles s'accumulent dans la crème et le beurre.

L'AFM1 a tendance à être détruite par les fortes températures, et la transformation en lait en poudre.

Les antibiotiques suivent la phase aqueuse du lait. Un chauffage momentané du lait à 80°C n'altère pas l'activité biologique des pénicillines, tétracyclines, du chloramphénicol, ni de la streptomycine. Des antibiotiques actifs ont déjà été décelés dans le fromage, le beurre et le lait en poudre préparé par atomisation.

PARTIE II : Facteurs de risque liés à l'agriculture biologique et pistes de recherches

A. Analyse des facteurs de risques en AB

Tableau 14: Facteurs agissant sur la contamination des matrices environnementales par les POP, et facteurs agissant sur la contamination de l'animal et du lait. en rouge, les facteurs favorisant les risques de contamination, en bleu les facteurs diminuant les risques (application à l'agriculture biologique). En gras : les facteurs non négligeables.

Matrice contenant les POP et voies d'entrée vers l'animal	Facteurs agissant sur la contamination des matrices	Facteurs agissants sur la contamination de l'animal et ensuite du lait
AIR/ atmosphère/ pluie : respiration contact cutané	- La T°C peut ↑ ou ↓ la contamination de l'air (ex : T°C élevée + air sec = ↑ transports) -Contact avec zone de pollution (routes, zones contaminées ex : usines, feu de forêts...)	- Temps que l'animal passe à l'extérieur (plus l'animal est dehors, plus il a de risque d'être en contact avec l'air contaminé) -Etats physiologique et sanitaire de l'animal (ex : augmentation des concentrations en PCDD/F lorsque la glande mammaire est infectée)
EAU : abreuvement	-Proximité de routes ou zones contaminées (usines, feu de forêts...)	-Etats physiologique et sanitaire de l'animal
SOL : ingestion	- passé de la parcelle (Date de conversion, possible utilisation de pesticides organochlorés avant leur interdiction...) -Proximité de routes ou zones contaminées (usines, feu de forêts...)	- Disponibilité en herbe (les vaches biologiques ont des surfaces de pâturage importante qui réduisent le risque de surpâturage et donc d'ingestion de sol) -Etats physiologique et sanitaire de l'animal

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des micropolluants

FOURRAGE et VEGETAUX : Alimentation	<ul style="list-style-type: none"> -Caractéristique du végétal (rugosité de la feuille ==>↑dépôts) -vent -pluie - T°C (ex : T°C élevée + air sec) ↑transport==> ↓dépôts) -Proximité de routes ou zones contaminées (usines, feu de forêts...) 	-Etats physiologique et sanitaire de l'animal
--	---	---

Tableau 15 : Facteurs agissant sur la contamination des matrices environnementales par les Pesticides, et facteurs agissant sur la contamination de l'animal et du lait. en rouge, les facteurs favorisant les risques de contamination, en bleu les facteurs diminuant les risques . En gras : les facteurs non négligeables.

Matrice contenant les pesticides et voie d'entrée vers l'animal	Facteurs agissant sur la contamination des matrices	Facteurs agissants sur la contamination de l'animal et ensuite du lait
AIR/ atmosphère / pluie: respiration, contact cutané	<ul style="list-style-type: none"> -Météo -proximité d'un lieu utilisant les pesticides -Mode d'application (quantité, périodes de traitement...) -propriétés/ caractéristiques du pesticide 	<ul style="list-style-type: none"> - Temps passé à l'extérieur : plus, l'animal est dehors, plus il a de risque d'être en contact avec les pesticides -Etats physiologique et sanitaire de l'animal -race -stade de lactation
EAU : abreuvement	<ul style="list-style-type: none"> -Propriétés physico chimique et utilisation du pesticide -Emplacement du point d'eau (ex : proximité d'une zone traitée, ruissellement...) 	<ul style="list-style-type: none"> -Etats physiologique et sanitaire de l'animal -race -stade de lactation -qualité de l'eau donnée aux ruminants
FOURRAGE et VEGETAUX : ingestion	<ul style="list-style-type: none"> - Contact avec pluie / brouillard contaminé -Proximité d'un lieu de traitement -contamination croisée 	<ul style="list-style-type: none"> -Etats physiologique et sanitaire de l'animal -race -stade de lactation

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des micropolluants

	<p>-Transport -Stockage -Contamination technologique sur chaîne de fabrication -environnement (nature du sol, topographie...)</p>	
--	---	--

Tableau 16: Facteurs agissant sur la contamination des matrices environnementales par les ETM, et facteurs agissant sur la contamination de l'animal et du lait. en rouge, les facteurs favorisant les risques de contamination, en bleu les facteurs diminuant les risques. En gras : les facteurs non négligeables.

Matrice contenant les ETM et voies d'entrée vers l'animal	Facteurs agissant sur la contamination des matrices	Facteurs agissants sur la contamination de l'animal et ensuite du lait
AIR / atmosphère/ pluie: respiration contact cutané	-Proximité d'une zone émettrice	- Temps passé à l'extérieur : plus, l'animal est dehors, plus il a de risque d'être en contact avec les ETM
EAU : abreuvement	-Proximité de zones émettrices d'ETM (ex : ferme épandant des boues de station d'épuration) -Tuyaux de canalisation (Pb)	
SOL : ingestion	-passé de la parcelle (épandage de boues ou fertilisant minéral) -Proximité de zones émettrices	- quantité d'herbe à pâturer - Temps passé à l'extérieur

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des micropolluants

FOURRAGE et VEGETAUX : Alimentation	-Caractéristique du végétal: espèce cultivé et variété (alimentation des vaches biologiques moins susceptible d'être contaminée par Cd) -pH du sol -type de sol	-biodisponibilité de certains ETM (notamment le Cd) - âge de l'animal (animal âgé est plus sujet aux contamination en Cd) -Plus faible productivité en agriculture biologique (Un animal à forte productivité est plus sujet aux contaminations en Cd)
--	--	---

Tableau 17: Facteurs agissant sur la contamination des matrices environnementales par les phytoestrogènes, et facteurs agissant sur la contamination de l'animal et du lait. En rouge, les facteurs favorisant les risques de contamination, en bleu les facteurs diminuant les risques. En gras : les facteurs non négligeables.

Matrice contenant les phytoestrogènes et voie d'entrée vers l'animal	Facteurs agissant sur la contamination des matrices	Facteurs agissants sur la contamination de l'animal et ensuite du lait
FOURRAGE et VEGETAUX : ingestion	- Plantes composant le fourrage (ex : les légumineuses ont des taux en phytoestrogènes importante, tout particulièrement le trèfle rouge) -Stade de maturité (ex : ray-grass comporte des teneur en phytoestrogène surtout durant les premiers stades de germination et de la croissance des végétaux). -partie de la plante (Les céréales contiennent des lignans majoritairement au niveau de l'aleurone)	-non documenté

Tableau 18 : Facteurs agissant sur la contamination des matrices environnementales par les mycotoxines, et facteurs agissant sur la contamination de l'animal et du lait. En rouge, les facteurs favorisant les risques de contamination, en bleu les facteurs diminuant les risques. En gras : les facteurs non négligeables.

Matrice contenant les mycotoxines voie d'entrée vers l'animal	Facteurs agissant sur la contamination des matrices	Facteurs agissants sur la contamination de l'animal et ensuite du lait
AIR : respiration	-Poussière provenant de fourrage	- Temps que l'animal passe à

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des micropolluants

	contaminé -Cloisonnement du milieu	l'extérieur : plus l'animal est à l'extérieur moins il a de risques de respirer les poussières
FOURRAGE et VEGETAUX : ingestion	<ul style="list-style-type: none"> -condition de récoltes - Type de fourrage (ensilage ou foin...) - espèces végétales - saison -conditions de stockage : conditions hydro-thermiques avant et lors de la conservation, degrés de confinement -technique de récolte (terre, débris végétaux..) -Etat sanitaire de la culture précédente -conditions météorologique -teneur en eau du fourrage -température -pas d'utilisation de fongicide 	<ul style="list-style-type: none"> -Alimentation (fourrage riche en glucides souvent davantage utilisé en conventionnel est plus sujets à la contamination) - Conditions animal (Etat du rumen et de la flore ruminale : les vaches biologiques auraient + de protozoaires qui dégradent les mycotoxines) -Plus faible production laitière (les vaches produisant moins sont moins sujettes aux contaminations)

Les recherches bibliographiques effectuées nous amènent à distinguer trois types de pollutions et deux grands facteurs influant la contamination des laits par les micropolluants.

Tout d'abord, la **pollution globale**, c'est-à-dire liée à l'environnement générale, à l'échelle de la planète. Cette pollution est difficilement contrôlable. La deuxième concerne la **pollution du voisinage**, c'est-à-dire liée à l'environnement proche de l'exploitation laitière, plus facilement maîtrisable. Enfin, la dernière pollution concerne l'éleveur et ses pratiques, beaucoup plus maîtrisable, on peut la nommer **pollution individuelle**.

Par ailleurs, on peut aussi caractériser le risque de pollution en croisant les facteurs qui vont agir directement sur les contaminations des matrices (eau, air, alimentation, sol), et les facteurs liés à l'animal (état sanitaire, mode d'élevage,...), qui vont agir sur la contamination du lait (tableaux 13, 14, 15, 16 et 17).

En croisant ces facteurs de pollution, les types de pollution, et les effets des micropolluants, on peut constater que les micropolluants qui semblent les plus maîtrisables sont par ordre d'importance, les pesticides, les mycotoxines et les phytoestrogènes. Ainsi, les résidus de médicaments vétérinaires ne représentent pas un risque important en agriculture biologique, non seulement puisqu'ils sont très peu utilisés, très réglementés, (les temps d'attente avant la

commercialisation du lait sont doublés par rapport à l'agriculture conventionnelle), et qu'avant toutes transformations laitière, des tests inhibiteurs sont effectués sur les laits.

D'après les tableaux 13, 14, 15, 16 et 17 synthétisant les facteurs de risques liés à l'environnement et à l'animal en agriculture biologique, on peut noter de grandes caractéristiques qui agissent sur la contamination des laits en agriculture biologique : la première concerne le temps que l'animal passe à l'extérieur. Ce temps augmente la probabilité qu'il soit en contact par la respiration, la peau, l'alimentation (ingestion d'herbe ou de sol) avec tous les micropolluants transportés par l'air et les pluies, et déposés ou non sur les sols et végétaux. Ainsi ces contaminations dépendront largement de la localisation de la ferme. Par exemple, les fermes biologiques auront un air, une eau, des parcelles plus ou moins contaminés en fonction de leur emplacement par rapport à des zones émettrices en micropolluants (dioxines, HAP, pesticides, ETM,...). La proximité d'un lieu émetteur de micropolluants est en effet le facteur principal jouant sur la contamination (en certains micropolluants) de l'air respiré par les animaux, de leur eau d'abreuvement et de leur alimentation. Ainsi, des animaux élevés sur une ferme mixte, en conversion, ou proche d'autres fermes conventionnelles auront un risque de contamination par les pesticides ou les métaux lourds (si la ferme utilise des engrais minéraux et/ ou des boues de station d'épuration) plus important, toutes les matrices étant potentiellement plus sujettes à une contamination.

L'un des deuxièmes facteurs de risques qui semble se distinguer représente les contaminations croisées lors du stockage, des transports, et des transformations technologiques, celles-ci pouvant être caractérisées de pollution individuelle ou voisinage, elles sont maîtrisables.

Le cahier des charges de l'agriculture biologique favorise également les contaminations par les phytoestrogènes par l'utilisation importante de légumineuses dans la ration des vaches laitières. Par ailleurs, même si on ne peut établir de différence en la contamination en mycotoxines dans un lait biologique ou conventionnel, ces micropolluants doivent toujours être très contrôlés. Cependant, la moins forte productivité des animaux et le bon état sanitaire et physiologique des animaux permettent de diminuer la teneur en micropolluant du lait. Par ailleurs, les surfaces allouées aux animaux sont importantes en agriculture biologique, ce qui pourrait limiter le

surpâturage et l'ingestion de sol. Le temps passé à l'extérieur semble aussi limiter le contact avec des poussières propres aux bâtiments (mycotoxines, peintures, produits d'entretien...).

Beaucoup de facteurs sont non maîtrisables : température, proximité de certaines zones de pollution, passé de la parcelle, type de sol, topographie, altitude,... Ou bien les polluants sont issus de pollutions globales, comme les POP. C'est pourquoi, un très large pourcentage des contaminations est inévitable. Les seuls facteurs sur lesquels l'éleveur semble pouvoir agir sont :

- ❖ Les contaminations croisées, durant les transports, les stockages ou la transformation des aliments, traçabilité des aliments importés. (But : limiter les résidus de pesticides, plus particulièrement insecticides de stockage)
- ❖ La qualité de l'eau d'abreuvement. (But : limiter les teneurs en pesticide, POP, ETM).
- ❖ Pouvoir apprécier les risques de contamination par les dioxines ou autres POP (notamment éviter que le troupeau respire des fumées toxiques occasionnelles engendrées par exemple par des feux de forêts, ou des combustions de bâche ou pneu illégale). (But : limiter les teneurs en certains POP).
- ❖ Suivre au mieux les Bonnes pratiques agricoles et surveiller continuellement la qualité du fourrage distribué. (But : limiter le développement des mycotoxines).
- ❖ Maintenir des animaux en santé optimum. (But : limiter le passage des micropolluants dans le lait).
- ❖ Eviter absolument le surpâturage (But : diminuer l'ingestion de sol contaminé par POP, pesticides, métaux lourds).

B. Pistes à intéressantes à approfondir en AB

A partir de toutes ces réflexions, les pistes qui semblent intéressantes à approfondir en AB sont les suivantes :

1. Questions découlant de la synthèse bibliographique

Concernant les mycotoxines :

- Comment favoriser les protozoaires du rumen qui dégradent les mycotoxines ? Quelles sont les conditions de développement optimal de ces microorganismes ?
- Evaluer les facteurs de risques de développement de mycotoxine dans l'alimentation.
- Suivre les Bonnes Pratiques Agricoles pour la récolte et le stockage des aliments et vérifier la qualité des fourrages distribués.

Concernant les phytoestrogènes :

- Quel est l'équilibre bénéfices / risques de la concentration en phytoestrogènes de l'alimentation des vaches ? du lait ?
- Evaluer la concentration en phytoestrogènes de certaines légumineuses
- Quelle est la quantité de phytoestrogènes de la composition de l'alimentation des vaches ?
- Comment les phytoestrogènes sont-ils transférés dans les produits dérivés du lait ?

Concernant les POP :

- Apprécier les risques de contaminations pour éviter que le troupeau respire des fumées toxiques occasionnelles
- Eviter au maximum le surpâturage

Concernant les pesticides :

- Limiter les contaminations croisées
- Améliorer la qualité de l'eau d'abreuvement

Concernant les ETM :

- Faire un bilan de micropolluants dans les parcelles avant conversion. Détoxifier les parcelles durant la période de conversion (plantation de plantes exportatrices ou microorganisme).
- Evaluer les risques de pollution de proximité.

2. Proposition d'hypothèses à vérifier :

- ❖ Les vaches ayant davantage de pâtures (ou changeant de parcelle souvent) auront moins tendance à ingérer de la terre (cf étude de Rémi Delagarde à Rennes).
- ❖ Les fermes biologiques mixtes ou en conversion ou non autonomes (lien au sol : pas de production de nourriture sur place : contamination croisée lors du stockage) ou en contact avec

d'autres fermes conventionnelles auront un potentiel de contamination par les pesticides et peut être métaux lourds plus important.

- ❖ Les éleveurs maîtrisant les BPA concernant la production et le stockage des aliments qu'ils donnent à leurs animaux peuvent réduire le risque de contamination en mycotoxine.

C. Autres pistes de recherche

- ❖ La forte concentration en oméga 3 (du fait de l'alimentation herbacée) a-t-elle un effet antagoniste sur la présence de micropolluants dans le lait (via la limitation de l'état inflammatoire de la mamelle) ?
- ❖ Comment un organisme en bonne santé se détoxifie-t-il ? Comment favoriser une voie d'excrétion ? Existe-t-il des dérivations ? Quel est le rôle des antioxydants et des omégas dans la gestion des micropolluants par l'organisme de la vache ?
- ❖ Existe-t-il un lien entre le profil microbien d'un lait et sa concentration en micropolluants ?
- ❖ Quels sont les transferts d'un lait contaminé vers un produit transformé ? Y'a-t-il des techniques qui pourraient permettre de diminuer ces concentrations (flores lactiques) ? quels sont les produits les plus sujets aux contaminations ?
- ❖ Caractériser les autres contaminations possibles entre la ferme et la laiterie, puis lors de la transformation du lait.
- ❖ Innocuité des huiles essentielles vis-à-vis de la qualité du lait (technologique...)

Bibliographie :

ADIB A. ; 2009. Rapport général sur les pesticides dans le lait. Institut de l'élevage. Non publié.

AFSSA ; 2000. Rapport du groupe de travail « alimentation animale et sécurité sanitaire des aliments ».

AFSSA ; 2003. Evaluation nutritionnelle et sanitaire des aliments issus de l'agriculture Biologique.

AFSSA ; 2004. Bonnes pratiques de fabrication de l'ensilage pour une meilleure maîtrise des risques sanitaires.

AFSSA ; 2009. Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale, rapport final.

ALOUNNAS F., FEIDT C., TOUSSAINT H., MARCHAND P., LEBIZEC B., RYCHEN G., JURJANZ S. ; 2010. Polychlorinated Biphenyl and Low Polybrominated Diphenyl Ether Transfer to Milk in Lactating Goats Chronically Exposed to Contaminated Soil. *Environ. Sci. Technol.*, 44, 2682–2688.

ANASTASIO A., CAGGIANO R., MACCHIATO M., PAOLO C., RAGOSTA M., PAINO S., CORTESI M.L. ; 2006. Heavy Metal Concentrations in Dairy Products from Sheep Milk Collected in Two Regions of Southern Italy. *Acta Vet Scand.* , 47, 69–74.

ANTIGNAC J-P. , CARIOU R., LE BIZEC B., CRAVEDI J-P., ANDRE F. ; 2003. Identification of phytoestrogens in bovine milk using liquid chromatography/electrospray tandem massspectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* , 17, 1256–1264.

ANTIGNAC J-P., CARIOU R., LE BIZEC B., ANDRE F. ; 2004. New data regarding phytoestrogens content in bovine milk. *Food Chem.* , 87, 275–281.

BAKER B. P. , BENBROOK C.M. , GROTHIII E. BENBROOK, K. LUTZ. ; 2002. Pesticide residues in conventional, integrated pest management (IPM)-grown and organic foods: insights from three US data sets. *Food Additives & Contaminants: Part A.*, 19, 427 – 446.

BARRO R., REGUEIRO J., LLOMPART M., GARCIA-JARES C. ; 2009. Analysis of industrial contaminants in indoor air: Part 1. Volatile organic compounds, carbonyl compounds, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls. *Journal of Chromatography A.*, 1216, 540–566.

BEACH J., HENNING S. ; 1988. The distribution of Pb in milk and the fate of milk lead in the gastrointestinal tract of suckling rats. *Pediatric research.* , 23, 1-5

BEDOS C., CELLIER P., CALVET R., BARRIUSO E., GABRIELLE B. ; 2002. Mass transfer of pesticides into the atmosphere by volatilization from soils and plants: overview. *Agronomie* 22, 21–33.

BELKACEM N. ; 2007. Les mycotoxines : production et voie de biosynthèse, école nationale vétérinaire de Toulouse. Master 2 recherche.

BERTRAND S., DUHEM K. ; 2004. Transferts de produits phytosanitaires dans le lait : éléments de connaissances. *Renc. Rech. Ruminants.*, 15-22.

BOHM D.A., STACHEL C.S., GOWIK P. ; 2009. Multi-method for the determination of antibiotics of different substance groups in milk and validation in accordance with Commission Decision 2002/657/EC. *Journal of Chromatography A.*, 1216 , 8217–8223.

BOUDRA H. ; 2009. Les mycotoxines dans les fourrages : un facteur limitant insidieusement la qualité des fourrages et les performances des ruminants. *Fourrages.*, 199, 265-280.

BOUDRA H., MORGAVI D.P. ; 2005. Mycotoxin risk evaluation in feeds contaminated by *Aspergillus fumigatus*. *Anim. Feed sci. technol.*, 120, 113-123.

BOUDRA H., BARNOUIN J., DRAGACCI S., MORGAVI D. P. ; 2007. Aflatoxin M1 and Ochratoxin A in Raw Bulk Milk from French Dairy Herds. *American Dairy Science Association. J. Dairy Sci.* 90:3197–3201.

BROSSARD L., MARTIN C., CHAUCHEYRAS-DURAND F., MICHALET-DOREAU B. ; 2004. protozoa involved in butyric rather than lactic fermentative pattern during latent acidosis in sheep, *reprod. Nutr. dev.*, 44, 195-206.

CHAHIN A., GUIAVARCH Y. P., DZIURLA M. A., TOUSSAINT H., FEIDT C., RYCHEN G.; 2008. 1-Hydroxypyrene in Milk and Urine as a Bioindicator of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Exposure of Ruminants. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 1780-1786.

COMMISSION ECONOMIQUE DES NATIONS UNIES POUR L'EUROPE.; 1998. Protocole d'Aarhus sur les Polluants Organiques Persistants, Genève, 73p.

CRINNION W. J. 2010. "Organic Foods Contain Higher Levels of Certain Nutrients, Lower Levels of Pesticides, and May Provide Health Benefits for the Consumer." *Alternative Medicine Review* 15, no. 1: 4-12.

DGCCRF ; 2001. Bilan des recherches de résidus de pesticides dans le secteur de l'alimentation animale en 2001.

DGCCRF ; 2003. Recherche de substances indésirables en alimentation animale pour l'année 2003.

DUQUESNOY N. ; 2005. Les substances naturelles à effet oestrogénique dans l'alimentation des ruminants : revue de la littérature. *Ann. Méd. Vét.*, 2005, 149, 202-212.

DURAND B., DUFOUR B., Fraisse D., Defour S., Duhem K., Le-Barillec K. ; 2007. Levels of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in raw cow's milk collected in France in 2006. *Chemosphere* 70, 4, 689-693.

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE DES MINES DE SAINT-ETIENNE, 1997. Méthodes spectrométriques d'analyse et de caractérisation, Dossier Sam les métaux lourds.

FAO ; 2000. Food safety and quality as affected by organic farming. Paper read at 22nd FAO Regional Conference for Europe, at Porto, Portugal.

FEIDT C., GROVA C., CREPINEAU C., LUTZ S., RYCHEN G. ; 2002. Transfert des hydrocarbures aromatiques polycycliques chez le ruminant laitier- Approche méthodologique et résultats préliminaires. *Rencontre recherche Ruminants*. 343-345.

FRIES G.F., PAUSTENBACH D.J., MATHER D.B., LUKSEMBURG W J. ; 1999. A congener specific evaluation of transfer of Chlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans to milk of cows following ingestion of Pentachlorophenol-Treated Wood. *Environ. Sci. Technol.*, 33, 1165-1170.

FRISSUR C, MAITHE E., KERAVAL C. ; 2007. Etats des lieux de la teneurs en résidus de pesticides dans les produits biologiques bruts et de première transformation issus des grandes cultures , Synabio programme qualité des produits issus de l'agriculture biologique.

FSA ; 2001. Survey of milk for mycotoxins. UK Food Standards Agency 17, 01.

GALTIER P., ALVINERIE M. (1976) : "in vitro transformation of ochratoxin A by animal microbial floras", Ann. rech. vétér., 1.

GAZZOTTI, T., STICCA, P., ZIRONI, E., LUGOBONI, B., SERRAINO, A., & PAGLIUCA, G. (2009 Feb). Determination of 15 Organophosphorus Pesticides in Italian Raw Milk. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 82, p. 251-254.

GHIDINI S., ZANARDI E., BATAGLIA A., VARISCO ., FERRETI E., CAMPANINI G., CHIZOLINI R. ; 2004. Comparison of contaminant and residue levels in organic and conventional milk and meat products from Northern Italy. Food Additives and Contaminants, 22, 1, 9–14.

GNBCA (Gouvernement du Nouveau-Brunswick, Canada). ; 2000. Guide d'alimentation des vaches en lactation et des vaches taries.

GONZALEZ-RODRIGUEZ M. J., ARREBOLA LIEBANAS F. J, GARRIDO FRENICH A. MARTINEZ VIDAL J. L. SANCHEZ LOPEZ F. J. ; 2005. Determination of pesticides and some metabolites in different kinds of milk by solid-phase microextraction and low-pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry. Anal Bioanal Chem 382: 164–172 .

GROVA N., LAURENT C., FEIDT C., RYCHEN G., LICHTFOUSE E. ; 2000. Gas chromatography-mass spectrometry study of polycyclic aromatic hydrocarbons in grass and milk from urban and rural farms. Euro. J. Mass Spectrom., 6, 457- 460.

GROVA, N., FEIDT, C., MONTEAU, F., Le BIZEC, B., RYCHEN, G. ; 2008 . Transfer of phenanthrene and its hydroxylated metabolites to milk, urine and faeces Polycyclic Aromatic Compounds, 28 ,2, 98-111.

HOIKKALA, A., E. MUSTONEN, I. SAASTAMOLNEN, T. JOKELA, J. TAPONEN, H. SALONIEMI, AND K. WAHALA. 2007. High levels of equol in organic skimmed Finnish cow milk. Mol. Nutr. Food Res., 51,782–786.

AMELIORATION DE LA QUALITE DES LAITS BIOLOGIQUES : caractérisation des
micropolluants

IFEN (Institut Français de l'Environnement) ; 2006. Les pesticides dans les eaux . données 2003 et 2004 .numéro 05

IFEN ; 2006(b). Environnement et santé, les synthèses.

INRS (Institut National de la Recherche et de la Sécurité) ; 2007. Fiche toxicologique. Biphényles chlorés .FT 194. 1-5.

INSTITUT DE L'ELEVAGE ; 2010. L'épandage des boues d'épuration sur prairies en élevage laitier guide pratique collection synthèse.

JEĽENA Z. ; 2007. The evaluation of organic milk quality. Summary of doctoral thesis, university of agriculture, Jelgava .

JEPSEN A. ; 1966. Les résidus de désinfectants et d'antibiotiques dans le lait. Hygiène du lait Mesure à prendre au stade de la production, du traitement et de la distribution, organisation mondiale de la santé série de monographie. , 48, 457-464.

JOUANY JP., YANNIKOURIS A., BERTIN. G.; 2009. Risk Assessment of **mycotoxins** in ruminants and ruminant products. Option Mediterranean, nutritional and foraging ecology of sheep and goats. , 85, 205-225.

KAMMERER M ., LE BIZEC B., 2009. Les dangers chimiques liés aux denrées alimentaires, photocopié d'enseignement ENVN, UV75, 4, 50 pp.

KASTLI P. ; 1966 . Centre wallon de recherche agronomique, rapport d'activité 2003-2004.Les antibiotiques dans le lait ., 139-144

KECK G. ; 1998. Contamination des vaches laitières par les dioxins : implications environnementales et sanitaires Toxicologie des ruminants. Point vét., 29 (numéro special)., 1337-1343

KHAN, M,A, Novak, A,F, Rao, R,M. ; 1976. Polychlorinated biphenyls-their impact on man and environment. Analab, INC. Research notes., 16,1, 1-15.

KIMBROUGH, R,D.; 1988. Polychlorinated biphenyls: how do they affect human health?. Health & environment DIGEST., 2,7, 1-3.

KLASSEN C.D., WATKINS J.B. ; 2003. Essentials of toxicology Casarett and Doull's. USA : The McGraw-Hill Companies

KÖPPEN R., Koch M., Siegel D., Merkel S., Maul R., Nehls I.; 2010. Determination of mycotoxins in foods: current state of analytical methods and limitations. Appl Microbiol Biotechnol., 86, 1595–1612

KOUBA M. ; 2002. Qualité des produits biologiques d'origine animale ; INRA Prod. Anim., 15, 3, 161-169.

KUANG Z., MC CONNELL L., TORRENTS A., MERITT D., TOBASH S. ; 2003. Atmospheric deposition of pesticides to an agricultural watershed of Chesapeake bay, Journal of Environmental Quality.

LAPOLE D., RYCHEN G., GROVA N., MONTEAU F., LE BIZEC B., FEIDT C. ; 2007. Milk and Urine Excretion of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Their Hydroxylated Metabolites After a Single Oral. J. Dairy Sci., 90, 6, 2624–2629.

MALMAURET L., PARENT-MASSIN D., HARDY J., VERGER P. ; 2002 . Contaminants in organic and conventional foodstuffs in France', Food Additives & Contaminants: Part A., 19, 6, 524 – 532.

MITCHELL M. ; 2005. Détection des résidus d'antibiotiques dans le lait de chèvre.

MOCQUOT G. ; 1998. Antibiotique en agriculture, compte rendu du 5^{ème} symposium du groupe européen de nutritionniste à Jouy- en –Josas, commentaire sur la présence d'antibiotiques dans le lait. BASEL New York .,156-158

MORGAVI D.P., BOUDRA H., JOUANY J.P., MICHALET-DOREAU B. ; 2004. Effect and stability of gliotoxin, an *Aspergillus fumigatus* toxin, on in vitro rumen fermentation . Food Addit. contam., 21, 871-878.

NATION UNIES. ; 2001. Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants. Genève. 63p.

NICOLAS J. A., CARASSUS P., ALLAIRE S. ;1974. Les pesticides organochlorés dans les laits de la Haute-vienne au printemps 1974. le lait /septembre-octobre ., 548, 544-551.

OLSSON I-M, JONSSON S., OSKARSSON A.; 2001. Cadmium and zinc in kidney, liver, muscle and mammary tissue from dairy cows in conventional and organic farming. The Royal Society of Chemistry, *J. Environ. Monit.*, 2001, 3, 531–538.

PARDIO V. T., WALISZEWSKI K. N. , LANDI'n L. A. Bautista R. G. ; 2003. Organochlorine pesticide residues in cow's milk from a tropical region of Mexico. *Food Additives and Contaminants*, Vol. 20, No. 3, 259–269.

PNUE, OIT, FAO, OMS, ONUDI, UNITAR, OCDE . ; 2007 .Guide pour l'Analyse des Polluants Organiques Persistants (POP) PNUE Substances Chimiques.

PURUP S., HANSEN-MØLLER J., SEJRSEN K. ;2005 . Increased phytoestrogen content in organic milk and the biological importance, newsletter from Danish research center for organic milk, 2.

REGLEMENT (CE) No 889/2008. Journal officiel de l'UE .

REGLEMENTS (CE) N°834/2007 et 889/2008 Synthèse réglementaire Mode de production biologique des bovins en élevage laitier

RYCHEN G., DUCOULOMBIER-CRÉPINEAU C., GROVA N., JURJANZ S., FEIDT C.. 2005; Modalités et risques de transfert des polluants organiques persistants vers le lait. *INRA Prod. Anim.*, 18 ,5, 355-366.

SAFE S. ; 1984. Critical Review in Toxicology, polychlorinated biphenyls (PCBs), and polybromated Biphenyl (PBBs): biochemistry, toxicology, and mechanism of cation., 13 ,4, 319-369.

SERIEYS F., MEFFE N., BERNYF., LOPEZ C., BARATON Y. ; 1995 . Facteurs de risque de pollution du lait par les résidus inhibiteurs associés au traitement des mammites. *Renc. Rech. Ruminants.*, 2, 205-210.

SKAUG MA. ; 1999. Analysis of Norwegian milk and infant formulas for ochratoxin A. *Food Additives & Contaminants* ., 16, 2, 75-78.

SRAÏRI MT. , HASNI ALAOUI I. , HAMAMA A., FAYE B., ; 2004. Qualité physico-chimique et contamination par les antibiotiques du lait de mélange en étables intensives au Maroc *Renc. Rech. Ruminants.*, 2004, 11, 115.

STEINSHAMN H., PURUP S., THUEN E., HANSEN-MØLLER J. ; 2008. Effects of Clover-Grass Silages and Concentrate Supplementation on the Content of Phytoestrogens in Dairy Cow Milk, *J. Dairy Sci.*, 91, 2715–2725 .

STOLKER A. M. , RUTGERS P., OOSTERINK E. , LASAROMS J. J. P. , PETERS J. B. , VAN RHIJN J. A, NIELEN W.F. ; 2008. Comprehensive screening and quantification of veterinary drugs in milk using UPLC–ToF-MS. *Anal Bioanal Chem.*, 391, 2309–2322.

THOMAS G.O., JONES J.L., JONES K.C. ; 2002. Polychlorinated dibenzo-p-dioxin and furan (PCDD/F) uptake by pasture. *Environ. Sci.Technol.*, 36, 2372-2378.

TSIPLAKOU E. , ANAGNOSTOPOULOS C.J., LIAPIS K., HAROUTOUNIAN S.A. , ZERVAS G.; 2010. Pesticides residues in milks and feedstuff of farm animals drawn from Greece *Chemosphere.*, 1-9 .

UNEP ; 2006. Rapport du Comité d'étude des polluants organiques persistants sur les travaux de sa deuxième réunion Additif descriptif des risques présentés par l'hexabromobiphényle.

USDA ; 2006. Pesticide Data Program Annual Summary Calendar Year 2004.

VAN DE VIJVER L P.L. ; 2007. SEMINAR Measuring food quality: concepts, methods and challenges Monday 12th, Tuesday 13th and Wednesday 14th of February 2007 Louis Bolk Institute, Netherlands.

WALKER, K. ; 2000. Cost-comparison of DDT and alternative insecticides for malaria control. *Veterinary Medicine and Entomology.*, 14, 345–354.

WELSCH-PAUSCH K., MACLACHLAN M.S ;1998. Fate of airborne polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in an agricultural ecosystem. *Environ. Poll.*, 102, 129-137.

WELSCH-PAUSCH K., MCLACHLAN M.S., UMLAUF G., 1995. Determination of the principal pathway of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans to lolium multiflorum (Welsh Ray Grass). *Environ. Sci. Technol.*, 29, 1090-1098.

WHOLE FOODS MARKET. ; 2005. Whole Foods Market organic trend tracker. Austin, Tex.: Whole FoodsMarket.

WINTER, C K., DAVIS S F. ; 2006. Scientific status summary – Organic foods. J Food Sci., 71,9, R117-R124.

WOESE K., LANGE D., BOESS C., BÖGL, K.W. ;1997. A comparison of organically and conventionally grown foods – results of a review of the relevant literature. Journal of the Science of Food and Agriculture., 74, 281-293.

WYSS G.S. ; 2005. Assessing the risk from mycotoxins for the organic food chain: results from organic HACCP-project and other research. Research Institute of Organic Agriculture, Ackerstrasse, CH-5070 Frick. Proceedings of the 4th SAFO Workshop, Frick, Switzerland.

Sites internet :

- CITEPA (Centre Interprofessionnel Technique d'Etudes de la Pollution Atmosphérique), a pollution atmosphérique en bref . EMISSIONS DANS L' AIR EN France ; 2010,. [**en Ligne**] disponible sur <http://www.citepa.org/pollution/sources.htm>. Consulté le 28.07.2010
 - DELAVAL. La glande mammaire Anatomie de la glande mammaire [**en Ligne**] disponible sur http://www.delavalfrance.fr/Dairy_Knowledge/EfficientMilking/The_Mammary_Gland.htm consulté le 04.09.10
-
- EPA , Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), Office of Solid Waste Washington, DC 20460 [**en Ligne**] disponible sur <Http://www.epa.gov/wastes/hazard/wastemin/minimize/factshts/pahs.pdf>; Consulté le 28.07.2010
 - EPA (Environment protection agency). ; 2009. Polychlorinated biphenyls (pcbs). [**en Ligne**] Disponible sur <http://www.epa.gov/epawaste/hazard/tsd/pcbs/pubs/about.htm> consulté le 23. 07.10
 - UNEP (United Nations Environment Programme). Chemicals Persistent organic pollutants. [**en ligne**]Disponible sur <http://www.chem.unep.ch/Pops/alts02.html>. Consulté le 30/07.10
 - Ministère de l'environnement Québec, développement durable environnement et parcs, [**en Ligne**] disponible sur <http://www.mddep.gouv.qc.ca/index.asp> consulté le 21.08 ;10

- Australian government, Veterinary drug residue analytical methods **[en Ligne]**
Disponible sur : http://www.apvma.gov.au/publications/guidelines/rgl_26.php
consulté le 25. 08. 10
- INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS), general scientific principles of chemical safety. **[en Ligne]** disponible sur https://apps.who.int/pcs/training_material/module4/table_of_contents.htm Consulté le 01.09.10
- LEGIFRANCE, CODE DE LA SANTE PUBLIQUE **[en ligne]** disponible sur http://www.legifrance.gouv.fr/affichCode.do;jsessionid=73F1D6B26911ED0DB580916886209460.tpdjo10v_2?idSectionTA=LEGISCTA000006171363&cidTexte=LEGITEXT00006072665&dateTexte=20100826 consulté le 26.08.10
- SRPV (service de la protection des végétaux) Surveillance et contrôle des produits phytosanitaires, **[EN Ligne]** disponible sur http://www.srpv-picardie.com/Biblio/FO/frame_bas.asp?id_doc=8&requete_sommaire= consulté le 01.09.10
- CYBERPRESS.CA. Février 2010. La certification du lait encore en suspens **[en ligne]** disponible sur <http://www.cyberpresse.ca/le-soleil/affaires/agro-alimentaire/201002/22/01-954290-la-certification-du-lait-bio-encore-en-suspens.php> consulté le 26.08.10

Bases de données consultées :

- [AGRICOLA](#)
- [Agricultural and Environmental Biotechnology Abstracts](#)
- [AGRIS](#)
- [CAB Direct](#)
- [Environmental Sciences & Pollution Management](#)
- [Medline - PubMed](#)
- [Organic eprint](#)
- [ScienceDirect \(Elsevier Electronic Journals\)](#)
- [Web Of Science](#)

Mots clefs utilisés:

- Laits, micropolluants, contamination, qualité, pesticides, toxines, dioxines, toxicologie, qualité sanitaire, lait biologique, lait conventionnel, mycotoxine, alimentation, mode d'élevage, méthode d'analyse, micro particules, lipophile, hydrophile, hydrocarbure, métaux lourds, santé, taux de contamination, chaîne alimentaire, résidu, médicament, PAH, POP, métabolites, molécules mères, molécules filles, détoxification, taux de transferts, transformation, opération unitaire, exposition, produit chimique, composé, cancérigène, métabolisme, tératogène, xénobiotiques, poison, vaches, élément trace métallique.
- Milk, micro pollutants, contamination, quality, pesticides, toxin, dioxin toxicology, sanitary quality, organic milk, conventional milk, mycotoxin, water soluble, lipophilic, heavy metal, health, hydrocarbon, analysis methods, foodstuff, dioxin, breeding technique, micro particle, contamination rate, food chain, residue, drug, mother molecule, daughter molecules, HAP, POP, metabolite, detoxification, transfer rate, transformation, unit operation, exposure, compounds, chemical, carcinogenic, chemical, metabolism, poisoning, teratogenic, xenobiotic, cow, trace element.