



HAL
open science

Dynamique des usages des récipients plastiques et étude du transfert des bisphénols et phtalates vers les matrices alimentaires

Olivier Songue Same

► To cite this version:

Olivier Songue Same. Dynamique des usages des récipients plastiques et étude du transfert des bisphénols et phtalates vers les matrices alimentaires. Autre. Université de Lille; Université de Ngaoundéré (Cameroun), 2023. Français. NNT : 2023ULILS010 . tel-04576823

HAL Id: tel-04576823

<https://theses.hal.science/tel-04576823>

Submitted on 15 May 2024

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

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



THESE DE DOCTORAT EN COTUTELLE

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR/PhD DE L'UNIVERSITE DE LILLE

Discipline/S spécialité : Chimie théorique, physique, analytique.

&

DOCTEUR/PhD DE L'UNIVERSITE DE NGAOUNDERE

Discipline/S spécialité : Chimie industrielle et environnement.

DYNAMIQUE DES USAGES DES RECIPIENTS PLASTIQUES ET ETUDE DU TRANSFERT DES BISPHENOLS ET PHTALATES VERS LES MATRICES ALIMENTAIRES.

Présenté par :

SONGUE SAME OLIVIER

Soutenue publiquement le 10 Janvier 2023, devant le jury composé de :

M. Charles Péguy NANSEU NJIKI	Professeur, Université de Yaoundé 1	<i>Rapporteur</i>
M. Eric PEYRIN	Professeur, Université de Grenoble	<i>Rapporteur</i>
Mme. Emmanuelle LIPKA	Maître de conférences, Université de Lille	<i>Examinateur</i>
Mme. Henriette ZANGUE ADJIA	Maître de conférences, Université de Ngaoundéré	<i>Examinateur</i>
M. Martin Benoit NGASSOUM	Maître de conférences, Université de Ngaoundéré	<i>Examinateur</i>
M. Richard KAMGA	Professeur, Université de Ngaoundéré	<i>Co-directeur de thèse</i>
M. Benoit DEPREZ	Professeur, Université de Lille	<i>Directeur de thèse</i>

A mon épouse

MINDIGA MBOKE MARIE BLANCHE VANESSA

A ma fille

MASSOKO SONGUE JOYCE GABRIELLA

REMERCIEMENTS

Le présent travail est fruit d'une cotutelle entre l'Université de Ngaoundéré au Cameroun et l'Université de Lille en France. Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail. Je pense :

- A l'Ambassade de France du Cameroun à travers son service d'action culturelle et de coopération (SCAC), pour la bourse de mobilité qu'elle m'a accordée.
- Au Pr. Benoit DEPREZ, Directeur de ce travail, parce qu'il a accepté m'accueillir dans son équipe de recherche. Malgré ses multiples occupations, il a été là pour m'orienter et mettre à ma disposition tout le matériel dont j'avais besoin pour la réalisation de mes travaux.
- Au Pr. Richard KAMGA, Co-directeur de ce travail, merci pour l'encadrement, la rigueur scientifique qu'il m'a inculqué depuis mes travaux de Master. Il se rendait toujours disponible pour m'aider même quand son état de santé se dégradait.
- A l'ensemble des membres du jury qui me font l'honneur d'examiner ce travail.
- Au Recteur de l'université de Ngaoundéré Pr. Florence Uphie CHINJE MELO et à l'ex Président de l'université de Lille Pr. Jean-Christophe CAMART qui ont signé la convention de cotutelle ayant permis la réalisation de mes travaux.
- Aux Pr. Edith FONBANG et Pr. NSO Emmanuel respectivement Directeur et ex-Directeur de l'ENSAI de Ngaoundéré, pour l'accueil dans cet établissement et pour avoir validé les rapports des séminaires internes ayant permis la programmation de ma soutenance de thèse.
- Au comité de directeur du Centre Pasteur du Cameroun (CPC): Dr. Mirdad KANZANJI et, Dr. Sara EYANGO, respectivement Directeur Générale et Directeur scientifique, parce qu'ils ont soutenu mon dossier de bourse et autorisé mes séjours en France afin de réaliser ces travaux de recherche.
- Au Pr. Elisabeth CARNIEL, ex-Directeur du CPC, qui m'a aidé dans l'obtention du laboratoire d'accueil nécessaire pour la bourse SCAC et la réalisation de mes analyses. Merci pour son intervention ayant permis l'augmentation de mon allocation de bourse SCAC, condition indispensable pour être sélectionné à l'université de Lille.
- Aux membres de l'U1177 : Ing. Catherine PIVETEAU, Alexandre BILLA, Nathalie DEKEYNE, Céline LENGART, Dr. Maxime EVEQUE, Dr. Nour Bou KARROUM, Dr. Nicolas KRAUPNER, Pr. Rebecca DEPREZ, Pr. Nicolas WILLAND, Dr Julie CHARTON (MCU), Dr. Marion FLIPO (MCU), pour l'ambiance dans le laboratoire, le partage des connaissances, l'assistance sur certains postes de manipulation et sur les procédures administratives de l'Université de Lille.

- Au Pr. Mohamed LEMDANI, biomathématicien à l'université de Lille, parce qu'il m'a aidé dans le choix et l'interprétation des résultats des plans d'expériences de ce travail.
- Aux enseignants du département de CIE de l'ENSAI de Ngaoundéré : Pr. Joseph SIELIECHI, Dr. Martin Benoit NGASSOUM (MCU), Dr. Jean Baptiste BIKE MBAH (MCU), Dr. Henriette ADJA (MCU), Dr. Inna SAMMONSA (CC), pour la connaissance partagée en séminaire, et les orientations données pour améliorer ce travail.
- A M. François DELCROIX de scolarité de l'Ecole doctorale de biologie-Santé de l'université de Lille, parce qu'il s'est porté garant sur ma maîtrise de l'anglais, permettant que j'obtienne huit crédits à travers le « Summer course ». Merci pour cette considération.
- A mes parents, M. SAME Gaspard et Mme SAME Victorine, pour leur amour et leur soutien. En gardant ma fille, ils me permettaient de me concentrer sur mes travaux de thèse.
- A NDJOKE SAME Cyrille mon frère et MOUTO SAME Marcelle Rose, ma sœur pour leur assistance dans la réalisation de l'enquête et les multiples interventions pour l'envoi des documents pendant mes différents séjours en France.
- A ma belle-famille et à ma famille : Mme MBINE Véronique, M. MBOKE Bernard, M. SAME Albert, Abbé BOGAN Martin, M. SOPPO Silvestre, DIWOU Gérardin, Mme NJOYA Aziza, pour leur contribution dans l'enquête effectuée et leurs soutiens multiformes.
- A mes amis : LOBE Rodrigue, Mlle MEDJANE Adeline, Dr. NGOLONG Legrand, Dr. ABDYOU Jean Pierre, Dr. NOBOSSE pierre, Dr. NKOUDOU Nardis, Mlle ABANDA Marylyn's, et TCHINDA Bruno pour la relecture du manuscrit et les interventions dans le suivi de mes dossiers administratifs de l'université de Ngaoundéré.
- A mes collègues du CPC : Ing. Carot LEMO, NKENGUE Reine, NOMO Honoré, Mme TASSE Schneider, Mlle EKEE hortence, Dr. Ariane NZOUANKEU, Narcisse DJIOLIO, ZIEM Olivier, NGAH Joëlle, pour leurs encouragements et pour avoir maintenu les activités de service pendant mes absences.
- A mes camarades de la première promotion des Ingénieurs CIGE : Mme POKEP TCHOUAMOU Linda, TEUPE Cyrille, Mme MBAN'G Bondelle et Isaac BAHANACK pour leur contribution dans la réalisation de l'enquête du présent travail.
- A mes camarades de CIE de l'ENSAI : Dr. TSATSOP Roli, Dr. DJOBIE Gertrude, Dr. BENESSOUBO KADA Danielle qui m'ont encouragé à finir mon PhD et n'hésitaient pas à m'orienter quand je les sollicitais.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	ii
TABLE DES MATIERES	iv
LISTE DES FIGURES	vii
LISTE DES TABLEAUX	viii
LISTE DES ABREVIATIONS	x
LISTE DES UNITES	xii
PUBLICATIONS	xiii
INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	6
I.1. Synthèse des polymères : Procédés et formulations.....	7
I. 1.1.Définitions : Plastiques, Polymère.....	7
I.1.2.Procédés de production des plastiques	7
I. 1.3. Formulations et désignation : Classification des matières plastiques.....	11
I.2. Les additifs utilisés dans la formulation des plastiques.	15
I.2.1.Les retardateurs de flamme.....	15
I.2.2.Les pigments.....	15
I.2.3.Les charges	15
I.2.4.Les stabilisateur UV	16
I.2.5.Les plastifiants	16
I.3. Les récipients non alimentaires utilisés dans l'alimentation	17
I.4.Les bisphénols et les phtalates : Structures, effets et réglementations.....	19
I.4.1. Les bisphénols	19
I.4.2 Les phtalates	22
I.5. Contamination des aliments par les bisphénols et les phtalates	23
I.5.1.Contrôle de la qualité des emballages : Etude du relargage	23
I.5.2.Contrôle qualité des aliments : Influence des paramètres	27
I.6.Méthode d'analyse des bisphénols et des phtalates dans les aliments.	31
I.6.1.L'analyse des bisphénols : Extraction, purification et quantification	31
I.6.2.L'analyse des phtalates : Extraction, purification et quantification.	34
I.6.3.La dérivation en LC-MS/MS	36
I.7. Mise au point d'une méthode d'analyse.....	37
I.7.1.Normalité et linéarité d'une méthode	37
I.7.2.La précision d'une méthode.....	38

I.7.3. Détermination de l'erreur systématique ou biais	38
I.7.4. Détermination de l'erreur aléatoire ou test de fidélité	39
I.7.5. Détermination du pourcentage d'erreur globale.	40
I.7.6. Détermination de la sensibilité et la capacité de détection	40
I.7.7. Détermination de la spécificité et l'effet matrice	41
I.8. Etude cinétique de libération des composés des matières plastiques	41
I.8.1. Influence des paramètres	41
I.8.2. Les modèles cinétiques	43
I.9. Les plans d'expériences	44
I.9.1. Le criblage des facteurs : Plan de Plackett-Burman	46
I.9.2. Les plans factoriels complets	47
I.9.3. Les surfaces de réponses : Plans composites à faces centrées	48
I.9.4. La validation des modèles	49
CHAPITRE II: ENQUETE SUR L'UTILISATION DES RECIPIENTS ALIMENTAIRES ET NON ALIMENTAIRES	50
II.1. Introduction	51
II.2. Matériel et méthodes	51
II.2.1. Recherche des types de matières plastiques et leurs origines.	51
II.2.2. Recherche des modes d'utilisation des récipients plastiques	52
II.3. Résultats et discussion	55
II.3.1. Types de matières plastiques et leurs origines	55
II.3.2. Les modes d'utilisation des récipients plastiques dans les ménages	58
II.3.3. Les modes d'utilisation des récipients plastiques dans les beignetiariats	72
II.3.4. Limites de l'étude et difficultés rencontrées	73
Conclusion partielle	74
CHAPITRE III : MISE EN PLACE DE METHODES D'ANALYSE DES BISPHEENOLS ET DES PHTALATES	75
III.1. Introduction	76
III.2. Matériel et méthodes	76
III.2.1. Réactifs et solutions standards	76
III.2.2. Equipements	77
III.2.3. Echantillons	77
III.2.4. Extraction	79
III.2.5. Dérivation.	81
III.2.6. Analyse UPLC-MS/MS des bisphénols et des bisphénols dérivés	84
III.2.7. Analyse UPLC-MS/MS des phtalates totaux	87
III.2.8. Validation des méthodes et le contrôle qualité	88

III.2.9. Estimation des valeurs de migration et d'exposition	89
III.2.10. Traitement des données et analyse statistique.....	90
III.3.Résultats et discussion	90
III.3.1. Mise en place des méthodes des bisphénols et des bisphénols dérivés	90
III.3.2. Mise en place de la méthode d'analyse des phtalates totaux	101
III.3.3. Application à l'étude de la contamination des aliments	111
Conclusion partielle	117
CHAPITRE IV : RECHERCHE DES MECANISMES DE TRANSFERT DES PHTALATES DES RECIPIENTS PLASTIQUES VERS LES MATRICES ALIMENTAIRES.....	119
IV.1. Introduction	121
VI.2. Matériel et méthodes	121
VI.2.1. Réactifs et solutions standards	121
VI.2.2. Equipements	121
VI.2.3. Echantillons	122
VI.2.4. Extraction de l'acide phtalique dans les conditions d'études	122
VI.2.5. Criblage des facteurs qui influencent la migration des phtalates.....	123
IV.2.6. Recherche des interactions entre les facteurs les plus influents	124
IV.2.7. Recherche des conditions minimales de migration des phtalates.	125
IV.2.8. Etude de la cinétique de migration des phtalates totaux des seaux de peinture .	126
IV.2.9. Analyse et traitement des données.....	126
IV.3. Résultats et discussion.....	127
IV.3.1.Taux d'extraction des phtalates dans les conditions d'étude de migration.....	127
IV.3.2. Niveaux des facteurs et interactions	128
IV.3.3. Interactions entre les facteurs les plus influents	130
IV.3.4. Conditions minimales de migration des phtalates des seaux	132
IV.3.5. Cinétique de migration des phtalates des seaux.....	138
Conclusion partielle.....	140
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	141
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	144
ANNEXES	155
RESUME.....	a
ABSTRACT	b

LISTE DES FIGURES

Figure I.1: Formation du polymère.	7
Figure I.2: Réaction d'initiation lors de la polymérisation par addition.	7
Figure I.3: Réaction de croissance lors de la polymérisation par addition.	8
Figure I.4: Réaction de terminaison lors de la polymérisation par addition.	8
Figure I.5: Exemple de polymérisation par condensation (Paju et al., 2009).	9
Figure I.6: Voie de synthèse du polycarbonate (PC) par (a) procédé d'interface, (b) réaction de transestérification (Paju et al., 2009).	10
Figure I.7: Première étape de la synthèse du PET (Paju et al., 2009).	10
Figure I.8: Deuxième étape de la synthèse du PET (Harper, 2000).....	11
Figure I.9: Synthèse du polypropylène (Harper & Petrie, 2003)	11
Figure I.10: Les pictogrammes d'utilisation des récipients alimentaires.	18
Figure I.11: Structures chimiques de quelques phtalates (Z. Li et al., 2011).....	23
Figure I.12: Schéma des causes et effets de l'étude d'un phénomène.	45
Figure I.13: Exemple de courbes d'iso-réponses (Mohagir et al., 2015).	49
Figure II.1: Pourcentages de ménages utilisant les anciens seaux plastiques de peinture/colle industrielle dans l'alimentation en fonction de l'âge des responsables des ménages enquêtés.	64
Figure II.2: Pourcentages d'utilisation de chaque polymère des biberons en plastique.	64
Figure II.3: Pourcentages de ménages utilisant les biberons PC en fonction de l'âge des responsables des ménages enquêtés.	67
Figure II.4: Pourcentages de ménages utilisant les récipients plastiques de manière risquée en coaction.	68
Figure II.5 : Pourcentages de consommation de différentes marques d'eaux embouteillées... ..	71
Figure III.1: Structures des bisphénols dérivés.....	82
Figure III.2: Processus d'hydrolyse et de dérivation des phtalates.	84
Figure III.3: Chromatogrammes des meilleures transitions MRM des bisphénols et des bisphénols dérivés.	93
Figure III.4: Taux d'extraction des bisphénols dans les boissons traditionnelle fermentées. .	98
Figure III.5: Schéma d'ionisation du PA-BPTAB.....	103
Figure III.6: Influence de la nature de la colonne (A) et le débit (B) sur le pic du PA-BPTAB.	105
Figure III.7: Influence de la nature du polymère sur la teneur en phtalates des récipients. .	117
Figure IV.1: Effet de la teneur en sel et en sucre sur l'extraction des phtalates.	128
Figure IV.2: Courbes d'iso-réponses du pH en fonction de la température aux temps (1) 35,5h et (2) 72h.	135
Figure IV.3: Courbes d'iso-réponses du pH en fonction du temps aux températures (1) 4°C et (2) 90°C.	136
Figure IV.4: Courbes d'iso-réponses de la température en fonction du temps aux pH (1) 4 et (2) 7.	137
Figure IV.5: Evolution de la teneur en phtalates totaux (PA-BTAB) de la bouillie chaude conservée dans un seau de peinture en plastique.	138

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1: Classification des plastiques destinées à l’emballage alimentaire (Patil, 2012)..	14
Tableau I.2: Liste des polymères plastiques les plus produits et les additifs associés (Hermabessiere <i>et al.</i> , 2017).....	17
Tableau I.3: Structures des bisphénols (Regueiro & Wenzl, 2015; Y. Yang <i>et al.</i> , 2014).....	21
Tableau I.4: Types d’aliment et de simulant utilisés pour les études de contact alimentaire..	24
Tableau I.5: Conditions standardisées pour la migration globale.....	26
Tableau I.6: Plan de Plackett-Burman pour l’étude de sept facteurs.	47
Tableau II.1: Caractéristiques des personnes interrogées (n=250).....	53
Tableau II.2: Origines des matières plastiques	56
Tableau II.3: Polymères et origines des marques de biberons.....	57
Tableau II.4: Pourcentages de ménages qui chauffent les plastiques aux microondes et âges des responsables de familles.	58
Tableau II.5: Répartition des ménages qui chauffent les plastiques aux microondes en fonction du niveau d’études et du niveau de vie.	60
Tableau II.6: Ménages qui utilisent les récipients non adaptés pour la conservation des aliments.	61
Tableau II.7: Influence du niveau d’étude et du niveau de vie sur l’utilisation des seaux de peinture dans la conservation des aliments.	62
Tableau II.8: Influence du niveau d’étude et du niveau de vie sur l’utilisation des biberons en polycarbonate.	66
Tableau II.9: Fréquence de consommation de l’eau embouteillée dans les ménages.	69
Tableau II.10: Consommation d’eau embouteillée des ménages de chaque ville de l’étude. .	70
Tableau II.11: Influence du niveau d’étude et du niveau de vie sur la consommation d’eau minérale.	70
Tableau II.12: Pourcentages de consommation de différentes marques d’eau embouteillée..	72
Tableau III.1: Plage de variation manuelle des paramètres MS.....	85
Tableau III.2: Plage de variation des paramètres de séparation chromatographique.	85
Tableau III.3: Différents programmes testés pour l’élution des bisphénols.....	86
Tableau III.4: Différents programmes testés pour l’élution des bisphénols dérivés.	86
Tableau III.5: Données pour le calcul de la migration par unité de surface du récipient.....	89
Tableau III.6: Résumé des conditions de spectrométrie de masse pour l’analyse des bisphénols et des bisphénols dérivés.	91
Tableau III.7: Taux d’extraction, linéarité, sensibilité (LQ et LD), incertitudes et biais maximal de l’analyse des bisphénols dans les eaux.....	95
Tableau III.8: Fidélité des méthodes développées pour l’analyse des bisphénols dans les eaux.	96
Tableau III.9: Etat des travaux menés sur l’analyse des bisphénols dans les eaux.....	97
Tableau III.10: Extraction des bisphénols (A, B et F) dans l’huile de palme brute et les boissons traditionnelles alcoolisées.....	100
Tableau III.11: Comparaison du présent travail avec d’autres travaux sur l’analyse du BPA dans les huiles et les boissons.	102
Tableau III.12: Récapitulatif des résultats de l’optimisation du PA-BTAB en spectrométrie de masse.	103
Tableau III.13: Suivi de la dérivation individuelle de chaque phtalate.....	104

Tableau III.14: Etude de la stabilité du PA-BPTAB.	106
Tableau III.15: Caractéristiques de la méthode d'analyse des phtalates totaux après hydrolyse et dérivation.	106
Tableau III.16: Taux d'extraction des phtalates totaux dans l'eau minérale et les boissons traditionnelles alcoolisées.	106
Tableau III.17: Etat des travaux réalisés sur l'analyse des phtalates dans les eaux et boissons.	108
Tableau III.18: Application à l'étude du relargage des récipients plastiques et évaluation de l'exposition.	109
Tableau III.19 : Application à l'étude de la contamination alimentaire et évaluation de l'exposition.	110
Tableau IV.1: Facteurs et codification des variables.	123
Tableau IV.2: Matrice d'expériences pour le plan de Plackett-Burman.	125
Tableau IV.3: Matrice d'expériences du plan factoriel complet.	125
Tableau IV.4: Taux d'extraction des phtalates dans la bouillie.	127
Tableau IV.5: Matrice des essais pour le criblage des facteurs.	129
Tableau IV.6: Validation du modèle de criblage des facteurs.	129
Tableau IV.7: Effets des facteurs sur la migration des phtalates des seaux de peinture.	129
Tableau IV.8: Matrice des essais du plan factoriel complet.	130
Tableau IV.9: Validation des modèles du plan factoriel complet.	131
Tableau IV.10: Effets et interactions des facteurs les plus influents.	132
Tableau IV.11: Matrice des essais du plan composite à faces centrées.	133
Tableau IV.12: Validation des modèles de l'étude de l'influence des paramètres.	133
Tableau IV.13: Caractéristiques des modèles cinétiques.	139

LISTE DES ABREVIATIONS

A	: Aire du pic chromatographique du composé d'intérêt
ACN	: Acétonitrile
Ais	: Aire du pic chromatographique de l'étalon interne
BBP	: Benzylbutylphtalate
BHB	: Beignet-haricot-bouillie
BP	: Bisphénols
BPA	: Bisphénol A
BPB	: Bisphénol B
BPF	: Bisphénol F
BPTAB	: Bromure de (3-bromopropyl) triméthylamonium
CG	: Chromatographie gazeuse
CL	: Chromatographie liquide
CPC	: Centre Pasteur du Cameroun
CV	: Coefficient de variation
DAD	: Détecteur ultraviolet à barrettes de diodes.
DBP	: Dibutylphtalate
DCM	: Dichlorométhane
DEHP	: Bis-(2-éthylhexyl)phtalate
DIDP	: Diisodecylphtalate
DINP	: Diisononylphtalate
diPS	: Di-Pyridine-3-sulfonyle
DMLLE	: Microextraction dispersive en phase liquide-liquide
DMSE	: Microextraction dispersive en phase solide
DNOP	: Di-n-octylphtalate
ESI	: Ionisation à électrospray
ET	: Ecart-type
FAO	: Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
FC	: Facteur de concentration
FLD	: Détecteur à fluorescence
HCl	: Acide chlorhydrique
HPLC	: Chromatographie en phase liquide à haute performance
INS	: Institut national de statistique
IS	: Etalon interne
LC-MS/MS	: Chromatographe liquide couplé au spectromètre de masse en tandem
LD	: Limite de détection
LLE	: Extraction liquide-liquide
LQ	: Limite de quantification
m/z	: Masse divisée par la charge électrique
MeOH	: Méthanol
MINSANTE	: Ministère de la santé publique du Cameroun

MRM	: Surveillance multiréactionnelle
MS	: Spectromètre de masse
NA	: Non applicable
NaCl	: Chlorure de sodium
NaOH	: Hydroxyde de sodium
ND	: Non détecté
OMS	: Organisation mondiale de la santé
PA	: Acide phtalique
PAE	: Esters d'acide phtalique ou phtalates
PC	: Polycarbonate
PE	: Polyéthylène
PEBD	: Polyéthylène basse densité
PEHD	: Polyéthylène haute densité
PET	: Polyéthylènetéréphtalate
PM	: Poids moléculaire
PP	: Polypropylène
PS	: Polystyrène
PVC	: Polychlorure de vinyle
SPE	: Extraction en phase solide
TEA	: Triéthylamine
t_R	: Temps de rétention chromatographique
UE	: Union européenne
UPLC	: Chromatographie en phase liquide ultraperformante
UV	: Ultraviolet
V/V	: Volume par volume
WWF	: Fonds mondial pour la nature

LISTE DES UNITES

%	: Pourcentage ou gramme pour 100 millilitres
°C	: Degré Celsius
µL	: Microlitre
µL/min ou mL min ⁻¹	: Microlitre par minute
µM ou µmol/L	: Micromole par litre
µg/kg de Pc/jour	: Microgramme de poids corporel par jour
eV	: Electron volt
g	: Gramme
h	: Heure
kV	: Kilovolt
kg/Pc/Jour	: Kilogramme de poids corporel par jour
L/h	: Litre par heure
M ou mol/L	: Mole par litre
mg/L ou mg L ⁻¹	: Milligramme par litre
mg/mL ou mg mL ⁻¹	: Milligramme par millilitre
min	: Minute
mm	: Millimètre
N	: Equivalent gramme par litre
ng/L ou ng L ⁻¹	: Nano gramme par litre
Psi	: Unité de pression, correspond à 6,895 Pascal.
s	: seconde
trpm	: tour par minute

PUBLICATIONS

1-Songue S.O., Piveteau C., Biela A., Kamga R., Deprez B., (2023). Evaluation of the exposure bisphenols from baby bottles and non-food containers used for food preservation. Journal of hazardous materials advances. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2022.100212>.

2-Songue S.O., Piveteau C., Biela A., Kamga R., Deprez B., (2023). Occurrence of bisphenols and contribution of edible liquids conditioned in plastic packaging to the dietary exposure in Cameroon". Scientific African Journal. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2022.e01515>.

INTRODUCTION GENERALE

L'emballage est indispensable pour le conditionnement et le transport de substances diverses. Malgré des efforts importants de réduction de son usage, le plastique reste aujourd'hui le matériau le plus utilisé pour l'emballage.

Les plastiques sont des polymères constitués de longues chaînes carbonées formées d'unités monomériques. Les polymères sont classés en polymères thermodurcissables et en polymères thermoplastiques. Ces derniers sont les plus utilisés dans la fabrication d'emballages alimentaires ; notamment le polypropylène (PP), le polyéthylène téréphtalates (PET), le polyéthylène haute et basse densité (PEHD et PEBD). Les propriétés mécaniques et chimiques des plastiques peuvent être améliorées par l'ajout d'additifs lors de la synthèse des polymères. Les additifs sont des substances chimiques de diverses natures. Les bisphénols et les phtalates sont deux additifs très souvent utilisés (Stenmarck *et al.*, 2017; Vandenberg *et al.*, 2009). Les bisphénols servent d'antioxydants et de stabilisateurs UV dans les matières plastiques. Les phtalates quant à eux sont utilisés pour augmenter la plasticité, la flexibilité et la transparence des plastiques. Ces deux groupes de molécules sont des perturbateurs endocriniens et des facteurs de risques de cancers. Les additifs peuvent migrer vers les aliments en contact avec les emballages plastiques (Larsson *et al.*, 2017; Mostafa *et al.*, 2012; Zaater *et al.*, 2014).

Les emballages alimentaires sont en contact avec les aliments dont ils préservent la qualité. Par conséquent les additifs et les monomères ne doivent pas migrer des plastiques vers les aliments. Cette migration dépend du polymère constitutif et des conditions d'utilisation. Ces conditions sont définies pour chaque plastique alimentaire. En Afrique et au Cameroun en particulier, cette distinction n'est pas toujours faite. Tous les emballages plastiques (souvent en seconde utilisation) sont utilisés par les populations pour la conservation des aliments. L'absence de réglementation camerounaise sur l'alimentarité des emballages et donc du contrôle qualité, ne garantit pas la qualité des emballages alimentaires utilisés. Les populations sont donc en face d'un risque sanitaire potentiel (Ayofe *et al.*, 2018; Pouokam *et al.*, 2014).

La détermination des composés en traces dans les aliments se fait généralement en deux étapes que sont l'extraction et le dosage en phase fluide. Ces deux étapes doivent être optimisées. Les méthodes usuelles de dosage des bisphénols présentent de faible sensibilité et des limites de détection élevée (supérieure à 1µg/L) (S. Liu *et al.*, 2013; Nemati *et al.*, 2018; Niu *et al.*, 2011; Regueiro & Wenzl, 2015). Pour les améliorer certains chercheurs ont procédé à des concentrations des échantillons en phase aqueuse allant de 10 à 1000 fois. Outre le fait que cette pratique de concentration est fastidieuse, elle implique des risques de

contamination et de perte d'analyte. Ceci explique peut-être les divergences des résultats entre laboratoire dans l'analyse du bisphénol (Ali *et al.*, 2019; Hao, 2020; Notardonato *et al.*, 2019; Regueiro *et al.*, 2015; Y. Yang *et al.*, 2014). La dérivation des composés organiques permet souvent non seulement d'améliorer la sensibilité des méthodes mais aussi de différencier en une seule analyse les isomères présents. Cette méthode peut être appliquée pour l'analyse en HPLC des bisphénols A, B et F.

L'analyse des phtalates dans les eaux et les aliments rencontre les mêmes difficultés que celle des bisphénols. Cependant, en plus de ces difficultés, l'analyse des phtalates est confrontée à la contamination rémanente, du fait qu'ils sont rencontrés dans la majorité des solvants, les consommables et les conduites analytiques des équipements de mesure. De ce fait l'analyse des phtalates totaux est principalement effectuée en chromatographie en phase gazeuse après hydrolyse et dérivation. En fait le couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectroscopie de masse permet en effet d'identifier les composés en présence et de les quantifier. Cependant la HPLC peut aussi être utilisée pour la caractérisation et le dosage de composés après dérivation. Cette dernière a l'avantage d'utilisation de moins de gaz (S. Liu *et al.*, 2013; Net *et al.*, 2015; Xie *et al.*, 2016). Cette technique peut avantageusement être mise en jeu pour l'analyse des phtalates totaux.

L'extraction des bisphénols a été menée sur les aliments relativement homogènes tels que les huiles végétales et les boissons alcoolisées industrielles. Elle a souvent été faite soit par extraction liquide-liquide ou extraction liquide-solide (Cunha *et al.*, 2011; Nemati *et al.*, 2018; Regueiro & Wenzl, 2015; Xian *et al.*, 2017). Ces deux méthodes d'extraction n'ont pas encore été appliquées aux mélanges moins homogènes tels que les boissons alcoolisées locales à l'exemple du vin de palme.

Lorsque l'on dispose de méthodes (d'extraction et de dosage) fiables et sensibles des bisphénols et des phtalates, la détermination des niveaux de contamination des aliments peut être menée. On peut alors évaluer le niveau d'exposition des populations à ces composés. Les études de migration des bisphénols et des phtalates des emballages plastiques vers les aliments montrent que celle-ci varie avec plusieurs facteurs. Les facteurs qui ressortent sont la température, la quantité d'électrolyte, l'acidité/basicité et la nature de l'aliment ; ainsi que le temps de contact, le nombre de lavages, l'âge et le mode de chauffage du récipient (Almeida *et al.*, 2018; Dreolin *et al.*, 2019; Ehlert *et al.*, 2008; Fei *et al.*, 2012; Mostafa *et al.*, 2012; Pedersen *et al.*, 2015; Y. Yang *et al.*, 2014). L'influence de chacun de ces facteurs a été étudiée individuellement, mais aucune étude d'interaction n'a été répertoriée dans la littérature. L'absence de prise en compte des interactions peut conduire à des conclusions

erronées. La méthode des plans d'expériences permet de prendre en compte ses interactions en même temps qu'elle permet dans certains cas de déterminer les conditions optimales de réalisation d'un procédé. Après optimisation du procédé, les études cinétiques peuvent permettre de déterminer les paramètres cinétiques nécessaires pour une exploitation optimale des résultats. Les études cinétiques de migration des phtalates ont porté sur l'utilisation des films plastiques et des récipients alimentaires de faible épaisseur. Les résultats montrent que ces cinétiques évoluent avec la température et sont mieux décrites par le modèle du pseudo-premier ordre (Fei *et al.*, 2012; Q. Luo *et al.*, 2018a; Torres *et al.*, 2015; J. Yang *et al.*, 2019; Yuan *et al.*, 2020). Cependant, aucune n'étude ne s'est penchée sur les récipients plastiques non alimentaires utilisés dans l'alimentation.

Objectif général

Le présent travail vise à étudier le transfert des bisphénols et des phtalates des récipients plastiques vers les matrices alimentaires.

Objectifs spécifiques

Pour atteindre cet objectif général, il sera question de :

1. Identifier les types et les origines de polymères utilisés dans l'alimentation au Cameroun.
2. Déterminer les modes d'utilisation des récipients plastiques dans l'alimentation au Cameroun
3. Mettre en place une méthode sensible et spécifique de quantification des bisphénols.
4. Mettre en place une méthode sensible de quantification rapide des phtalates.
5. Déterminer les niveaux de contamination des produits emballés dans diverses matières plastiques.
6. Déterminer les paramètres les plus influents du transfert des phtalates des seaux en plastiques vers les aliments.
7. Déterminer les conditions minimales de migrations des phtalates des seaux en plastiques vers les aliments.
8. Déterminer les paramètres cinétiques du transfert des phtalates des seaux de peintures vers les aliments.

Afin d'y parvenir les hypothèses suivantes ont été formulées :

Hypothèse 1 : Les plastiques utilisés pour conserver les aliments proviennent d'Asie et d'Afrique.

Hypothèse 2 : 40% de la population camerounaise utilisent les récipients non alimentaires pour conserver les aliments/boissons

Hypothèse 3 : La dérivation au Chlorure de pyridine-3-sulfonyl, suivie de chromatographie liquide couplée au spectromètre de masse (UPLC-MS/MS) est une méthode spécifique, possédant une bonne limite de détection ($<1\mu\text{g/L}$), et fidèle (variation $<10\%$) de quantification simultanée des bisphénols.

Hypothèse 4 : La dérivation au bromure de (3 -bromopropyl) triméthylammonium, suivie de chromatographie liquide couplée au spectromètre de masse (UPLC-MS/MS) est une méthode possédant une bonne limite de détection ($<1\mu\text{g/L}$) et fiable de quantification rapide des phtalates totaux.

Hypothèse 5 : Les seaux de peinture libèrent les bisphénols et les phtalates dans les aliments, conduisant à des concentrations supérieures aux limites définies par l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA)

Hypothèse 6 : La température, le temps de contact et le pH de l'aliment sont les paramètres les plus influents du transfert des phtalates des seaux en plastiques vers les aliments.

Hypothèse 7 : Le transfert des phtalates est minimal à pH 7 et à température $\leq 4^\circ\text{C}$.

Hypothèse 8 : Le transfert des phtalates répond à une cinétique de pseudo second ordre.

CHAPITRE I :
REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. Synthèse des polymères : Procédés et formulations

I. 1.1.Définitions : Plastiques, Polymère.

Les plastiques sont des composés macromoléculaires (polymères) organiques obtenus par polymérisation, polycondensation, polyaddition ou tout analogue procédé à partir de molécules de plus faible poids moléculaire (monomères) ou par altération chimique de molécules; d'autres substances ou matières peuvent être ajoutées à ces composés (British Standard, 2002). Ils peuvent être sous formes liquides ou résines pâteuses pour l'enrobage, le revêtement et collage ; ou ils peuvent être moulées, laminées ou formées, y compris des feuilles, des films ou en bloc de masse plus importante (Harper & Petrie, 2003).

I.1.2.Procédés de production des plastiques

La polymérisation c'est l'association des monomères individuels pour former un monomère. Elle nécessite la présence de sites réactifs de double ou triple liaison sur le monomère (Figure I.1).

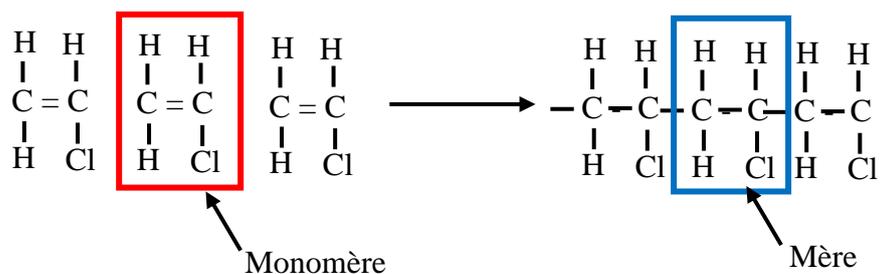


Figure I.1: Formation du polymère.

Il existe de types de polymérisation : La polymérisation par accroissement d'une chaîne ou par addition (Réaction très rapide) ; et la polymérisation par étape de croissance ou par condensation (Elle est plus lente) (Harper & Petrie, 2003).

❖ Polymérisation par addition

Elle se déroule en trois principales étapes : l'initiation, la croissance et la terminaison.

a) L'initiation

Lors de l'initiation, un radical hydroxyle réagit au niveau de la double liaison du monomère pour former un composé radicalaire de plus grand poids moléculaire (Figure I.2) (Harper & Petrie, 2003).

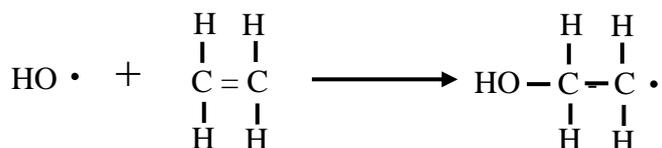


Figure I.2: Réaction d'initiation lors de la polymérisation par addition.

b) La croissance

Le radical formé lors de l'étape d'initiation va réagir avec un autre monomère pour former un composé radicalaire encore plus grand. Le monomère qui s'additionne peut être soit identique au monomère de départ, ou alors différent de celui-ci. Dans le second cas, on parle de copolymère (Harper & Petrie, 2003). C'est le cas de l'éthylène et le chlorure de vinyle qui forment le polychlorure de vinyle (PVC) (Figure I.3). Cette réaction va se produire plusieurs fois jusqu'à l'étape de terminaison.

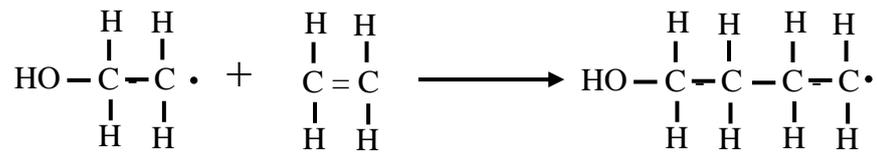


Figure I.3: Réaction de croissance lors de la polymérisation par addition.

c) La terminaison

La terminaison marque l'arrêt de la croissance de la chaîne radicalaire (Figure I.4). Il y a réaction entre cette dernière et un radical hydroxyle (Harper & Petrie, 2003).

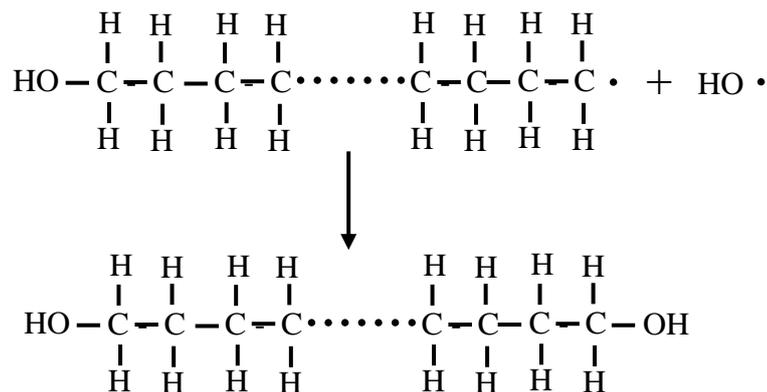


Figure I.4: Réaction de terminaison lors de la polymérisation par addition.

❖ **La polymérisation par condensation**

Elle nécessite l'association de trois molécules pour former le monomère qui doit se polymériser par addition. Cela prend un temps relativement long comparé à la polymérisation par croissance de chaîne. On obtient la formation d'une molécule bifonctionnelle, linéaire sur le plan de sa structure, et plus fragile que le réseau polymérique futur. Le réseau polymérique a plusieurs points de contact, ce qui lui donne une structure tridimensionnelle (Paju *et al.*, 2009). La Figure I.5 présente un exemple de polymérisation par condensation.

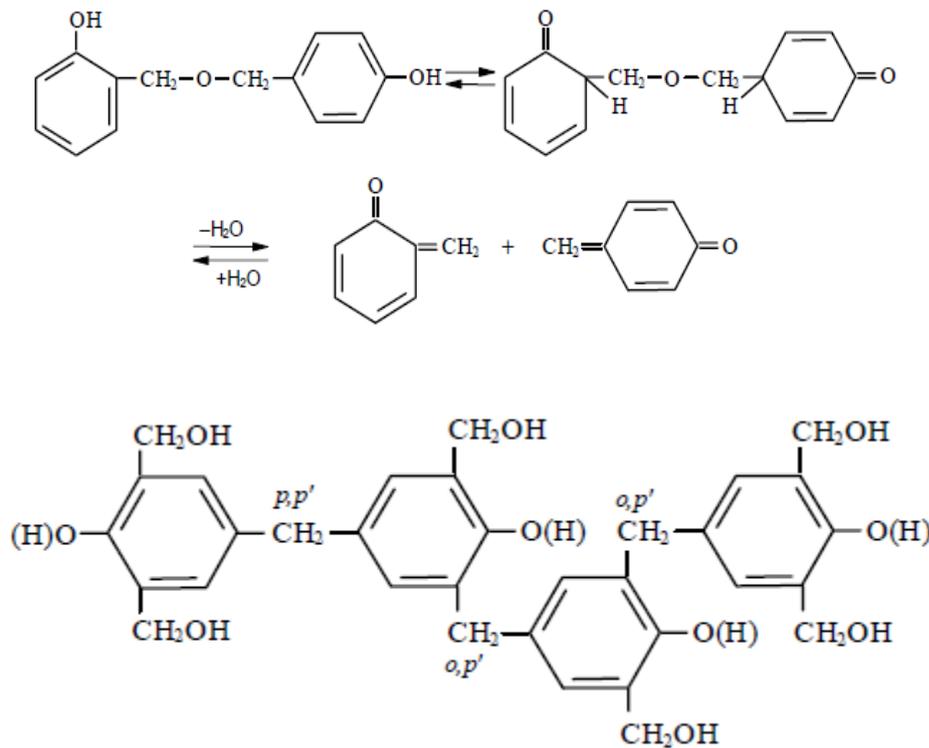


Figure I.5: Exemple de polymérisation par condensation (Paju *et al.*, 2009).

❖ Mise en forme des polymères

Les procédés de production des plastiques sont des opérations appliquées sur les polymères pour augmenter leur utilisation. Ces opérations peuvent être classées en trois catégories (Harper & Petrie, 2003).

- Les opérations de formage. Il s'agit ici principalement de l'extrusion, qui permet le changement physique du polymère
- Les opérations de collage, qui permettent d'associer plusieurs polymères différents.
- Les opérations d'oxydation de surface, permettant la fixation des pigments et encres sur le polymère.

❖ Exemples de réaction de production des polymères courants

✓ Réaction de formation du Polycarbonate (PC)

Les procédés de formation des polycarbonates sont de deux ordres : le procédé d'interface et le procédé de transestérification (Figure I.6). Le procédé d'interface implique la formation de polycarbonate via la dissolution du bisphénol A (monomère) dans la soude caustique et l'introduction du phosgène en présence d'un solvant interne comme la pyridine (Harper, 2000). Le procédé de transestérification quant à lui, se fait à partir du bisphénol A et le diphenylcarbonate à températures élevées. Le procédé d'interface donne un produit de plus grand poids moléculaire. Le polycarbonate ainsi formé a de bonnes propriétés mécaniques et

électriques. Le polycarbonate est cependant parfois fragile en raison de son caractère amorphe avec de longues chaînes, et sa résistance chimique est limitée face à des solvants comme le benzène, le toluène ou le xylène (Harper, 2000).

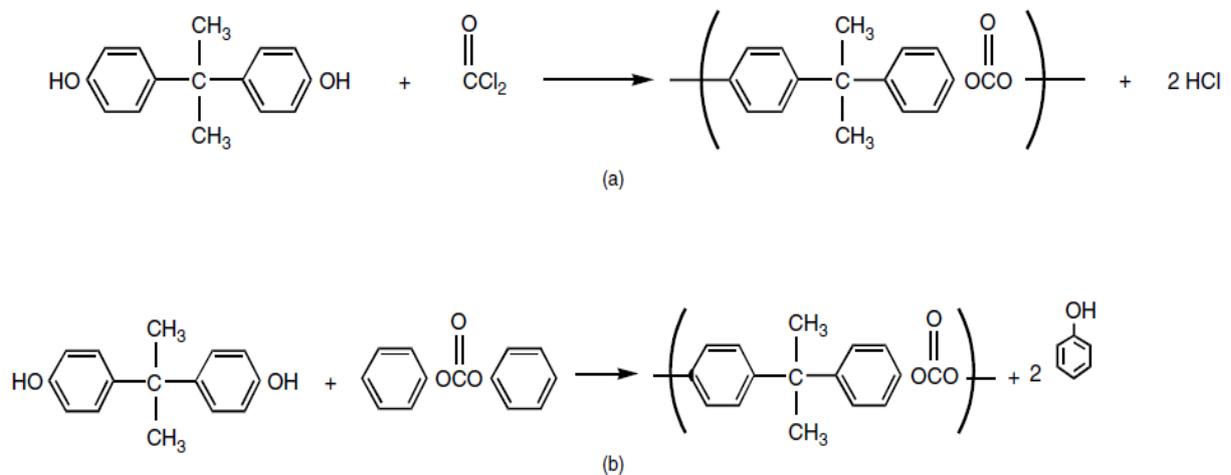


Figure I.6: Voie de synthèse du polycarbonate (PC) par (a) procédé d'interface, (b) réaction de transestérification (Harper, 2000).

✓ Procédé de production du polyéthylène téréphtalate (PET)

La première étape de la polymérisation du PET c'est l'estérification directe d'un diacide (le diméthyltéréphtalate) avec un diol (éthylène glycol) (Figure I.7). Cette réaction se déroule entre 150 et 200°C (Harper, 2000). L'acétate de manganèse est ajouté comme catalyseur. Il est ensuite désactivé par ajout des composés au phosphore comme l'acide phosphorique. Ce dernier joue aussi le rôle d'antioxydant dans la deuxième étape du procédé (Harper, 2000).

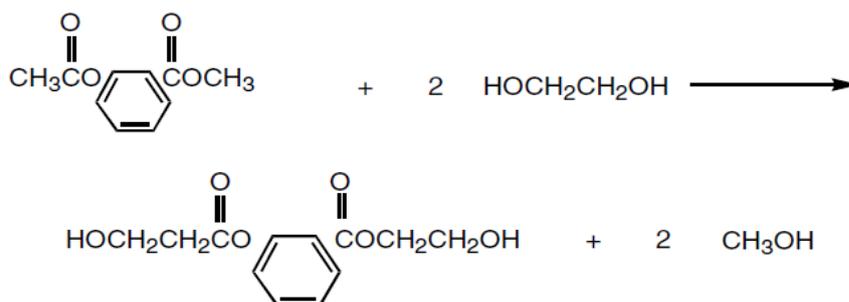


Figure I.7: Première étape de la synthèse du PET (Harper, 2000).

La deuxième étape de synthèse du PET se déroule entre 260 et 290°C (Figure I.8). Au cours de cette réaction de polymérisation il y a élimination continue de méthanol à travers la distillation. Le trioxyde d'antimoine est utilisé comme catalyseur pour cette deuxième étape (Harper, 2000).

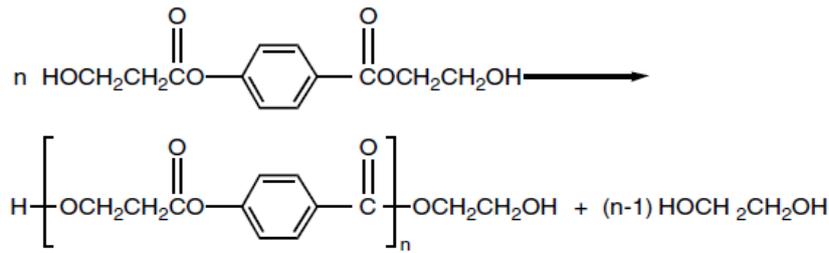


Figure I.8:Deuxième étape de la synthèse du PET (Harper, 2000)

✓ Procédé de formation du polyéthylène (PE)

La formation du polyéthylène se fait via la polymérisation par addition. Elle s'effectue à 200°C à partir de l'éthylène, sous une pression de 20 000 – 35 000 Psi et en présence d'une quantité d'oxygène ou de peroxyde d'organique pour la génération de radicaux hydroxyles (Harper, 2000). Deux principaux types de PE sont connus, le Polyéthylène haute densité (PEHD) et le Polyéthylène basse densité (PEBD). Dans le cas du PEHD, deux méthodes de catalyse sont couramment pratiquées : la catalyse de Phillips qui utilise les oxyde de chrome, et celle de Ziegler-Natta dont le catalyseur est hétérogène et fait à base de Titane et d'alkyl d'aluminium (Harper, 2000). Le PEHD est constitué de chaîne linéaire avec une structure ordonnée. Le PEBD quant à lui s'obtient par polymérisation de l'éthylène avec les radicaux libres et les branches d'alkyles, aboutissant à une structure branchée et un enchevêtrement irrégulier (Harper, 2000).

✓ Procédé de formation du polypropylène (PP)

Le polypropylène se forme selon le schéma de la polymérisation par addition. Le bilan de cette réaction est présenté au niveau de la Figure I.9. Le polypropylène est moins résistant à la dégradation que le polyéthylène, particulièrement à haute température, mais possède une meilleure résistance à la fissuration sous contraintes environnementales (Harper & Petrie, 2003). Le fait que le PP soit moins résistant que le polyéthylène (PE) s'explique par la présence d'un carbone tertiaire permettant une extraction d'hydrogène plus facile. Par conséquent, les antioxydants comme le bisphénol A sont ajoutés dans le PP pour augmenter sa résistance à l'oxydation (Harper & Petrie, 2003).



Figure I.9: Synthèse du polypropylène (Harper & Petrie, 2003).

I. 1.3. Formulations et désignation : Classification des matières plastiques

Une classification exacte des matières plastiques basée sur leurs procédés de fabrication est quasi impossible. Les chimistes se sont vers la fin penchés sur une classification qui prend en compte les propriétés des produits formés à partir des monomères

et des additifs. C'est ainsi qu'on a les thermoplastiques et les thermodurcissables. Les mousses, adhésifs, enrobages, résines, élastomères, etc., peuvent aussi entrer dans ces deux grands groupes (Harper & Petrie, 2003; Patil, 2012).

❖ **Les Thermodurcissables**

Les Thermodurcissables sont des matières plastiques qui se solidifient encore plus lorsqu'on augmente la température au cours de leur chauffage. Ils n'ont donc pas de température de transition vitreuse. Elles sont constituées d'une seule macromolécule représentée par un réseau tridimensionnel infusible dont la rigidité augmente avec la densité du réseau (Harper & Petrie, 2003). Il existe deux procédés de fabrication des thermodurcissables :

— La polycondensation de molécules, dont l'une possède plus de deux sites réactifs (c'est le cas des résines formophénoliques) ;

— La réticulation de macromolécules linéaires sous l'action de catalyseurs ou de durcisseurs, par création de « ponts », liaisons chimiques, entre les chaînes linéaires (Harper & Petrie, 2003; Krevelen & Nijenhuis, 2009).

Dans les deux cas, la phase finale de la réticulation ou de la polycondensation tridimensionnelle se situe après la mise en œuvre de la résine : sous l'action conjuguée du catalyseur et de l'élévation de température, la résine initialement poudre à mouler fusible, résine liquide, se transforme chimiquement en un objet fini infusible et insoluble. La forme et la rigidité ainsi acquises par la matière pendant la mise en œuvre ne peuvent plus être modifiées par la suite de façon réversible (Harper & Petrie, 2003; Patil, 2012). Ces plastiques sont peu utilisés dans l'emballage alimentaire. Parmi les thermodurcissables on a :

- Les Phénoplastes : Phénol-formaldéhyde
- Les Aminoplastes : Urée-formaldéhyde, Mélamine-formaldéhyde
- Les Polyesters réticulés
- Les Polyuréthanes
- Les Polyépoxydes (résines époxydiques)
- Les Polyorganosiloxanes (couramment appelés Silicones)
- Les Alkydes
- Polyimides

❖ Les Thermoplastiques

Les thermoplastiques sont globalement des matières plastiques qui passent de l'état solide à l'état fondu lorsque la température de chauffage est supérieure à leur température de transition vitreuse (Patil, 2012). Dans le monde, 80% des plastiques sont des thermoplastiques. Les plus utilisés dans l'emballage alimentaire sont le polyéthylène, le polystyrène, le polyéthylène et le polyéthylène téréphtalate (Cherif Lahimer *et al.*, 2017).

Les thermoplastiques ont des chaînes allant dans des directions aléatoires, maintenues ensemble par des liaisons secondaires faibles. Une petite force peut faire glisser des chaînes, modifiant ainsi la forme de l'échantillon (Patil, 2012). A faible température, les chaînes de polymères ne glisseront pas les unes sur les autres, car ils n'ont pas assez d'énergie pour surmonter les liaisons secondaires (Patil, 2012). Les thermoplastiques les plus courants sont :

- Polyoléfines : Polyéthylène et Polypropylène
- Polyvinyliques : Poly(chlorure de vinyle) et copolymère du chlorure de vinyle et de l'acétate de vinyle ou poly(acétochlorure de vinyle).
- Poly(chlorure de vinylidène)
- Poly(acétate de vinyle)
- Polybutyral et polyformal de vinyle Polystyréniques : Polystyrène standard, polystyrène choc et polystyrène chaleur
- Polyoxiphénylène Polyacétals : Polyoxyméthylène et copolymères
- Polyamides
- Polycarbonates

Les plastiques en contact avec les aliments ont été classés en fonction des codes allant de 1 à 7. Le Tableau I.1 présente cette classification des plastiques destinées à l'emballage alimentaire. Pour améliorer les propriétés des polymères, dans leurs formulations on ajoute des additifs.

Tableau I.1: Classification des plastiques destinées à l’emballage alimentaire (Patil, 2012).

Code du plastique	Propriétés générales	Utilisation courante dans le domaine alimentaire
 PET Polyéthylène-téréphtalate	<ul style="list-style-type: none"> -Imperméable aux gaz et à l’humidité -Résistance thermique, mécanique et chimique. -Bonne transparence -Résistance aux microondes 	<ul style="list-style-type: none"> -Bouteilles d’eau douce et d’eau minérales. -Bouteilles de boissons gazeuses et de bières. -Sachets pour bouillir les aliments -Plateau de nourriture pré-préparés et sac de torréfaction
 PEHD	<ul style="list-style-type: none"> -Excellente barrière contre l’humidité -Excellente résistance chimique -Perméable aux gaz -Peut être dur ou semi flexible -Surface cireuse douce 	<ul style="list-style-type: none"> -Boite de collations et doublures de boites de céréales -Bouteilles de lait et de boissons non carbonatées -Seaux, bois en plastique, récipient pour compost.
 PVC	<ul style="list-style-type: none"> -Excellente transparence -Dur et rigide -Résistance chimique -Stabilité à long terme -Résistance aux intempéries -Neutralité électrique -Faible perméabilité aux gaz 	<ul style="list-style-type: none"> -Pas connue
 PEBD	<ul style="list-style-type: none"> -Rugueux et flexible -Surface cireuse, doux, se raye facilement -Bonne transparence -Neutralité électrique -Barrière contre l’humidité 	<ul style="list-style-type: none"> -Certains couvercle de bouteille -Sacs à provisions épais
 PP	<ul style="list-style-type: none"> -Excellente résistance chimique. -Haut point de fusion -Surface cireuse -Translucide -Solide 	<ul style="list-style-type: none"> -La majorité des bouchons de bouteilles -Bouteilles de tomates et de sirop -Boites de yaourt et de margarine -Sachets de chips et de biscuits
 PS	<ul style="list-style-type: none"> -Transparent à opaque -Surface vitreuse, solide -Rigide ou mousseuse -Affecté par les corps gras et les solvants. 	<ul style="list-style-type: none"> -Récipient de Yaourt -Alvéoles d’œufs -Plateau de « fast food » -Bac à graines -Jouets fragiles à bas prix
 Autres	<p>Ce sont des polymères avec une grande plage d’utilisation, particulièrement dans le secteur de l’ingénierie.</p>	<p>Dans le domaine alimentaire, il s’agit plus du polycarbonate (PC), dont les applications vont des jouets aux bouteilles moins flexibles, en passant par les membranes de revêtement des cannettes de bière, de jus ou de boite de conserve.</p>

I.2. Les additifs utilisés dans la formulation des plastiques.

Les matières plastiques sont issues de la polymérisation des monomères et l'addition des substances permettant d'améliorer les propriétés physiques (mécaniques, thermiques etc) et chimiques, et de faciliter leur formulation. Ces substances chimiques sont appelées « additifs » (Cherif Lahimer *et al.*, 2017; Hermabessiere *et al.*, 2017). Certains additifs sont utilisés comme monomères, par exemple, le bisphénol A (BPA) est le monomère du polycarbonate (PC) et des résines époxydes, mais aussi un stabilisant dans d'autres polymères. Les principales fonctions des additifs sont les suivantes : retardateurs de flamme, les pigments, les charges, antioxydants et plastifiants

I.2.1. Les retardateurs de flamme

Les retardateurs de flamme sont des matériaux ajoutés aux plastiques pour améliorer leur résistance au feu. L'inflammabilité des plastiques est réglementée dans plusieurs pays à travers le monde, notamment les pays dont la préoccupation est la toxicité de la combustion des plastiques. A ce titre, les préoccupations environnementales actuelles poussent à suspecter les retardateurs de flamme halogénés et les remplacer par les composés aux phosphates et le dioxyde de titane (Harper & Petrie, 2003; Krevelen & Nijenhuis, 2009).

I.2.2. Les pigments

Les pigments permettent de donner une coloration à la matière plastique. Les pigments sont des colorants insolubles dans l'eau. Ils ont un pouvoir opacifiant variable. Il existe des pigments organiques et inorganiques. Les pigments organiques sont des composés chimiques composés par une ou plusieurs structures benzéniques. Ce sont des particules de petite taille avec une grande transparence et une forte couleur. Parmi les pigments organiques on a la carbazole violet, l'aniline, la perylène, l'isoindolinone et la phtalocyanine bleue et verte (Harper, 2000; Harper & Petrie, 2003).

Les pigments inorganiques sont des complexes métalliques de taille plus grande que les pigments organiques, mais avec une surface plus petite et une densité plus grande. Les pigments inorganiques courants sont : le dioxyde de titane, le sulfite de cadmium (jaune), les complexes de cobalts bleue et turquoise, les oxyde de fer rouge et jaune, et le noir de carbone (Harper, 2000; Harper & Petrie, 2003).

I.2.3. Les charges

Les charges sont des additifs solides incorporés dans la matrice plastique pour augmenter la densité de celle-ci. Il s'agit principalement des matériaux inorganiques qui peuvent être classés selon leur effet sur les propriétés mécaniques du plastique final. C'est le

cas des charges inertes dont le rôle est de réduire le coût du produit final en augmentant sa masse, tandis que les charges de renforcement permettent d'améliorer les propriétés mécaniques des polymères. Parmi les charges inertes on a le Kaolin, le Talc ou le Carbonate de calcium. Le noir de carbone quant à lui est utilisé comme charge de renforcement des caoutchoucs et de plusieurs thermoplastiques dont il réduit la conductivité et assure la protection UV. Comme charges, il y a aussi les fibres de coton et la farine de bois (Harper, 2000; Harper & Petrie, 2003).

I.2.4. Les stabilisateurs UV

Les stabilisants ultraviolet (UV) ou antioxydants, ou agents anti vieillissement empêchent les réactions suivantes : déshydrochloration, attaque par l'oxygène ou l'ozone et dégradation sous l'effet des rayonnements ultraviolets. Les antioxydants permettent de freiner les réactions avec les radicaux libres qui se produisent au cours de l'oxydation ou de l'exposition aux rayonnements UV. Les familles de composés les plus utilisés comme antioxydants incluent principalement les amines et les phénols. Ces derniers sont souvent utilisés parce qu'ils ont moins tendance à l'adhérence, c'est le cas des benzophénones et des bisphénols (Harper, 2000; Walsh *et al.*, 2021).

I.2.5. Les plastifiants

Les plastifiants sont les additifs les plus courants des plastiques. Ils rendent les polymères flexibles et facilitent leur formulation. Les premiers plastifiants sont apparus au XIX^{ème} siècle, et étaient constitués de celluloïds obtenus à base du camphre et de l'huile de ricin (Bocqué *et al.*, 2016). Le phosphate triphényle a ensuite remplacé le camphre et l'huile de ricin, cela a conduit à l'utilisation de plastifiants à base d'esters d'acide phtalique nommés les phtalates (PAEs). Les plastifiants sont souvent mélangés aux polymères thermoplastiques pour réduire le nombre de liaisons secondaires qui peuvent se former entre les longues chaînes de polymères, entraînant une modification facile de sa forme (Patil, 2012). L'addition de plastifiants dans les thermoplastiques permet donc de réduire la température de transition vitreuse de ceux-ci. Cependant il est important de noter que les plastifiants peuvent quitter le polymère au fil du temps, processus plus rapide à température élevée et qui augmente la fragilité du plastique (Patil, 2012).

Le Tableau I.2 présente les polymères plastiques les plus produits ainsi que leurs principaux additifs associés. Le polyéthylène contient 15 -36% d'additifs inorganiques tels que le carbonate de calcium (13-34%) et le dioxyde de titane (1-2%). Lors de l'exposition au soleil des plastiques, trois à huit fois plus de carbone organique dissous est libéré, comparé à

quand ils sont dans le noir. En plus, il y a 1,2 à 2 fois plus de libération de carbone organique dissous (COD) dans le plastique avec additifs que dans le plastique pure (Walsh *et al.*, 2021).

Tableau I.2:Liste des polymères plastiques les plus produits et les additifs associés (Hermabessiere *et al.*, 2017)

Polymères	Consommation en 2015 (en millions de tonnes)	Types d'additifs	Quantités dans le polymère (% P/P*)	Substances dangereuses
PEHD	8	-Antioxydant -Retardateur de flamme	0,05 - 3 12 - 18	Bisphenol A, Octylphenol, nonylphenol, acide borique, retardateurs de flamme bromés, Tris (2-Chloroéthyl) phosphate
PEBD	6	-Antioxydant -Retardateur de flamme	0,05 - 3 12 - 18	Bisphenol A, Octylphenol, nonylphenol, acide borique, retardateurs de flamme bromés, Tris (2-Chloroéthyl) phosphate
PVC	5	-Plastifiants -Stabilisateur UV	10 - 70 0,5 - 3	Phtalates, bisphénol A, Octylphenol, nonylphenol, acide borique, retardateurs de flamme bromés, Tris (2-Chloroéthyl) phosphate
PP	9	-Antioxydant -Retardateur de flamme	0,05 - 3 12 - 18	Bisphénol A, Octylphenol, nonylphenol, acide borique, retardateurs de flamme bromés, Tris (2-Chloroéthyl) phosphate

PP : polypropylène ; PEHD : polyéthylène haute densité ; PEBD : Polyéthylène basse densité, PVC : Polychlorure de vinyle ; PUR : Polyuréthane ; % P/P : Pourcentage massique.

Les restrictions en termes de quantité d'additifs à ajouter dans le polymère diffèrent quand on passe de l'usage des plastiques comme emballages alimentaires pour d'autres usages. Les récipients non alimentaires n'ont pas les mêmes exigences que les récipients alimentaires.

I.3. Les récipients non alimentaires utilisés dans l'alimentation

Les emballages plastiques sont soit alimentaires ou alors non alimentaires. Quand ils sont alimentaires, ils ont des spécifications requises pour être en contact avec les aliments. Par contre, quand ils sont non alimentaires, ils n'ont pas ces spécifications. L'utilisation des emballages et récipients pour conserver les aliments implique qu'ils doivent être de « niveau alimentaire ». Par conséquent, ils doivent être constitués de matériaux adéquats, afin de ne pas affectés la sûreté des aliments (Food authority, 2015). Les spécifications du « niveau alimentaire » des emballages prennent en considération la faible capacité à relarguer les

polluants via les tests d'innocuité, les caractéristiques de surface du matériau en contact avec l'aliment et l'adéquation avec les chocs des lieux et conditions de production, de stockage, de transport et de distribution. L'agence américaine pour les aliments et les médicaments (FDA) précisent dans leurs normes les conditions d'utilisation (Food authority, 2015). Les principaux pictogrammes d'utilisations sont présentés à la Figure I.10. En (a), il s'agit d'un pictogramme qui traduit la sûreté de l'emballage pour un contact avec les aliments ; (b) sûreté pour l'utilisation au four à microondes ; (c) sûreté pour une utilisation de l'emballage dans le réfrigérateur ; (d) sûreté pour une utilisation dans la machine à laver.

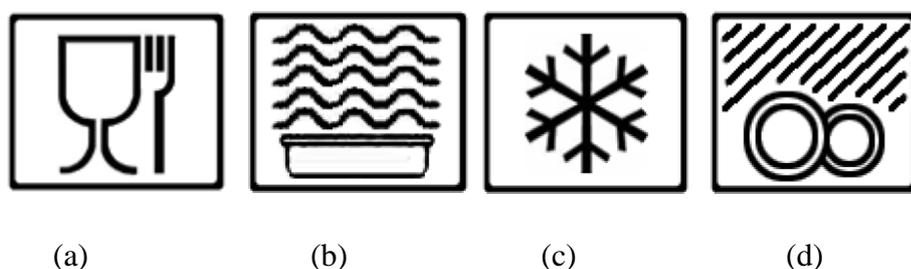


Figure I.10: Les pictogrammes d'utilisation des récipients alimentaires.

Il est exigé aux producteurs des emballages et récipients alimentaires d'indiquer le niveau maximal de contamination de certains composants relargués (Food authority, 2015). C'est le cas par exemple de L'Etain recherché dans les aliments en cannette, et de l'Acrylonitrile, le chlorure de vinyle, les bisphénols ou les phtalates dans les plastiques. Toute surface en contact avec les aliments doit être facilement nettoyable et si nécessaire désinfectable. Ils doivent être faits d'un matériau qui ne contaminera pas les aliments et devra être imperméables aux graisses, aux particules alimentaires et à l'eau ; de plus ils ne doivent pas modifier le goût ou l'odeur de l'aliment (Marsh & Bugusu, 2007). Les récipients qui ont servi d'emballage pour les aliments ne doivent pas être réutilisés, à moins qu'ils puissent être correctement nettoyés et désinfectés pour éviter les contaminations croisées (Arukwe *et al.*, 2012). Cependant, si les récipients sont trop nettoyés au détergent et à la brosse, de manière à ce que leurs surfaces soient attaquées, les normes en matières de récipients alimentaires prescrivent qu'ils ne sont plus adaptés pour stocker les aliments (Arukwe *et al.*, 2012; Food authority, 2015; Marsh & Bugusu, 2007).

Dans plusieurs pays en développement, certaines populations utilisent des récipients non alimentaires pour conserver les aliments. Il s'agit d'anciens emballages de produits chimiques qui sont lavés et réutilisés afin de conserver les eaux de boissons, les boissons traditionnelles ou les aliments. Les études se sont très peu penchées sur la conservation des aliments dans des récipients non alimentaires. Les données recueillies dans la littérature

concernent principalement les pesticides. Les pays en développement (principalement les pays Africains) utilisent 25% de la production mondiale de pesticides mais sont victimes de 50% d'intoxication par ceux-ci, avec plus de 70% de décès associés (Mavuka & Shepard Ndlela, 2017). En effet, 70% des pesticides utilisés dans ces pays sont obsolètes, plus toxiques et contaminés (Mavuka & Shepard Ndlela, 2017). La valeur économique des récipients de pesticides vides dans les pays africains conduit souvent au vol, à la vente et au trafic illégal. Au Mozambique, un grand fût en plastique vide coûte près de 30 000 FCFA, soit environ un mois de salaire pour un ouvrier agricole (Mavuka & Shepard Ndlela, 2017). Par conséquent, les récipients de pesticides usagés traversent la frontière en contrebande pour être vendus. Les problèmes typiques qui conduisent à des empoisonnements incluent :

- Le stockage incorrect des pesticides;
- L'utilisation des récipients vides pour le stockage de l'eau et des aliments;
- Et une élimination inappropriée, comme, brûler ou enfouir des pesticides périmés en plein champs (Arukwe *et al.*, 2012; Mavuka & Shepard Ndlela, 2017).

La FAO/OMS interdit d'enterrer ou de brûler les conteneurs vides de pesticides. Elle recommande de les décontaminer par un triple rinçage peu de temps après avoir été utilisés, puis si possible de les retourner chez les fabricants (Mavuka & Shepard Ndlela, 2017). Dans les pays en développement où il y a d'énormes difficultés d'accès en eau potable dans les milieux ruraux, et plein d'interruptions d'approvisionnement en milieu urbain, le besoin de stocker l'eau dans des récipients « bon marché » reste élevé. C'est en Afrique subsaharienne que le taux d'accès à l'eau potable et à l'assainissement est le plus faible du monde; Seuls 46% de la population rurale et 81% de la population urbaine y ont accès (Nkengfack *et al.*, 2017). Le manque d'éducation des populations est aussi un facteur favorisant l'utilisation de récipients non alimentaires pour la conservation des eaux et des aliments (Mavuka & Shepard Ndlela, 2017; Nkengfack *et al.*, 2017; Pouokam *et al.*, 2014).

I.4. Les bisphénols et les phtalates : Structures, effets et réglementations.

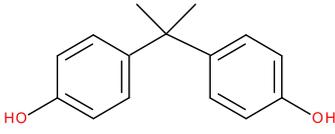
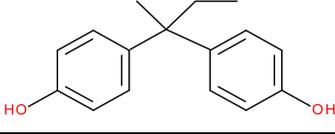
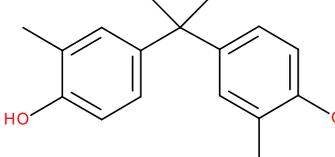
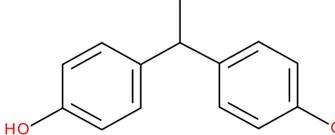
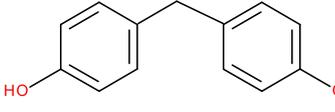
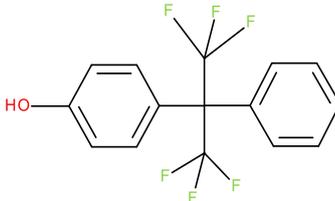
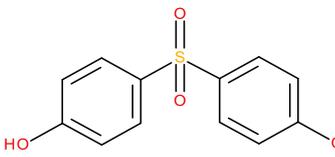
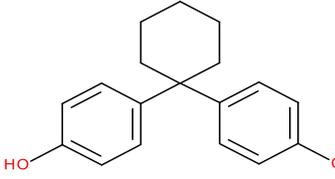
I.4.1. Les bisphénols

Les bisphénols sont des molécules organiques portant deux groupements « phénol ». Leurs structures chimiques sont présentées au Tableau I.3. Les bisphénols sont les monomères des polycarbonates et des résines époxy. Le bisphénol A (BPA) est le plus connu, mais à côté de lui on distingue le bisphénol B (BPB), les bisphénols F (AF, F etc), le bisphénol S (BPS) et le bisphénol Z (BPZ) pour ne citer que ceux-ci. Leur présence dans une matière plastique confère à celle-ci une bonne résistance à la chaleur, à la dégradation et aux chocs (Baluka & Rumbeiha, 2016). On retrouve les bisphénols dans les objets en

polycarbonates (biberons, bouteilles etc), les ustensiles/objets avec revêtement plastique (cannettes des boissons et aliments, DVD, poupée, cuillères, fourchettes, etc) et dans les résines époxy (colle, peinture, etc) (Baluka & Rumbeiha, 2016; Cao & Corriveau, 2008; Healthy Building Network, 2009; Makinwa & Uadia, 2015). A côté de leurs bonnes propriétés, la littérature présente aussi leurs effets néfastes controversés sur la santé humaine. Cependant plusieurs études démontrent qu'ils sont des perturbateurs endocriniens (Quirós-Alcalá *et al.*, 2020). Des travaux ont présenté le rôle néfaste du BPA sur les fonctions immunitaires, l'agressivité des adolescents, la précocité des caractères sexuels secondaires et les anomalies dans la reproduction Diamanti-Kandarakis *et al.*, 2009; Lang, 2008; Soto & Sonnenschein, 2010). Le BPA est aussi impliqué dans le désordre métabolique et cardiovasculaire, les tumeurs (cancer, sein et prostate), la morbidité chez les enfants asthmatiques, et la dépression chez les enfants (Diamanti-Kandarakis *et al.*, 2009; Lang, 2008; Quirós-Alcalá *et al.*, 2020; Soto & Sonnenschein, 2010; Szymański *et al.*, 2006). Au regard de ces effets, des réglementations sur le BPA ont été établies en Amérique et en Europe. En 2008 le CANADA interdit l'import et le commerce des biberons au BPA. En 2009, les Etats Unis d'Amérique (USA) vont suivre le CANADA. En 2011, l'Union Européenne (UE) interdit les jouets, biberons et bouteilles d'eaux au BPA (Talsness *et al.*, 2009; Vandenberg *et al.*, 2009). L'Afrique du Sud est le seul pays d'Afrique noir possédant une réglementation sur le BPA (Baluka & Rumbeiha, 2016; Pouokam *et al.*, 2014).

Les autres bisphénols (BPS, BPF, BPB...) sont utilisés de nos jours pour remplacer le BPA dans les applications industrielles. C'est ainsi que le bisphénol S (BPS) est par exemple utilisé dans la fabrication des papiers thermiques et autres produits assimilés en substitution au BPA. Le BPB et BPF sont utilisés pour substituer le BPA dans la fabrication des résines époxy et les films en polycarbonates en contact avec les aliments. Ils ont été détectés dans les aliments et boissons en cannette (Cardama *et al.*, 2017; Cunha *et al.*, 2011). Les récentes études montrent que ces analogues ne seraient pas moins toxiques que le BPA (Jiang *et al.*, 2020; Quirós-Alcalá *et al.*, 2020; Serra *et al.*, 2019). Sur un plan structurel, il y a une similitude des fonctions chimiques et des propriétés physicochimiques entre tous les bisphénols (Tableau I.3). Les analogues du bisphénol A possèdent une activité œstrogénique identique à celle de ce dernier (Rochester & Bolden, 2015). Certains de ces bisphénols sont plus biodégradables que le BPA, ce qui les rend plus dangereux pour l'homme (Y. Yang *et al.*, 2014).

Tableau I.3: Structure des bisphénols (Regueiro & Wenzl, 2015; Y. Yang *et al.*, 2014)

Nom du bisphénol	Nom chimique// Caractéristiques	Structure	Réactifs de synthèse
Bisphénol A	2,2-bis (4-hydroxy- phényl) propane PM : 228,3 g/mol ; Log K_{ow} : 4,04 ; pKa : 9,78 – 10,39		-Phénol -Acétone
Bisphénol B	2,2-bis (4-hydroxy- phényl)butane PM : 242,3 Log K_{ow} : 4,49 ; pKa : 9,77 – 10,38		-Phénol -Butanone
Bisphénol C	2,2-bis (3-méthyl-4- hydroxyphényl)propane PM : 281,1 g/mol		-Crésol -Acétone
Bisphénol E	1,1-bis(4-hydroxy- phényl) éthane PM : 214,3 g/mol		-Phénol -Ethanal
Bisphénol F	Bis(4-hydroxyphényl) méthane PM : 200,2 g/mol; Log K_{ow} : 3,46 ; pKa : 9,84 – 10,45		-Phénol -Formaldéhyde
Bisphénol AF	2,2-bis(4-hydroxy- phényl)hexafluoro- propane PM : 336,2 g/mol		-Phénol -Hexafluoro- acétone
Bisphénol S	Bis(4-hydroxy- phényl)sulfone PM : 250,3 g/mol		-Phénol -Trioxyde de soufre
Bisphénol Z	1,1-bis(4-hydroxy- phényl)cyclohexane PM : 268,4 g/mol		-Phénol -Cyclohexanone

L'agence européenne pour la sécurité alimentaire (EFSA) a proposé en 2011 pour le BPA, une dose journalière maximale (TDI) de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids corporel (Dreolin *et al.*, 2019). En 2017, elle a réduit cette valeur en présentant une dose journalière maximale

temporaire (t-TDI) de 4µg/kg de poids corporel (Dreolin *et al.*, 2019; Talsness *et al.*, 2009; Vandenberg *et al.*, 2009). En Afrique en général et au Cameroun en particulier, il n'existe pas de réglementation sur les bisphénols (Baluka & Rumbeiha, 2016; Pouokam *et al.*, 2014).

I.4.2 Les phtalates

Les phtalates sont des molécules chimiques dérivés (sels ou esters) de l'acide phtalique. Leur structure est constituée d'un noyau benzénique et deux groupements ester placés en ortho, et dont la chaîne aliphatique varie d'un composé à un autre (Hahladakis *et al.*, 2018). Elles ont donc une structure générale de diester (Figure I.11). Parmi les plus courantes, on a : le BBP (phtalate de benzylbutyle), le DBP (phtalate de dibutyle), le DEP (phtalate de diéthyle), le DEHP (phtalate de di-2-éthylhexyle), le DNOP (Phtalate de di-n-Octyle) et le DINP (phtalate de di-isononyle). Les Phtalates sont principalement connus pour leur rôle de plastifiant dans les polymères plastiques. La majorité des articles rigides, semi-rigides ou souples à base de chlorure de polyvinyle (PVC), contiennent des phtalates. Parmi les plastifiants les plus utilisés dans les PET (polyéthylènetéréphtalate), on retrouve le di-isobutylphtalate (Hahladakis *et al.*, 2018).

La proportion de phtalates peut atteindre jusqu'à 50 % dans certains produits, notamment dans les sacs de plastiques, les cadres pour fenêtres, les imperméables en plastique, les rideaux de douche, les bottes, les boyaux d'arrosage, les jouets, les dispositifs médicaux, les emballages alimentaires (Saint-Laurent & Rhains, 2004). On retrouve également les phtalates dans plusieurs produits de consommation courante tels les adhésifs, les revêtements de sol en vinyle, les huiles lubrifiantes, les condensateurs électriques, les détergents, les solvants, les produits pharmaceutiques, les fils/câbles électriques et les produits cosmétiques (parfums, déodorants, lotions après rasage, shampooings, aérosols pour cheveux, vernis à ongles) (Saint-Laurent & Rhains, 2004; Zaater *et al.*, 2014).

A côté de leur rôle incontournable (plastifiant) dans l'amélioration des propriétés des plastiques, les phtalates (PAEs) présentent aussi des effets néfastes sur la santé humaine. Elles ont été plusieurs fois citées pour leurs effets sur la reproduction, notamment des problèmes de fertilité et de développement de nouveau nés (Giuliani *et al.*, 2020; Larsson *et al.*, 2017). Des travaux ont montré que les PAEs sont des perturbateurs endocriniens et des substances cancérigènes (Giuliani *et al.*, 2020; Larsson *et al.*, 2017; Meeker *et al.*, 2009; Saint-Laurent & Rhains, 2004; Schierow & Mikyung Lee, 2008; Zaater *et al.*, 2014). En Europe et en Amérique, il existe des réglementations sur certains PAEs, notamment le DEHP, le di-n-butylphtalate (DnBP) et le Butylbenzylphtalate (BBP). Ils ont été interdits d'usage pour la confection des jouets en Europe depuis 2007 du fait de

leur toxicité sur la reproduction (Directives 2004/93/EC ; 2005/84/EC et 2007/19/EC). A partir de 2015, ils ont été interdits d'usage dans toutes les formulations circulant dans l'union Européenne sans autorisation spéciale (Larsson *et al.*, 2017). A côté de ceux-ci, trois autres phtalates ont été mis sur la liste des polluants prioritaires par l'Agence américaine pour la protection de l'Environnement, l'Union Européenne et l'Agence Chinoise de l'Eau. Il s'agit du DINP (Diisononylphtalate), le DIDP (Diisodecylphtalate) et le DnOP (Di-n-Octylphtalate) (Net *et al.*, 2015; Schierow & Mikyung Lee, 2008).

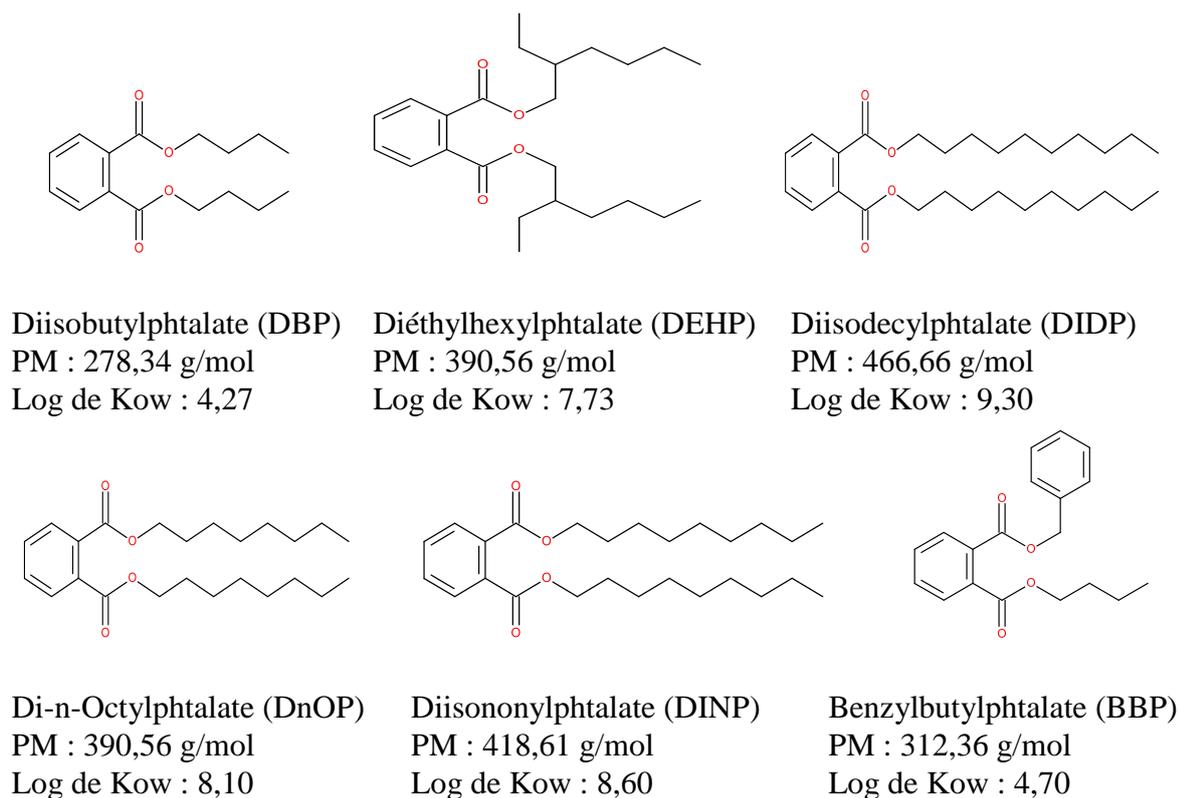


Figure I.11: Structures chimiques de quelques phtalates (Z. Li *et al.*, 2011)

I.5. Contamination des aliments par les bisphénols et les phtalates

I.5.1. Contrôle de la qualité des emballages : Etude du relargage

Les études de relargage des bisphénols et phtalates ont été effectuées avec divers récipients et films plastiques mis en contact avec des simulants alimentaires dans les conditions standardisées (Tableaux I.4 et I.5). Les simulants les plus utilisés sont :

- ✓ L'éthanol 10% pour les boissons aqueuses ou faiblement alcoolisées;
- ✓ L'éthanol 50% pour les boissons fortement alcoolisées ;
- ✓ L'acide acétique 3% pour les aliments acides ;
- ✓ L'isooctane ou le Miglyol 812 ou l'huile de tournesol pour les aliments gras.

Certains auteurs utilisent l'eau ultrapure pour simuler les boissons aqueuses non alcoolisées (Liu *et al.*, 2020).

Tableau I.4: Types d'aliments et de simulant utilisés pour les études de contact alimentaire.

Types	Description	Classification	Simulant recommandé
I	Produits aqueux non acides, peuvent contenir le sel, le sucre ou les deux (pH>5)	Aqueux	Ethanol à 10%
II	Produits aqueux acides, peuvent contenir le sucre, le sel ou les deux, et incluant les émulsions huile dans eau.	Acide	Acide acétique 3%
III	Produits aqueux, acides ou non acides contenant de l'huile ou corps gras libre, peuvent contenir du sel, et incluant les émulsions eau dans huile	Gras	Huile alimentaire, HB307, Miglyol 812
IV	A-Emulsion eau dans huile, riche ou faible en corps gras	Gras	-Huile alimentaire, HB307, Miglyol 812
	B- Emulsion huile dans eau, riche ou faible en corps gras	Aqueux	-Ethanol 10%
V	Graisses et huiles à faible teneur en eau	Gras	Huile alimentaire, HB307, Miglyol 812
VI	Les boissons		
	A-Contenant jusqu'à 8% d'alcool	-Alcool faible	-Ethanol 10%
	B-Non alcoolique	-Aqueux	-Ethanol 10%
	C- Contenant plus de 8% d'alcool	-Alcool élevé	-Ethanol 50%
VII	Produits de boulangerie (autre que ceux de type VII et VIII)		
	A-Produits humides de boulangerie avec une surface contenant de la graisse ou de l'huile libre.	-Gras	-Huile alimentaire, HB307, Miglyol 812
	B-Produits humides de boulangerie avec une surface ne contenant pas de la graisse ou de l'huile libre.	-Aqueux	-Ethanol 10%
VIII	Solides secs dont la surface ne contient ni graisse ni huile libre.	-Sec	Tenax ou poly (oxyde de 2,6-diphenylphénylène)
IX	Solides secs dont la surface contient des graisses ou huiles libres.	-Gras	Huile alimentaire, HB307, Miglyol 812

Source : FDA (administration américaine pour les denrées alimentaires et les médicaments) et reproduit par Bhunia *et al.*, (2013).

❖ Etude du relargage des bisphénols

La majorité des études portent sur le bisphénol A. Les résultats sont divergents d'un auteur à un autre. La teneur en BPA libéré par les biberons en polycarbonate à travers diverses

études est entre 0,3 et 521 µg/L. Les études menées en utilisant l'eau comme simulant alimentaire montrent que la migration du bisphénol A est plus forte lorsque les biberons sont maintenus avec l'eau à 70°C pendant 6 jours. L'utilisation des autres simulants alimentaires montre que cette migration est plus grande dans l'alcool à 50% que dans l'acide acétique 3% (Santillana *et al.*, 2011). Lors de la migration du BPA dans l'acide acétique 3%, la teneur en BPA augmente la première heure, puis diminue avec le temps. Les fortes concentrations de migration du BPA de la première heure sont dues à la dégradation et la dépolymérisation du polymère, puis la teneur libérée diminue à cause de lessivage répété. Les utilisations répétées, diminue donc la teneur en BPA libéré. (Mostafa *et al.*, 2012).

Les études réalisées sur le lessivage du BPA des biberons en polycarbonate avec l'éthanol à 10% montrent que celui-ci est maximal quand la température est de 55°C. Ensuite diminue progressivement jusqu'à 93°C. La diminution avec l'augmentation de la température est due à la décomposition du BPA. La concentration de BPA libéré dans l'éthanol 10% diminue avec l'augmentation du temps de chauffage au four à microondes. Ensuite ce lessivage décroît avec l'augmentation de la température tout en allongeant le temps de chauffage dû à la dégradation des éléments dégradables (Mostafa *et al.*, 2012).

La migration du BPA des biberons est plus grande dans l'éthanol 95% et l'isooctane, que dans l'acide acétique 3% et l'éthanol 15%. Cette migration est plus forte dans les aliments gras (Rodriguez *et al.*, 2019). Il en est de même pour des dérivés du BPA. Des auteurs ont montré que la stabilité des dérivés du BPA (BADGE. H₂O, BADGE.HCl etc) dans les solutions de solvant (méthanol) diminue avec l'augmentation de la teneur en eau (>40%) et la réduction et la température de 4 à -20°C (Szczepańska *et al.*, 2019).Lorsqu'on chauffe les biberons en polycarbonate au four à microondes pendant 10 min et qu'ils sont ensuite mis en contact avec à une eau alcaline (pH 9,5) les teneurs en bisphénol A relargué sont supérieures à 100 µg/L (Almeida *et al.*, 2018). Cependant pour le même matériau, les résultats divergent d'un auteur à un autre.

Une étude effectuée en Espagne sur les biberons en polycarbonate a montré une migration du bisphénol A (BPA) en dessous de 0,004-0,007 mg/kg d'aliment (Santillana *et al.*, 2011). Une étude similaire effectuée en Inde sur le même type d'échantillon, mais dans les conditions moins sévères (eau chaude à 70°C pendant 1heure) montre des teneurs en BPA autour de 19 µg/L soit environ 0,019 mg/kg (Shrinithiviahshini *et al.*, 2014). Cette disparité a été observée par des auteurs qui ont étudié les teneurs en BPA résiduel des biberons en polycarbonate venant de plusieurs pays, et de plusieurs usines par pays. Ils remarquent que les teneurs en BPA relargué par les biberons dépendent de la formulation du matériau qui varie

d'un pays à un autre et d'une usine à une autre. Ils remarquent que la teneur en BPA résiduel est plus grande dans les biberons en provenance de Chine que dans ceux d'Egypte qui le sont plus que ceux des USA (Mostafa *et al.*, 2012). Il est important que dans chaque pays, des travaux soient menés pour connaître le taux de BPA résiduel dans les produits en circulation (Mostafa *et al.*, 2012).

En somme, la migration des bisphénols vers les aliments est donc plus forte à une température élevée, mais dépend de la nature de l'aliment. Elle est plus grande dans les aliments gras que dans les aliments acides ou dans l'eau. Les teneurs en BPA dépendent de la formulation du biberon, donc de l'origine de celui-ci. Les lavages successifs des biberons diminuent la teneur de BPA relargué.

Tableau I.5: Conditions standardisées pour la migration globale.

Etat de contact alimentaire prévu	Temps de contact et température simulés
Aliments congelés et réfrigérés	10 jours à 20°C
Stockage à long terme à ou en dessous de la température ambiante, incluant le chauffage pendant 15 min jusqu'à 100°C ou 70°C jusqu'à 2h.	10 jours à 40°C
Tout aliment chauffé jusqu'à 70°C pendant 2h maximum, ou jusqu'à 100°C pendant 15 min maximum, non suivi de stockage à long terme à température ambiante ou réfrigéré	2 heures à 70°C
Application à haute température jusqu'à 100°C pour tous les simulants alimentaires.	1 heure à 100°C
Application à haute température jusqu'à 121°C	2 heures à 100°C ou à reflux, ou encore 1 heure à 121°C.
Toutes conditions de contact alimentaire avec les simulants alimentaires A, B ou C à une température supérieure à 40°C.	4 heures à 100°C ou à reflux.
Applications à haute température avec des aliments gras dépassant les conditions de chauffage jusqu'à 121°C.	2 heures à 175°C

Source : EU/10/2011 et reproduit par Bhunia *et al.*, (2013).

❖ Etude du relargage des phtalates

L'étude du relargage des phtalates se fait dans les mêmes conditions que celle des bisphénols. Les auteurs découpent le matériau plastique de manière à avoir environ 0,1 à 1 dm² en contact avec le simulant alimentaire (Yuan *et al.*, 2020). La migration des phtalates dépend du simulant alimentaire utilisé. La migration se déroule principalement dans les milieux organiques, en raison du caractère hydrophobe des phtalates. Les études ont montré qu'à 4°C, la migration des phtalates des gamelles en plastique est plus forte en contact avec l'isooctane par rapport à l'éthanol 10%. Ce dernier permet une migration plus importante que

l'acide acétique 3%. Dans l'eau ultrapure, la n'est pas perceptible (J. Liu *et al.*, 2020). D'autres travaux montrent que la migration des phtalates des films en PVC est plus importante avec le n-hexane qu'avec l'éthanol 95% (Yuan *et al.*, 2020). Cette migration augmente avec le temps et la température (J. Liu *et al.*, 2020 ;Yuan *et al.*, 2020).

La vitesse de migration est plus grande lorsque la masse du phtalate est plus petite et la température plus grande. Elle augmente aussi avec l'augmentation du coefficient de partage eau-huile (Kow). En effet, la faible polarité des phtalates facilite leur migration dans les solvants peu polaires. Yuan *et al.*, (2020). Lors des études avec les films en PVC, la migration des phtalates dans l'éthanol s'explique par le gonflement du polymère. La dissolution du PVC commence lorsqu'il est en contact avec l'éthanol 95% (Yuan *et al.*,2020).

La migration des phtalates est aussi influencée par les conditions de l'étude. Une étude sous agitation libre plus de composés que l'étude en mode statique. De même, soumis aux mêmes conditions de traitement, le chauffage aux microondes provoque une libération des phtalates plus faible comparée au chauffage conventionnel. Cependant, il se remarque que le un chauffage prolongé aux microondes dégrade plus les antioxydants du plastique, comparé au chauffage conventionnel (Bhunja *et al.*,2013). Il y a donc souvent un gap entre les résultats des études de relargage et les teneurs en phtalates réellement rencontrés dans les aliments et boissons. Le contrôle de la qualité des aliments est nécessaire pour avoir les teneurs réelles.

I.5.2. Contrôle qualité des aliments : Influence des paramètres

❖ Les bisphénols dans les aliments

La quantification des bisphénols dans divers aliments s'est effectuée dans plusieurs pays, notamment ceux d'Europe et d'Asie. Les bisphénols les plus recherchés sont : A (BPA), B (BPB), F (BPF) et S (BPS). Les résultats obtenus pour l'analyse des huiles alimentaires sont divergents et liés à la technique analytique mise en œuvre. Plusieurs travaux n'ont pas détecté un seul bisphénol dans les huiles alimentaires. Lorsqu'un bisphénol est détecté dans les huiles, il s'agit en pratique du BPA. Il est retrouvé aux concentrations très variables d'un auteur à un autre (98,9 - 333 µg/kg) (S. Liu *et al.*, 2013; Niu *et al.*, 2012). Les études réalisées sur les huiles conservées dans les emballages plastiques et non plastiques (verre, aluminium) montrent que les premiers ont des teneurs significativement supérieure aux seconds (Abou Omar *et al.*, 2017; Nemati *et al.*, 2018). Abou Omar *et al.*, (2017) constatent que les huiles produites de manière artisanale ont plus de bisphénols que les huiles des industries. L'étude de l'influence du type de polymère montre que la migration du bisphénol A dans les huiles ne dépend pas de la nature du polymère. Les bouteilles en polypropylène (PP), polyéthylène haute et basse densité (PEHD et PEBD), et celles qui n'ont pas de polymère spécifié, libèrent

des teneurs en bisphénols comparables (Abou Omar *et al.*, 2017). La conservation prolongée des huiles dans les emballages plastiques augmente leur teneur en BPA. Cette teneur varie en fonction du lot et de la durée de conservation, mais ne dépend pas de la date de production. Les huiles conservées dans bouteilles en polycarbonates pendant 40 jours, voient leur teneur en BPA augmenter fortement les 30 premiers jours, puis elle se stabilise progressivement. Les auteurs se sont rendu compte que le chauffage du plastique au four à microondes augmente la migration du BPA vers les aliments (Nemati *et al.*, 2018; Xian *et al.*, 2017).

La recherche des bisphénols A, B, E, F, P et S a été effectuée dans plusieurs types de boisson, allant des non alcoolisées aux alcoolisées. Les emballages qui les contiennent sont souvent en plastiques, en cannettes métalliques et en verre. Le BPA, BPB et le BPF sont les bisphénols couramment détectés. Les teneurs en BPA, BPB et BPF rencontrés dans les boissons sont respectivement de 1,26 - 4700 µg/L, 60 – 170 µg/L et 1,0-560 µg/L (Cardama *et al.*, 2017; Cunha *et al.*, 2011; Regueiro & Wenzl, 2015). L'étude comparée de la teneur en BPA des boissons en cannettes à la date de péremption et celle des simulants alimentaires (Ethanol 20% à 40-60°C) conservés dans les cannettes pendant 10 jours a été effectuée (Stärker & Welle, 2019). Les résultats montrent que les simulants alimentaires surestiment les données de migration. Dans les boissons en cannettes en date de péremption, les auteurs ont trouvé des teneurs en BPA < 0,14 µg/L, tandis que dans l'éthanol à 20% conservé dans les cannettes, les teneurs variaient entre <0,99 – 9,40 µg/L (Stärker & Welle, 2019).

L'analyse des confitures et des jus de fruit conservés dans les mêmes types d'emballages montre que les teneurs en BPA sont plus élevées dans la confiture en raison de sa teneur en matières sèches plus élevée et son pH plus faible (El-Dars *et al.*, 2018). A pH < 5 et pH >10, les études montrent que les groupements époxy subissent une substitution nucléophile et sont hydrolysés en produits phénoliques, incluant le BPA (El-Dars *et al.*, 2018; Hao, 2020). La nature du récipient (plastique, métal ou papier) a également une influence sur la teneur en BPA. Les échantillons conservés dans le plastiques ont plus de BPA (El-Dars *et al.*, 2018).

L'analyse du BPA des aliments conservés dans les cannettes ou les emballages à revêtement plastique intérieur tel que le lait, les jus de fruits, la crème, le pudding et le thon, montre que les concentrations varient entre 21,9 – 1858,7 µg/kg (Sungur *et al.*, 2014). A côté de ces aliments, les pois verts, le maïs, la pâte de tomate, le poivre, les champignons et le haricot ont une concentration en BPA variable en fonction de l'emballage. Elle est de 36,5 - 554,5 µg/kg pour les papiers cartons et < 339,2 µg/kg pour bocaux en verre (Rastkari *et al.*, 2017). L'analyse compositionnelle de ces aliments et boissons montre que la teneur en BPA

augmente avec les teneurs en glucose et en NaCl (Rastkari *et al.*, 2017; Sungur *et al.*, 2014). La teneur en BPA des aliments augmente aussi quand la date d'expiration est proche et lorsque les cannettes sont chauffés (2 à 4 fois les teneurs en BPA sans chauffage) (Rastkari *et al.*, 2017; Sungur *et al.*, 2014).

Les teneurs en BPA dans les produits laitiers, les viandes, les fruits, les aliments pour bébé et ceux des fast-foods (chips, burger etc) sont respectivement de 0,5 -15,3 µg/kg, 0,5 - 10,5 µg/kg, 0,57 – 3,0 µg/kg, 0,84 -2,46 µg/kg et 1,2 -10,9 µg/kg (Almeida *et al.*, 2018; Cunha *et al.*, 2011; Xiong *et al.*, 2018). Au niveau des farines et céréales, le BPA est le plus rencontrés avec des concentrations inférieures à 400 µg/kg (Niu *et al.*, 2012). L'analyse du BPA et huit de ses dérivés dans les produits laitiers montre que seuls le BPA, le BADGE, 2H₂O et le BFDGE, 2H₂O sont détectés (Xiong *et al.*, 2018). Les doses quotidiennes actuelles d'exposition alimentaire au BPA ne présentent pas de risque pour la population. Cependant des études récentes montrent la relation entre le BPA à faibles doses et l'hyperactivité chez les enfants (Almeida *et al.*, 2018).

La recherche des bisphénols A, B, F, AF, BADGE s'est aussi effectuée dans plusieurs eaux, notamment les eaux minérales, les eaux de puits, les bonbonnes d'eaux et les eaux de robinet. Les fréquences de détection des bisphénols A et AF dans les eaux de robinet sont respectivement d'environ 70 et 60% pour des teneurs entre 0,38 et 0,46 µg/L (Russo *et al.*, 2022). Dans l'eau de puits et de rivières consommée par des populations d'un village du Nigeria, des teneurs en BPA ont été détectées respectivement à 0,52 et 0,92 µg/L (Maduka Ignatius *et al.*, 2010). D'autres auteurs ont trouvé que les teneurs maximales en BPA dans les eaux en bonbonne, les eaux minérales et les eaux de sources étaient respectivement de 0,9 µg/L, 0,7 µg/L et 0,5 µg/L (El-Dars *et al.*, 2018; Hao, 2020). Les conditions de conservations des eaux influencent leurs teneurs en BPA. Une étude a montré que la concentration moyenne en BPA dans les bouteilles d'eau conservé à 25°C était de 4,28 µg/L. Lorsqu'on expose ses bouteilles au soleil la teneur en BPA augmente jusqu'à 11,8 µg/L. L'exposition au soleil augmente donc la migration du BPA des bouteilles plastiques vers les eaux (Leena *et al.*, 2016). La comparaison entre la teneur en BPA des eaux conservées dans les bouteilles en PC et celle des eaux conservées dans bouteilles en PET montre qu'il n'y a pas de différence significative (Leena *et al.*, 2016). Pour les eaux conservées a température ambiante, la nature du polymère n'influence donc pas la teneur en BPA. Les études montrent aussi que les températures élevées et un temps de stockage prolongé augmentent les teneurs en BPA dans les eaux conservées dans les récipients en plastiques (Yun *et al.*, 2018). Ainsi, les eaux conservées dans une voiture exposée au soleil ont plus de BPA que celles qui sont conservées à 25°C dans une maison (Yun *et al.*, 2018).

❖ Les phtalates dans les aliments

L'analyse des phtalates dans les boissons non alcoolisées conservées dans les bouteilles en polyéthylène téréphtalate (PET) montre que les valeurs moyennes des phtalates quantifiés peuvent atteindre 542,6 µg/L (Bosnir *et al.*, 2007). Les phtalates de faible poids moléculaire migrent plus facilement vers les boissons non alcoolisées, tandis que ceux de poids moléculaire élevé migrent plus vers les eaux (Bosnir *et al.*, 2007). La migration des phtalates dans les boissons dépend du conservateur utilisé et du pH. Les faibles valeurs de pH induisent une forte migration des phtalates des récipients vers les boissons (Bosnir *et al.*, 2007). L'analyse du coca-cola au Nigeria a révélé la présence de quatre phtalates; Diethyl phthalate (DEP), Bis-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP), Dimethyl phthalate (DMP), Dibutyl phthalate (DBP), and diphenyl phthalate (DPHP). Les concentrations dans les échantillons variaient de 0,37 à 16,7 µg/mL. (Ayofe *et al.*, 2018). Concernant l'analyse des phtalates dans les vins, les études menées par Del carlo *et al.* (2008) montrent que tous les échantillons en contiennent. Ces auteurs constatent que les échantillons de vin blanc et de vin rouge (conservés dans les bouteilles en verre) achetés sur le marché contiennent plus de phtalates que ceux des projets expérimentaux conservés dans les récipients en polypropylène. Ils notent qu'il n'y pas d'influence de la nature de l'emballage sur la teneur en phtalates totaux et individuels des vins commerciaux. Les valeurs médianes des phtalates dans les vins commerciaux (0,385 µg/mL) sont supérieures à celles des vins venant des vignobles (0,204 µg/mL), qui elles même sont supérieures à celles du vin expérimental conservé dans le polypropylène (0,138 µg/mL) (Del Carlo *et al.*, 2008).

Les échantillons d'eaux contiennent moins de phtalates que les vins. Les études de Zaater *et al.*, (2014) sur les eaux minérales commercialisées en Jordanie montrent que la concentration en phtalates totaux (PAEs) est comprise entre 8,1 et 19,8 µg/L. Ils se rendent compte que l'augmentation de la température de stockage des échantillons d'eaux conduit à l'augmentation de la teneur en PAEs dans les eaux (23 – 29 µg/L). Parmi les PAEs les plus rencontrés dans les eaux, on distingue le dibutyl-, di-2-ethylhexyl- et di-n-octyl-phthalate (DBP, DEHP et DnOP) (Zaater *et al.*, 2014). D'autres auteurs ont effectué l'évaluation des teneurs en DBP, BBP, DMP, DINP et le DEHP dans les eaux embouteillées. Les résultats montre que ces teneurs sont inférieures à 1 µg/L (Ortega-Zamora *et al.*, 2020; Pardo-Mates *et al.*, 2017). Il en est de même des eaux de robinet dans lesquelles Hadjmohammadi *et al.*, (2011) n'ont détecté aucun PAEs. Tout comme pour le cas des bisphénols, la teneur en PAE dans les échantillons d'eau ne dépend pas de la nature du polymère en contact avec ceux-ci. Cao & Corriveau, (2008) ont étudié la contamination des eaux conservées dans les bouteilles en PET et en PC maintenues à 40°C pendant 6 mois. Ils ont quantifié uniquement le DBP à

une concentration maximale de 1,7 µg/L. Aucun PAE n'a été détecté dans les échantillons d'eau embouteillée au PET, contrairement à ceux conservés dans les bouteilles en PC. Cependant les auteurs observent qu'il n'y a pas de différence significative entre les teneurs en PAEs des eaux conservées au PET, au PC et au verre.

Le caractère gras des aliments les expose à une contamination par les phtalates plus grande. La détermination de neuf phtalates dans les produits laitiers conservés dans du plastique a montré la présence du DBP aux concentrations supérieures à 100 µg/kg (113 – 131 µg/kg) (Z. Li *et al.*, 2011). Les travaux ont été effectués sur la quantification des phtalates dans les aliments gras tels que la morue, le beurre, les graisses de porc, d'oie et de canard, ainsi que les huiles de tournesol, d'olive, de colza et de lin. Les résultats montrent que la teneur maximale en phtalates est de 12,5 µg/g dans ces aliments gras (Ibrahim *et al.*, 2014). Lorsque l'huile de palme brute est conservée dans les bouteilles en PET, la teneur maximale en phtalates est 920 µg/L. Le BBP et le DBP sont les phtalates principalement rencontrés dans l'huile de palme. Exceptés l'huile de palme brute et le beurre, tous les autres échantillons gras ont des teneurs inférieures à la limite de migration des phtalates dans les aliments 0,3 mg/kg (Ibrahim *et al.*, 2014; Ostrovsky' *et al.*, 2010; Pardo-Mates *et al.*, 2017).

I.6. Méthode d'analyse des bisphénols et des phtalates dans les aliments.

I.6.1. L'analyse des bisphénols : Extraction, purification et quantification

L'extraction des bisphénols A, B, F, S, E, P, Z s'est effectuée dans diverses matrices. Dans les huiles elle se fait soit en phase solide ou en phase liquide. L'extraction liquide-liquide utilise des solvants apolaires ou le mélange de solvants apolaires et polaires. Le couple cyclohexane et acétate d'éthyle est un exemple de mélange. L'extraction liquide-liquide peut se faire avec des grands volumes de solvant ou avec des petits volumes. Lorsqu'il s'agit des grands volumes de solvant ($>=1$ mL), on parle de l'extraction liquide-liquide ou LLE. Par contre, lorsque les volumes sont inférieurs à 1 mL, il s'agit de la micro-extraction liquide-liquide (LLME). Cette dernière peut nécessiter l'usage d'un agent dispersant à l'instar de l'hexane, on parle de micro-extraction liquide-liquide dispersive (DLLME). Lorsque la micro-extraction se fait avec des solvants apolaires pour extraire des composés polaires on parle de micro-extraction en phase reverse (RP-DLLME). Les taux d'extraction en phase liquide varient entre 70% et 106%. L'extraction peut aussi se faire en phase solide (SPE) avec de grands ou petits volumes de solvant d'élution. Lorsque le système est automatisé et utilise de petit volume de solvant pour éluer les composés fixés sur le support solide, on parle de micro-extraction dispersive en phase solide (DMSPE). L'hexane est souvent le dispersant, et l'élution se fait grâce à divers solvants comme la solution d'ammonium-méthanol-eau,

l'hydroxyde de soude dans le méthanol, ou le tétrachlorure d'éthylène. (Abou Omar *et al.*, 2017; S. Liu *et al.*, 2013; Nemati *et al.*, 2018; Niu *et al.*, 2012; Ortega-Zamora *et al.*, 2020; Xian *et al.*, 2017). L'extraction en phase solide est encore largement utilisée dans les préparations de l'échantillon à la fois pour l'enrichissement/déconcentration d'analyse et/ou le nettoyage. Généralement, il y a quatre principales caractéristiques d'un composé chimique qui sont responsables de sa rétention en SPE. La polarité, la charge électrique, la reconnaissance moléculaire et la taille moléculaire. L'adsorbant le plus utilisé est constitué de particules de silice en phase greffée. La colonne C18 est la première à être utilisée à cet effet, avant l'avènement des colonnes à adsorbants polymériques. Ces derniers augmentent clairement l'applicabilité de la SPE. Ils ont une stabilité supérieure dans une grande plage de pH, et permettent de retenir les analytes polaires ; c'est le cas des cartouches HLB (équilibre hydrophile-lipophile) qui sont constituées d'un copolymère de N-vinylpyrrolidone (hydrophile) et de divinylbenzène (lipophile). Les cartouches PAX quant à elles sont constituées de polymères anioniques. Après l'extraction, les extraits sont purifiés et concentrés par plusieurs techniques dont la chromatographie par perméation de gel, la centrifugation, l'évaporation à l'évaporateur rotatif (Abou Omar *et al.*, 2017; S. Liu *et al.*, 2013; Nemati *et al.*, 2018; Niu *et al.*, 2012; Ortega-Zamora *et al.*, 2020; Xian *et al.*, 2017).

Les méthodes d'analyse des bisphénols comportent plusieurs techniques dont les principales sont enzymatiques et chromatographiques. La chromatographie est la technique la plus utilisée. On distingue deux grands types de chromatographie : la chromatographie en phase gazeuse (CPG ou CG) et la chromatographie liquide de haute ou ultra performance (CL, HPLC ou ULPC). Les détecteurs les plus utilisés pour l'analyse en chromatographie liquide des bisphénols sont les suivants : le détecteur ultraviolet (UV), le détecteur par fluorescence, le détecteur UV à barrettes de diodes, et le spectromètre de masse seul ou en tandem. Les colonnes utilisées sont les C8 et les C18, avec une prépondérance pour ces derniers qui donnent les meilleurs résultats. Les phases mobiles utilisées sont fonction du mode d'ionisation choisi, soit positive ou négative. En ionisation négative les bisphénols se retrouvent avec des charges négatives maintenues dans une phase mobile alcaline, et qui leur permettent de capter le proton, tout en conservant leur polarité. Plusieurs auteurs utilisent par conséquent le mélange ammonium/eau-/méthanol, avec des teneurs en hydroxyde d'ammonium comprises entre 0,05 et 0,1%. Lorsque l'analyse ne nécessite pas d'ionisation, les phases mobiles courantes sont constitué de mélanges eau-acétonitrile ou eau-méthanol (Abou Omar *et al.*, 2017; S. Liu *et al.*, 2013; Nemati *et al.*, 2018; Niu *et al.*, 2012; Regueiro & Wenzl, 2015; Xian *et al.*, 2017; Y. Yang *et al.*, 2014).

Pour une ionisation positive, la phase mobile doit plutôt être acide. C'est ainsi que l'acide formique à 0,05 ou 0,1% est souvent ajouté au mélange eau-méthanol ou eau-acétonitrile. Les limites de quantifications des méthodes d'analyse des bisphénols dans les huiles varient de 2,2 à 450 µg/kg. Les coefficients de variation intra et inter-jour pour les tests de répétabilité et de fidélité intermédiaire sont souvent respectivement de 1,9-11% et 4,4-23%. Les méthodes chromatographiques d'analyse simultanée de plusieurs bisphénols ont en général des temps d'élution compris entre 10 et 30 minutes. La faible spécificité de certains équipements chromatographiques, fait que très peu d'auteurs analyses simultanément plusieurs bisphénols (Abou Omar *et al.*, 2017; S. Liu *et al.*, 2013; Nemati *et al.*, 2018; Niu *et al.*, 2012; Regueiro & Wenzl, 2015; Xian *et al.*, 2017; Y. Yang *et al.*, 2014)

L'analyse des bisphénols dans les farines s'effectue comme dans les huiles. La microextraction liquide-liquide dispersive (DLLME) est utilisée. Les taux d'extraction varient de 68 à 114%. Les auteurs ajoutent parfois un mélange contenant le tétrachlorure d'éthylène (solvant d'extraction), l'acétonitrile (dispersant), et l'anhydride acétique (agent de dérivation) dans les extraits. L'analyse effectuée par chromatographie gazeuse couplé au spectromètre de masse donne les limites de quantification entre 0,1 et 0,2 µg/L. Lorsque l'extraction en phase solide automatisée (DMSPE) est utilisée, l'éluant d'extraction est parfois constitué de méthanol et d'eau, donnant des taux d'extraction de 81,6 – 115,7%. L'utilisation de la chromatographie liquide couplée au spectromètre de masse en tandem, permet d'obtenir des limites de quantification située autour de 0,5 µg/kg dans le riz, le maïs et le blé. (Cunha *et al.*, 2011; Niu *et al.*, 2012).

Dans les produits laitiers l'extraction faite dans un bac à ultrasons avec l'acétonitrile permet d'obtenir des taux d'extraction entre 75,8 et 93,9%. L'utilisation d'une HPLC-FLD (détecteur à fluorescence) avec une colonne C18 et une phase mobile constituée d'acide formique 0,1% et d'acétonitrile, donne une limite de quantification autour de 9,8 µg/kg. Les coefficients de variation de répétabilité intra-jour et inter-jour sont respectivement de 2,6 et 11,1% (Xiong *et al.*, 2018).

Pour l'analyse des boissons alcoolisées et non alcoolisées, en fonction des teneurs en dioxyde de carbone, la première étape c'est souvent le dégazage. La technique d'extraction la plus couramment utilisée c'est l'extraction ou la micro-extraction en phase solide. Les cartouches utilisées sont les mêmes que celles de l'extraction de l'huile. Les taux d'extraction sont généralement compris entre 77 et 114%, et les limites de quantification varient de 0,006 à 50 µg/L (Cardama *et al.*, 2017; Cunha *et al.*, 2011; El-Dars *et al.*, 2018; Regueiro & Wenzl, 2015; Stärker & Welle, 2019; Sungur *et al.*, 2014). Dans les eaux, la SPE est en général utilisée. En plus des cartouches présentées pour l'extraction des composés organiques dans les

huiles, il y a des nanotubes de carbone multiparois qui sont souvent utilisés. L'efficacité de ces derniers conduit à des taux d'extraction entre 92 et 99%. Les cartouches de SPE classique permettent d'obtenir des taux d'extraction compris entre 84 et 107%. Les limites de quantification des diverses techniques chromatographique, se situent entre 0,05 et 18,8 µg/L. Plusieurs auteurs sont obligés de concentrer les bisphénols des échantillons d'un facteur de 100 à 2000 fois, du fait des faibles teneurs couramment observées dans les eaux, et la faible sensibilité de plusieurs méthodes d'analyse chromatographique (Hao, 2020; Leena *et al.*, 2016; J. Liu *et al.*, 2020; Russo *et al.*, 2022; Y. Yang *et al.*, 2014; Yuan *et al.*, 2020; Yun *et al.*, 2018).

I.6.2. L'analyse des phtalates : Extraction, purification et quantification.

L'analyse des phtalates se fait exactement comme celle des bisphénols. Plusieurs phtalates sont simultanément recherchés parmi lesquels le Diéthyl phthalate (DEP), Bis-(2-éthylhexyl) phthalate (DEHP), Diméthyl phthalate (DMP), Dibutyl phthalate (DBP), diphényl phthalate (DPhP), et le diisononyl phthalate (DINP). Plusieurs techniques innovantes d'extraction ont été expérimentées. Dans les eaux, l'extraction par une technique de coacervation utilisant l'acide décanoïque pour la formation des micelles en phase inverse donne des taux d'extraction de 87 et 94%. Elle utilise l'acide décanoïque, le THF (tétrahydrofurane) et le NaCl (Hadjmohammadi *et al.*, 2011). D'autres auteurs ont plutôt utilisé la miro-extraction dispersive en phase solide pour obtenir un taux d'extraction supérieur à 90%. Cette extraction augmente avec la température jusqu'à 90°C maximum (Z. Li *et al.*, 2011). Pour l'extraction des phtalates dans le coca-cola, des auteurs ont préféré l'extraction liquide-liquide avec le dichlorométhane, et ont obtenu des taux d'extraction entre 56 et 106% (Ayofe *et al.*, 2018). Cependant l'extraction liquide-liquide des phtalates est une faible source de contamination des échantillons, comparée à l'extraction en phase solide qui utilise des cartouches en plastiques. Le choix du solvant d'extraction est aussi très important pour améliorer le taux de récupération. Le solvant les plus utilisés sont le n-hexane, le dichlorométhane et l'éther de pétrole (Cao & Corriveau, 2008; Chan, 2012; Lamb *et al.*, 2018; Notardonato *et al.*, 2019; Shah & Burgess, 2015; Zaater *et al.*, 2014).

La séparation des phtalates dans un mélange se fait habituellement soit par chromatographie liquide ou par chromatographie gazeuse. Cette dernière est la plus utilisée, mais en raison de sa forte dépendance aux gaz, l'utilisation de la chromatographie liquide s'intensifie. En chromatographie gazeuse, parmi les détecteurs les plus utilisés figurent le détecteur à ionisation de flamme (FID) et le spectromètre de masse simple (MS) ou en tandem (MS/MS). La précision intra et inter-jour est en général comprise entre 5 et 12%, et les limites de quantification varient de 0,003 à 5µg/L. En chromatographie liquide, les détecteurs utilisés

en général pour l'analyse des phtalates sont constitués d'ultraviolet classique (UV), d'ultraviolet à barrettes de diodes (DAD) ou de spectromètre de masse en tandem (MS/MS). La colonne C18 est la plus utilisée, et les phases mobiles sont les mêmes que celles utilisées pour l'analyse des bisphénols. Dans les eaux, les limites de quantification avec le détecteur MS/MS varient en général de 0,3 à 10 µg/L avec des coefficients de variation intra et inter-jour compris entre 2 et 5% lors des essais de fidélité. Les limites de quantification sont plus élevées (0,5 – 10 mg/L) lorsque le détecteur ultraviolet est utilisé (Ayofe *et al.*, 2018; Bosnir *et al.*, 2007; Hadjmohammadi *et al.*, 2011; Pardo-Mates *et al.*, 2017; Zaater *et al.*, 2014).

L'extraction en phase solide des phtalates dans les vins donne des taux d'extraction compris entre 40 et 109%. La micro-extraction des phtalates dans les boissons non alcoolisées permet quant à elle d'atteindre des taux d'extraction de 72 à 115%. Les limites de quantification de la chromatographie en phase gazeuse couplé au spectromètre de masse varient entre 0,024 et 0,029 µg/mL. Les coefficients de variation de fidélité intra et inter-jour sont respectivement de 10-15% et 13 – 21 % (Ates & Mittendorf, 2011; Del Carlo *et al.*, 2008). La détermination des phtalates dans les produits laitiers s'effectue principalement par LC-MS/MS après extraction liquide-liquide à l'acétonitrile et au chlorure de sodium ou par micro-extraction liquide-liquide au méthanol après centrifugation. Le chlorure de sodium est souvent utilisé pour améliorer la forme ionique afin de permettre la séparation des phtalates fixés sur les protéines du lait. Les taux d'extraction sont compris entre 65,2 et 98,3%. Les limites de quantification individuelle des phtalates varient de 17 à 83 µg/kg. (Ates & Mittendorf, 2011; Z. Li *et al.*, 2011).

L'analyse des aliments gras par chromatographie gazeuse couplée au détecteur à ionisation de flamme donne une limite de quantification autour de 1,2 µg/g. La méthode consiste à hydrolyser les phtalates en acide phtalique à 80°C pendant 2h, suivi d'une extraction sélective des interférents lipophile à pH 1 avec le n-hexane. L'acide phtalique est ensuite dérivé en diméthyl phtalate (DMP) avec le diazométhane dans le mélange chloroforme-eau (Ostrovsky' *et al.*, 2010). Les taux d'extraction des phtalates dans l'huile de palme après extraction en phase solide varient en fonction de l'adsorbant de la cartouche d'extraction. Lorsque le solvant d'extraction c'est le mélange méthanol – acétonitrile, les cartouches en oxyde d'aluminium, alumine activée et la florasil donnent respectivement des taux d'extraction de 59–104%, 0–91,8% et 0–39,7%. La limite de détection est 3µg/L lorsqu'on y associe la chromatographie liquide couplée à un détecteur à barrettes de diodes (DAD) (Ibrahim *et al.*, 2014). L'extraction des phtalates dans les huiles par l'acétonitrile donne des taux d'extraction de 85 à 95,5%. Les limites de quantification varient de 1 à 3,3

µg/kg lorsque cette extraction est suivie par l'analyse LC-MS/MS (Hadjmohammadi *et al.*, 2011; Ibrahim *et al.*, 2014).

La particularité de l'analyse des phtalates est la lutte permanente contre la contamination rémanente. En effet, les phtalates sont ubiquitaires dans les circuits analytiques des équipements. Certains auteurs ont utilisé une colonne de retenue placée entre la pompe et la vanne d'injection afin d'éviter cette contamination (Shah & Burgess, 2015). D'autres auteurs recommandent d'éviter l'utilisation des filtres en plastiques, car ils contiennent en général les phtalates (Z. Li *et al.*, 2011; Pardo-Mates *et al.*, 2017). La modification des phtalates par dérivation avant injection en chromatographie pourrait être une nouvelle voie pour contourner cette contamination.

I.6.3. La dérivation en LC-MS/MS

Pour améliorer la sensibilité analytique des composés, l'utilisation de la dérivation s'est avérée efficace. La dérivation est une technique utilisée principalement en chromatographie gazeuse afin de modifier les composés pour augmenter leur sensibilité analytique. Cette technique est très peu utilisée en chromatographie liquide comparativement à la chromatographie gazeuse. L'utilisation des agents dérivant pour améliorer la sensibilité et la stabilité des méthodes LC-MS/MS est déjà courante pour diverses familles de molécules biologiques. Cependant, la dérivation des bisphénols et des phtalates a été très peu étudiée en chromatographie liquide. Les agents dérivant les plus utilisés pour l'analyse des molécules biologiques, appartiennent à plusieurs familles telles que les cétones, les aldéhydes, les alcools, les phénols, les acides carboxyliques et les amines. Parmi les agents dérivant les plus utilisés, il y a l'hydrazine de dansyle, le triméthylsilyle (TMS), l'hydroxyamine, la 2-hydrazino-1,1-méthyl-pyridine (HMP), la 2-Nitrobenzaldéhyde (NBA), le Chlorure de dansyle, le Bromure de (3-Bromopropyl) triméthylammonium et le Chlorure de pyridine-3-sulfonyle. L'utilisation de ce dernier augmente de manière significative le signal des bisphénols. Le Chlorure de dansyle quant à lui augmente 200 fois la réponse de quantification de l'hydroxypyrene dans les urines (Deng *et al.*, 2012; Y. Li *et al.*, 2005; Regueiro *et al.*, 2015; Regueiro & Wenzl, 2015; Santa *et al.*, 2007). Le Bromure de (3-Bromopropyl) triméthylammonium (BPTAB) a été utilisé pour la dérivation de l'acide phtalique (Gao *et al.*, 2019). Ce dernier peut être obtenu par hydrolyse alcaline des phtalates (Kim *et al.*, 2007). La combinaison de l'hydrolyse alcaline et la dérivation au BPTAB pourrait être une méthode adéquate pour dériver les phtalates en vue d'une analyse en LC-MS/MS.

I.7. Mise au point d'une méthode d'analyse

La mise au point d'une méthode d'analyse se fait en général en quatre étapes. La préparation du matériel, l'optimisation des conditions d'extraction quand c'est nécessaire, l'optimisation des conditions d'analyse et la validation de la méthode.

La préparation du matériel consiste à sélectionner la qualité des solvants et entretenir le matériel d'analyse pour s'assurer qu'il ne contaminera pas l'échantillon. Il s'agit d'une étape parfois négligée mais qui est source de plusieurs erreurs lors de la quantification des composés (Regueiro & Wenzl, 2015; Xian *et al.*, 2017; Xie *et al.*, 2016).

L'optimisation des conditions d'extraction permet de réduire les pertes d'analyte, ce qui améliore la fiabilité des résultats. Les techniques d'extraction (en phase solide, en phase liquide) et plusieurs solvants sont testés afin d'atteindre les meilleures conditions d'extraction. Ensuite, les taux d'extraction sont calculés pour dégager la meilleure méthode.

L'optimisation des conditions d'analyse quant à elle repose sur le choix de la technique d'analyse. Mais le plus souvent, l'équipement est déjà disponible dans le laboratoire et il faut améliorer ses performances. En chromatographie, les auteurs en général font varier le débit, le programme d'élution, et la composition de la phase mobile. Pour l'analyse des phtalates et des bisphénols les colonnes C18 sont presque exclusivement les seules utilisées.

La validation de la méthode consiste à contrôler les critères de qualité d'une méthode tels que la précision, la sensibilité, la fidélité, la justesse et l'erreur systématique. Ces différents critères permettent de déterminer la linéarité de la méthode, les limites de détection et de quantification (Rodier *et al.*, 2009).

I.7.1. Normalité et linéarité d'une méthode

La normalité d'une méthode est vérifiée en faisant la relation linéaire entre les valeurs obtenues et les valeurs théoriques. Cette droite est appelée droite d'Henry. Lorsque le coefficient de corrélation de cette droite est supérieur à 0,95 on peut affirmer avec une marge d'erreur de 5% que la méthode suit une allure gaussienne, donc est normale (Mayor & Bourrié, 2010; Rodier *et al.*, 2009).

La linéarité d'une méthode d'analyse est sa capacité, à l'intérieur d'un certain intervalle de concentration, à fournir des résultats directement proportionnels à la concentration (quantité) en substance à examiner dans l'échantillon. Cette proportionnalité est

validée lorsque le coefficient de corrélation de la droite linéaire obtenue est dans l'intervalle $0,95 < x \leq 1$ (Mayor & Bourrié, 2010; Rodier *et al.*, 2009).

I.7.2. La précision d'une méthode

Elle traduit la qualité globale d'une méthode d'analyse à satisfaire aux exigences de justesse, de fidélité et de sensibilité (Rodier *et al.*, 2009). Elle est valable pour un travail déterminé et pour un élément donné. Plus les erreurs sont petites, plus la précision d'une méthode est grande. Une bonne connaissance des incertitudes de mesures permet d'évaluer la précision de la méthode. L'incertitude de la mesure, qui caractérise la dispersion, est exprimée sous la forme d'un écart-type s qui est la racine carrée de la somme de l'ensemble des variances associées aux sources d'erreur. On distingue l'erreur systématique et l'erreur aléatoire.

I.7.3. Détermination de l'erreur systématique ou biais

L'erreur systématique est la différence entre l'espérance des résultats d'essais et la valeur de référence acceptée, et dépend de la méthode, de l'opérateur et de l'instrument (Rodier *et al.*, 2009). Elle permet d'évaluer la justesse d'une méthode ou l'exactitude des résultats qu'elle fournit. L'erreur systématique se détermine de deux manières selon les cas :

- En présence d'échantillons dont la valeur des paramètres à mesurer est connue (solution de référence par exemple), on peut effectuer les mesures avec la méthode, calculer les concentrations et les comparer aux valeurs de références. A travers la construction de la courbe des valeurs obtenues par la méthode en fonction des valeurs de référence attendues. Lorsque l'erreur systématique est nulle, la pente de cette droite est égale à 1. Par contre s'il y a une erreur systématique, la pente est inférieure ou supérieure à 1.
- En absence d'échantillons de référence, il faut utiliser la méthode des ajouts dosés et des prises multiples. Cette méthode consiste à ajouter des quantités connues de l'élément à doser sous une forme identique à celle où il se trouve dans la matrice à doser.

La détermination des concentrations de l'élément dans les échantillons dopés et dans la matrice non dopée est ensuite effectuée. La différence entre les concentrations obtenues dans l'échantillon dopé et le non dopé permet de tracer la courbe des valeurs obtenues en fonction des valeurs attendues. Cependant, dans ce cas l'existence d'une erreur systématique constante ne peut être décelée (Rodier *et al.*, 2009).

Le matériau de référence est toujours associé à une incertitude u_{mrc} . Lorsqu'on est obligé de préparer le matériau de référence, il faut déterminer cette incertitude en additionnant toutes les incertitudes relatives associées (pipette, burette, fiole, balance...). L'incertitude globale sur le matériau de référence est donnée par $U_{mrc} = k_{mrc} \times u_{mrc}$. Sauf indication contraire, dûment documentée, $k_{mrc} = 2$ pour un niveau de confiance de 95 % (Mayor & Bourrié, 2010).

Pour apprécier le biais, la méthode doit faire l'objet d'un étalonnage ou d'un essai à blanc qui permet d'apprécier l'écart entre les valeurs obtenues et la valeur de référence. Lorsqu'on effectue n dosages sur une solution de concentration C connue, on peut calculer la moyenne, l'écart-type et l'écart-type de la moyenne par les équations 1, 2 et 3 respectivement.

$$\bar{X} = \frac{\sum x}{n} \quad (1) \quad S(x) = \sqrt{\frac{\sum(x^2 - n\bar{x}^2)}{n-1}} \quad (2) \quad S(\bar{x}) = \frac{S(x)}{\sqrt{n}} \quad (3)$$

Soit $d = C - \bar{x}$, la différence entre la concentration attendue (réelle) du produit et la moyenne des résultats d'analyse. Pour apprécier le biais, il faut comparer le ratio $d / S(\bar{x})$ à la valeur $t_{\alpha}(v)$ donnée par la table de Student pour une probabilité α choisie et pour $v = n - 1$ degrés de liberté. Si ce ratio est inférieur à $t_{\alpha}(v)$, alors les résultats fournis par la méthode utilisée ne diffèrent pas systématiquement de la valeur vraie. Dans le cas contraire, ils diffèrent significativement et un facteur correctif doit être appliqué aux résultats de la méthode.

1.7.4. Détermination de l'erreur aléatoire ou test de fidélité

La fidélité d'une méthode est au voisinage d'une valeur donnée de la grandeur à mesurer, l'étroitesse de l'accord entre les valeurs expérimentales obtenues avec cette méthode au cours d'un ensemble d'expériences effectuées dans les conditions bien déterminées. La fidélité d'une méthode est jugée au regard des résultats des tests de répétabilité et de reproductibilité. Afin de déterminer la répétabilité d'une méthode, il faut effectuer des mesures répétées à plusieurs niveaux de concentration (3 à 5 concentrations différentes), dans un court intervalle de temps par le même opérateur (Mayor & Bourrié, 2010; Rodier *et al.*, 2009). La reproductibilité implique que les résultats de la méthode soient validés à travers des essais inter-laboratoires. Au regard des difficultés à effectuer des essais inter-laboratoires lors des études pilotes, la majorité des auteurs vont utiliser la fidélité intermédiaire afin de calculer des variances inter jour. La fidélité intermédiaire d'une méthode consiste à utiliser la même procédure de mesure, le même lieu et des mesurages répétés sur les mêmes échantillons ou des échantillons similaires pendant une période de temps étendue. Les mesures sont souvent répétées sur plusieurs jours différents. Les données de répétabilité permettent de calculer la

moyenne de données journalières par niveau de concentration, ainsi que la variance et le coefficient de variation intra-jour. La variance intra et inter-jour qui permettent d'apprécier respectivement la répétabilité et la fidélité intermédiaire de la méthode sont donnés par les équations 4 et 5.

$$V_{intra} = \frac{\sum(n_j - 1)S_j^2}{N - K} \quad (4) \quad V_{inter} = \frac{\sum n_j(m_j - M)}{K - 1} \quad (5)$$

$S_j^2 = \frac{\sum(x_{ij} - m_j)^2}{n_j - 1}$, i variant de 1 à n_j ; x_{ij} est la $i^{\text{ème}}$ valeur du $j^{\text{ème}}$ jour; m_j est la moyenne du $j^{\text{ème}}$ jour; n_j , le nombre d'essais du $j^{\text{ème}}$ jour. K est le nombre total de jours; N est le nombre total de tests effectués dans les K jours; j varie de 1 à K , et M est la moyenne générale.

Une méthode a une bonne répétabilité et bonne fidélité intermédiaire si respectivement, les coefficients de variation intra et inter-jours sont tous inférieurs à 10% (Niu *et al.*, 2011; Regueiro & Wenzl, 2015). Le coefficient de variation traduit le pourcentage de l'écart-type sur la moyenne. L'écart-type étant la racine de la variance.

A l'issue des tests de fidélité, l'erreur aléatoire se détermine par $u_a = S/\sqrt{n}$; s est l'écart-type général de la série de mesure effectuée lors des tests de répétabilité et de fidélité intermédiaire; n est le nombre de tests total réalisés.

I.7.5. Détermination du pourcentage d'erreur globale.

Le pourcentage d'erreur globale de la méthode s'obtient à partir de l'incertitude composée. Cette dernière est reliée à l'erreur systématique et l'erreur aléatoire, et est déterminée par $u_c = \sqrt{U_{mrc}^2 + U_a^2}$. A partir de l'incertitude composée, l'incertitude composée élargie est déterminée par $U_c = u_c \times k(\alpha, \nu)$ avec k comme coefficient déterminé par la table de Student à l'aide de α le seuil de sécurité (En général c'est 0,05) et ν le degré de liberté.

Le pourcentage d'erreur globale est donc $\%U_c = (U_c \times 100/m)$, avec m comme la moyenne des mesures pour une concentration donnée.

I.7.6. Détermination de la sensibilité et la capacité de détection

La sensibilité d'une méthode est sa capacité à enregistrer des faibles variations de concentration. La détermination de la sensibilité d'une méthode se fait en parallèle avec la détermination de la linéarité. Elle consiste à vérifier que l'ajout des faibles quantités d'analyte dans une solution induit une un fort signal de l'appareil. En général, un signal est fort si le ration signal sur bruit de fond (S/N) est supérieur à 10. Les paramètres analytiques qui

permettent d'apprécier la capacité de détection d'une méthode sont les limites de détection (LD) et de quantification (LQ). La limite de détection est la plus petite quantité d'une substance à examiner dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte. La limite de quantification quant à elle c'est la plus petite quantité d'une substance à rechercher dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec une fidélité et une exactitude définies (Mayor & Bourrié, 2010). La détermination de ces limites consiste à effectuer l'analyse du blanc dix fois et à déterminer l'écart-type des résultats obtenus. La LQ est égale à 10 fois l'écart-type des mesures du blanc additionné de la valeur du bruit de fond qui dans ce cas est la moyenne obtenue des mesures du blanc. La LD c'est le bruit de fond additionné de 3 fois l'écart-type du blanc (Z. Li *et al.*, 2011; Mayor & Bourrié, 2010; Xian *et al.*, 2017; Xiong *et al.*, 2018).

I.7.7. Détermination de la spécificité et l'effet matrice

Une méthode d'analyse est dite spécifique lorsqu'elle permet de mesurer quantitativement un paramètre physicochimique ou un groupement fonctionnel d'une ou plusieurs substances présentes dans un échantillon. L'effet matrice se calcule à l'aide de

$$\%ME = \left(1 - \frac{A_m}{A_0}\right) \times 100 \quad (6)$$

où A_m est l'aire du pic de l'étalon correspondant à la matrice soustraite au fond et A_0 est l'aire du pic de l'étalon pur à la même concentration. Le signal est amélioré si la valeur est négative, tandis que le signal est supprimé si la valeur est positive (J. Yang *et al.*, 2019).

I.8. Etude cinétique de libération des composés des matières plastiques

La cinétique de migration des composés des matières plastiques vers les aliments a été très peu étudiée. Les études se sont focalisées sur la détermination des quantités des contaminants qui migrent dans les aliments, sans trop se pencher sur la vitesse avec laquelle cela se produit. Quelques études ont cependant été menées avec les films et récipients en polycarbonates, les films et matériaux en polychlorures de vinyle, et les gamelles en polypropylène.

I.8.1. Influence des paramètres

Les études de migration du BPA des films plastiques en polycarbonate placés dans l'éthanol 50% à 40°C pendant 30 jours, montrent qu'après 40h, le plateau d'équilibre n'est pas toujours atteint. L'influence des paramètres sur la migration du BPA des récipients en polycarbonates (PC) vers les aliments, montre que celle-ci augmente avec le pH et la température. La forte libération du BPA aux valeurs élevées de pH et de température est due à

la dégradation/hydrolyse du récipient en PC. D'autres travaux montrent que la migration est d'autant plus grande que le pH du milieu est plus acide. Les milieux acides facilitent aussi la migration des phtalates en modifiant la structure du polymère plastique (Bosnir *et al.*, 2007; Pedersen *et al.*, 2015; Torres *et al.*, 2015).

Les substances alcalines comme l'urée et les autres amines ne doivent pas être mises en contact avec les récipients en PC car elles entraînent une dégradation drastique du polymère, ce qui augmente le transfert de BPA. Les résidus de détergents alcalins présentent le même effet que les solutions très acides. Par conséquent, après avoir nettoyé les récipients en PC par les détergents alcalin, il est recommandé de les rincer plusieurs fois à l'eau courante. Le temps de contact augmente la libération de BPA des matériaux en PC (Pedersen *et al.*, 2015). Les additifs de formulation de certains récipients en PC augmentent les risques de dégradation de ceux-ci. Il s'agit d'additif comme les amines, l'oxyde de titane (TiO₂) ou les fibres de verres. Les effets du chauffage aux microondes sur la migration du BPA des récipients en PC sont controversés. Certaines études montrent une influence significative, tandis que d'autres n'arrivent pas aux mêmes conclusions (Pedersen *et al.*, 2015).

La migration individuelle des composés du plastique est fonction de la nature de l'aliment ou boisson en contact. Il a été constaté lors d'une étude de migration avec les bouteilles en Polyéthylènetéréphtalate (PET), que le de diméthylphtalate (DMP) se transfère plus dans les boissons non alcoolisées. Le dibutylphtalate (DBP) et le diéthylhexylphtalate (DEHP) quant à eux migrent plus dans les eaux minérales. La migration des phtalates totaux est plus forte dans l'éthanol 10% comparée à l'eau. Par conséquent, les modifications de la matrice alimentaire telle que la teneur en huile, la teneur d'éthanol et la teneur en protéine jouent un rôle important dans la migration des composés (Bosnir *et al.*, 2007; J. Liu *et al.*, 2020).

L'étude cinétique de migration des plastifiants des poches de sang en PVC vers les solvants organiques montre que celle-ci augmente avec le temps. Le calcul du coefficient de diffusion en fonction de la nature des solvants de migration et la température, montre que la migration est plus forte avec l'acétonitrile et dépend de la température (Josh *et al.*, 2016). Fei *et al.*, (2016), montrent que La migration de DEHP (diéthylhexylphtalate) des films en PVC diminue avec l'augmentation de l'oxygène dans le film. Le transfert des phtalates des faibles poids moléculaires est affectée par la température tandis celle de ceux de poids moléculaire élevé ne l'est pas (Fei *et al.*, 2012).

La vitesse de migration des phtalates a été étudiée en mettant en contact le polychlorure de vinyle (PVC) et les simulants alimentaires gras (n-hexane, Isooctane, Ethanol 95%). Il apparait que cette migration augmente avec la diminution du poids moléculaire et le caractère hydrophobe du simulant alimentaire. Lors de l'étude cinétique, l'augmentation de la température diminue le temps d'équilibre. Les équations empiriques de Fick utilisées pour modéliser la diffusion des phtalates surestiment les valeurs et ne sont pas adaptées pour la description de la migration qui se déroule en plusieurs étapes. C'est ainsi que certains auteurs se tournent vers la modélisation par les équations mathématiques classiques (ajustement linéaire, polynomiale, logarithmique ou exponentielle) ou par les modèles cinétiques (Nilsson *et al.*, 2016; Yuan *et al.*, 2020).

I.8.2. Les modèles cinétiques

L'étude cinétique de migration des phtalates des gamelles en polypropylène vers les simulants alimentaires a été effectuée chaque heure, chaque 10 heures et chaque jour. Dans les trois cas, l'allure est restée la même. Cette migration est mieux décrite par une cinétique de pseudo premier ordre et est meilleure à 60°C (J. Liu *et al.*, 2020). Une étude similaire portant sur la migration du bisphénol A des films en polycarbonate vers les aliments montre que celle-ci est mieux décrite par le modèle génération-diffusion-convection. Le modèle de pseudo-premier ordre suppose que la migration est issue de la dégradation du matériau et se poursuit sans interruption. Les composés migrent donc de la surface du matériaux pour l'aliment sans étape intermédiaire (J. Liu *et al.*, 2020; Torres *et al.*, 2015). Toutes ces études cinétiques ont été réalisées avec des récipients de faible épaisseur ou des films plastiques. Aucune étude n'a été réalisée avec des récipients d'épaisseur plus grande comme les seaux de peinture.

L'ordre d'une réaction est un paramètre très important dans la détermination des mécanismes réactionnel. Parmi les ordres les plus cités dans la littérature, il y a le modèle de pseudo-premier ordre, le modèle de pseudo-second ordre et le modèle de diffusion intraparticulaire (Belaid & Kacha, 2011).

❖ Le modèle de pseudo-premier ordre

Il est défini par

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1(q_e - q_t) \quad (7)$$

Après intégration entre t=0 et t d'une part, et q_t d'autre part, l'équation devient :

$$\ln(q_e - q_t) = \ln(q_e) - \frac{k_1}{2,303} t \quad (8)$$

Le tracé $\ln(q_e - q_t) = f(t)$ donne une droite de pente $-\frac{k_1}{2,303}$ et d'ordonnée à l'origine $\ln(q_e)$.

❖ Le modèle de pseudo-second ordre

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2(q_e - q_t)^2 \quad (9)$$

Après intégration entre $t=0$ et t d'une part, $q_t=0$ et q_t d'autre part, on obtient la forme linéaire :

$$\frac{t}{q_e} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad (10)$$

Les constantes peuvent être déterminées en traçant la droite $\frac{t}{q_e} = f(t)$

q_t et q_e sont respectivement les quantités de la substance migrante aux temps t et à l'équilibre ; k_1 et k_2 sont les constantes de vitesse du processus de migration de pseudo-premier ordre et pseudo-second ordre.

❖ Le modèle de diffusion intraparticulaire

$$q_t = k dt^{0,5} + C \quad (11)$$

Avec q_t , la quantité de la substance migrante au temps t ; k est la constante de vitesse du processus de diffusion intraparticulaire.

I.9. Les plans d'expériences

Les méthodes d'étude classique de l'influence des paramètres sur un phénomène ou une expérience nécessitent de faire varier individuellement chaque paramètre en maintenant les autres fixes. Elles présentent l'inconvénient de la mise en œuvre d'un grand nombre d'essais pour obtenir les informations souhaitées. Elles ne peuvent pas permettre d'apprécier les interactions entre les facteurs qui influencent le phénomène. De même, elles ne permettent pas d'étudier un phénomène où l'influence des paramètres n'est pas linéaire. Pour résoudre la problématique de minimalisations des essais, l'étude des interactions entre les facteurs et celle de l'influence non linéaire, les plans d'expériences ont été développées.

Le plan d'expérience c'est l'ensemble d'essais qui ont été choisis afin de déterminer avec précision une relation de cause à effet entre les variables d'entrée contrôlées (facteurs expérimentaux) et les variables de sortie mesurées (les réponses). Les plans d'expériences permettent de mieux comprendre les phénomènes, de maximiser l'information obtenue et de minimiser le nombre d'essais à réaliser en organisant mathématiquement les conditions expérimentales. L'étude d'un phénomène peut se résumer comme présenté sur la Figure I.12.

Les plans d'expériences vont permettre d'effectuer une variation raisonnée des facteurs, traduire le phénomène sous forme de modèle mathématique $Y = f(X)$, et de calculer les effets des facteurs sur la réponse. Lors de l'étude par plan d'expérience il est nécessaire de coder les variables naturelles. En effet, les variables naturelles U_i ont leurs propres plages de variation qui dépendent de leurs unités respectives, rendant impossible la comparaison des coefficients et difficile l'interprétation du modèle mathématique. Les variables codées X_i ont donc été créées afin de surmonter ces difficultés d'interprétation. Les variables codées X_i ont la même plage de variation, entre -1 et 1 indépendamment des unités, ce qui rend comparables les coefficients du modèle mathématique pour une interprétation aisée.

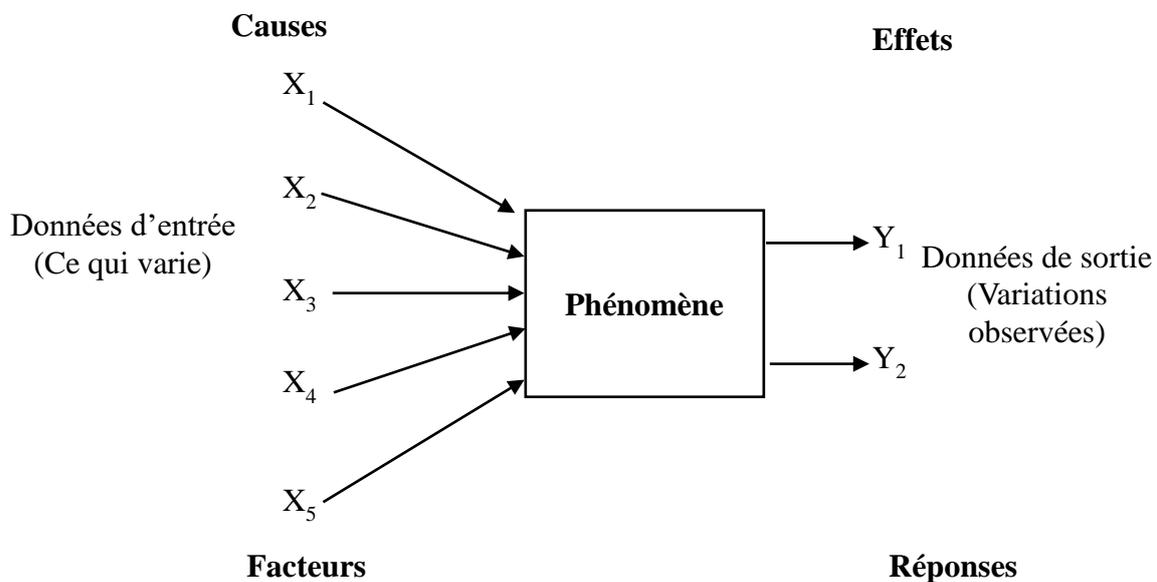


Figure I.12: Schéma des causes et effets de l'étude d'un phénomène.

La valeur de la variable codé j à l'expérience i est donnée par :

$$X_{ij} = \frac{U_{ij} - U_j^0}{\Delta U_j} \quad (12) \text{ avec } U_{ij} \text{ la valeur de la variable naturelle } j \text{ à l'expérience } i ; U_j^0 \text{ la valeur}$$

de la variable naturelle j au centre du domaine ou moyenne des valeurs maximum et minimum que peut prendre U_j ; ΔU_j ou demi-étendue, c'est le pas de variation de la variable naturelle j . La demi-étendue c'est la moitié de l'écart entre la valeur maximum et la valeur minimum que peut prendre la variable U_j .

Il existe plusieurs types de plans d'expérience en fonction du l'étude à mener.

- Les plans de criblage des facteurs qui permettent un classement hiérarchisé des facteurs. Les plans de Plackett-Burman sont un exemple

- Les plans d'étude quantitative des facteurs qui permettent la quantification des influences principales et des synergies éventuelles. Il s'agit par exemple des plans factoriels complets.
- Les plans d'étude quantitative des réponses qui permettent une modélisation prévisionnelle du phénomène étudié. C'est le cas des plans factoriels fractionnaires.
- Les plans d'optimisation ou surface de réponses qui permettent de déterminer un ou plusieurs points de fonctionnement optimaux. C'est le cas du plan de Doehlert, le composite centré et le plan composite à faces centrées.

Les principales étapes de la méthodologie d'implémentation des plans d'expérience sont :

- La formalisation du problème, qui consiste à bien définir les facteurs (nature des facteurs, modalités, niveaux...) à étudier et à choisir la ou les réponses.
- La construction proprement dit du plan, qui implique le choix de la stratégie (criblage/étude d'interaction/Optimisation), la définition du domaine expérimental et le choix de la matrice d'expériences.
- La réalisation des essais, qui passe par le respect du plan, la randomisation et les répétitions.
- L'analyse des résultats d'essais, qui correspond à l'analyse mathématique, statistique et graphique des résultats.
- L'interprétation, qui permet la conclusion et la validation des résultats d'essais.

I.9.1. Le criblage des facteurs : Plan de Plackett-Burman

Le criblage des facteurs peut se faire via la littérature, en observant les conclusions des auteurs ayant fait des études d'influences individuelles des paramètres, ou alors via l'expérimentation. L'expérimentateur peut décider d'étudier l'influence individuelle de chaque paramètre sur le phénomène et relever les facteurs qui affectent le plus la réponse, mais cette méthode est très onéreuse et prend beaucoup de temps pour effectuer l'étude. L'autre option qui lui reste c'est d'effectuer un plan de criblage qui lui permet avec un nombre d'essais très petit de dégager rapidement les facteurs les plus influents.

Les plans de Plackett-Burman sont des matrices orthogonales dites matrices d'Hadamard, qui présentent juste les effets individuels des facteurs. Ils sont donc générateurs des modèles linéaires du premier ordre décrit par $Y = X_1b_1 + X_2b_2 + X_3b_3 + X_4b_4 + \dots + X_nb_n + b_0$ où b_i représente l'effet du facteur X_i , Y la réponse et b_0 la constante. Ils ne se réalisent que pour un nombre d'essais multiple de 4 (4, 8, 12, 16...) (Dean *et al.*, 2015; Goupy, 2013; Karam,

2004). Le tableau I.6 présente un plan de Plackett-Burman pour l'étude de l'influence de sept facteurs. Il nécessite seulement huit essais.

L'appréciation de la significativité des coefficients b_i se fait à travers l'estimation de la variance expérimentale. A côté du plan normal de Plackett-Burman l'expérimentateur doit faire 3 à 5 essais aux variables codé 0 afin de calculer la variance, l'écart-type, puis l'erreur type. L'erreur type est donnée par l'équation 13.

$$\text{é. t. } (b_i) = \frac{S}{\sqrt{n}} \quad (13) \text{ où } s \text{ c'est l'écart-type et } n \text{ le nombre de répétition.}$$

La significativité du coefficient est déterminée par $t = \frac{b_i}{\text{é.t.}(b_i)}$

Plus la probabilité est élevée, moins le coefficient est significatif. Le seuil étant de 5%. Après la détermination des facteurs les plus influents, il convient à l'expérimentateur de rechercher les interactions ou les synergies entre ceux-ci.

Tableau I.6: Plan de Plackett-Burman pour l'étude de sept facteurs.

N° essai	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	Réponse
1	1	1	1	-1	1	-1	-1	Y ₁
2	-1	1	1	1	-1	1	-1	Y ₂
3	-1	-1	1	1	1	-1	1	Y ₃
4	1	-1	-1	1	1	1	-1	Y ₄
5	-1	1	-1	-1	1	1	1	Y ₅
6	1	-1	1	-1	-1	1	1	Y ₆
7	1	1	-1	1	-1	-1	1	Y ₇
8	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	Y ₈

I.9.2. Les plans factoriels complets

Les plans factoriels complets permettent de tester toutes les combinaisons des niveaux des facteurs. Le nombre d'expériences est défini par 2^n , où 2 représente le nombre de niveaux (bas et haut ; -1 et 1) et n c'est le nombre de facteurs. Ils prennent en compte les effets individuels des facteurs et les effets synergiques ou d'interactions. L'intérêt des plans factoriels complets est d'estimer avec la même incertitude tous les effets des différents facteurs et de trouver la meilleure combinaison des modalités choisies (Goupy, 2013; Karam, 2004).

L'équation 14 présente le modèle mathématique des plans factoriels complets.

$$Y_i = b_0 + \sum_{i=1}^n b_i X_i + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k b_{ij} X_i X_j \quad (14)$$

Les coefficients de ce polynôme sont donnés par b_0 (terme constant), b_i (effets linéaires) et b_{ij} (effets d'interaction). X_i et X_j sont des variables indépendantes. Lorsque l'influence d'un facteur n'est pas linéaire, les plans factoriels complets ne sont pas capables de le modéliser. C'est le cas en présence d'un facteur qui a une valeur optimale.

I.9.3. Les surfaces de réponses : Plans composites à faces centrées.

Les plans composites viennent en appui pour la détermination des optimums lorsque les influences ne sont pas linéaires. Les surfaces de réponses permettent de modéliser et faire des prévisions par rapport au phénomène étudié. Les plans composites permettent une modélisation du second degré selon l'équation 15.

$$Y_i = b_0 + \sum_{i=1}^n b_i X_i + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k b_{ij} X_i X_j + \sum_i^k b_{ii} X_i^2 \quad (15).$$

Les coefficients de ce polynôme sont donnés par b_0 (terme constant), b_i (effets linéaires), b_{ii} (effets quadratique) et b_{ij} (effets d'interaction). X_i et X_j sont des variables indépendantes. Une des particularités des plans composites c'est de faire l'analyse au-delà des niveaux -1 et +1 appelé niveau α . Ce dernier permet donc au plan d'avoir des extrémités en étoile. Pour les plans composites à faces centrées, $\alpha=1$ (Goupy, 2013; Karam, 2004).

Les plans composites sont constitués de trois sections. Un factoriel, un plan en étoile et les points (plan) au centre du domaine d'étude. Le plan factoriel combine des facteurs à deux niveaux notés -1 et +1. Il permet d'analyser les interactions et de déterminer le modèle. Le nombre d'essais de ce plan factoriel est donné par $N_F=2^k$ (k étant le nombre de facteurs). Le plan en étoile a deux essais par facteur. Chaque facteur prend au total 5 niveaux dans le plan pour $\alpha \neq 1$, et 3 niveaux pour $\alpha=1$. Le nombre d'essais du plan en étoile est donné par $N_a = 2k$.

Les points au centre permettent de :

- Tester la validité du modèle du premier ordre;
- Vérifier la stabilité du système, donc s'assurer qu'il n'y a pas de glissement entre deux séries d'essais;
- Obtenir une estimation de l'erreur expérimentale;
- Diminuer l'erreur de prédiction près du point central.

Le nombre d'essais au centre du domaine c'est N_0 qui varie de 3 à 5. Le nombre total d'essais du plan composite est $N = N_F + N_a + N_0$. Les plans composites permettent de déterminer graphiquement les conditions optimales à travers la méthode de la plus grande

penne, la méthode du simplex ou les courbes d'iso-réponses. La connaissance des courbes d'iso-réponses permet de trouver les conditions optimales dans le domaine expérimental et de déterminer la région où la réponse est optimale. Un exemple de courbes d'iso-réponses est présenté sur la Figure I.13.

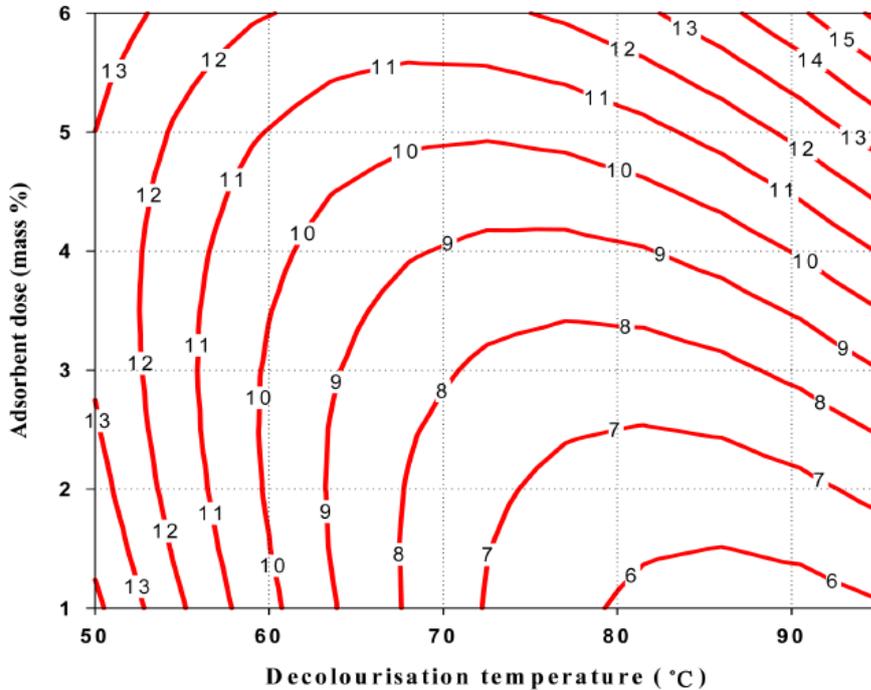


Figure I.13: Exemple de courbes d'iso-réponses (Mohagir *et al.*, 2015).

I.9.4. La validation des modèles

La validation des modèles se fait à travers la détermination du coefficient de détermination ajusté (R^2_{aj}), de la déviation absolue moyenne (AAD), et des facteurs d'exactitude et de biais selon les conditions présentées aux équations 16 à 19 (Inna *et al.*, 2020).

- $R^2_{aj} = \frac{\sum_{i=1}^n (Y_{cal} - \bar{Y}_{exp})^2}{\sum_{i=1}^n (Y_{exp} - \bar{Y}_{exp})^2}$ (16) ; R^2_{aj} doit être supérieur à 0,95
- $AAD = \left[\sum_{i=1}^n \left(\frac{|Y_{exp} - Y_{cal}|}{Y_{exp}} \right) \right] / n$ (17) ; AAD doit être proche de zéro.
- $Af_1 = 10^{\frac{1}{n}} \sum_{i=1}^n \left| \log \frac{Y_{cal}}{Y_{exp}} \right|$ (18) ; Af_1 doit être compris entre 0,75 et 1,25.
- $Bf = 10^{\frac{1}{n}} \sum_{i=1}^n \log \frac{Y_{cal}}{Y_{exp}}$ (19) ; Bf doit être compris entre 0,75 et 1,25.

Avec Y_{exp} c'est la valeur expérimentale ; Y_{cal} c'est la valeur calculée ; n c'est le nombre d'essais.

CHAPITRE II :
ENQUETE SUR L'UTILISATION DES
RECIPIENTS ALIMENTAIRES ET
NON ALIMENTAIRES

II.1. Introduction

Les emballages plastiques sont largement utilisés partout dans le monde pour le conditionnement des aliments. Parmi les emballages plastiques on distingue les sachets et les récipients. Dans les pays industrialisés les emballages alimentaires sont les seules autorisées pour le conditionnement des aliments. Par contre ce n'est pas toujours le cas dans les autres pays et particulièrement au Cameroun. En fait, les usages des récipients plastiques dépendent des habitudes alimentaires et traditions des peuples et surtout du niveau économique. Les différents types de récipients plastiques qui sont utilisés dans l'alimentation au Cameroun seront présentés dans cette partie. Les types de polymères utilisés ainsi que les origines de récipients seront déterminés. Les pratiques des ménages sur l'utilisation des récipients plastiques dans la conservation des aliments seront aussi abordées. Pour atteindre cet objectif les enquêtes auprès des ménages, des industries et des grandes surfaces commerciales ont été menées.

II.2. Matériel et méthodes

II.2.1. Recherche des types de matières plastiques et leurs origines.

L'objectif de cette section était de (a) déterminer les types de polymères plastiques dans lesquels sont conservés les aliments et boissons au Cameroun ; (b) classer les récipients plastiques qui circulent au Cameroun en fonction de leur origine (Europe, Asie, Nigéria, Cameroun). Pour y parvenir, une enquête auprès des industries et autorités administratives a été menée. Les cibles étaient les entreprises de production d'eau minérale et de boisson gazeuses, d'huile raffinée, de récipients plastiques et de production de biberons. Les administrations de contrôle qualité et de circulation des récipients plastiques (exemple : ANOR, Ministère de l'Environnement) étaient aussi concernées. Un responsable du ministère de l'industrie a été contacté et a fourni la liste des entreprises qui contribuent à 80% dans le chiffre d'affaires des quatre secteurs d'activités. Sur cette base, 25 entreprises ont été sélectionnées au départ, mais seulement 18 cadres des différentes entreprises ont accepté de participer à cette étude.

La fiche d'enquête (Annexe 1) utilisée ici s'articule en trois grandes sections.

- Les informations sur l'industrie ou l'administration. Il s'agissait de savoir la ville, le secteur d'activité, la qualité de l'interlocuteur (Directeur, cadre, agent de maîtrise...), le type d'industrie ou le nom du ministère.
- Les informations sur la fabrication des récipients plastiques. Le questionnaire ressortait les types de polymères (Polycarbonate,

polypropylène, polyéthylène...) et de récipients plastiques (bouteille, biberon, fût...). Dans le cas des industries, il était ensuite question de savoir si l'entreprise utilise des préformés pour la fabrication des récipients, et quels étaient les pays d'approvisionnement.

- Les informations sur l'importation des récipients plastiques. Cette section était réservée aux ministères et administration compétentes en matière d'importation (Douanes, gardes-frontières, etc).

A côté de cette enquête, une descente au marché Mokolo de Yaoundé (Cordonnées GPS: 3,8756; 11,49802) a permis de sélectionner 14 marques de biberons plastiques les plus vendus par les commerçants. L'idée étant de relever les informations sur le type de polymère et les origines de ces biberons. Il s'agissait des biberons ayant une capacité de 220-275 mL.

II.2.2. Recherche des modes d'utilisation des récipients plastiques

La recherche des modes d'utilisation des récipients plastiques s'est faite dans les ménages et auprès des vendeurs des beignets, haricot et bouillie. L'idée étant de dégager les pratiques à risques. Pour atteindre cet objectif deux enquêtes ont été menées.

II.2.2.1. Enquête auprès des ménages.

a) Critère d'inclusion pour l'étude des ménages

Comme critère d'inclusion, les ménages retenus sont ceux dont l'âge des parents était compris entre 20 et 60 ans et qui possédaient au moins un enfant de moins de 5 ans.

b) Détermination de la taille de l'échantillon des ménages

L'enquête a été menée de mars à juillet 2019 dans trois villes du Cameroun, à savoir Douala, Yaoundé et Garoua. Douala c'est la capitale économique du Cameroun, dont les coordonnées GPS sont 4°2'60"N et 9°41'60"E. Yaoundé, c'est la capitale politique, de coordonnées 3°52'0,001"N et 11°31'0.001"E. Ces deux premières villes sont situées dans le grand Sud du Cameroun. La troisième ville, Garoua, c'est le chef-lieu de la région du Nord du pays (9°19'21.366"N et 13°23'26.2"E). La population totale des villes d'étude est d'environ six millions, conformément aux informations obtenues auprès d'un cadre de l'Institut national de statistique (INS). Les villes de Yaoundé et Douala ont environ 2,7 million d'habitants chacune, tandis que la population de Garoua est d'environ 500 000 personnes. Les résultats de la quatrième enquête auprès des ménages du Cameroun réalisée par l'INS, montrent que 60% ont au moins 6 personnes ; Et environ 40% des ménages remplissent le critère d'inclusion. Ce qui donne une population cible à 400 000 ménages (INS, 2015, 2020). La taille minimale de

l'échantillon pour l'étude d'une grande population est définie par la formule de Cochran (Equation 20) (Nanjundeswaraswamy & Divakar, 2021).

$$n_0 = \frac{Z^2 * p * q}{e^2} \quad (20)$$

Où Z^2 est la zone d'acceptation dans une distribution normale. Les valeurs occupées par Z sont de 1,645 ; 1,96 et 2,576 pour un intervalle de confiance de 90, 95 et 99% respectivement ; e est le niveau de précision choisi ; p est la probabilité de présence estimée dans la population, et q est $1 - p$. La valeur de p est souvent conventionnellement fixer à 0,5.

La taille minimale pour l'étude d'une grande population avec un intervalle de confiance de 95% et une précision choisie à 5%, 6% et 7%, est respectivement de 385, 267 et 196. Une précision inférieure ou égale à 10% est statistiquement acceptée (Nanjundeswaraswamy & Divakar, 2021). Au total, 310 responsables des ménages étaient interrogés directement dans leur domicile ou en ligne, mais seulement 250 ont fourni toutes les informations requises dans la présente étude pour l'analyse des données. Le Tableau II.1 présente les caractéristiques de l'échantillon d'étude.

Tableau II.1:Caractéristiques des personnes interrogées (n=250).

	Taille	Pourcentage (%)
Sexe		
Homme	100	40,0
Femme	150	60,0
Villes		
Douala	82	32,8
Garoua	28	11,2
Yaounde	140	56,0
Âges (en années)		
20-30	102	40,8
31-40	86	34,4
41-50	30	12,0
51-60	32	12,8
Niveau d'études		
Primaire	40	16,0
Secondaire	41	16,4
Licence	84	33,6
Master et doctorat	85	34,0
Niveau de vie		
Revenu faible	87	34,8
Revenu moyen	96	38,4
Revenu élevé	67	26,8

Revenu faible : <200 000 par mois ; revenu moyen : 200 000 à 500 000 par mois ; Revenu élevé : > 500 000 par mois.

c) La fiche d'enquête des ménages

L'enquête auprès des ménages était effectuée à travers la conception d'un questionnaire (Annexe 2). Le guide de l'enquêteur de l'Institut national de statistique du Cameroun utilisé lors de l'enquête sur les ménages ECAM IV (INS, 2014), servait de document de référence. L'enquête auprès des ménages menée dans la présente étude visait à dégager les types de récipients (et leurs polymères) non alimentaires qui sont utilisés dans l'emballage alimentaire au Cameroun. Les questions étaient orientées suivant cinq points :

- Les informations personnelles. Il s'agit de la ville, le sexe, l'âge, le niveau d'études et le niveau de vie (Profession) des responsables des ménages enquêtés.
- Le chauffage au four à microondes. Ce point permettait de savoir si le chauffage des récipients plastiques au four à microondes était pratiqué dans le ménage. Si oui, le type de récipient utilisé (biberon, gamelle, bol...) était enregistré.
- L'utilisation des récipients recyclés. Dans cette étude, le récipient recyclé c'est tout contenant qui après utilisation originelle était lavé pour servir à d'autres fins. Les informations sur les utilisations actuelle et originelle, ainsi que le type de polymère du récipient étaient collectées.
- L'utilisation des biberons en plastique. Les questions posées visaient à savoir si les bébés des ménages se nourrissaient via les biberons en plastique. Quand c'était le cas, il était question de rechercher le polymère marqué sur le biberon.
- La consommation des eaux embouteillées. La littérature montre que certaines eaux embouteillées contiennent les bisphénols et/ou les phtalates (Voir section I.5). Les questions posées dans cette partie de la fiche d'enquête permettaient de savoir la proportion de ménages qui consomment de l'eau embouteillée. Parallèlement, ces questions permettaient aussi de savoir le nombre d'enfants de moins de 5 ans qui consomment de l'eau embouteillée, ainsi que la fréquence de consommation et les marques de bouteilles d'eau les plus consommées. La marque de bouteille d'eau est associée au type de polymère plastique.

II.2.2.2. Enquête auprès des commerçants de beignet-haricot-bouillie (BHB).

a) Les critères d'inclusion

Les commerçants sélectionnés sont ceux de la capitale Yaoundé, qui recevaient au moins 100 clients par jour. La ville de Yaoundé compte sept communes : Tsinga, (3°53'05"

N; 11°30'12"E), Efulan (3°50'11" N; 11°30'22"E), Nlongkak (3°52'46" N; 11°31'16"E) Kondengui (3°51'21" N; 11°32'21"E), Nkolbisson (3°52'19" N; 11°27'18"E), Biyemassi (3°50'25" N; 11°29'12"E) et Nkolmesseng (3°52'49" N; 11°33'12"E). Dans chacun des chefs-lieux de ces communes, il y avait en moyenne trois grands beignetariats. Au total, 22 grands beignetariats ont été retenus dans cette étude, mais les informations de 19 ont été retenues. Les informations étaient enregistrées dans la fiche d'enquête des commerçants

b) La fiche d'enquête auprès des commerçants de BHB.

La fiche d'enquête sur les pratiques des commerçants de beignet-haricot-bouillie (BHB) est présentée en annexe 3. Globalement, Elle se décline en deux grands points. Les informations personnelles sur l'enquêté et l'utilisation des récipients recyclés (Voir II.2.2.1.c).

Toutes les données étaient enregistrées dans les formulaires conçus sur le logiciel Epi info 7. Ce dernier permettait ensuite l'exportation aisée des données dans Excel 2016 pour le traitement de ceux-ci.

II.3.Résultats et discussion

II.3.1. Types de matières plastiques et leurs origines

Le Tableau II.2 montre les diverses origines de matières plastiques utilisées au Cameroun. Parmi les entreprises interrogées, 71,7% ont déclaré que leurs récipients plastiques proviennent d'Europe (France, Belgique, Allemagne). Pour 17,2% d'entreprises, les récipients proviennent d'Asie (Chine, Thaïlande) et pour 11,1%, d'Afrique (Nigéria). Cependant, les informations reçues des commerçants des biberons et de seaux, les récipients d'Asie et d'Afrique représentent environ 60% des parts vendus sur le marché camerounais. Les produits venant du Nigéria (pays voisin) ont notamment été rencontrés chez les commerçants de seaux plastiques. Au Cameroun, il y a des entreprises qui fabriquent du plastique, mais toutes celles qui ont répondu, ont dit qu'elles importaient les matières premières (préformés) en Asie et en Europe. Il faut aussi souligner que plusieurs entreprises camerounaises sont soit des filiales des grands groupes internationaux Européens ou Américains, ou alors ont des partenaires dans ces continents. A titre d'illustration, les entreprises Boissons du Cameroun et Source du pays, leaders dans la production d'eau minérale et de boissons gazeuses, sont respectivement rattachées aux groupes Castel et Monarch Beverages. Les chiffres d'importation spécifiques des polymères au niveau de la douane camerounaise n'ont pas pu être obtenus. Car au niveau de la douane camerounaise il n'y a pas une spécificité pour les récipients plastiques qui sont

confondus dans les « autres biens de consommation ». Les polymères qui ont été enregistrés pour les récipients vendus au Cameroun c'étaient le polypropylène (PP), le polyéthylènetéréphtalate (PET), le polyéthylène basse et haute densité (PEBD et PEHD). Aucune entreprise n'a déclaré exporter ou produire localement des récipients en polycarbonate (PC). Le polycarbonate c'est un polymère interdit d'usage dans plusieurs objets destinés à être en contact avec les aliments (Santillana *et al.*, 2011; Stenmarck *et al.*, 2017).

Tableau II.2: Origine des matières plastiques

Secteur d'activité	Type de polymère	Origine
1-Producteur d'eau embouteillée	PET	-Europe -Asie (Chine)
2-Production de jus et boissons gazeuses	PET	-Europe -Asie
3-Production de peinture	PP	-USA
4-Production d'huile alimentaire	PET	-Europe (Belgique) -Europe (France)
5-Production et commercialisation de récipients plastiques	PP PEHD PP	-Asie -Europe
6-Commercialisation des seaux en plastique	PEHD PP	-Europe -Asie
7-Production de cosmétique	PE PP	-Afrique (Nigéria) -Nigéria -Europe

Le Tableau II.3 présente les caractéristiques des 14 marques de biberons en plastique les plus achetés au marché Mokolo de Yaoundé, qui est un des plus peuplés d'Afrique Central. Il apparaît que les polymères des biberons en plastique vendus dans ce marché sont le polypropylène (PP) et le polycarbonate (PC) aux pourcentages respectifs de 14,2% et 42,9%. Le reste des biberons n'ont pas d'information sur le type de polymère (42,9%). A l'exception des biberons qui n'avaient pas d'information, les autres marques les plus vendus ont principalement trois origines, l'Europe, l'Asie et certains sont produits localement à l'aide de préformés dont l'origine n'a pas été précisé. Ces résultats d'enquête sont proches de ceux d'autres auteurs qui ont observés que les bouteilles au Cameroun sont tous importées (Pouokam *et al.*, 2014). Parmi les six marques n'ayant pas d'informations sur le type de polymères, deux sont des marques françaises et quatre n'ont aucune information sur leurs origines. Face à ces deux marques françaises qui n'ont pas d'informations sur le polymère, deux hypothèses sont possibles : soit il s'agit de la contrefaçon, ou alors, ces marques

n'appliquent pas la même rigueur sur les produits vendus en Europe que sur ceux vendus en Afrique. En effet, dans la majorité des pays d'Afrique dont le Cameroun, il n'y a pas de réglementation sur les exigences requises pour récipients plastiques utilisés dans l'alimentation humaine (Baluka & Rumbeiha, 2016). Le Cameroun fait partie des trente et un pays africains qui ont ratifiés la convention de Bamako. Il s'agit de la convention de 1991 sur l'interdiction de l'importation en Afrique et du contrôle des mouvements transfrontaliers et la gestion des déchets en Afrique. Elle a été établie à la suite des rapports qui montraient que les pays développés pratiquent le dumping des déchets dangereux sur les territoires de pays en développement, y compris les pays africains (WWF, 2022). Une étude menée dans trois villes du Cameroun (Yaoundé, Bafoussam et Fombot) sur les biberons en plastiques vendus dans les boutiques montrait soit qu'ils n'ont pas la mention « BPA free », ou alors n'ont aucune information. Par contre, dans les pharmacies, en dehors de 2,5% des biberons plastiques des petites villes (Bafoussam, Fombot), tous les autres avaient la mention BPA free. Les exigences d'informations sur les récipients plastiques dépendent des lieux où ceux-ci sont vendus (Pouokam *et al.*, 2014).

Tableau II.3: Polymères et origines des marques de biberons.

N°	Code de la marque	Polymère	Pays d'origine
1-	BO	Polycarbonate (PC)	Chine
2-	KID	Polycarbonate (PC)	Cameroun
3-	MOB	Polycarbonate (PC)	Cameroun
4-	Qubc	Polycarbonate (PC)	Thailand
5-	Qubf	Polycarbonate (PC)	Thailand
6-	Quj	Polycarbonate (PC)	Thailand
7-	CJ	Polypropylène (PP)	France
8-	WF	Polypropylène (PP)	Chine
9-	BA	Non mentionné	Non mentionné
10-	BCR	Non mentionné	France
11-	CA	Non mentionné	Non mentionné
12-	MCB	Non mentionné	France
13-	TCR	Non mentionné	Non mentionné
14-	WSN	Non mentionné	Non mentionné

II.3.2. Les modes d'utilisation des récipients plastiques dans les ménages

Le Tableau II.1 montre la distribution en pourcentage de l'échantillon d'étude des ménages dont l'effectif est 250. Il ressort de ce tableau qu'il y a plus de femmes (60%) interrogées que d'hommes (40%). Ceci s'explique par le fait que l'enquête a été menée la moitié du temps dans les domiciles les weekends, et le reste du temps elle s'est déroulée en semaines (soir) via les réseaux sociaux. Les femmes sont plus rencontrées dans les domiciles, surtout ceux remplissant les critères d'inclusion. En effet, elles s'emploient aux tâches ménagères. Presque toutes les couches sociales et les personnels de presque tous les secteurs d'activité ont été interrogés. Bien que le choix des personnes se faisait aléatoirement, il y avait aussi une préoccupation de ne pas demeurer dans le même secteur d'un quartier pour éviter d'avoir des ménages qui ont le même niveau de vie. C'est dans la même logique qu'on a pu avoir une hétérogénéité des niveaux d'études des parents interrogés dans les ménages.

II.3.2.1. Chauffage des récipients plastiques au four à microondes.

Les résultats de cette étude ont révélé que 12% de la population urbaine chauffe un récipient plastique (biberon, bol, gamelle etc) au four à microondes ; 8% possède le four à microondes mais n'y chauffe pas les récipients plastiques. Par conséquent, il ressort que 60% des ménages qui ont des fours à microondes chauffent des récipients plastiques à l'intérieur. Dans la population d'étude, 80% des ménages ont déclaré ne pas avoir de four à microondes chez eux (Tableau II.4). Le four à microondes reste une affaire de classe sociale au Cameroun.

Tableau II.4: Répartition des ménages qui chauffent les plastiques aux microondes en fonction de l'âge des responsables de familles.

Catégorie	Sous-catégorie	Tranche d'âge des responsables	Pourcentage (%)
Ménage avec four à microondes	Ménages qui chauffent le plastique au four à microondes	20 – 30 ans	2,0
		31 – 40 ans	8,5
		41 – 50 ans	1,5
		51– 60 ans	0,0
	Ménages qui ne chauffent pas le plastique au four à microondes		8,0
Ménages sans fours à microondes			80,0
Total			100

a) Chauffage des plastiques aux microondes et âge des chefs des ménages

Le Tableau II.4 montre que parmi les 12% de ménages qui chauffent les récipients plastiques au four à microondes, 2% des responsables ont 20-30 ans ; 8,5% ont 31 – 40 ans et 1,5% ont 41 – 50 ans. Aucun responsable ayant plus de 50% n'a déclaré que dans son ménage les récipients plastiques étaient chauffés au four à microondes. En croisant le Tableau II.4 avec le Tableau II.1, il se dégage que 24,6% des ménages dont les responsables ont entre 31-40 ans chauffent les plastiques aux microondes, contre 4,9% et 12,5% respectivement pour les tranches 20-30 ans et 41 – 50 ans. En effet, la tranche 31 - 40 ans est aussi celle qui avait le plus de four à microondes dans les domiciles. L'âge semble avoir une influence sur la capacité à s'acheter un four à microondes. Les habitudes culinaires font que les personnes de plus de 40 ans n'ont pas une facilité à se procurer ces fours qui restent encore associés à une étiquette étrangère. Au Cameroun, les personnes de moins de 30 ans quant à elles débutent encore leur vie en milieu urbain. Certaines sont encore étudiantes. Selon l'Institut National de Statistique dans son rapport sur la quatrième enquête auprès des ménages, dans la région du littoral, le niveau de pauvreté semble également croître avec l'âge du chef de ménage. Il est de 11,3% dans les ménages dirigés par une personne âgée de moins de 35 ans, de 21,2% dans les ménages dirigés par les personnes de 35 à 64 ans et de 23,1% dans les ménages dont le chef est âgé de 65 ans ou plus (INS, 2020).

b) Chauffage des plastiques aux microondes et niveau de vie/niveau d'études

Le Tableau II.5 apporte la confirmation selon laquelle l'usage des fours à microondes est d'abord une question de niveau de vie. Parmi les ménages qui chauffent les récipients plastiques au four à microondes, 66,6% sont des ménages à revenu élevé, 29,2% ont un revenu moyen et 4,2% ont un faible revenu. Il se remarque aussi que 60% de ceux qui ont un four à microondes y chauffent tous types de plastiques (bol, biberon, gamelle, etc). Si les autres ne chauffent pas les récipients plastiques aux microondes, c'est parce qu'ils n'en possèdent pas ou alors ne conservent pas les aliments au réfrigérateur et ne consomment pas les aliments surgelés. En effet, 80% des ménages ont déclaré ne pas avoir de four à microondes. Ces fours sont beaucoup plus utilisés pour réchauffer rapidement les aliments qui sortent du réfrigérateur ou des aliments surgelés. Toutefois il faut noter qu'en 2011, seulement 15,1% de la population possédait un réfrigérateur (INS, 2014).

La majorité des cadres interrogés ont au moins fait l'enseignement supérieur. Il apparaît que parmi ceux qui chauffent les récipients plastiques aux microondes, la majorité a

au moins le baccalauréat. Le Tableau II.5 montre que parmi les ménages qui chauffent les récipients plastiques au four à microondes, 37,5% ont des responsables qui ont fait le premier cycle universitaire, contre 62,5% de ceux qui ont fait le second cycle universitaire (Master/Doctorat). Ces résultats sont conformes aux résultats d'enquête de l'Institut National de la Statistique qui montrent qu'en 2014, l'indice de pauvreté diminuait avec le niveau d'instruction du chef de ménage. Il était de 63,9% chez les non scolarisés contre 4,2% chez les personnes ayant fait des études supérieures (INS, 2014).

Tableau II.5: Répartition des ménages qui chauffent les plastiques aux microondes en fonction du niveau d'études et du niveau de vie.

Catégorie	Sous-catégorie	Pourcentage (%)
Niveau de vie	Revenu faible	4,2
	Revenu moyen	29,2
	Revenu élevé	66,6
Total catégorie		100
Niveau d'études	Primaire	0,0
	Secondaire	0,0
	Licence	37,5
	Master/Doctorat	62,5
Total catégorie		100

II.3.2.2. Utilisation des récipients plastiques recyclés dans les ménages.

Dans cette étude, un récipient plastique recyclé c'est tout récipient plastique (bouteille, seau, bidon etc) qui après son utilisation originelle (Conservation de peinture, de carburant, de pesticides etc) a été nettoyé pour servir à des fins alimentaires (Conservation d'eau de boisson ou de cuisson, de jus naturel, de boisson alcoolisée etc).

❖ Distribution en fonction de l'utilisation originelle du récipient plastique

L'enquête auprès des ménages a révélé que sur les 250 ménages, 157 (62,8%) utilisent des récipients plastiques ayant servi pour d'autres fins. Le Tableau II.6 montre les pourcentages d'utilisation par les ménages des récipients plastiques dans la conservation des aliments selon l'usage originelle de ceux-ci. Les produits initiaux de ces récipients sont des denrées alimentaires (21,2%), des carburants (1,6%), des pesticides (1,6%), et de la peinture/colle industrielle (36,4%). L'utilisation des anciens récipients alimentaires pour

conserver les aliments peut être dangereuse si le nouvel aliment a des propriétés physicochimiques (acidité, caractère gras, viscosité, polarité...) complètement différentes de celles de l'aliment original du récipient (Food authority, 2015).

Tableau II.6: Ménages utilisant des récipients non adaptés pour la conservation des aliments.

Produit initial du récipient	Produit de conservation finale	Pourcentage de ménages
Carburant	Boissons	1,60%
Pesticides	Boissons	1,60%
Autres produits chimiques	Boissons	2%
Denrées alimentaires	Aliments plus visqueux ou gras	21,2%
Peinture/colle industrielle	Aliments visqueux ou boissons	36,4%
Total		62,8%

Au Cameroun, après consommation des eaux minérales, les bouteilles sont réutilisées pour la conservation des jus très acides (jus d'oseille, jus de citron...), de boissons traditionnelles alcoolisées (vin de palme, Bili bili, odontole...), ou d'aliment gras (huile de palme brute ou raffinée). Les anciens seaux de peintures sont facilement accessibles par les ménages auprès des chantiers de construction des maisons ou de travaux publics plus généralement. Ces récipients ont des capacités comprises entre 20 et 40 litres, sont moins onéreux et aisément lavable. Ces qualités font qu'ils sont utilisés pour le stockage de l'eau de boisson dans les ménages et pour la conservation de la pâte à beignet ou la bouillie dans les boutiques de beignets (beignetariat). La majorité des pays en voie de développement ont des difficultés d'approvisionnement en eau potable dans les ménages (Nyarko & Adu, 2016). Une étude menée dans une commune de Douala montre que 53,69% des ménages parcouraient entre 1 à 5 km et 49,25% marchaient plus de 15minutes pour avoir de l'eau potable (Djuissi Tekam *et al.*, 2019). Dans certaines villes du pays, il n'y a même pas de réseau public de distribution d'eau. L'approvisionnement en eau potable se fait à travers des forages, puits (équipés ou non) et sources (Kanouo *et al.*, 2022). Quand bien même il y a l'eau du réseau de distribution public dans les ménages, l'approvisionnement se fait de façon épisodique. En conséquence, les ménages s'emploient à conserver l'eau dans plusieurs récipients plastiques bon marché. La faible utilisation des récipients de carburant (1,6%) est due au fait qu'il est difficile de bien les nettoyer et surtout débarrasser leur odeur complètement même après plusieurs lavages avec savons et détergents. Les récipients de pesticides quant à eux sont peu

utilisés (1,6%) en milieu urbain, comparé en milieu rural. Ce dernier constitue essentiellement le bassin de production des cultures agricoles au Cameroun. Les trois villes de la présente étude (Douala, Yaoundé et Garoua) sont localisées en milieu urbain (Voir section II.2.2.1.b).

L'utilisation des récipients non alimentaires pour le stockage des aliments et boissons est un problème international. Il a été démontré que les anciens récipients de pesticides sont responsables de 50% des empoisonnements aux pesticides dans le monde. Une étude montre que 70% de ces empoisonnements ont lieu dans les pays en voie de développement (Mavuka & Shepard Ndlela, 2017). Certains auteurs recommandent une éducation des populations, un nettoyage et rinçage de ces récipients trois fois au moins avant utilisation, ou de les retourner via le système de consignation, dans les pays où une telle politique s'applique (Cordle *et al.*, 2019; Mavuka & Shepard Ndlela, 2017). L'application du nettoyage des récipients possédant des produits chimiques pour conserver les aliments dépend fortement des propriétés physicochimiques de ces produits, donc ne devrait pas être recommandé.

❖ L'utilisation des seaux de peintures/colle industrielle dans l'alimentation

L'utilisation des anciens seaux des peintures et de colles industrielles étant largement répandue dans la conservation des produits alimentaires au Cameroun (36,4% de la population), il serait intéressant de connaître les facteurs dont dépend celle-ci.

Tableau II.7: Répartition des ménages qui utilisent les seaux de peinture dans la conservation des aliments en fonction du niveau d'études et du niveau de vie.

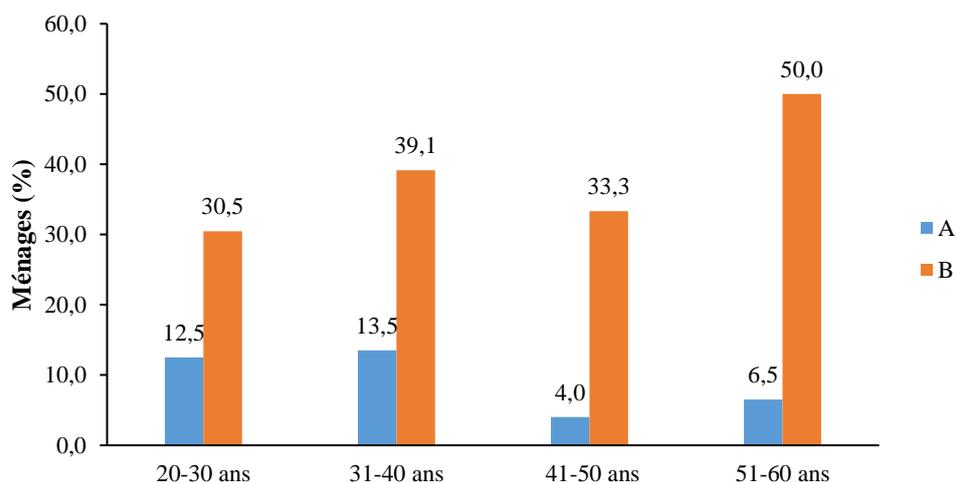
Niveau d'études			Niveau de vie		
Modalité	Ménages (%)	% au sein de la modalité	Modalité	Ménages (%)	% au sein de la modalité
Primaire	6,4	40,0	Revenu faible	13,6	39,1
Secondaire	8,4	51,2	Revenu moyen	14,8	38,5
Licence	14,0	41,7	Revenu élevé	8,0	29,9
Master/Doctorat	7,6	22,4			
Total	36,4		Total	36,4	

Le Tableau II.7 présente les pourcentages de ménages qui utilisent les anciens seaux plastiques de peinture pour la conservation de leurs aliments, en fonction de leurs niveaux de vie et niveaux d'études. Globalement, l'utilisation des anciens seaux de peintures dans la conservation des aliments et boissons se fait dans les ménages où les chefs de familles ont un

niveau d'études élevé. Parmi les 36,4% des ménages qui utilisent les anciens seaux de peinture dans la conservation des aliments 6,4% et 14% correspondent respectivement à ceux dont les chefs ont un niveau d'études primaire et le niveau du premier cycle universitaire. Le pourcentage de ménages dont le chef de famille a fait le second cycle universitaire et qui utilisent les anciens seaux de peinture pour la conservation des aliments, est de 7,6%. Le croisement de ces résultats avec les effectifs de chaque niveau scolaire présenté au Tableau II.1 permet d'avoir les pourcentages d'utilisation dans chaque catégorie. Il apparaît qu'au sein des ménages dont les chefs de familles ont un niveau primaire, secondaire, premier et second cycle universitaire (Licence et Master/Doctorat), le pourcentage d'utilisation des anciens seaux de peinture dans l'alimentation est respectivement de 40,0%, 51,2%, 41,7% et 22,4%. L'utilisation des anciens seaux de peinture pour stocker l'eau dans les ménages décroît avec le niveau d'éducation. L'éducation de la population sur les risques potentiels de l'utilisation des récipients non alimentaires pour la préservation des aliments et boissons devrait être implémentée comme observé par certains auteurs (Mavuka & Shepard Ndlela, 2017).

Parmi les 36,4% des ménages qui utilisent les anciens seaux de peinture pour conserver les aliments, 13,6% ont un revenu faible, 14,8% ont un revenu moyen et 8,0% ont un revenu élevé (Tableau II.7). Au sein de chaque catégorie, il s'observe que le pourcentage d'utilisation de ces récipients est de 39,1%, 38,5% et 29% respectivement pour les ménages à revenu faible, moyen et élevé. Les ménages à revenu élevé utilisent moins les seaux de peinture pour conserver l'eau de boisson parce que c'est dans cette catégorie que se rencontre la majorité de forage à domicile. Ils ont donc toujours des réserves d'eau stockée dans des grands cubitainers. Mais globalement, le niveau de vie n'influence pas l'utilisation des anciens seaux de peintures (Pas de différence entre faible revenu et revenu moyen).

La Figure II.1 (B) montre que l'utilisation des anciens seaux de peinture dans l'alimentation augmente avec l'âge des responsables des ménages. La moitié (50,0%) des ménages dont les responsables sont âgés entre 51 et 60 ans utilisent les anciens seaux de peinture pour stocker leurs produits alimentaires. Entre 20 et 50 ans, les pourcentages d'utilisation de ces seaux c'est entre 30,5 et 33,3%, avec un taux plus bas chez les 20-30 ans. Cette dernière constitue aussi la catégorie des ménages ayant le plus d'étudiants comme responsables, avec des familles moins nombreuses. Plus l'âge des responsables est avancée, plus grande est sa famille, donc les besoins en eau sont aussi plus grand, d'où la nécessité constante de stocker de l'eau. Une étude a montré que le taux de pauvreté au Cameroun est plus important dans les ménages où les chefs ont plus de 50 ans (INS, 2015).



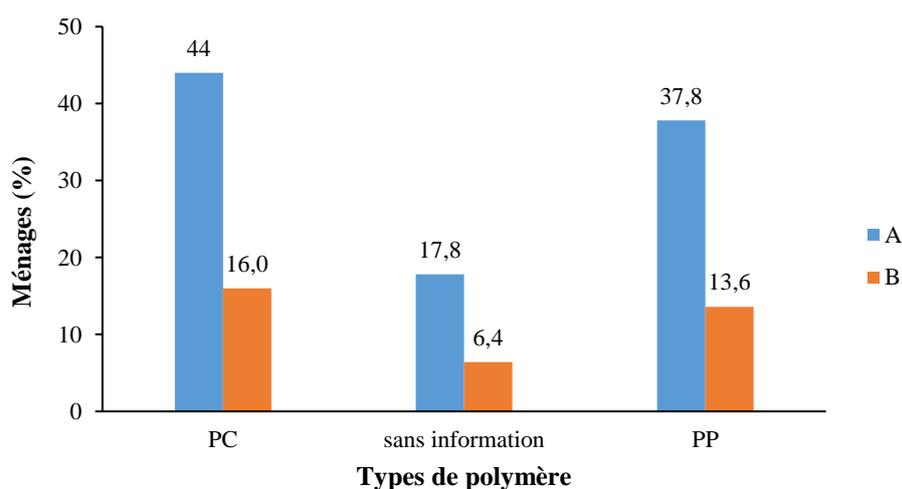
A : Pourcentage par rapport au nombre de ménages de toute l'étude

B : Pourcentage par rapport au nombre de ménages de chaque catégorie d'âge

Figure II.1: Pourcentages de ménages utilisant les anciens seaux de peinture ou de colle industrielle dans l'alimentation en fonction de l'âge des responsables des ménages enquêtés.

II.3.2.3. Utilisation des biberons plastique dans les ménages.

Au total, 90 ménages (soit 36%) utilisent les biberons en plastique. Parmi ces 90 ménages, 40 (16% de tous les ménages) utilisent des biberons en polycarbonates (PC) ; donc 44,4% des biberons en plastique rencontrés dans les ménages étaient en polycarbonate. Ce pourcentage est élevé, en considérant le fait qu'une étude avait déjà montré que certaines pharmacies et boutiques du Cameroun vendent des biberons en PC (Pouokam *et al.*, 2014). Les auteurs avaient procédé à une éducation de masse à travers la création de groupes de discussion avec les associations des femmes (Pouokam *et al.*, 2014).



A : pourcentage par rapport aux ménages qui utilisent les biberons en plastiques

B : Pourcentage par rapport à tout l'échantillon.

Figure II.2: Pourcentages d'utilisation de chaque polymère des biberons en plastique.

La Figure II.2 montre que 6,4% des ménages de l'étude utilisent des biberons en plastique qui n'ont aucune information sur le type de polymère (soit 17,8% des biberons en plastique rencontrés dans les ménages). Il n'y a pas de réglementation camerounaise qui précise les informations à porter sur les récipients en plastique. Il n'y a pas en conséquence une maîtrise de la qualité des biberons en circulation au Pays. Les informations portées sur les biberons de 13,6% des ménages et qui précisent que ceux-ci sont en polypropylène (PP) peuvent être fausses. En effet aucun contrôle n'est fait, et d'autres biberons peuvent même provenir de la contrebande. Les biberons en polycarbonate (PC) sont interdits d'usage en Europe, aux USA et dans certains pays d'Asie, du fait de leur capacité à relarguer les bisphénols qui sont des perturbateurs endocriniens. Au Cameroun, aucune réglementation spécifique n'existe jusqu'à présent pour guider la fabrication, la vente, le stockage et/ou la mise au rebut des biberons. Ces derniers ne sont pas inclus parmi les produits destinés à une interdiction. Par conséquent, les services de douane en charge du contrôle des marchandises échangées ne peuvent pas interdire les biberons fabriqués à base d'un type de polymère donné (Pouokam *et al.*, 2014). Les biberons en PC sont plus solides et plus résistant à la chaleur que ceux en polypropylène (plus souple). Les biberons en PC et ceux n'ayant aucune information coûtent moins chères que la majorité des biberons en polypropylène, c'est pourquoi ils sont préférés par 61,8% des ménages. Dans un pays en voie de développement comme le Cameroun, le choix de l'utilisation d'un type de biberon est fonction du prix d'achat (Pouokam *et al.*, 2014).

❖ **Utilisation des biberons en polycarbonate en fonction du niveau de vie, du niveau d'études et de l'âge des responsables des ménages.**

Le Tableau II.8 montre que l'utilisation des biberons en PC ne dépend pas du niveau de vie. Ces biberons sont rencontrés dans les tous les ménages entre 10 et 22%, avec une primauté chez les ménages à revenu élevé (22,4%). Ces derniers sont ceux qui utilisent le plus les biberons. Plusieurs études présentent les biens faits de l'allaitement exclusivement maternelle jusqu'aux six mois des nourrissons, mais l'emploi des biberons est sans cesse croissant en Afrique Centrale. Il ressort qu'en 2019, seulement un tiers des nourrissons étaient exclusivement allaité au lait maternel en Afrique de l'ouest et en Afrique Central (où se trouve le Cameroun). Parmi les raisons de l'utilisation accrue des biberons et autres solutions avant les six mois des nourrissons, étaient cités le travail et les études des mères (pour les étudiantes) (Couto *et al.*, 2020; UNICEF, 2022). Ceci explique donc pourquoi les familles à

revenu élevé, où le père et la mère travaillent le plus souvent, utilisent plus les biberons de manière générale. Les biberons en plastique sont souvent préférés parce qu'ils sont plus facilement maniable sans risque de cassure, et sont aussi plus légers (Pouokam *et al.*, 2014). Le taux d'utilisation des biberons en PC des ménages à revenu faible est supérieur à celui des ménages à revenu moyen (17,7% > 10%) parce que dans le premier groupe il y a plus de mères encore étudiantes.

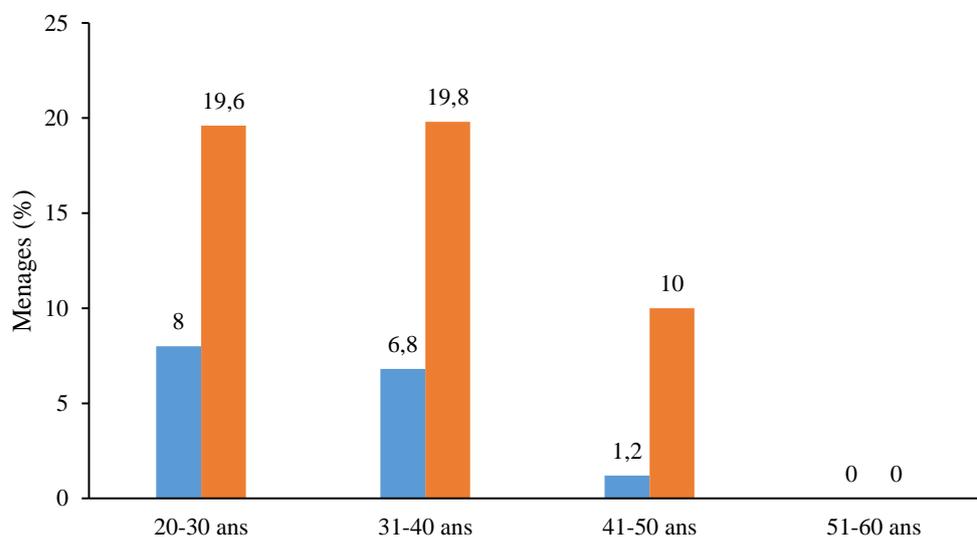
Tableau II.8: Influence du niveau d'étude et du niveau de vie sur l'utilisation des biberons en polycarbonate.

Niveau d'études			Niveau de vie		
Modalité	Ménages (%)	% au sein de la modalité	Modalité	Ménages (%)	% au sein de la modalité
Primaire	1,6	10,0	Revenu faible	6,0	17,2
Secondaire	2,4	14,6	Revenu moyen	4,0	10,4
Licence	6,8	20,2	Revenu élevé	6,0	22,4
Master/Doctorat	5,2	15,3			
Total	16,0		Total	16,0	

Le Tableau II.8 indique que le pourcentage de ménages qui utilisent les biberons en PC augmente avec le niveau d'études des chefs de ménages. Il est de 10%, 14,6% et 20,2% respectivement au sein des ménages où les chefs ayant niveau d'étude primaire, secondaire et premier cycle universitaire. Puis diminue du premier cycle vers le second cycle (20,2 à 15,3%). Il apparaît dans la littérature que les parents sont en faveur de l'allaitement maternel quel que soit le niveau d'études du père ou de la mère, mais ce sont les contraintes tel que l'emploi, qui sont le plus souvent un frein pour l'allaitement maternel exclusif (UNICEF, 2022). Au cours de la présente étude il se remarque que plusieurs mères ayant un niveau d'instruction primaire sont des ménagères ou des commerçantes qui n'ont pas trop de contraintes de présence au travail et peuvent donc plus facilement allaiter leur enfant au lait maternel à la maison ou derrière leur comptoir. L'usage des biberons dans ce cas apparaît comme un effet d'imitation, un effet de mode. Les personnes ayant un niveau d'études de master/Doctorat, sont un peu plus sensibles à l'actualité, donc sont plus sensibilisés sur les dangers des biberons en plastiques de manière générale, par rapport aux autres catégories.

La Figure II.3 présente l'influence de l'âge des responsables de ménages sur l'utilisation des biberons en polycarbonate. Cette dernière diminue avec l'âge des

responsables des ménages. Elle est de 19,6%, 19,8%, 10% et 0% respectivement au sein des tranches d'âge 20-30, 31-40, 41-50 et 51-60. Des études ont montrés que l'âge des parents d'un nourrisson a des effets positifs mais aussi négatifs sur la pratique systématique de l'allaitement maternel. L'aspect positif c'est que les personnes d'un certain âge n'ont pas connu il y a 30 ou 40 ans cette utilisation accru des biberons. Les femmes à cette époque étaient majoritairement des ménagères. L'aspect négatif c'est que ces personnes sont très encrées dans les pratiques ancestrales qui demandaient dans certaines régions, de donner de l'eau aux nourrissons, ainsi que plusieurs solutions différentes du lait maternel (UNICEF, 2022). Dans la présente étude, les responsables des ménages ne sont pas forcément les parents des nourrissons, ils sont parfois leur grands parents (51-60 ans) mais ont toujours une grande influence sur le choix et les pratiques de la mère. Les personnes les plus jeunes sont aussi celles qui sont le plus en activités, soit scolaire ou professionnelle, par conséquent s'emploient plus à l'utilisation des biberons en générale, et des biberons en plastiques polycarbonates en particuliers. Une autre étude a montré qu'en 2014, la pauvreté dans les ménages augmentait en fonction de l'âge des responsables (INS, 2015). Ceci peut aussi justifier le fait que les personnes de plus de 50 ans sont celles qui achètent le moins les biberons de manière globale, car c'est une dépense supplémentaire dans l'achat et l'utilisation des biberons.



A : Pourcentage par rapport au nombre de ménages de toute l'étude

B : Pourcentage par rapport au nombre de ménages de chaque catégorie d'âge

Figure II.3: Pourcentages de ménages utilisant les biberons PC en fonction de l'âge des responsables des ménages enquêtés.

❖ Etude de la distribution des coactions

La Figure II.4 présente les pourcentages de ménages qui utilisent les récipients plastiques de manière risquée en coaction. Il apparaît que 2,8% de la population d'étude utilisent les anciens seaux de peinture et chauffent le plastique aux microondes. En considérant tous les 41 ménages (16,4% de tous les ménages de l'étude) qui ont au moins deux pratiques à risque, cela constitue 17% de leur effectif ; 65% de ces 41 ménages utilisent les anciens seaux de peintures pour stocker leurs matrices alimentaires et les biberons en PC ; et 18%, en plus d'utiliser les seaux de peintures et les biberons en PC, chauffent les récipients plastiques dans le four à microondes. Pour une population de deux millions de personnes, cela revient à dire que trois cent soixante milles sont dans une situation de danger dû aux trois pratiques sus mentionnées, menées simultanément. Une étude pour évaluer la prévalence des perturbateurs endocriniens associés à ces pratiques est donc à mener pour évaluer l'exposition de ces populations aux bisphénols et aux phtalates.

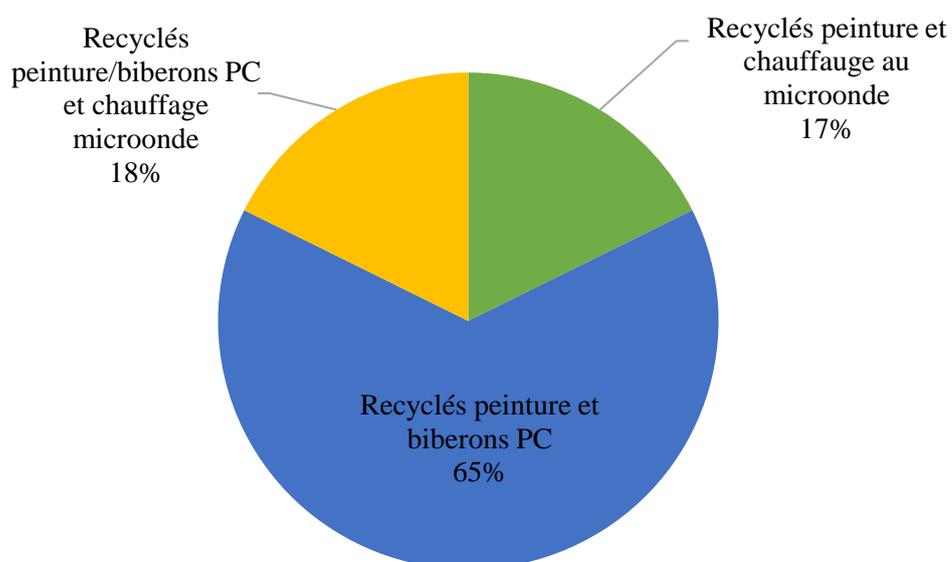


Figure II.4: Pourcentages de ménages utilisant les récipients plastiques de manière risquée en coaction.

II.3.2.4. La consommation d'eau embouteillée dans les ménages.

Parmi les eaux embouteillées au Cameroun, on distingue principalement trois groupes d'eau : Les eaux minérales naturelles, les eaux minéralisées et les eaux de table (eau du réseau de distribution qui a subi un second traitement). L'étude montre que 40,4% des ménages consomment plus de 26 litres d'eau par mois et par personne (Tableau II.9). Deux personnes sur cinq de la population cible consomment principalement l'eau minérale comme eau de

boisson. La forte consommation d'eau minérale dans les ménages qui possèdent des enfants en bas âge est due à la recrudescence des maladies hydriques au Cameroun tel que le cholera (MINSANTE, 2018). Elle s'explique aussi par la rareté ou la mauvaise qualité de l'eau du réseau de distribution publique même dans les grandes villes. La consommation d'eau minérale au Cameroun augmente chaque année. Entre 2017 et 2018, le marché de l'eau minérale a progressé de 46,4%. Cette forte progression a été attribuée par des auteurs à la concurrence très rude observée dans le secteur et les innovations apportées. La conséquence c'est que le prix de l'eau minérale ne cesse de baisser depuis 2010 (Melingui *et al.*, 2021).

Tableau II.9: Fréquence de consommation de l'eau embouteillée dans les ménages.

	Fréquence de consommation par habitant et par mois	Effectif des ménages/250	Pourcentage ménage (%)
Ménages qui ont une forte consommation d'eau minérale	10 -20 Litres	108	43,2
	26 – 35 Litres	43	17,2
	36 – 45 Litres	37	14,8
	46 – 60 Litres	21	8,4
Ménages qui ont une faible consommation d'eau minérale	< 5 Litres	41	16,4
Total		250	100

❖ La consommation d'eau embouteillée par ville

Le Tableau II.9 montre les pourcentages de consommation d'eau embouteillée dans les ménages des trois villes de l'étude. Cette consommation est de 50%, 72,3% et 92,9% respectivement dans les ménages de Garoua, Douala et Yaoundé. La faible consommation de l'eau embouteillée à Garoua par rapport à Douala et Yaoundé s'explique par le fait que la majorité des ménages à Garoua consomment donc l'eau du réseau de distribution publique. Les personnes interviewées à Garoua ont déclaré qu'elle était de bonne qualité, contrairement aux informations enregistrées à Douala et Yaoundé. Les populations de Douala ont beaucoup de difficultés d'accès à l'eau potable. Certaines personnes doivent parcourir 1 à 5 km pour avoir de l'eau. Car une étude menée dans une commune de Douala a montré que plus de 50% des ménages utilisent l'eau de forage ou des puits aménagés (Djuissi Tekam *et al.*, 2019). Les populations utilisent donc plus l'eau de forage à Douala qu'à Yaoundé. En effet, Yaoundé est une ville avec un relief très accidenté, d'où son surnom de la ville aux sept collines, contrairement à Douala qui est dans la région côtière, donc proche de la nappe phréatique. Il

se remarque aussi que le sol de Yaoundé est rouge ferrallitique, tandis que celui de Douala est principalement constitué de sols de type hydromorphe dit à gley et sableux (https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/2022-03/les_sols_du_cameroun.pdf).

Le coût de construction d'un forage ou un puits à Douala est donc plus bas qu'à Yaoundé, d'où la prolifération. La conséquence c'est que pour combler le manque d'approvisionnement et la suspicion de mauvaise qualité en eau du réseau public de 92,9 % des habitants de Yaoundé vont consommer au moins cinq litres d'eau minérale par mois et par habitant (Tableau II.10). Dans les ménages, même quand il y a consommation d'eau du réseau public, celle-ci n'est pas donnée aux nouveaux nés ou aux enfants de moins de 5 ans.

Tableau II.10: Consommation d'eau embouteillée des ménages de chaque ville de l'étude.

Villes	Pourcentage de ménages consommant au moins 10 Litres par habitant et par mois
Garoua	50,0 %
Douala	72,3%
Yaoundé	92,9%

❖ Consommation d'eau embouteillée en fonction du niveau de vie et du niveau d'études

L'étude menée révèle que les ménages qui ont un revenu élevé consomment plus d'eau minérale que ceux de revenu faible (Tableau II.11). Mais au sein de chacun de ces groupes au a plus de 70% des ménages qui consomment au moins 10L d'eau par mois et par habitant. La qualité de l'eau du réseau de distribution et le faible taux de connexion des ménages sont incriminés. Moins de 50% des ménages sont connectés au réseau d'eau dans plusieurs quartiers des grandes villes du Cameroun (Kanouo *et al.*, 2022; Temgoua *et al.*, 2009).

Tableau II.11:Influence du niveau d'étude et du niveau de vie sur la consommation d'eau minérale.

Niveau d'études			Niveau de vie		
Modalité	Ménages (%)	% au sein de la modalité	Modalité	Ménages (%)	% au sein de la modalité
Primaire	10,4	65	Revenu faible	26,4	75,9
Secondaire	13,2	80,5	Revenu moyen	31,6	82,3
Licence	27,6	82,1	Revenu élevé	25,6	95,5
Master/Doctorat	32,4	95,3			
Total	83,6		Total	83,6	

La fréquence d’approvisionnement en eau est aussi très faible. Les ménages connectés reçoivent l’eau 2 à 5 jours par semaine. Plus les ménages ont un revenu élevé, plus facilement ils peuvent acheter l’eau embouteillée, qui bien que les prix aient chutés demeurent plus coûteux que l’eau du réseau de distribution ou l’eau de forage vendue par des particuliers. Le litre et demi d’eau minérale coûte entre 250 et 400 FCFA, tandis que les particulier vendent 10 L entre 25 et 50 FCFA.

La consommation d’eau embouteillée augmente avec le niveau d’études des responsables des ménages (Tableau II.11). Les personnes les plus instruites sont plus sensibilisées sur les effets néfastes de la consommation d’une eau de mauvaise qualité, notamment les maladies hydriques comme le choléra ou la fièvre typhoïde. Au sein des responsables ayant fait au moins le premier cycle universitaire, en moyenne 88,7% consomment au moins 10 L d’eau embouteillée par mois et par personne. Ces chiffres se rapproche de ceux des auteurs qui se sont intéressés à la consommation d’eau en milieu universitaire au Cameroun, et observe que 83,2% consomment au moins 3 bouteilles d’un litre et demi par semaine, ce qui correspond à 18 litres par mois. Les auteurs attribuaient cette faible consommation d’eau minérale (moins d’un litre par jour) au fait que les étudiants ont un faible pouvoir d’achat d’une part, et qu’ils alternent avec d’autres de boisson d’autre part (eau de forage, boissons alcoolisées ou non, boissons énergisantes, jus naturels, etc.) (Melingui *et al.*, 2021). Dans la présente étude, parmi les responsables de ménages ayant un niveau universitaire, plus de 40% était encore étudiant ou venaient de débiter un boulot.

Dans l’optique de connaitre les eaux embouteillées consommées dans les ménages afin d’observer leur conditionnement et plus tard de savoir si certaines présentent des teneurs élevés en bisphénols et phtalates, l’enquête s’est intéressée aux marques les plus consommées.

❖ **Marques d’eau embouteillée les plus consommées**

La Figure II.5, présente les pourcentages de consommation de différentes marques d’eaux embouteillées. Il apparait que dans les villes de Douala et Yaoundé, l’eau minérale de marque « Supermont » est largement plus consommée (74,3%) que les autres. Les marques telles que Vitale, Tangui et Ôpur suivent avec les pourcentages respectifs de 11%, 7%, et 5%. Le magazine investir au Cameroun, dans son numéro 66, publiait que la marque Supermont occupait à elle seule 58% du marché des eaux minérale du Cameroun (Mbodiam, 2017). Ce qui est conforme avec les résultats de la présente étude. Il faut noter que le marché de l’eau

minérale est constitué de bien plus de marques que celles qui sont présentées ici. Cependant, dans l'étude, il était question de savoir quels sont les plus consommées dans chaque ménage. Dans la majorité des ménages, il y a au moins deux à trois marques différentes qui sont consommées. Une étude montre qu'en milieu étudiant camerounais, les marques les plus citées sont : Aquabelle, Tangui, Supermont, Sahel, Ôpur, Vitale, Sano, Semme, Crystal, Evian, Aura, Contrex, Golden et Vina water. Les principales raisons du choix des marques d'eau minérale c'étaient l'accessibilité des prix (44,5%), la disponibilité (24%) et la bonne qualité (12%). A Garoua, l'eau Aquabelle, qui est une eau de table détient la palme d'Or, où il a été enregistré principalement deux marques (« Aquabelle » et « Sahel sprint »). Les études réalisées par d'autres auteurs à Ngaoundéré (7°19'39,5'' N et 13°35'5''E), située dans le septentrion du Cameroun comme Garoua, montrent effectivement que la marque Aquabelle est la plus consommée dans les Régions du Grand Nord. Les pourcentages de consommation des eaux minérales chez les étudiants de Ngaoundéré sont de 68,6% et 31,4% respectivement pour Aquabelle et Sahel sprint (Melingui *et al.*, 2021).

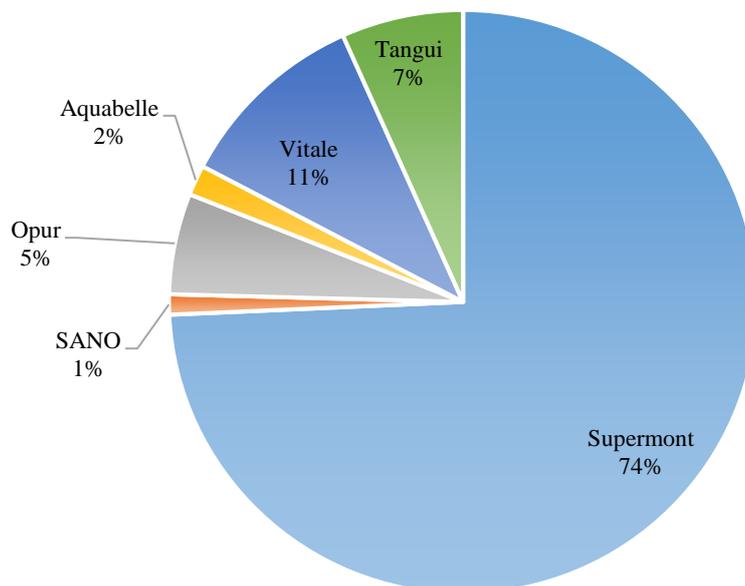


Figure II.5: Pourcentages de consommation de différentes marques d'eau embouteillée.

II.3.3. Les modes d'utilisation des récipients plastiques dans les beignetariats

L'enquête au niveau des beignetariats de la ville de Yaoundé, a révélé que 12 sur 19, soit 63,2% utilisent des anciens seaux de peinture ou de colle industrielle pour conserver la bouillie ou la pâte à beignets. Cette utilisation des seaux de peintures ou de colles industrielles

par les vendeuses des beignets-haricot-bouillie qui ont plus de 100 clients par jour s'explique par le fait que ces récipients sont moins chers, plus légers que les grandes marmites en aluminium ou les grands thermos de capacités voisines ; de plus, pour transporter la bouillie, les seaux en plastiques ont une conductibilité thermique plus faible que celle des marmites en aluminium que certaines commerçantes utilisent. Ils sont donc facilement accessibles et faciles à transporter. En effet, plus de 80% des vendeuses de beignets ne vendent pas à côté de leur domicile, donc doivent transporter des grandes quantités de pâte à beignet ou de bouillie. Ces commerçantes pour la majorité, n'ont même pas fait d'études secondaires. Il apparaît important de faire des sensibilisations éducatives comme l'ont fait certains auteurs à Yaoundé pour ce qui est de l'utilisation des biberons en polycarbonate (Pouokam *et al.*, 2014).

II.3.4. Limites de l'étude et difficultés rencontrées

La principale limite de cette étude c'est qu'elle s'est faite seulement auprès de 250 ménages. Une plus grande taille de l'échantillon pourrait être nécessaire pour conforter ces résultats. Au cours de cette enquête, la proportion des ménages qui n'utilisent pas les anciens seaux de peinture et de colle industrielle mais qui consomment les aliments conservés dans ces récipients hors de leurs domiciles n'a pas été évaluée. L'évaluation des personnes qui consomment les eaux minérales en sachet n'a pas été effectuée parce que ce n'est pas dans les ménages que ces eaux sont le plus consommées. Elles sont consommées dans la rue, lors des matchs de football et pendant les réunions d'associations. Une commerçante qui passe la majorité de son temps au marché est plus empruntée à la consommation des eaux minérales en sachet que celles embouteillées. Le nombre de marques d'eaux en sachet est sans cesse croissant sur le marché camerounais. Les résultats des études de la qualité de ces eaux sont divergents. Une étude portée sur 20 marques d'eau minérale en sachet vendues dans la ville de Yaoundé montre que leurs caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques sont conformes aux valeurs de l'OMS. Cependant, les auteurs indiquent que le matériau plastique d'emballage et les conditions de stockage de ces eaux, peuvent aggraver leur contamination (Hermann *et al.*, 2018). Une autre étude menée sur 200 eaux en sachet vendues dans la ville de Garoua, révèle que 82% de celles-ci sont contaminées par des germes microbiologiques (Gake *et al.*, 2022). Afin de contourner cette limite, dans la suite de la présente étude, les eaux minérales en sachet seront achetées et analysées pour dégager leurs teneurs en bisphénols et phtalates.

La principale difficulté pour la réalisation de cette enquête c'était le contexte sécuritaire actuel du Cameroun. Les gens avaient peur de donner leurs informations personnelles. Il était difficile d'entrer chez les gens pour les interviewer, c'est pourquoi la moitié des données a été collectée en ligne, dans l'anonymat. Plusieurs commerçants quant à eux demandaient des contreparties financières pour répondre aux questions. Il leur était proposé des conseils sur le traitement de l'eau, et sur l'exposition aux substances chimiques via l'alimentation. Cette proposition intéressait plusieurs, tandis que d'autres sont restés sur leur position, ce qui a contribué à réduire le nombre d'informations reçues.

Conclusion partielle

L'enquête a révélé que les récipients plastiques les plus utilisés dans l'alimentation au Cameroun proviennent d'Asie, d'Europe et d'Afrique. Parmi les polymères des matières plastiques les plus utilisés il y a le polypropylène (PP), le polyéthylène basse et haute densité (PEBD et PEHD), le polyéthylène téréphtalate (PET) et le polycarbonate (PC) qui est interdit d'usage dans plusieurs pays du monde. En ce qui concerne l'utilisation des biberons plastiques dans les ménages, le choix est le plus souvent porté vers ceux qui sont moins chers et qui viennent d'Asie et d'Afrique. Sur 88 ménages qui utilisent les biberons en plastiques, 43% étaient en PC, 34,8% en PP et 22,2% n'avaient pas d'informations. Il ressortait que 157 ménages soit 62,8% de la population d'étude, utilisent les anciens récipients qui ont servi à la conservation de produits chimiques (ou d'autres produits) dans la préservation ou l'emballage des aliments et boissons. Parmi lesquels, 36,4% de la population d'étude utilisent les anciens seaux de peinture pour le stockage des aliments et boissons. Cette pratique est rencontrée dans toutes les couches sociales du Cameroun. Dans l'optique d'évaluer le niveau d'exposition de la population camerounaise, il est nécessaire de quantifier les bisphénols et les phtalates qui seraient relargués des récipients plastiques vers les matrices alimentaire. Cette quantification est faite via le développement des méthodes analytiques spécifiques et sensibles pour la détermination de ces molécules.

CHAPITRE III :
MISE EN PLACE DE METHODES
D'ANALYSE DES BISPHENOLS ET
DES PHTALATES

III.1.Introduction

L'enquête a permis de déterminer les pratiques qui sont à risque dans les ménages camerounais. Au-delà des ménages, il est apparu que dans les commerces à forte affluence, les pratiques d'emballages ou stockage des aliments présenteraient aussi des risques pour les consommateurs. Au chapitre I, il est apparu que les bisphénols (BPs) et les phtalates (PAEs), deux additifs dans les emballages plastiques, peuvent être des contaminants des aliments. Cette contamination peut se faire lors du contact entre les emballages plastiques et les aliments, et dépend des caractéristiques physicochimiques de ces derniers, des conditions de leur traitement et de leur conservation. Afin d'évaluer le niveau d'exposition des populations qui se prêtent aux usages des emballages alimentaires et non alimentaires, il sera question dans le présent chapitre de mettre en place des méthodes pour identifier et quantifier ces polluants. Plus spécifiquement, il sera question de

- Mettre en place une méthode sensible et spécifique de quantification des bisphénols
- Mettre en place une méthode sensible et spécifique de quantification des phtalates
- Déterminer le niveau de contamination des produits emballés dans diverses matières plastiques.

III.2. Matériel et méthodes

III.2.1. Réactifs et solutions standards

Les réactifs se répartissent en quatre catégories. Les composés d'intérêt, les agents de dérivation, les solutions d'équilibre de pH et les solvants pour l'extraction et l'injection chromatographique. Les bisphénols choisis avaient les puretés suivantes : Bisphénol A ($\geq 99\%$), bisphénol F ($\geq 98\%$), bisphénol B ($\geq 98\%$), bisphénol A-d₁₆ (99,1% D, 98% enrichissement isotopique). Pour les phtalates, les puretés étaient les suivantes : di-éthylhexylphtalate (DEHP) ($\geq 98\%$), di-éthylhexylphtalate-d₄ (DEHP-d₄) (99,1% D ; 98% de pureté), di-isononylphtalate (DINP) ($\geq 98\%$), di-isobutylphtalate (DBP) ($\geq 98\%$), di-isooctylphtalate (DNOP) ($\geq 98\%$), benzylbutylphtalate (BBP) ($\geq 98\%$), di-isodecylphtalate (DIDP) ($\geq 98\%$). Tous les bisphénols et phtalates ont été achetés chez Supelco de Sigma Aldrich (Diegem, Belgique). Les solutions stock individuelles et mixtes des bisphénols et des phtalates à 1mg/mL étaient préparées dans le méthanol et conservées à 4°C dans des vials ambrés de 2 mL. Les solutions de travail étaient ensuite obtenues en effectuant des dilutions appropriées des solutions stocks. Ensuite elles étaient soit utilisées directement, ou conservées

à l'abri de la lumière à 4°C. Les structures des bisphénols sont présentées dans le Tableau I.3 et celles des phtalates sur la Figure I.11 du chapitre I.

Le triéthylamine (TEA) (> 99%) et le bromure de (3-bromopropyl) triméthylammonium (97%) utilisés pour la dérivation des phtalates étaient achetés chez Merck (Darmstadt, Allemagne). L'agent dérivant des bisphénols, le chlorure de pyridine-3-sulfonyle (95%) venait de Sigma – Aldrich (Diegem, Belgique). Les pastilles d'hydroxyde de sodium (99%), l'acide chlorhydrique (37%), l'acide formique (98%) et l'hydroxyde d'ammonium (28-30%) étaient achetés chez Merck (Darmstadt, Allemagne). Le tampon carbonate pH 10 était préparé à partir des solutions prêtes à l'emploi de carbonate de sodium (100 mmol/L) et de bicarbonate de sodium (100 mmol/L) achetées chez Merck (Darmstadt, Allemagne). Tous ces réactifs étaient de qualité analytique. Les solvants organiques utilisés étaient de qualité HPLC/ LC-MS (Acétate d'éthyle, méthanol, acétonitrile) ou analytique (dichlorométhane et N-hexane). Ils étaient achetés chez Merck (Darmstadt, Allemagne). L'eau ultra-pure était produite par le système de purification par gradient Milli-Q de la société Merck Millipore (Bedford, MA, USA). Les cartouches d'extraction en phase solide (SPE) de marque Oasis Max (150 mg, 6 mL) étaient achetées chez Waters (Milford, MA, USA). La solution de NaOH 2N était préparée en dissolvant 8 g de pastille dans 100mL d'eau distillée. Celle de HCl 2N était obtenue en diluant six fois la solution de HCl 37%.

III.2.2. Equipements

Le pH-mètre Seven Easy (Mettler Toledo ; France) a permis de déterminer le pH. La Centrifugeuse de marque Universal 320 R (Hettich, Allemagne) a servi pour la centrifugation. Le bac à ultrasons de marque Branson 3510 (Bransonic, Allemagne) a été utilisé pour le dégazage des boissons traditionnelles fermentées. Le vortex IR (Star LAB, France) a permis d'effectuer l'homogénéisation des échantillons et des extraits dans les tubes. L'évaporateur rotatif RII (Buchi, Allemagne) a été utilisé pour la concentration des extraits. La balance ME 235-P (Sartorius, Allemagne) a permis d'effectuer les pesées. Le bain marie Corio C (Julabo, Allemagne) a été utilisé pour les chauffages humides. L'analyse chromatographique s'est effectuée à l'aide d'un chromatographe liquide de marque ACQUITY, couplé à un spectromètre de masse triple quadripôle en tandem (MS/MS) de marque Xevo TQ (Waters Co, USA).

III.2.3. Echantillons

Les échantillons de l'étude se distinguaient en deux grands groupes. Les échantillons pour les essais de transfert et échantillons d'application des méthodes.

a) Echantillons pour essais de transfert

Les échantillons pour essais de transfert se distinguaient en biberons, anciens seaux de peinture et de colle industrielle. Les quatorze marques de biberons plastiques les plus vendus par les commerçants des boutiques du marché Mokolo (Cordonnées GPS : 3,8756; 11,49802) dans la ville de Yaoundé, étaient achetées. Les caractéristiques de ces biberons sont présentées au Tableau II.3 (Chapitre II). Ils ont une capacité de 250 - 275 mL. Pour chaque marque, trois récipients étaient achetés. Les biberons étaient rincés avec de l'eau ultrapure à 90°C, puis 200 mL d'eau ultrapure à 70°C était ajoutée, et l'ensemble était laissé à 25°C pendant une heure. L'eau collectée était sujette à la dérivation avant injection chromatographique.

Les seaux de peinture et de colle industrielle ont une capacité de 20 L chacun et sont en polyéthylène (PP). Pour chacun de ces types, neuf seaux étaient achetés, puis lavés deux fois avec l'eau du réseau de distribution, le savon de Marseille et une éponge végétale. Ils étaient ensuite rincés deux fois avec l'eau du réseau de distribution, et trois fois avec l'eau ultrapure, avant d'être mis dans les conditions de migration. Dans le premier seau de peinture (ESP_{j0}), nous avons mis 4L d'eau ultrapure à 25°C pendant deux jours, afin de simuler les conditions de stockage d'eau de boissons ou de cuisson dans les ménages. Dans le deuxième seau de peinture (ESP_{ac}), nous avons mis 4L d'acide acétique 3% pendant 24 h, pour simuler la conservation des boissons acides (jus Bissap ou foléré) dans les ménages. Dans le troisième seau de peinture (ESP_{chaud}), nous avons mis 4L d'eau ultrapure à 90°C et laisser reposer à 25°C pendant 2h, afin de simuler la conservation de boisson chaude (bouillie) dans ces récipients. Chaque essai était repris deux fois (dans deux autres seaux). Le même protocole était utilisé pour les neuf seaux de colle industrielle repartis dans les trois conditions d'essai. (ESC_{j0}, ESC_{ac} et ESC_{chaud}). Après les différents temps de contact, l'eau (ou l'acide acétique 3%) de ces dix-huit récipients étaient mis dans des bouteilles en verre ambré d'un litre, codés et conservés entre 2 et 8°C avant l'analyse. Un blanc (EUP) était effectué en mettant de l'eau ultrapure dans une bouteille en verre ambré.

b) Echantillons d'application

Les échantillons d'application étaient composés de huit marques d'eau minérale en bouteille les plus consommées (Figure II.5, section II.3.2.3), deux marques de whisky en sachet, deux marques d'eaux en sachet, de l'huile de palme brute et deux types de boissons traditionnelles fermentées (vin de palme et « bili bili »). Les bouteilles des eaux minérales et de l'huile de palme brute étaient toutes en polyéthylènetéréphtalate (PET). L'huile de palme

brute était vendue dans les anciennes bouteilles d'eau minérale. Les bouteilles étaient achetées en novembre 2020 et les numéros de lot (et date d'expiration) des eaux minérales étaient enregistrés. Les bouteilles d'huile de palme brute n'avaient pas d'information sur leur production. Les boissons fermentées traditionnelles étaient vendues dans des bidons en polypropylène (Vin de palme) et les anciens seaux de peinture en polypropylène (« Bili Bili »). Les eaux minérales en sachets et les whiskys en sachet étaient vendus sur des étalages exposés au soleil. Pour chaque marque d'eau minérale en bouteille ou chaque type de produit, trois échantillons étaient achetés. Tous les échantillons (Eaux minérale en bouteille, whisky en sachets, eaux en sachets et boissons fermentées traditionnelles) étaient conservés entre 2 et 8°C avant l'analyse, à l'exception de l'huile de palme brute (25°C).

III.2.4. Extraction

L'extraction liquide-liquide des bisphénols des échantillons d'eaux (eaux en sachet, eaux minérales en bouteilles, eaux issues des tests de transfert avec les biberons et les seaux) s'est déroulée comme suit. Dans une ampoule à décanter de 250 mL, on introduit 100 mL d'échantillon d'eau, 1 µg d'étalon interne (100 µg/L de BPA_{d16} à 10 µg par mL de méthanol) et 10 mL d'acétate d'éthyle. L'ensemble est mélangé par retournement pendant 20 s et laisser 5 min au repos. Puis, la phase organique était recueillie dans un ballon à col rodé de 100 mL. Le processus d'extraction était répété une seconde fois avec la phase aqueuse. Ensuite, la phase organique totale associée aux traces de phase aqueuse, environ 25 mL, étaient évaporées à 40°C via l'évaporateur rotatif. Le résidu était collecté à l'aide de 2 mL du mélange méthanol/eau (50/50 ; v/v), et transféré dans un vial en verre ambré de 2 mL. Enfin, le vial était centrifugé (4°C, 4000 trpm, 10 min) pour précipiter les particules en suspension, et conservé entre 2 et 8°C avant analyse UPLC-MS/MS. Afin de déterminer les taux d'extraction, la même procédure était appliquée aux solutions standards de bisphénols (A, B et F) de concentration 0,1 µg/L, 0,5 µg/L et 2,0 µg/L. Chacun des essais de détermination du taux d'extraction était effectué quatre fois.

Les boissons traditionnelles fermentées ont subi l'extraction liquide-liquide (LLE) et l'extraction en phase solide (SPE). Avant de débiter l'extraction, ces boissons étaient d'abord dégazées pendant 30 min à l'aide du bac à ultrasons. Pour l'extraction liquide-liquide, plusieurs solvants étaient testés afin de rechercher celui qui donne le meilleur rendement. Il s'agissait de l'acétonitrile, l'hexane, l'acétate d'éthyle et le dichlorométhane. Il était question d'introduire dans une ampoule à décanter de 250 mL, 100 mL de boisson et 1 µg d'étalon interne (100 µg/L de BPA_{d16} à 10 µg par mL de méthanol). Puis on y ajoutait 2 mL d'un des

solvants d'extraction. La suite de la procédure était la même que celle décrite pour les eaux. Ensuite le résidu était récupéré à l'aide de 2 mL de méthanol/eau (50/50 ; v/v).

L'extraction en phase solide (SPE) des bisphénols des boissons débute par l'équilibrage des cartouches OASIS avec 6mL x 2 de méthanol, puis avec 6 mL d'eau et 6 mL du mélange méthanol/eau (50 :50 ; v/v). Les boissons initialement dopées avec 1µg de BPA_{d16} étaient introduites dans les cartouches d'extraction à un débit de 5 mL/min. Les analytes (bisphénols) étaient élués de la cartouche par 6 mL de méthanol (100%). Les éluats collectés dans les petits tubes étaient transférés dans les ballons de 100 mL à cols rodés. Ces derniers étaient connectés à l'évaporateur rotatif afin d'être séchés, et le résidu était collecté avec 2mL du mélange méthanol/eau (50 :50 ; v/v). La détermination des taux d'extraction s'effectuait en dopant les boissons traditionnelles alcoolisées par les bisphénols (A, B et F), aux concentrations individuelles de 0,1 µg/L, 0,5µg/L et 2,0 µg/L. Les manipulations étaient reprises quatre fois à chaque niveau de concentration et par type d'extraction (LLE et SPE). La SPE a aussi été effectuée avec les échantillons d'eau, suivant le même protocole que pour les boissons. Ces résultats ont été consignés en Annexe 8.

L'extraction des bisphénols dans l'huile de palme brute s'est effectuée selon le protocole décrit par Abou Omar *et al.*, (2017) qui a été cependant modifié pour éviter d'utiliser le matériel en plastique susceptible de contaminer les échantillons. A l'aide d'un bécher en verre de 100 mL, 5 ± 0,1 g d'huile de palme brute ont été pesés, et 1 µg d'étalon interne (100µL of BPA_{d16} à 10µg par mL de méthanol) a été ajouté. Puis, 15 mL d'n-hexane et 2 mL de méthanol/eau (50/50 ; v/v) étaient versés dans le bécher, ce qui permettait de dissoudre l'huile. Le mélange était ensuite transféré dans une ampoule à décanter de 100 mL, agité par retournement pendant 20 secondes et laissé au repos pour 5 min pour la séparation des phases. La phase aqueuse était collectée dans les béchers et transférée dans un vial de 2mL. L'extraction était reprise une seconde fois. Pour chaque essai, les extraits ont donc été collectés dans deux vials de 2mL. Ces derniers étaient agités au vortex pendant 1min, puis centrifugés (4°C, 4000 trpm, 10 min). Le surnageant des deux vials étaient transféré dans les tubes à essais de 10 mL, homogénéisés au vortex et mis dans un nouveau vial de 2 mL prêt pour l'injection direct en UPLC-MS/MS. Les taux d'extraction étaient déterminés en dopant l'huile de palme brute avec 4, 10, 50 et 100 ng de bisphénols (A, B et F) par gramme (d'huile). Chacun de ces tests était répété quatre fois.

Les whiskys en sachet n'ont pas à proprement subit une étape d'extraction. Les échantillons étaient dilués cinq fois et 1,9 mL transférés dans un vial de 2mL. Puis 100 µL de

BPA_{d16} à 10 µg par mL de méthanol étaient ajoutés dans le vial. Le mélange contenu dans le vial était ensuite centrifugés (4°C, 5000 trpm, 10 min) et prêt pour une injection direct en UPLC-MS/MS.

III.2.5. Dérivation.

III.2.5.1. Dérivation des bisphénols

La méthode utilisée dérive de celle décrite par Regueiro and Wenz (Regueiro & Wenzl, 2015). Les volumes ont été modifiés en maintenant les mêmes ratios, pour prendre en compte les quantités d'échantillon à dériver qui étaient plus grandes. Brièvement, dans un vial ambré de 2mL, étaient introduits 300 µL d'échantillon aqueux précédemment dopés à l'étalon interne (100µg/L) et 300 µL de tampon de sodium carbonate (pH 9,8). Puis, 600 µL de solution de dérivation constituée de chlorure de pyridine-3-sulfonyl à 4mg/mL dans l'acétonitrile, étaient ajoutés. Le mélange était homogénéisé via le vortex durant 10 s, et placé dans un bain marie à 70°C pour 15 min. La réaction était arrêtée en refroidissant les vials dans un bain de glace. Ensuite, 300 µL d'acide formique à 1 mol/L étaient ajoutés. Enfin, le mélange était homogénéisé au vortex pendant 10 s, afin d'être prêt pour l'injection en UPLC-MS/MS. Les structures des bisphénols dérivés sont présentées sur la Figure III.1. A côté de la méthode directe dans l'échantillon brute, la dérivation sur extrait a aussi été faite. Les résultats de la dérivation sur extraits sont présentés en Annexe 8 du présent travail.

III.2.5.2. Hydrolyse et dérivation des phtalates

Le processus de dérivation des phtalates s'est inspiré de la combinaison des protocoles décrits par Gao *et al.*, (2019) et Kim *et al.*, (2007).

❖ Hydrolyse et extraction à l'acétate d'éthyle

Les solutions synthétiques de chaque phtalate à 20µM, les échantillons aqueux (Eaux embouteillées, eaux en sachet, whisky diluée) et le vin de palme ont subi une étape d'hydrolyse telle que décrite par Kim *et al.*, (2007). Le protocole consistait à mettre 10 mL d'échantillon brut (ou 8 mL d'extrait d'huile) et 4µg de DEHP-d4 (500 µL de DEHP-d4 20µM dans le méthanol) dans un tube à essai de 50 mL. Le DEHP-d4 (étalon interne) n'était pas mis dans les tubes possédant les extraits d'huiles de palme, car ceux-ci étant déjà dopés par ce premier. Dans les précédents tubes de 50 mL, on y ajoutait du NaOH 2N (quelques gouttes à 1mL) de sorte que le pH du mélange soit supérieur ou égal à 12. Puis le mélange était chauffé dans un bain marie à 90°C pendant 30 min. Ensuite, les tubes étaient enlevés et laissés au repos pendant 15 min à température ambiante, avant ajout du HCl 2N (quelques gouttes à 2 mL) pour que le pH soit inférieur à 2. Ceci marquait la fin du processus de

transformation des phtalates en acide phtalique. Ce dernier était extrait du mélange à l'aide de l'acétate d'éthyle. Pour y parvenir, 2 mL d'acétate d'éthyle étaient ajoutés dans chacun des tubes de 50mL, et l'ensemble était soumis au vortex pour homogénéisation pendant 10 secondes. Ensuite la phase polaire d'intérêt (phase supérieure) était récupérée à l'aide des pipettes en verre de 2 mL et transférée dans des tubes à essai de 25 mL. L'opération d'extraction à l'acétate d'éthyle était reprise une deuxième fois et la phase polaire d'intérêt était rajoutée dans le tube de 25 mL. Le produit issu de l'extraction était ensuite prêt pour une analyse LC-MS-UV ou pour la dérivation. L'analyse LC-MS/UV permettait la vérification de la formation de l'acide phtalique lors des tests avec les solutions individuelles et mixtes des phtalates. Cette opération était effectuée avec chacun des six phtalates sélectionnés (Voir réactifs).

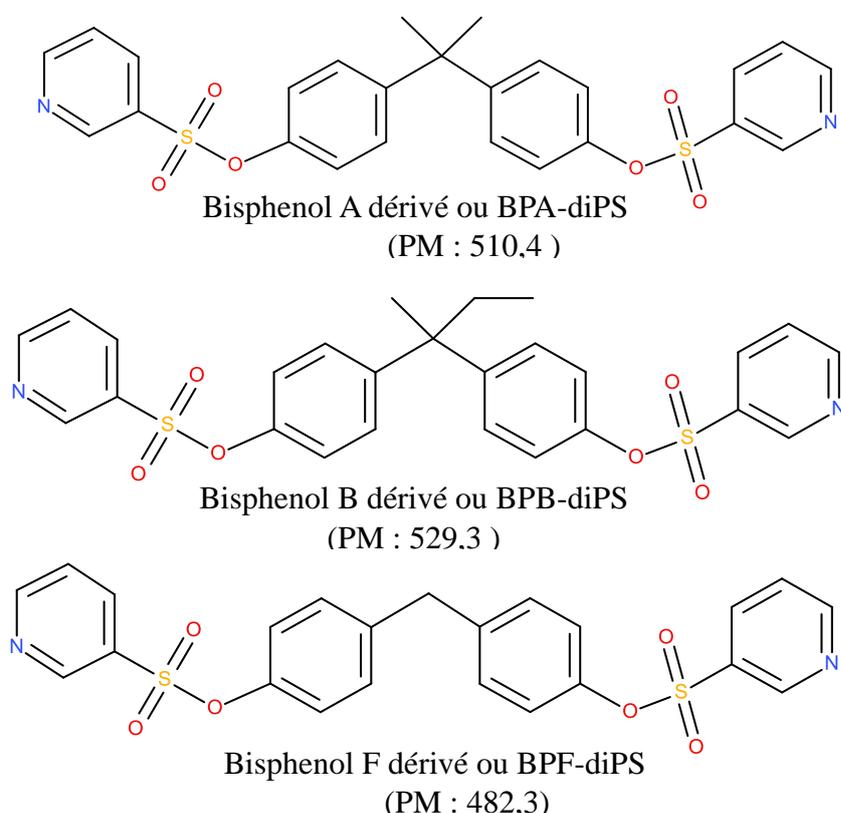


Figure III.1: Structures des bisphénols dérivés.

La détermination des taux d'extraction de l'acide phtalique dans les eaux minérales et les boissons traditionnelles alcoolisées après hydrolyse s'est effectuée en dopant un échantillon de ces matrices par le mix de phtaltes aux concentrations 1 µg/L, 10µg/L et 100 µg/L. Les manipulations étaient reprises quatre fois à chaque niveau de concentration. Les ratios entre l'aire du PA-BPTAB et celui de l'étalon interne (PA-BPTAB-d4) obtenu à l'aide

de ces matrices étaient comparés à ceux obtenus à partir des solutions standards aux mêmes concentrations.

❖ **Dérivation des phtalates**

La méthode de dérivation de l'acide phtalique est tirée de celle décrite par Gao *et al.*, (2019). Brièvement, dans les tubes de 25 mL contenant la phase organique d'intérêt (extraits), étaient ajoutés 100 µL de triméthylamine (TEA) à 2% dans l'acétonitrile et 200 µL de bromure de (3 -bromopropyl) triméthylammonium (BPTAB) à 1 mol/L (dans l'acétonitrile 50%). Puis, les tubes étaient homogénéisés à l'aide du vortex pendant 10 s, et mis dans un bain marie à 80°C pour 1h. Le bain marie était mis sous une Sorbonne, car les solvants utilisés s'évaporent à 80°C. Ensuite, les tubes étaient refroidis dans un bain de glace, et on y ajoutait 1,5 mL du mélange eau/acétonitrile/acide formique (H₂O/ACN/HCOOH ; 89,9/10/0,1). L'ensemble était soumis au vortex pendant 10 s, transféré dans un vial ambré de 2 mL et centrifugé (4°C ; 4000 trpm ; 10 min). Le vial était enfin prêt pour une analyse UPLC-MS/MS. La Figure III.2 montre le schéma d'hydrolyse, d'extraction et de dérivation des phtalates. La dérivation des solutions individuelles de phtalates à 20µmol/L permet d'évaluer l'efficacité de celle-ci. L'intensité du pic de PA-BPTAB formé était enregistrée pour chaque phtalate de départ.

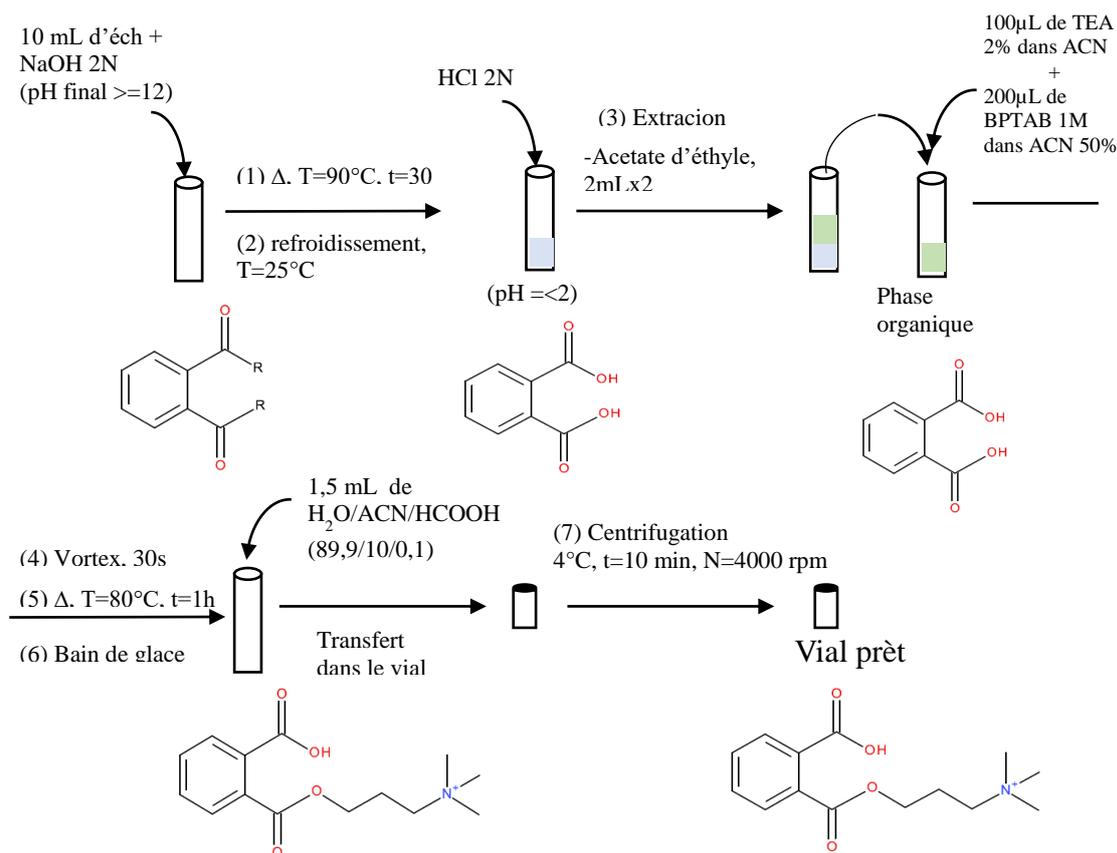


Figure III.2: Processus d'hydrolyse et de dérivation des phtalates.

III.2.6. Analyse UPLC-MS/MS des bisphénols et des bisphénols dérivés

III.2.6.1. Optimisation des conditions de spectrométrie de masse (MS)

La première étape de l'analyse consiste à optimiser les conditions d'analyse des phtalates en spectrométrie de masse. Une solution individuelle de chaque bisphénol d'intérêt à 2 μ mol/L était connectée au niveau de l'aspiration du spectromètre de masse de l'UPLC-MS/MS. La température de désolvatation, la tension de cône, la tension de capillaire, et le mode d'ionisation (ES+ ou ES-) étaient testés. Les débits du cône et de désolvatation des gaz étaient maintenus fixes (données usines). Pour la tension de capillaire, un balayage automatique de l'appareil était effectué et en fonction de l'intensité du signal, la meilleure valeur était arrêtée. Ce balayage était effectué dans les deux modes d'ionisation, et celui qui donnait le signal de plus forte intensité était choisi. La détermination de la tension du cône qui donne le signal le plus fort de l'ion parent (Ion moléculaire) était effectuée via une interface automatique. Cette dernière permettait aussi de choisir les meilleurs pics fils et leurs énergies de collision spécifiques. Pour chaque ion parent il faut au moins deux pics fils. Lorsque l'interface automatique n'arrivait pas à déterminer la meilleure tension de cône et les pics fils, ceci se faisait manuellement. La détermination manuelle de la tension de cône se fait via un

« full scan ». Puis le « daughter scan » est effectué en variant les énergies de collision à différentes tensions de cône et de capillaire, afin d'obtenir les conditions qui donnent les pics fils de signaux les plus élevés. Lors de la détermination manuelle, les valeurs des différentes variables étaient entrées progressivement et chaque fois, l'intensité du signal était relevée. Le Tableau III.1 résume les conditions de balayage des différents paramètres MS.

Tableau III.1: Plage de variation manuelle des paramètres MS.

Paramètres MS	Variable/plage	Pas
Mode d'ionisation	ES (+) et ES(-)	/
Tension de capillaire (kV)	0,5 - 3,5	0,5
Température de désolvation	300 - 700	100
Tension du cône (V)	10 - 50	5
Energie de collision (eV)	5 - 80	2 ou 5

III.2.6.2.Optimisation des conditions de l'analyse UPLC-MS/MS

La séparation des bisphénols par chromatographie s'est effectuée à l'aide du module de séparation Acquity™ UPLC™ de l'entreprise Waters, équipé d'une colonne d'isolation (P/N: 186003975) située avant la valve d'injection. Divers paramètres chromatographiques ont été variés pour obtenir les conditions qui donnent les pics avec des signaux élevés et les meilleures allures gaussiennes. Il s'agissait notamment de la colonne, le gradient de phases mobiles et le débit. Le Tableau III.2 présente les paramètres de séparation chromatographique qui étaient variés.

Tableau III.2: Plage de variation des paramètres de séparation chromatographique.

Paramètres UPLC	Variable/plage	Pas
Colonne	C8 et C18	/
Programme d'élution	%A et %B	Voir tableau 19 et 20
Débit (mL/min)	0,1 – 0,4	0,1

Les essais d'optimisation des conditions de séparation chromatographique, couplés à ceux de détection en spectrométrie de masse en tandem (MS/MS), ont permis d'obtenir les conditions UPLC-MS/MS.

Tableau III.3: Différents programmes testés pour l'élution des bisphénols.

Temps (min)	Programme 1		Programme 2		Programme 3		Programme 4		Programme 5	
	%A	%B	%A	%B	%A	%B	%A	%B	%A	%B
0	60	40	60	40	95	5	60	40	60	40
1	60	40	60	40	95	5	60	40	60	40
4			20	80			20	80	20	80
6	20	80	20	80	10	90	10	90		
6,1	0	100	0	100	0	100	0	100		
8			0	100	0	100			20	80
8,1	0	100	60	40	95	5	0	100	60	40
8,2	60	40					60	40		
10	60	40	60	40	95	5	60	40	60	40

A : Eau+0,1% NH₄OH ; B : Méthanol

Tableau III.4: Différents programmes testés pour l'élution des bisphénols dérivés.

Temps (min)	Programme 1		Programme 2		Programme 3		Programme 4		Programme 5	
	%A	%B								
0	55	45	90	10	70	30	70	30	70	30
0,5	55	45	90	10	70	30	70	30	70	30
6	25	75	40	60	40	60	25	75	35	65
6,5	2	98	10	90	30	70	10	90	10	90
8	2	98	10	90	30	70	10	90	10	90
8,1	55	45	90	10	70	30	70	30	70	30
10	55	45	90	10	70	30	70	30	70	30

A : Eau/Acide formique (99,2/0,8 : v/v)

B : Acétonitrile/Eau/Acide formique (97,8/2,0/0,2 : v/v/v).

III.2.6.3. Conditions d'analyse des bisphénols

Pour l'analyse des bisphénols, la colonne Waters Acquity UPLC BEH C18 (2,1 mm×50 mm; taille de particules : 1,7 µm) était choisie. Les manipulations se sont déroulées avec le four de la colonne réglé à 25°C. La phase mobile de l'analyse des bisphénols non dérivés était constituée de (A) mélange eau-ammonium à 0,1% et (B) méthanol. Le volume d'injection était 2µL pour un débit de 0,4 mL/min sous les conditions gradient du programme 4 (Tableau III.3). Après une injection, la colonne était équilibrée pendant 2min au débit arrêté jusqu'à la prochaine injection. La détection MS/MS des bisphénols s'est faite avec le spectromètre de masse triple quadripôle Waters Xevo™ TQD équipé d'une interface d'ionisation par électrospray (ESI) fonctionnant en mode d'ions négatifs (ESI -), avec suivi de réactions multiples (MRM). La tension du capillaire choisie était 2,5 kV. L'azote de pureté 99,9% était utilisé comme gaz de cône et de désolvatation, aux débits fixes respectifs de 50L/h et 1200 L/h. Les températures des sources d'électrospray et de désolvatation étaient maintenues respectivement à 150°C et 600°C. Les énergies ioniques 1 et 2 étaient

respectivement de -0,5 et 0,2. L'argon de pureté ultra élevée (>99,9%) était utilisé comme le gaz de collision. Pour chaque bisphénol, deux transitions (Pics fils) étaient sélectionnées.

III.2.6.4. Conditions d'analyse des bisphénols dérivés

Pour l'analyse des bisphénols dérivés, la colonne et les conditions d'usage étaient les mêmes que celles des bisphénols. La phase mobile de l'analyse des bisphénols dérivés était constituée de (A) eau/acide formique (99,2/0,8; v/v) et (B) acetonitrile-/eau/acide formique (97,8/2,0/0,2; v/v/v). Le volume d'injection était 2µL pour un débit de 0,3 mL/min sous les conditions gradient du programme 4 (Tableau III.4). Après une injection, la colonne était équilibrée pendant 2min au débit arrêté jusqu'à la prochaine injection. Pour empêcher les sels de pénétrer dans la source d'ions, pendant les deux premières minutes, l'éluât était éliminé du circuit chromatographique. La détection MS/MS des bisphénols dérivés s'est faite avec le spectromètre de masse triple quadripôle Waters Xevo™ TQD équipé d'une interface d'ionisation par électrospray (ESI) fonctionnant en mode d'ions positifs (ESI +), avec suivi de réactions multiples (MRM). La tension du capillaire choisie était 1,5 kV. Le reste des conditions analytiques, étaient les mêmes que ceux de l'analyse des bisphénols (III.2.6.3).

III.2.7. Analyse UPLC-MS/MS des phtalates totaux

La mise en place de la méthode UPLC-MS/MS de quantification des phtalates totaux via le PA-BPTAB s'est effectuée exactement comme celle des bisphénols et des bisphénols dérivés. La grande différence c'est que pour les phtalates totaux, il s'agissait de quantifier un seul composé, le PA-BPTAB, donc le gradient n'était pas obligatoire. Par conséquent le choix du programme d'élution ne s'est pas opéré ici. Une programme classique du laboratoire a été utilisé, avec comme phase mobile l'eau (A) et le méthanol (B) (Gao *et al.*, 2019). La meilleure colonne s'est aussi avéré être la colonne UPLC BEH C18 Waters Acquity (2,1 mm×50 mm; taille de particules : 1,7 µm). Le débit d'injection de 0,3 mL/min était choisi sous les conditions de phase mobile suivantes : le méthanol était maintenu à 2% pendant 0,2 min, puis augmentait linéairement de 2% à 60% jusqu'à 2 min ; était maintenu à 60% pendant 0,5 min, ensuite redescendait à 2% en 0,1 min. Il est maintenu à 2% jusqu'à 4 min. La colonne était équilibrée pendant 2 min au même débit avant la prochaine injection. Le volume d'injection était 2µL et le four de la colonne était maintenu à 25°C. L'analyse MS/MS s'est effectuée avec le même détecteur que celui des bisphénols, opérant en mode d'ionisation positive (ESI +), avec un monitoring à réaction multiple (MRM). La tension de capillaire choisie était de 1,5 kV. Toutes les autres conditions d'analyses sont restées les mêmes.

III.2.8. Validation des méthodes et contrôle qualité

Les analyses se sont effectuées avec une verrerie débarrassée de toute contamination. Pour cela, toute la verrerie était rincée avec le mélange méthanol-eau (50/50) en la plaçant dans un bac à ultrasons pendant 30 min. Ensuite elle était rincée à l'eau ultrapure. Enfin, la verrerie était chauffée pendant 2h à 400°C.

La validation des méthodes développées s'est effectuée comme décrit à la section I.7 du chapitre 1. Pour les bisphénols la linéarité était déterminée en observant l'allure de la droite de calibration obtenue avec les solutions standards préparées dans le méthanol-eau (50/50, v/v) aux concentrations de 0,5-1,0-2,0-5,0-10,0-20,0-50,0-100,0-150,0-200,0 µg/L. Dans chacune des solutions étalons, se trouvait l'étalon interne (BPA-d₁₆) à une concentration de 400 µg/L. Les ratios entre l'aire du pic de chaque bisphénol (A, B et F) des solutions standards et l'aire du pic de l'étalon interne étaient déterminés (A/A_{is}). Ensuite la régression linéaire était faite entre ces ratios et les concentrations des bisphénols [A/A_{is} = f(C)]. La zone où la courbe donnait un coefficient de détermination (R²) supérieur à 0,99 était considérée comme la zone de linéarité. La même procédure était adoptée pour les bisphénols dérivés et les phtalates totaux (PA-BPTAB). Pour les bisphénols dérivés les concentrations choisies étaient les suivantes : 0,5-1,0-2,0-5,0-10,0-20,0-50,0-100,0-150,0-200,0-300,0 µg/L.

Dans le cas des phtalates, 10 mL des solutions étalons étaient préparés dans le méthanol-eau (50: 50, v/v), à partir de la solution mixte de phtalates. Dans chacune des fioles de 10 mL utilisée, se trouvait 4µg d'étalon interne (500 µL de DEHP-d₄ 20µM dans le méthanol). Les concentrations de 0,1-0,5-1-2-5-10-20-50-100-150-200-300 µg/L permettaient d'apprécier la linéarité de la méthode. La courbe d'étalonnage interne du PA-BTAB était obtenue en faisant une régression linéaire de la courbe du ratio aire du PA-BTAB sur l'aire de l'étalon interne (DEHP-d₄) en fonction de la concentration.

Les solutions standards et les échantillons dopés à trois niveaux de concentration et répétés quatre fois (voir section III.2.4), permettaient la détermination de la fidélité des méthodes et les taux d'extraction. Pour déterminer la pseudo-fidélité intermédiaire des méthodes, les manipulations répétées quatre fois le jour 1, étaient reprises les jours 2 et 3. Puis, après analyse injection chromatographique, la fidélité intra-jour ou répétabilité et la fidélité inter-jour étaient déterminées en calculant les coefficients de variation intra et inter-jour (%) tel que décrit à la section I.7 du chapitre 1. Dans les cas où l'extraction était faite, l'effet de la matrice était déterminé conformément à la section I.7.7 (Chapitre 1). Un blanc était toujours utilisé et les manipulations étaient systématiquement faites en double. La validation de la méthode développée pour l'analyse des phtalate totaux passe aussi par l'étude

de la stabilité du PA-BPTAB formé après dérivation. Cette étude était effectuée en dérivant une solution de 100µg/L de diéthylhexylphthalate (DEHP) dont on mesurait l'aire du pic sur plusieurs jours, pendant un mois. Parallèlement, l'étalon interne (DEHP-d4) était aussi dérivé et l'aire de son pic était mesurée durant la même période.

III.2.9. Estimation des valeurs de migration et d'exposition

La détermination des valeurs de relargage s'est effectuée en utilisant les biberons, les seaux de peinture et les seaux de colle industrielle. Tous ces récipients avaient des formes cylindriques. La surface de chacun de ces récipients était déterminée en relevant leur rayon individuel de base et la hauteur de la colonne d'eau permettant d'obtenir les échantillons décrits à la section III.2.3.a. La formule de calcul de la surface d'un cylindre ouvert est donnée par $S = \pi r^2 + 2\pi r h$ (21) ; avec πr^2 la surface de base du récipient ; $2\pi r h$ la surface interne du récipient associée à la hauteur (h) de l'eau ; r est le rayon de la base. La quantité de composé (en µg) pour le volume considéré dans le Tableau III.5 est ensuite divisée par la surface, afin de déterminer la migration en µg/dm².

Tableau III.5: Données pour le calcul de la migration par unité de surface du récipient.

	Biberon	Seau de peinture	Seau de colle industrielle
Volume d'eau considéré (L)	0,25	5	5
Rayon de base du récipient (cm)	2,5	15	17
Hauteur de la colonne d'eau (cm)	11,5	7	5,5
Surface calculée (dm ²)	2	13,7	13,4

La détermination des valeurs d'exposition de la population humaine pour chaque type d'échantillon s'est effectuée à travers l'équation 22.

$$E = \frac{C \times q}{P_c} \quad (22)$$

Avec E , la valeur d'exposition en µg/kg de Pc/jour ; P_c , le poids corporel ; C , la concentration en µg/L obtenue après analyse UPLC-MS/MS ; q le volume ou la quantité d'échantillon consommé(e) par jour par le sujet humain considéré. Ce dernier s'exprime en L ou g/j. Le sujet humain considéré pour les échantillons de biberons c'était les bébés de moins de 4 mois, soit un poids corporel moyen de 5 kg (Onn Wong *et al.*, 2005). Pour tous les autres échantillons, le poids conventionnel d'un adulte est 60 kg selon les critères de santé environnemental 240 de l'OMS et la FAO (World Health Organization & Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2009). La valeur de q était choisie sur la base de l'enquête effectuée auprès des ménages et des commerçants. Pour les eaux minérales

embouteillées et en sachet, un volume journalier de 3 litres a été considéré. Il a été observé qu'un bébé de 5 kg, consommait au maximum 4 biberons, soit 1 L. Il a été considéré qu'une personne de 60 kg consomme trois sachets de whisky (300 mL) par jour. Une consommation journalière d'1L de boissons fermentées a aussi été considérée. Une étude menée sur la consommation d'huile de palme brute par les camerounais révèle qu'elle est d'environ 105 g par adulte et par jour (Ingenbleek *et al.*, 2017).

III.2.10. Traitement des données et analyse statistique

L'acquisition et le traitement des données d'analyses chromatographiques se sont effectués par le logiciel Masslynx version 4.1. Ensuite celles-ci étaient exportées vers le logiciel Excel 2016 pour le traçage des courbes et les calculs (moyennes, écart-types, coefficients de variation etc.). Les résultats issus d'Excel sont présentés avec les écart-types ou les coefficients de variation (%). Le logiciel R, version 4.0.2 était utilisé pour effectuer l'analyse de la variance et faire les diagrammes en moustache.

III.3.Résultats et discussion

III.3.1. Mise en place des méthodes des bisphénols et des bisphénols dérivés

III.3.1.1. Optimisation des conditions UPLC-MS/MS

L'optimisation des conditions UPLC-MS/MS d'analyse des bisphénols et des bisphénols dérivés s'est effectuée en deux étapes : L'optimisation des conditions de détection par spectrométrie de masse (MS) (Tableau III.6) et la recherche des meilleures conditions de séparation par chromatographie liquide (UPLC).

Le meilleur mode d'ionisation des bisphénols est négatif (ES⁻), lié au fait que ceux-ci sont des composés acides, donc peuvent perdre facilement un proton (H⁺). Les transitions MRM obtenues (Pics fils) étaient celles qui donnaient les signaux de plus hautes intensités, plus stables, et avec les meilleures allures gaussiennes. Elles correspondent à celles obtenues par d'autres auteurs (Xian *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2016). La Figure III.3 montre que la meilleure transition pour le BPA correspond à la perte d'un radical méthyle sur l'ion moléculaire ou parent [M-H-(CH₃)]⁻, m/z = 212,001. Celui du BPB correspond au départ d'un groupement éthyle sur l'ion parent, [M-H- (CH₂-CH₃)]⁻, m/z = 212,04. Quant au BPF sa meilleure transition MRM (pic fils) est obtenue par élimination de l'ion phenoxyde sur le pic parent, m/z = 92,992, [C₆H₅O]⁻ (Zhao *et al.*, 2016). La sélection des meilleurs pics fils a ensuite permis d'optimiser la séparation chromatographique de ceux-ci par variation des teneurs des composantes de la phase mobile, le débit et la colonne (voir III.2.6.3). La phase mobile choisie pour l'analyse des bisphénols était constituée de méthanol et du mélange

H₂O/NH₃,H₂O (99,9%:0,1%; v:v) (Niu *et al.*, 2012). La présence d'ammoniaque (NH₃, H₂O) dans l'éluant permet d'augmenter l'ionisation des bisphénols. Son caractère alcalin permet d'arracher les protons des bisphénols, leur conférant une charge négative propice pour l'ionisation (ES⁻).

Tableau III.6: Résumé des conditions de spectrométrie de masse pour l'analyse des bisphénols et des bisphénols dérivés.

Composés	Formules	t _R (min)	Ion parents (m/z)	Ions fils (m/z)	Tension du cône (V)	Energie de collision (eV)
Bisphénols						
BPA	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	2,42	226,96	212,0 133,0	44 44	16 26
BPA _{d16}	C ₁₅ D ₁₆ O ₂	2,38	241,07	223,1 142,1	44 44	18 30
BPB	C ₁₆ H ₁₈ O ₂	3,07	241,03	212,0 147,0	44 44	18 26
BPF	C ₁₃ H ₁₂ O ₂	1,21	198,92	93,0 105,0	44 44	22 18
Bisphénols dérivés						
BPA-diPS	C ₂₅ H ₂₂ O ₆ N ₂ S ₂	4,61	511,3	354,1 290,1	35 35	35 35
BPA _{d16} -diPS	C ₂₅ H ₆ O ₆ N ₂ S ₂ D ₁₆	4,57	525,4	365,5 301,5	35 35	35 30
BPB-diPS	C ₂₆ H ₂₄ O ₆ N ₂ S ₂	5,00	525,3	354,1 290,6	35 35	35 30
BPF-diPS	C ₂₃ H ₁₈ O ₆ N ₂ S ₂	3,98	483,3	199,0 277,2	30 30	20 20

t_R : temps de rétention ; PS : pyridine-3-sulfonyle

1-Optimales MS des bisphénols : ES (-) ; Tension de capillaire : 2,5 kV ; Température de désolvatation : 600°C ; débit du cône : 50L/h ; débit de désolvatation : 1200 L/h ; Plage d'énergie de collision: 2 à 80 ; Taille minimale du fragment : 30 Da.

2-Optimales MS des bisphénols dérivés : ES (+) ; Tension de capillaire : 1,5 kV ; Température de désolvatation : 600°C ; débit du cône : 50L/h ; débit de désolvatation : 1200 L/h ; Plage d'énergie de collision: 2 à 80 ; Taille minimale du fragment : 30 Da

Au cours de la dérivation, la fonction phénol des bisphénols réagit avec la pyridine-3-sulfonyle. Le composé résultant possède un atome d'azote capable de capter un proton et acquérir une charge positive, adéquate pour une ionisation en mode ES⁺. Le Tableau III.6 présente les conditions d'ionisation des bisphénols dérivés ainsi que les meilleurs pics fils associés. Ces derniers sont conformes à ceux présentés dans la littérature (Regueiro *et al.*, 2015; Regueiro & Wenzl, 2015). Les critères de choix des meilleures transitions MRM (pics fils) étaient les mêmes que ceux des bisphénols. La Figure III.3 montre que la perte d'un radical méthyle et de la pyridine-3-sulfonyle sur l'ion moléculaire du BPA-diPS permet d'obtenir la meilleure transition MRM de ce dernier [M+H-(CH₃)-(C₅H₄NSO₂)]⁺ ; m/z =

354,12. Pour le BPB-diPS, le meilleur pic fils est obtenu lors de la perte d'un radical éthyle et la pyridine-3-sulfonyle sur l'ion moléculaire $[M+H-(CH_2CH_3)-(C_5H_4NSO_2)]^+$; $m/z = 354,12$. La perte du dioxyde de soufre et la pyridine-3-sulfonyle sur l'ion moléculaire du BPF-diPS conduit à la formation de sa meilleure transition MRM, $[M+H-(SO_2) - (C_5H_4NSO_2)]^+$, $m/z=277, 2$ (Regueiro *et al.*, 2015). La séparation des pics fils du BPA-diPS, le BPB-diPS et le BPF-diPS s'est effectuée sous les conditions de chromatographie liquide décrite à la section (voir III.2.6.4). La phase mobile, constituée d'eau-acide formique (99,2 / 0,8: v / v) et acétonitrile/eau/acide formique (97,8/2/0,2: v/v/v) permet la protonation des bisphénols dérivés, améliorant ainsi leur ionisation. En effet l'acide formique de la phase mobile cède son proton à l'azote de ces molécules.

L'observation de ratio signal sur bruit (S/N) des étalons de bisphénols et de bisphénols dérivés montre que celui-ci augmente après la dérivation des composés. Pour une concentration de 10 μ L en BPA, BPB et BPF, le ratio S/N est respectivement égal à 64, 58 et 50. Après dérivation, ce ratio est de 301, 241 et 187, respectivement pour les mêmes composés. Ceci s'explique par le fait la dérivation augmente le poids moléculaire des composés, ce qui induit moins de pertes de fragments lors de l'ionisation. Ce résultat est similaire à ceux observés par d'autres auteurs (Regueiro *et al.*, 2015).

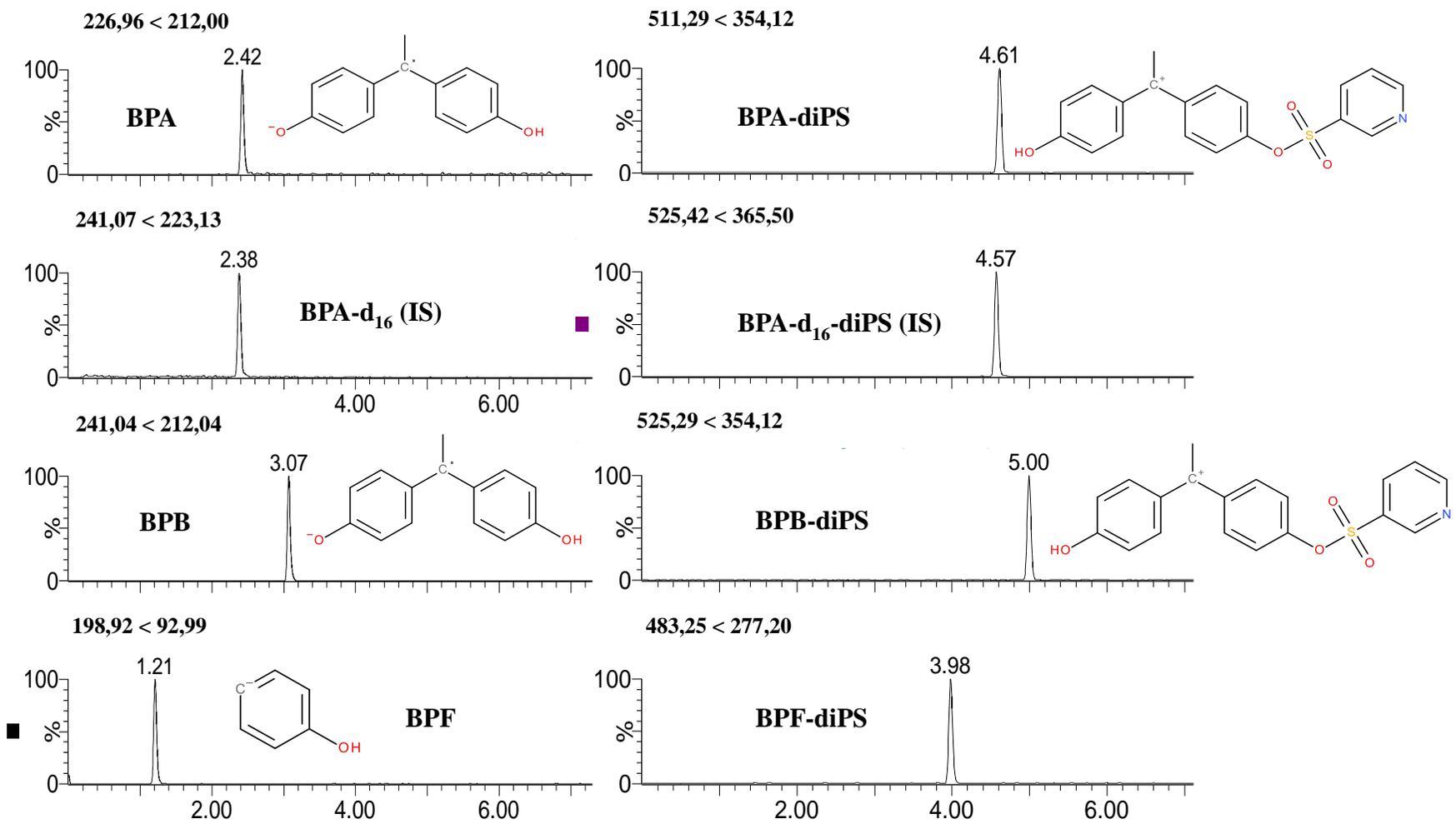


Figure III.3: Chromatogrammes des meilleures transitions MRM des bisphénols et des bisphénols dérivés.

III.3.1.2. Validation des méthodes d'analyse des bisphénols

❖ Analyse des bisphénols dans les eaux

L'analyse des bisphénols des eaux sans dérivation s'est effectuée après extraction liquide-liquide, tandis que la méthode avec dérivation s'est effectuée directement sur les échantillons bruts. Le Tableau III.7 présente les caractéristiques des méthodes mises en place. Le taux d'extraction des bisphénols dans les eaux est compris entre 85 et 120%. Ces valeurs sont proches de celles observées par d'autres auteurs ayant utilisés la micro-extraction liquide-liquide et l'extraction en phase solide (Caban & Stepnowski, 2020; Notardonato *et al.*, 2019). En effet, le fait que les bisphénols possèdent une structure hydrophobe et deux groupements hydroxyles polaires, cela induit une séparation peu aisée (<90%). Cependant, leur quasi présence dans l'environnement peut induire des légères contaminations qui justifieraient des rendements de plus de 100%. Les limites de quantification (LQ) observées sont de 0,09 µg/L, 0,10 µg/L et 0,09 µg/L respectivement pour le BPA, BPB et BPF. Il faut relever que ces valeurs prennent en compte l'extraction, car les bisphénols dans les extraits représentent 50 fois ceux des échantillons de départ. En enlevant ce facteur de concentration, on obtient une limite de quantification de 4,5 µg/L, 6,0 µg/L et 4,5 µg/L respectivement pour le BPA, BPB et BPF. Les incertitudes relatives et les biais maximaux sont tous inférieures à 15% (en valeur absolue). Les erreurs et la justesse de la méthode sont donc acceptables. Ces valeurs sont améliorées (<10%) avec la méthode de dérivation des bisphénols (Tableau III.7). Cependant, la sensibilité de la méthode avec dérivation est plus faible. Les limites de détection des BPA, BPB et BPF après dérivation (BPA-diPS, BPB-diPS et BPF-diPS) sont respectivement de 0,419 µg/L, 0,151 µg/L et 0,147 µg/L. Ces valeurs sont supérieures à celles de la méthode sans dérivation et celles présentées par d'autres auteurs, parce que ces méthodes ont des étapes d'extraction et de concentration des bisphénols (Dreolin *et al.*, 2019; Y. Yang *et al.*, 2014). A contrario, le fait que la méthode avec dérivation n'ait pas d'étape d'extraction fait en sorte qu'elle est moins sujette à une contamination ou à la perte d'analyte, ce qui s'observe par les faibles valeurs de biais et d'incertitude relative. Il se dégage dans le même sens que la plage de linéarité est plus grande avec les bisphénols dérivés (2-200 µg/L), qu'avec les bisphénols, même si le facteur de concentration est pris en compte (5 -150 µg/L). L'utilisation de l'agent dérivant augmente le ratio signal/bruit, et le rend plus stable (Regueiro & Wenzl, 2015).

Tableau III.7: Taux d'extraction, linéarité, sensibilité (LQ et LD), incertitudes et biais maximal de l'analyse des bisphénols dans les eaux.

Composés	Taux d'extraction (%) (\pm ET*) (n=5)			LD ($\mu\text{g/L}$)	LQ ($\mu\text{g/L}$)	Linéarité ($\mu\text{g/L}$)	R ²	Incertitude	Biais maximal
Analyse des bisphénols sans dérivation (**FC =50)									
	0,1 $\mu\text{g/L}$	0,5 $\mu\text{g/L}$	2 $\mu\text{g/L}$	($\mu\text{g/L}$)	($\mu\text{g/L}$)	($\mu\text{g/L}$)		%U (k=2.201)	(%)
BPA	121,0 \pm 16.8	96,8 \pm 6,6	83,7 \pm 7,2	0,03	0,09	0,1 - 3	0,9948	12,1	-14,1
BPB	115,8 \pm 12.1	97,1 \pm 12,1	86,5 \pm 6,4	0,04	0,10	0,1 - 3	0,9952	11,8	-12,4
BPF	99,6 \pm 7.1	87,3 \pm 7,1	81,5 \pm 3,4	0,03	0,09	0,1 - 3	0,9987	9,4	-13,6
Analyse des bisphénols après dérivation (FC =1)									
BPA-diPS	N.A	N.A	N.A	0,419	1,139	1,5 - 200	0,9990	7,1	12,1
BPB-diPS	N.A	N.A	N.A	0,151	0,504	1 - 200	0,9987	3,4	11,0
BPF-diPS	N.A	N.A	N.A	0,147	0,489	1 - 200	0,9994	4,6	10,3

*ET : Ecart-type ; Maxi : Maximum ; **FC : Facteur de concentration des échantillons ; NA : Non applicable.

Le Tableau III.8 présente les coefficients de variation intra et inter-jours obtenus lors des essais de fidélité. Ils représentent respectivement les données d'appréciation de la répétabilité et la pseudo fidélité intermédiaire des méthodes d'analyse des bisphénols. Tous les coefficients de variation sont inférieurs à 10%, ce qui signifie que les données sont concentrées autour des moyennes. Les méthodes développées pour l'analyse des bisphénols dans les eaux sont donc fidèles avec ou sans dérivation. Ces valeurs sont semblables à celles obtenues par Xian *et al.*, (2017). Une analyse par composé permet de constater que pour la méthode sans dérivation, la fidélité est meilleure avec le BPF qu'avec le BPA et le BPB. Ces deux derniers ont des acidités (pKa) et des caractères hydrophobes (log Kow) similaires (Tableau I.3). Le BPF est plus polaire que les deux autres composés. Mais avec la dérivation, ces fidélités deviennent voisines. En effet, l'ajout de l'agent dérivant (pyridine-3-sulfonyle) diminue la divergence d'acidité et d'hydrophobicité en se fixant sur les groupes hydroxyles de ces molécules.

Tableau III.8: Fidélité des méthodes développées pour l'analyse des bisphénols dans l'eau.

	CV (%) intra-jour			CV (%) inter-jour		
	Méthode d'analyse des bisphénols sans dérivation					
Composés	0,1 µg/L	0,5 µg/L	2 µg/L	0,1 µg/L	0,5 µg/L	2 µg/L
BPA	7,0	2,5	1,8	13,1	5,5	6,6
BPB	6,4	2,4	5,3	9,5	10,6	5,2
BPF	1,0	3,4	2,4	3,9	7,3	4,0
	Méthode d'analyse des bisphénols avec dérivation					
	2 µg/L	20 µg/L	100 µg/L	2 µg/L	20 µg/L	100 µg/L
BPA-diPS	2,9	3,3	1,3	8,3	4,7	3,0
BPB-diPS	1,8	2,5	2,9	4,5	2,1	3,4
BPF-diPS	2,9	2,7	3,0	5,7	7,5	3,8

CV : Coefficient de variation.

Le Tableau III.9 montre l'état des travaux de la littérature sur l'analyse des bisphénols dans les eaux, en comparaison à la méthode développée dans la présente étude et qui intègre la dérivation. Cette dernière a déjà l'avantage d'identifier plusieurs bisphénols simultanément en seulement quatre minutes après injection chromatographique. Le programme est prolongé sur 10 min pour éviter tout risque de contamination entre deux échantillons successifs lors de l'injection. La méthode développée n'a pas d'étape d'extraction qui augmente les risques de contamination et de perte d'analytes. En plus, l'absence d'étape d'extraction fait que la méthode utilise moins de solvants organiques que les méthodes courantes. Néanmoins ses limites de détection et de quantification (LD et LQ), bien que supérieures à celles

Tableau III.9: Etat des travaux menés sur l'analyse des bisphénols dans les eaux.

Matrice	Méthode d'extraction/ Méthode analytique	Composés	LD (ng L ⁻¹)	LQ (ng L ⁻¹)	Extraction (%)	^h SRT or ⁱ TRT (min)	^j FC	Références
Méthodes sans étape d'extraction								
Eau de boisson	Dérivation (chlorure de pyridine-3-sulfonyle) / ^a UPLC-MS/MS	BPA	419	1139	N.A	3,2	1	Cette étude
		BPB	151	504	N.A	3,7		
		BPF	147	489	N.A	2,4		
Eau (biberons)	Injection directe en HPLC-UV	BPA	4000	10 000	N.A	11,3	1	(Rodriguez et al., 2019)
Méthodes avec étape d'extraction/concentration des extraits								
Eau (biberons)	SPE et GC-MS	BPA	100	/	95,0 – 105,0	25	200	(Brede et al., 2003)
Eau de rivière	SPE et GC-MS	BPA	1,5	5,1	93,9 – 107,0	/	1000	(Selvaraj et al., 2014)
Eau de rivière	^b SPE et UPLC-MS/MS	BPA	0,21	0,72	87,6 – 99,1	10,0	300	(Y. Yang et al., 2014)
		BPB	0,11	0,36	86,0 – 89,9			
		BPF	0,45	1,49	86,0 – 89,9			
Eau de boisson	SPE et UPLC-FLD	BPA	230	/	89,0 – 105,0	/	300	(Fan et al., 2014)
Eau (biberon)	SPE et HPLC- ^c FLD	BPA	190	1060	70,0 – 80,0	/	25	(Ali et al., 2019)
Eau	^g DMLLE et GC-MS	BPA	5000	9000	93,4 – 95,8	16,0	5000	(Notardonato et al., 2019)
Eau	SPE et ^f GC-MS	BPA	1,7	5,0	96,0-120,0	14,5	100	(Caban & Stepnowski, 2020)
		BPF	1,7	5,0	78,0 -105,0	13,9		
Eau de boisson	SPE et ^c LC-MS	BPA	7,0	23,5	91,6 – 97,1	4,0	2000	(Hao, 2020)
Eau	SPE et ^d UPC	BPA	10 000	/	89,7 – 109,2	/	1000	(G. Li et al., 2020)

^a UPLC-MS/MS: Chromatographie liquide ultraperformante couplée au spectromètre de masse en tandem; ; ^b SPE: Extraction en phase solide; ^c LC : Chromatographie liquide; ^d UPC: Chromatographie à convergence ultraperformante; ^e FLD: Détecteur à fluorescence; ^f GC : Chromatographie en phase gazeuse; ^g DLLME: Micro-extraction liquide-liquide dispersive ; ^h SRT: Temps de rétention spécifique; ⁱ TRT : Temps total d'éluion; ^j FC: Facteur de concentration.

d'autres auteurs (Tableau III.9), sont suffisantes pour l'identification des bisphénols dans les eaux. Les LQ et LD de la méthode avec dérivation sont huit fois plus basses que celles de la méthode décrite par Rodriguez *et al.*, (2019) qui n'a pas aussi d'étape d'extraction (Tableau III.9). Ces limites sont par contre plus grandes que celles de la méthode de Ali *et al.*, (2019). Cette dernière possède une étape d'extraction avec un facteur de concentration des bisphénols égal à 300. (Tableau III.9). L'extraction et la concentration des extraits sont des étapes qui prennent plus de temps que la dérivation utilisée dans la présente étude. Par conséquent, la méthode développée avec dérivation serait adaptée pour les études de migration des bisphénols à travers l'usage des simulants alimentaires aqueux (eau distillée, éthanol dilué, acide acétique dilué).

❖ Analyse des bisphénols des boissons traditionnelles et l'huile de de palme brute.

L'analyse des bisphénols dans les boissons traditionnelles et l'huile de palme brute s'est essentiellement effectuée avec la méthode sans dérivation qui implique une étape d'extraction. La Figure III.4 montre les taux d'extraction des bisphénols (A, B et F) dans les boissons traditionnelles fermentées. Cette extraction était liquide-liquide avec différents solvants ou en phase solide (SPE). Cette dernière présente des taux d'extraction (>90%) meilleurs que de l'extraction liquide-liquide, quel que soit le solvant utilisé (<80%). Les taux d'extraction de la SPE sont comparables à ceux d'autres auteurs qui ont travaillé sur les vins (Regueiro & Wenzl, 2015).

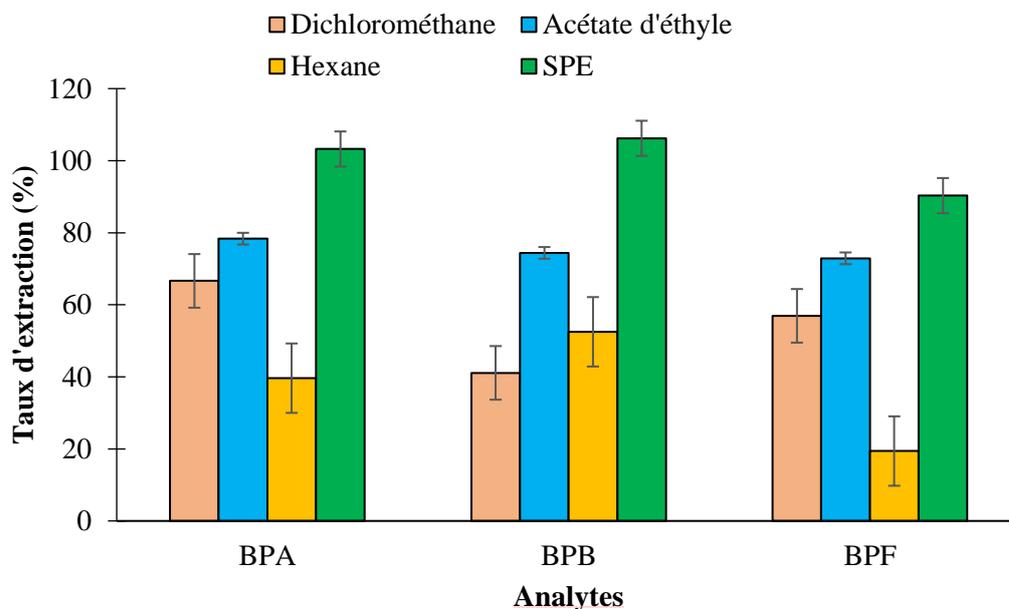


Figure III.4: Taux d'extraction des bisphénols dans les boissons traditionnelle alcoolisées.

Pour l'extraction liquide-liquide, l'acétate d'éthyle présente les meilleurs taux (65-77%), suivi du dichlorométhane (55-60%) puis de l'hexane (20-50%). Le taux d'extraction à l'hexane du BPB est meilleur que ceux du BPA et BPF. En effet, le BPB est plus hydrophobe que les deux autres. Les bisphénols ont deux fonctions phénols qui leur confèrent un petit caractère hydrophile. Par conséquent, ils ne peuvent pas être extraits de manière optimale avec l'hexane (hydrophobe) quand ils sont dans les échantillons constitués d'eau et d'éthanol. L'acétate d'éthyle est plus polaire que l'hexane, mais moins que l'eau ou l'éthanol (boissons fermentées), ce qui permet donc une meilleure extraction des bisphénols. Cependant, de manière globale, l'extraction liquide-liquide présente une difficulté liée à la formation d'émulsion stable entre les solvants et les composantes des boissons traditionnelles. Aucune étude à notre connaissance, ne s'est penchée sur l'extraction des bisphénols dans les boissons traditionnelles fermentées produites au Cameroun telles que le vin de palme ou le bili-bili (boisson à base de sorgho).

Le taux d'extraction liquide-liquide des bisphénols (A, B et F) de l'huile de palme brute est supérieur à 85% (Tableau III.10). Ce bon taux d'extraction est lié au fait que les bisphénols ont un léger caractère hydrophile (via les groupements phénols) qui permet leur extraction dans les matrices hydrophobes à l'aide de solvants polaires. L'huile de palme brute était d'abord dissoute dans l'hexane avant l'extraction des bisphénols par le mélange méthanol/eau (50/50 : v/v). La méthode utilisée provenait de celle décrite par Abou Omar *et al.*, (2017), qui n'ont pas présenté le taux d'extraction obtenu lors de leur étude sur le BPA des huiles d'olive raffinées. Les taux d'extraction de plus de 100% traduisent une amplification de la réponse due à l'effet de la matrice (Tableau III.10). Les limites de quantification des BPA, BPB et BPF dans l'huile de palme brute sont respectivement de 0,56 ng/g, 0,20 ng/g et 0,20 ng/g. Dans les boissons traditionnelles alcoolisées, ces limites sont respectivement de 0,11 µg/L, 0,04 µg/L et 0,04 µg/L pour le BPA, BPB et BPF. Les facteurs de concentrations des bisphénols dans l'huile de palme brute et dans les boissons traditionnelles alcoolisées étaient respectivement de 5 et 50. Les méthodes mises en place pour l'huile et les boissons sont adaptées pour la recherche des bisphénols dans ces matrices, comparées aux valeurs de sensibilité observées dans la littérature.

Tableau III.10: Extraction des bisphénols (A, B et F) dans l'huile de palme brute et les boissons traditionnelles alcoolisées.

Composés	Huile de palme brute						Boissons traditionnelles alcoolisées				
	Extraction liquide-liquide avec méthanol/eau (50/50)				LD (ng/g)	LQ (ng/g)	Extraction en phase solide (SPE)			LD (µg/L)	LQ (µg/L)
	Taux d'extraction (%) ± ET (n=3)						Taux d'extraction (%) ± ET (n=3)				
0,8 ng/g	2 ng/g	10 ng/g	20 ng/g	0,1 µg/L	0,5 µg/L	2 µg/L					
BPA	117,1 ± 3,7	102,6 ± 2,6	109,6 ± 5,4	96,4 ± 13,2	0,17	0,56	95,1 ± 6,8	103,2 ± 6,1	94,5 ± 9,9	0,03	0,11
BPB	103,4 ± 9,5	86,7 ± 8,3	87,8 ± 6,9	79,6 ± 5,2	0,06	0,20	72,2 ± 3,5	109,8 ± 3,2	108,1 ± 4,2	0,01	0,04
BPF	119,5 ± 5,8	79,9 ± 6,9	99,8 ± 12,1	86,5 ± 5,9	0,06	0,20	95,8 ± 9,3	95,9 ± 6,2	105,0 ± 4,5	0,01	0,04

ET : Ecart type ; n : nombre de tests effectués ; LD : limite de détection ; LQ : limite de quantification.

Le Tableau III.11 présente la comparaison des méthodes proposées dans ce travail et celles décrites dans la littérature pour l'analyse du BPA dans les huiles et les boissons. La méthode proposée dans ce travail pour l'extraction du BPA dans l'huile de palme brute se déroule seulement en deux principales étapes : l'extraction liquide-liquide, suivie par une homogénéisation et centrifugation des extraits à 4°C. Les étapes de concentration par évaporation de solvant ou de filtration utilisées par d'autres auteurs étaient évitées pour réduire les risques de contamination (Tableau III.11). Les LD et LQ de la méthode développée pour l'analyse de l'huile de palme brute sont meilleures que celles de Xian *et al.*,(2017) qui ont aussi utilisé la UPLC-MS/MS.

La méthode développée pour l'analyse des bisphénols dans les boissons traditionnelles a peu d'étapes, comparée à celles d'autres auteurs qui ont utilisé la LC-MS/MS (Tableau III.11). De plus, le temps de traitement des échantillons par extraction en phase solide dure moins de 20 min, comparable à celui de la méthode de Stärker & Welle (2019), mais plus grand que celui de la méthode de Regueiro & Wenzl (2015) (Tableau III.11). Les LD et LQ de la méthode développée pour l'analyse des bisphénols dans les boissons traditionnelles sont bonnes comparées à celles de quelques méthodes répertoriées dans la littérature. La méthode décrite par Cunha *et al.*,(2011) a une LQ plus petite que celle de la méthode de ce travail, mais ce dernier bénéficie d'un meilleur temps de rétention du BPA (2,4 ≠ 6,7 min). La méthode décrite dans le présent travail est donc plus rapide.

III.3.2. Mise en place de la méthode d'analyse des phtalates totaux

3.2.1. Optimisation des conditions UPLC-MS/MS d'analyse des phtalates totaux

L'optimisation des conditions UPLC-MS/MS d'analyse des phtalates totaux passe par trois principales étapes : la recherche des meilleures conditions de détection par spectrométrie de masse (MS), la vérification de la dérivation de chaque phtalate, et la recherche des meilleures conditions de rétention par chromatographie liquide. L'analyse des phtalates totaux passe par une hydrolyse qui les transforme en acide phtalique, ce dernier est dérivé pour donner le PA-BPTAB. Les conditions de spectrométrie de masse qui donnent les meilleurs fragments (pics fils) du PA-BPTAB sont présentées dans le Tableau III.12. En plus de ces données, les autres paramètres avaient les valeurs suivantes : Mode électrospray positif (ES (+)), Tension du capillaire de 1,5 kV, température de désolvation à 600°C, débit du cône à 50L/h, débit de désolvation à 1200 L/h, variation de l'énergie de collision de 2 à 80, et Taille minimale tolérée du fragment à 30 Da. L'ionisation du PA-BPTAB en mode positif, s'explique par le fait que le composé a une charge positive (Figure III.5).

Tableau III.11: Comparaison du présent travail avec d'autres travaux sur l'analyse du BPA dans les huiles et les boissons.

Matrice	Méthode d'extraction/ Méthode analytique	Nombre d'étapes	Temps d'extraction (min)	LD (µg/kg ou µg/L)	LQ (µg/kg ou µg/L)	Taux d'extraction (%)	^e SRT ou ^f TRT (min)	Références
Analyse du BPA des huiles								
Huile de palme brute	^a LLE and UPLC-MS/MS	2	< 35	0,17	0,56	96,4 – 117,1	2,4	Ce travail
Huiles comestibles	^b DMSPE, dilution isotopique et UPLC-MS/MS	4	< 15	0,4	1,0	98,8 – 108,0	2,6	(Xian et al., 2017)
Huiles comestibles	^c DLLME et HPLC- ^g DAD	4	< 5	2,5	6,3	89,5 – 99,7	8,0	(S. Liu et al., 2013)
Huiles alimentaires	DLLME et HPLC-UV	3	< 20	150	450	65,0	/	(Nemati et al., 2018)
Huiles végétales	LLE, Gel perméation et LC-MS/MS	4	< 40	/	2,0	94,7 – 106,5	1,8	(Niu et al., 2011)
Analyse du BPA des boissons								
Boissons traditionnelles	^d SPE et UPLC-MS/MS	3	< 20	0,03	0,11	94,5 – 103,2	2,4	Ce travail
Boissons alcoolisées	SPE, dérivaison et LC-MS/MS	4	> 90	7,1	23,5	77,0 – 81,0	7,6	(Regueiro & Wenzl, 2015)
Bières	Pas d'extraction/ LC-MS/MS	2	N.A	10	50	N.A	30,0	(Cardama et al., 2017)
Boissons non alcoolisées et bières	DLLME et GC-MS	3	< 15	0,005	0,01	82,0 – 93,0	6,7	(Cunha et al., 2011)
Boissons	SPE et LC-MS	3	< 20	0,14	0,99	99,0 – 112,0	/	(Stärker & Welle, 2019)

^a LLE: Extraction Liquide-liquide; ^b DSPME: Micro-extraction en phase solide dispersive ; ^c DLLME: Micro extraction liquide-liquide dispersive; ^d SPE: Extraction en phase solide; ^e SRT: Temps de rétention spécifique; ^f TRT : Temps d'élution totale; ; ^g DAD: Détecteur à barrettes de diodes.

L'ion précurseur majoritaire (266,39 ; m/z) est monosubstitué après la dérivation, tout comme l'avait observé Gao *et al.*, (2019). Le composé disubstitué donne un pic de 183 (m/z) de très faible intensité, démontrant que dans les conditions opératoires la dérivation est majoritairement une monoaddition. L'Annexe 7 présente les chromatogrammes des ions produits du PA-BPTAB.

Tableau III.12: Récapitulatif des résultats de l'optimisation du PA-BTAB en SM.

Composés	Formule	t _R (min)	Ion précurseur (m/z)	Ions produits (m/z)	Tension du cône (V)	Energie de collision (eV)
PA-BPTAB	C ₁₄ H ₂₀ O ₄ N	1,53	266,39	207,20	40	15
				149,30	40	25
PA-d4-BPTAB	C ₁₄ H ₁₆ O ₄ ND ₄	1,54	270,40	211,46 153,29	40 40	18 25

La Figure III.5 présente le schéma d'ionisation proposé pour justifier la formation des fragments majoritaires (Pics fils). Le fragment de 121,46 m/z résulte du départ du propyle de triméthylammonium [(CH₃)₃N⁺(CH₂)₃-] et du dioxyde de carbone (CO₂) sur l'ion moléculaire ou ion précurseur 266,39 m/z. L'élimination du propanolate de triméthylammonium [(CH₃)₃N⁺(CH₂)₃O] justifie la formation du fragment de 149,30 m/z. Quant au fragment de 207,20 m/z, il résulte du départ du triméthylammonium [(CH₃)₃N⁺] sur l'ion précurseur.

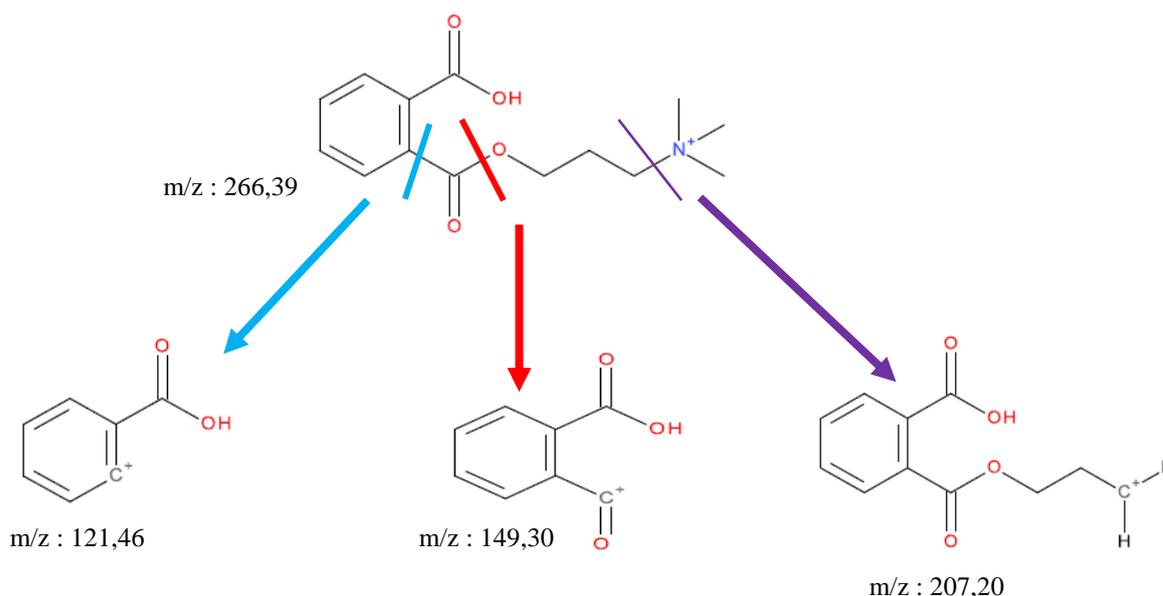


Figure III.5: Schéma d'ionisation du PA-BPTAB.

Le Tableau III.13 montre que tous les six phtalates testés sont dérivés en PA-BPTAB. On note cependant que l'intensité du pic du PA-BPTAB formé varie de $1,7 \times 10^4$ pour le DBP à $2,3 \times 10^6$ pour le BBP. Cette intensité n'est pas fonction de la masse molaire du phtalate,

mais serait liée à sa structure. Le DBP possède le radical de plus faible longueur, serait donc plus stable. Le BBP s'hydrolyse plus facilement que tous les autres phtalates parce que le benzyle se détache aisément de l'acide phtalique. Le DNOP et le DEHP qui ont des chaînes linéaires et des masses molaires identiques (390,56g/mol) s'hydrolysent relativement de la même manière (aires des pics relativement proches : 14023 \neq 10260). La vitesse d'hydrolyse ne décroît donc pas forcément avec la longueur de la chaîne carbonée, mais est aussi fonction de la nature de la chaîne carbonée (ramifiée ou non). Ce résultat n'est pas en accord avec celui Ostrovsky *et al.*, (2010) sans doute lié à la nature des phtalates choisis pour leurs études. Dans la présente étude, s'il faut se limiter au BBP, DINP et DIDP, la conclusion serait que le taux d'hydrolyse du phtalate décroît avec la masse molaire de celui-ci.

Tableau III.13: Suivi de la dérivation individuelle de chaque phtalate.

Nom du phtalate	Masse molaire (g/mol)	Aire du pic du PA-BPTAB* (m/z =266)	Intensité du pic du PA-BPTAB (m/z =266)
di-Butylphtalate (DBP)	278,34	3241	1,7 x 10 ⁴
Benzylbutylphtalate (BBP)	312,36	166020	2,3 x 10 ⁶
di-n-Octylphtalate (DNOP)	390,56	14023	2,3 x 10 ⁵
Bis (2-éthylhexyl) phtalate (DEHP)	390,56	10260	1,6 x 10 ⁵
di-isononylphtalate (DINP)	418,61	36509	3,8 x 10 ⁵
di-isodecylphtalate (DIDP)	466,66	29535	1,8 x 10 ⁵

*La concentration individuelle de chaque phtalate était de 10 μ mol/L.

En somme, pour effectuer la détermination des phtalates totaux, la courbe de calibration doit être établie à partir des solutions mixtes des phtaltes, dû au fait qu'ils ont les taux d'hydrolyse variable. A la suite de ce travail, le mix de phtalates a donc été utilisé pour le dopage des échantillons.

Les conditions UPLC-MS/MS ont été déterminées en faisant varier le programme d'élution, le débit d'injection et la colonne d'injection (C18 et C8). La composition de la phase mobile n'a pas été variée, car ayant fait l'objet d'une étude par Gao *et al.*, (2019). Ces auteurs ont montré que le mélange méthanol et eau constitue la meilleure phase mobile pour l'élution de l'acide phtalique dérivé (PA-BPTAB). En effet, il faut noter que le PA-BPTAB a une charge positive portée par son azote. Par conséquent, contrairement au cas des bisphénols dérivés, ici l'usage d'acide formique pour faciliter l'ionisation ESI (+) n'est pas nécessaire. La colonne C8 donne un pic d'intensité plus forte que la C18 (Figure III.6 (A)), mais qui n'a pas une bonne allure gaussienne (normale). L'allure du pic de la C8 a une allure moins constante

dans le temps et qui sort à 1,8 min (C18 : 1,5 min). En effet, au regard de la polarité du PA-BPTAB dû à son azote quaternaire, la colonne C8 qui est plus polaire le retient plus, comparée à la colonne C18. La rétention plus forte entraîne l'étalement du pic qui perd alors son allure gaussienne. Un pic qui n'a pas une allure gaussienne entraîne des difficultés à quantifier le composé associé. En effet, le calcul des aires des pics est basé sur le fait qu'ils sont considérés comme des triangles isocèles. La même analyse sur l'allure du pic a permis de choisir un débit d'injection de $0,3 \text{ mL min}^{-1}$ (Figure III.6 (B)).

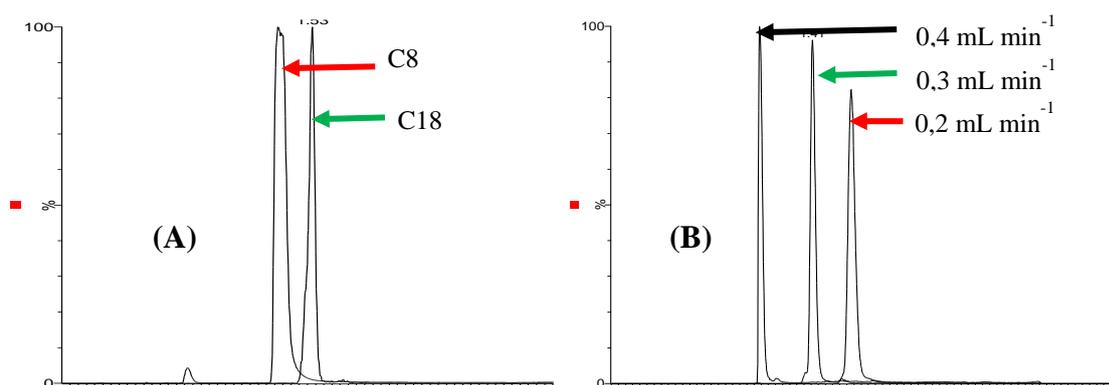


Figure III.6: Effet de la nature de la colonne (A) et le débit (B) sur le pic du PA-BPTAB.

3.2.2. Validation de la méthode UPLC-MS/MS d'analyse des phtalates totaux

Le Tableau III.14 présente les résultats des tests de stabilité du PA-BPTAB. L'aire du pic du PA-BPTAB et le ratio entre cette aire et celle de l'étalon interne (A/A_{is}) ont été relevés pendant un mois (du 02/02/2021 au 06/03/2021). Il apparaît que l'aire du pic diminue progressivement avec le temps, mais le rapport A/A_{is} reste presque constant. Ceci s'explique par le fait que l'aire de l'étalon interne diminue pratiquement à la même vitesse que celle du composé d'intérêt. Après un mois, l'aire du PA-BPTAB diminue de 27,4%, indiquant une stabilité relative de celui-ci.

Le Tableau III.15 résume les caractéristiques de la méthode mise en place pour l'analyse des phtalates totaux. Les essais de fidélité (répétabilité et pseudo-fidélité intermédiaire) montrent que la méthode est fidèle, car les coefficients de variation intra-jour et inter-jour sont inférieurs à 10%. Les résultats montrent également qu'il n'y a pas de différence significative entre les coefficients de variation intra-jour et inter-jour. Les limites de détection et de quantification (LD et LQ) sont respectivement de 0,6 et 0,9 $\mu\text{g/L}$. La zone de linéarité est de 1 à 200 $\mu\text{g/L}$, comparable à celle de nombreux auteurs (Kim *et al.*, 2007; F. Luo *et al.*, 2008). Le biais et l'incertitude maximale de la méthode sont tous inférieurs à 5%, ce qui traduit une bonne justesse de la méthode.

Tableau III.14: Etude de la stabilité du PA-BPTAB.

Date	Nombre de jours	Aire du pic (A)	A/Ais**
03/02/21	0	130 091	9,6
23/02/21	20	101 203	9,4
02/03/21	27	100 418	9,5
06/03/21	31	94 417	9,1

*Le DEHP utilisé pour cette étude de stabilité avait une concentration de 100 µg/L

**A/Ais : Ratio de l'aire du PA-BPTAB sur l'air de l'étalon interne.

Tableau III.15: Caractéristiques de la méthode d'analyse des phtalates totaux après hydrolyse et dérivation.

Composé	CV* intra-jour (%) (n=4)			CV inter-jour (%) (n=12)			LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)	Linéarité (µg/L)	R ²	Incertitude %U (k=2,201)	Biais maximal (%)
	5µg/L	20µg/L	100µg/L	5µg/L	20µg/L	100µg/L						
PA-BTAB	5,7	6,4	4,7	6,3	7,2	5,1	0,6	0,9	1 – 200	0,9998	3,9	4,9

*CV : Coefficient de variation

Tableau III.16: Taux d'extraction des phtalates totaux dans l'eau minérale et les boissons traditionnelles alcoolisées.

Composé	Eau minérale			Boissons traditionnelles alcoolisées		
	Extraction (%) ± ET* (n=4)			Extraction (%) ± ET* (n=4)		
	1µg/L	10µg/L	100µg/L	1µg/L	10µg/L	100µg/L
PA-BPTAB	80,9 ± 4,7	98,3 ± 3,1	102,6 ± 2,3	76,3 ± 6,1	85,8 ± 7,1	86,7 ± 4,8

*ET : écart type.

La détermination du taux d'extraction de l'acide phtalique dans les eaux minérales et les boissons traditionnelles alcoolisées est présentée au Tableau III.16. Les taux d'extraction au niveau de l'eau minérale sont entre 80 et 102%, tandis que pour les boissons traditionnelles c'est entre 76 et 87%. L'eau minérale n'ont pas de particules en suspension qui pourraient avoir un effet matrice sur l'extraction. La principale différence entre ces eaux et l'eau ultrapure c'est la charge ionique. Elle est chargée de cations (calcium, magnésium...) et les anions (hydrogénocarbonates...). Les boissons traditionnelles par contre sont remplies de particules, ce qui justifie l'effet matrice plus importance. Les phtalates sont peu solubles dans l'eau, par conséquent auront tendance à se fixer sur les particules en suspension. Il s'en suit donc une perte d'analyte dans la phase liquide. Le taux d'extraction dans les deux matrices est plus faible pour les petites concentrations de dopage (1 µg/L). En effet, moins la méthode est sensible, plus difficile elle arrive à détecter les faibles variations de concentrations. La limite de quantification de la méthode développée étant de 0,9 µg/L (Tableau III.15), une variation de concentration dans cet ordre de grandeur est entachée de plus d'erreur.

Le Tableau III.17 montre que la chromatographie en phase gazeuse est la plus utilisée pour la quantification des phtalates. Le nombre de phtalates individuels recherchés varie d'un auteur à un autre et est compris entre 4 et 10. En effet, il n'y a pas d'unanimité sur la priorité à accorder à certains phtalates plus qu'à d'autres parce que les effets de tous les phtalates n'ont pas été étudiés. Tous restent donc potentiellement dangereux pour la santé humaine et l'environnement. La limite de détection des phtalates totaux de la méthode développée est comparable à la somme des limites de détection des phtalates individuels présentés dans la littérature (Grinbaum *et al.*, 2019; Hadjmohammadi *et al.*, 2011; Notardonato *et al.*, 2019; Zaater *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2015). Elle est cependant supérieure à celle de la méthode de Farahani *et al.*, (2007), Guo and Lee (2013), Bosnir *et al.*, (2007) et Arfaeina *et al.*, (2020) (LD = 0.4 > 0.002 – 0.03) (Tableau III.17). Toutefois, en observant les teneurs en phtalates couramment rencontrées dans les échantillons d'eau et de boisson, il apparait que la zone de linéarité de la méthode développée est suffisante pour leur quantification. Lorsque la zone de linéarité est inférieure ou supérieure aux teneurs couramment rencontrées dans les échantillons, il faut respectivement ajouter une étape de dilution ou de concentration (Wang *et al.*, 2021; Zaater *et al.*, 2014). Ces étapes augmentent les sources d'erreur sur le résultat final. Les taux d'extraction qui ont été obtenus sont comparables à ceux de la littérature (75 – 110%) (Tableau III.17). La méthode est rapide, car le temps d'élution est au moins trois fois inférieur à ce qui est présenté par d'autres auteurs.

Tableau III.17: Etat des travaux réalisés sur l'analyse des phtalates dans les eaux et boissons.

Méthodes d'analyse	Matrices	Nombre de PAE	TE (min)	Extraction (%)	LD (µg/L)	Linéarité (µg/L)	Teneur dans échantillon (µg/L)	Références
Hydrolyse/LLE/derivation UPLC-MS/MS	Eau Boissons	Total	4	76,3 – 86,7	0,4	1,0 – 200	4,3 – 22,3	Cette étude
TiO ₂ -MSPE/HPLC-UV	Eau	6	22	77,1 – 112	0,03 – 0,2	0,3 – 200	ND – 108	(Zhou et al., 2015)
Coacervative LLE/HPLC-UV	Eau de rivière	4	/	87,0 – 94,0	0,22 – 0,3	0,5 – 100	1,0 – 1,54	(Hadjmohammadi et al., 2011)
LLE/GC-MS	Eau	6	20	80,0 – 99,0	0,23	0,3 – 1,2	8,1 – 19,8	(Zaater et al., 2014)
SPE/GC-MS	Eau	6	/	84,5 – 103	/	100 – 100000	1,5 – 2,5	(Wang et al., 2021)
DMLLE/GC-MS	Eau	6	20	68,1 – 88,9	0,008	0,02 – 100	ND	(Farahani et al., 2007)
DSPME/DMLLE/GC-MS	Eau de rivière	6	21	85,8 – 104	0,03 – 0,07	0,1 – 50	/	(Guo & Lee, 2013)
LLE/GC-ECD	Eau et boissons	6	/	/	0,005	/	20 – 800	(Bosnir et al., 2007)
SPE/ GC-MS	Vins	6	/	33 – 100	25 – 35	25 – 5000	138 - 385	(Del Carlo et al., 2008)
LLE/GC-MS	Vins	10	/	/	0,2 – 2,0	/	ND – 219	(Grinbaum et al., 2019)
DMLLE/ GC-IT/MS	Boissons	6	25	84,6 – 110	0,4 – 1,2	10 – 5000	24 – 117	(Notardonato et al., 2019)
Centrifugation/MLLE/GC-MS	Boisson acide	6	/	73,4 – 110	0,0023	0,001 – 100	6,0 – 10,0	(Arfaeinia et al., 2020)
Dilution/UPLC-MS/MS	Whisky	7	11	N.A	1,0 – 5,0	/	ND	(Shah & Burgess, 2015)
ASTFC/ LC-MS/MS	Boissons	10	22	70,4 – 116	/	2,0 – 100	/	(Ates & Mittendorf, 2011)

LLE: Extraction liquide-liquide ; DLLME: Micro-extraction liquide-liquide dispersive; DSPME: Micro-extraction solide en phase dispersive; SPE: Extraction en phase solide. TE: Temps d'éluion; ASTFC: Système automatisé de chromatographie en flux turbulent; MSPE: Micro-extraction en phase solide; ECD: Détecteur à capture d'électron; IT: Détecteur à trappe ionique.

Tableau III.18: Application à l'étude du relargage des récipients plastiques et évaluation de l'exposition.

Code échantillon	Polymère	Analyse des bisphénols sans dérivation				Analyse des bisphénols après dérivation				Analyse des Phtalates	
		BPA (µg/L)	BPB (µg/L)	BPF (µg/L)	E _{Bisphénols} (µg/kg Pc/j)	BPA (µg/L)	BPB (µg/L)	BPF (µg/L)	E _{Bisphénols} (µg/kg Pc/j)	PA-BPTAB (µg/L)	E _{Phtalates} (µg/kg Pc/j)
Biberons											
KID 1 ^{er} *	PC	63,4 ± 2	N.D	N.D	12,68	61,2 ± 1,5	N.D	N.D	12,24	/	/
KID 2 nd	PC	/	N.D	N.D	/	10,5 ± 0,6	N.D	N.D	2,1	6,9 ± 0,7	1,380
BA	/	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	6,7 ± 0,6	1,340
BCR	/	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	5,9 ± 0,3	1,180
BO	PC	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	8,0 ± 0,2	1,600
CA	/	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	8,2 ± 0,8	1,640
CJ	PP	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	10,6 ± 1,1	2,120
MCB	/	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	4,4 ± 0,4	0,880
MOB	PC	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	7,8 ± 1,1	1,560
Qubc	PC	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	6,6 ± 0,8	1,320
Qubf	PC	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	13,5 ± 1,9	2,700
Quj	PC	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	6,9 ± 0,7	1,380
TCR	/	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	4,8 ± 0,6	0,960
WF	PP	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	6,1 ± 0,3	1,220
WSN	/	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	8,0 ± 0,4	1,600
Seaux de peinture											
ESPj ₀	PP	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	5,7 ± 0,4	0,285
ESPacide	PP	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	9,6 ± 0,9	0,160
ESPchaud	PP	5,9 ± 0,6	N.D	N.D	0,098	6,6 ± 0,9	N.D	N.D	0,11	11,8 ± 0,9	0,196
Seaux de chaux											
ESCj ₀	PP	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	7,2 ± 0,4	0,360
ESCacide	PP	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	8,2 ± 0,8	0,137
ESCchaud	PP	5,9 ± 0,7	N.D	N.D	0,06	5,1 ± 0,8	N.D	N.D	0,05	11,5 ± 1,1	0,192

*KID 1^{er} et 2nd : récipient, respectivement après le premier et le second lavage.

Tableau III.19: Application à l'étude de la contamination alimentaire et évaluation de l'exposition.

Code	Polymère	Analyse des bisphénols sans dérivation				Analyse des bisphénols après dérivation				Analyse des Phtalates	
		BPA (µg/L)	BPB (µg/L)	BPF (µg/L)	E _{Bisphénols} (µg/kg Pc/j)	BPA (µg/L)	BPB (µg/L)	BPF (µg/L)	E _{Bisphénols} (µg/kg Pc/j)	PA-BPTAB (µg/L)	E _{Phtalates} (µg/kg Pc/j)
Eaux minérales embouteillées											
EOP	PET	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	4,2 ± 0,1	0,210
ESA	PET	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	8,8 ± 0,6	0,440
ESU	PET	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	3,5 ± 0,4	0,175
ETA	PET	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	4,6 ± 0,3	0,230
EVA	PET	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	9,8 ± 0,5	0,490
EVI	PET	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	6,7 ± 0,9	0,335
EMA	PET	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	6,0 ± 0,5	0,300
EHEL	PET	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	10,7 ± 1,0	0,535
Eaux minérales en sachet											
BHR	PEBD	2,2 ± 0,2	N.D	14,5 ± 1	0,725	5,5 ± 0,7	N.D	25,1 ± 2	1,26	7,9 ± 0,9	0,395
GOL	PEBD	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	22,3 ± 1,6	1,115
Huile de palme brute (le BPA est en ng/g)											
HR	PET	0,4 ± 0,06	N.D	N.D	0,008	N.D	N.D	N.D	/	/	/
Whisky en sachet											
WFi	PET-CPP	N.D	N.D	N.D	/	1,5 ± 0,09	N.D	N.D	0,008	18,8 ± 0,6	0,094
WKi	PET-CPP	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	18,6 ± 1,6	0,093
Boissons traditionnelles alcoolisées											
Bili	PEHD	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	16,3 ± 1,8	0,272
VB	PEHD	N.D	N.D	N.D	/	N.D	N.D	N.D	/	15,8 ± 1,4	0,263

III.3.3. Application à l'étude de la contamination des aliments

3.3.1. Evaluation de l'exposition aux bisphénols

L'application des méthodes mises en place s'est effectuée via les essais de migration et l'étude de la contamination de quelques matrices alimentaires présentés respectivement dans les Tableaux III.18 et III.19.

Le Tableau III.18 montre qu'un seul biberon (KID) a libéré les bisphénols aux teneurs détectables. Ce biberon était en polycarbonate. La méthode d'analyse avec dérivation montre que la teneur en BPA libéré par ce biberon est de $61,2 \pm 1,5 \mu\text{g/L}$ et $10,5 \pm 0,6 \mu\text{g/L}$ respectivement après le premier et le second lavage à l'eau chaude. Cette diminution de teneur s'explique par le fait que le BPA libéré après le premier lavage serait celui de la surface du matériau (additif) et non celui de la structure interne du polymère (monomère). Lorsque c'est le monomère BPA qui se détache, alors sa teneur augmente avec le nombre de lavage. Brede *et al.*, (2003) ont montré que le lavage, le rinçage à l'eau bouillante et le brossage augmente la migration du BPA des biberons en polycarbonate. Ces auteurs observent qu'après 51 lavages, le niveau de BPA augmente considérablement. Le biberon KID fait partie des deux marques de biberon produit au Cameroun à l'aide de préformés. Après le premier lavage, la teneur en BPA est trois fois supérieure à celle d'autres auteurs ($1,77\text{--}19 \mu\text{g/L}$) qui ont travaillé dans les conditions similaires (Kubwabo *et al.*, 2009; Maragou *et al.*, 2008; Rodriguez *et al.*, 2019). L'évaluation de l'exposition des bébés avec les teneurs en BPA libérées au premier lavage donne une dose journalière de $12,2\text{--}12,7 \mu\text{g/kg}$ de Pc/jour. Cette dose correspond à 3,2 fois la dose journalière temporaire tolérable ($t\text{-TDI} = 4 \mu\text{g/kg}$ de Pc/jour). Mais elle est inférieure à la TDI fixée en 2015 par l'agence européenne de sécurité alimentaire (EFSA) ($50 \mu\text{g/kg}$ de Pc/jour) et qui est encore en vigueur dans plusieurs pays d'Asie et d'Amérique du nord (Huang *et al.*, 2017). Le calcul de la surface interne moyenne des biberons (Tableau III.5) permet de déterminer la quantité de BPA libérée par unité de surface. Pour le biberon KID, en considérant le premier lavage ($15,3 \mu\text{g}/250 \text{ mL}$), elle est de $7,65 \mu\text{g}/\text{dm}^2$. Cette valeur est supérieure aux valeurs présentées par d'autres auteurs pour les films en polycarbonates des cannettes de bières après stérilisation ($3,9 - 4,8 \mu\text{g dm}^{-2}$) (Noureddine El Moussawi *et al.*, 2019). En effet, pour ces films, le BPA libéré provient exclusivement du polymère, alors que pour le biberon KID, il proviendrait des additifs. Les additifs migrent plus facilement que le monomère. Au deuxième lavage, le BPA libéré semble être celui du polymère à une valeur de $1,31 \mu\text{g}/\text{dm}^2$. Cette dernière valeur est plus faible que celle des films de cannettes de bières. Ceci s'explique par le fait que la bière est plus agressive au polycarbonate que l'eau, due à sa

teneur en matières, en alcool et son acidité (Hoekstra & Simoneau, 2013). Dans un autre biberon de marque KID, de l'eau chaude a été mis, et une agitation manuelle vigoureuse d'une minute s'en est suivi. La teneur en BPA dans cette eau était de $40\,000 \pm 5\,000 \mu\text{g/L}$. L'agitation augmente significativement les teneurs libérées en BPA (Biles *et al.*, 1997).

L'application de la méthode avec dérivation à l'étude de la migration des bisphénols (A, B et F) des anciens seaux de peinture et de colle industrielle est présentée dans le Tableau III.18. Il ressort que ces récipients libèrent uniquement le BPA aux teneurs respectives de $6,6 \pm 0,9 \mu\text{g/L}$ et $5,1 \pm 0,8 \mu\text{g/L}$, essentiellement dans les conditions où ils sont mis en contact avec de l'eau chaude (90°C) et sans agitation. Cette dernière était utilisée pour simuler les conditions d'utilisation de ces récipients lors du stockage de la bouillie chaude dans certains beignetariat. Dans les conditions acides (acide acétique 3%, sans agitation), ou neutres (eau ultrapure, 3 jours, sans agitation), matérialisées respectivement par les échantillons ESP_{j0} / ESC_{j0} et ESP_{acide} / ESC_{acide}, les bisphénols n'ont pas été détectés. Aucune étude similaire n'a été répertoriée dans la littérature avec ces récipients non alimentaires utilisés dans l'alimentation. Cependant, plusieurs études se sont intéressées à divers récipients et objets en plastique, dans l'optique d'observer leur capacité de libération du BPA en fonction de la surface en contact avec les simulants alimentaires. Makinwa et Uadia ont effectué une étude sur la teneur en BPA des produits de consommation du sud-ouest du Nigéria. Ils observent que les teneurs en BPA des eaux de boisson conservées dans les récipients plastiques alimentaires variaient de 109 à 146 $\mu\text{g/L}$ (Azizullah *et al.*, 2022). La teneur en bisphénols des récipients en plastiques varie en fonction de l'origine du récipient, donc son taux d'additifs, du type de polymère et des conditions d'études (Chapitre I ; section I.5). La surface interne des seaux de peinture et de colle industrielle couverte par cinq litres d'eau est respectivement de 13,66 et 13,55 dm^2 . Le calcul de la teneur en bisphénol A libéré dans ce volume permet de trouver une libération de 2,26 - 2,42 $\mu\text{g/dm}^2$. Cette valeur est bien inférieure à celle calculée pour le biberon en polycarbonate après son premier lavage (7,65 $\mu\text{g/dm}^2$). Mais après le deuxième lavage de ce biberon, cette valeur chute à 1,26 $\mu\text{g/dm}^2$. La teneur en BPA libéré ne semble donc pas être liée à la nature du polymère du récipient utilisé. Les seaux sont en polypropylène alors que le biberon KID est en polycarbonate. Cela s'expliquerait par le fait que le BPA libéré serait un additif de formulation et non le monomère du polycarbonate. Dans les récipients non alimentaires comme les eaux de peinture, la teneur en additifs est souvent élevée (>3% de la masse du polymère) pour assurer les bonnes propriétés chimiques et une bonne résistance mécanique (Hermabessiere *et al.*, 2017). Cette étude est la première qui

mette en lumière une contamination alimentaire en bisphénols des récipients non alimentaires. Le Tableau III.18 montre que l'exposition en BPA via les seaux de peinture est de 0,11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de Pc/jour, soit 2,75% de la t-TDI. Cette contamination reste donc très faible.

Le Tableau III.19 présente l'application des méthodes développées dans la quantification des bisphénols de certaines matrices alimentaires. Il apparaît qu'aucune eau minérale embouteillée ne présente des teneurs en bisphénols supérieures aux limites de quantification. Toutes les marques de bouteilles choisies avaient comme polymère le polyéthylènetéréphtalate (PET). Lors d'une étude consistant à conserver de l'eau ultrapure dans les bouteilles en PET, des auteurs ont obtenues des teneurs en BPA de 14,4-119 ng/L (Fan *et al.*, 2014), inférieures à la LQ de la méthode sans dérivation utilisée dans cette étude. La méthode sans dérivation n'a pas détecté de BPA, bien qu'ayant une LQ de 90 ng/L. Sur le plan analytique il apparaît que Fan *et al.*, (2014) ont conservé l'eau ultrapure dans ces bouteilles PET à 70°C, pendant quatre semaines, et ont concentré les échantillons 300 fois. Elobeid *et al.*, (2012) quant à eux ont concentré l'échantillon 500 fois, et ont trouvé des teneurs en BPA entre 3 et 10 ng/L (Elobeid *et al.*, 2012). Ces derniers résultats sont conformes à ceux obtenus dans la présente étude, inférieures aux LQs de toutes les méthodes développées. En fait, les bouteilles en PET ne sont pas supposées libérées le BPA. La présence possible de ce dernier dans les bouteilles en PET s'expliquerait par une contamination lors de la fabrication de celles-ci (Dreolin *et al.*, 2019). Contrairement aux eaux minérales embouteillées, parmi les deux marques d'eaux en sachet analysées avec la méthode sans dérivation, une marque contenait le BPA et le BPF aux concentrations respectives de $2,2 \pm 0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ et $14,5 \pm 1,1 \mu\text{g L}^{-1}$. Lorsqu'on utilise la méthode avec dérivation directe de l'échantillon qui diminue les risques de pertes d'analyte et de contamination, les teneurs en BPA et BPF sont respectivement de $5,5 \pm 0,7 \mu\text{g/L}$ et $25,1 \pm 2,0 \mu\text{g/L}$. En considérant la somme de ces deux dernières valeurs, l'exposition alimentaire via cette marque d'eau serait de $1,2 \mu\text{g}/\text{kg}$ de Pc/ jour, soit 30% de la t-TDI ($4 \mu\text{g}/\text{kg}$ de Pc/jour). Aucune n'étude ne s'était penchée sur les bisphénols des eaux en sachets qui sont pourtant beaucoup consommées dans les pays en développement (Gake *et al.*, 2022; Hermann *et al.*, 2018; Nyarko & Adu, 2016).

L'analyse de deux boissons traditionnelles alcoolisées, le vin de palme et le bili-bili, montre que celles-ci ne renferment aucun bisphénols (Tableau III.19). Le vin de palme était conservé dans les bouteilles en PET, tandis que le bili-bili se trouvait dans les anciens seaux de peinture en polyéthylène. Dans la littérature, aucune étude ne s'est penchée sur la

recherche des bisphénols dans ces deux boissons. Cependant, plusieurs études se sont focalisées sur d'autres boissons alcoolisées, et ont présenté des teneurs en BPA et BPF inférieures à 1,3 µg/L (Cardama *et al.*, 2017; Regueiro & Wenzl, 2015). Il faut remarquer que la production des boissons traditionnelles (vin de palme, bili-bili) s'effectue le plus souvent loin des sources des bisphénols (plastiques, pollution industrielle etc). La seule voie de contamination possible reste donc la conservation. Les récipients plastiques dans lesquels celles-ci étaient conservées ont présenté un très faible taux de relargage des bisphénols, sans doute lié à leur origine, donc leur teneur en additifs. Une étude plus large, avec un échantillonnage de ces boissons traditionnelles dans divers zones de commerces du Cameroun est nécessaire, compte tenu de la divergence des récipients utilisés pour leur conservation en fonction des sites. L'analyse des whiskys en sachet quant à elle a révélé que parmi les deux marques échantillonnées, une avait le BPA à $1,5 \pm 0,09 \mu\text{g L}^{-1}$ (Tableau III.19). Les autres bisphénols n'ont pas été détectés. En considérant une consommation journalière de 300 mL, l'exposition calculée est de 0,008 µg/kg de Pc/jour, soit 0,19% de la t-TDI. Aucune n'étude sur les bisphénols des whiskys en sachet n'a été répertoriée dans la littérature. Une étude avec un échantillonnage plus grand doit être faite pour observer les teneurs dans plus de 15 marques en ventes au Cameroun. Ces whiskys ont été interdits de vente sur le sol camerounais depuis septembre 2014, mais sont toujours vendus.

L'huile de palme brute échantillonnée présentait une teneur en BPA de 0,4 ng/g. Elle était vendue dans les bouteilles en PET (Tableau III.19). Les dates de production et d'expiration n'étaient pas mentionnées sur ces bouteilles. En effet, ces huiles sont majoritairement commercialisées dans les anciens bidons en polyéthylène ou les anciennes bouteilles en PET d'eau minérale. La recherche de bisphénols dans l'huile de palme brute n'a pas été répertoriée dans la littérature (Ingenbleek, Hu, *et al.*, 2019; Ingenbleek, Sulyok, *et al.*, 2019). Cependant, plusieurs études se sont intéressées au BPA de diverses huiles comestibles. Les résultats obtenus dans la présente étude sont similaires de ceux présentés par des auteurs qui ont travaillé sur des huiles chinoises (0,13-2,19 µg/g) (S. Liu *et al.*, 2013). Ils sont inférieurs à ceux de Xian *et al.*, (2017) (98-146,2 ng/g). Ces auteurs ont cependant conservé les huiles dans les bouteilles en polycarbonate pendant 40 jours. Le polycarbonate est connu pour relarguer plus de BPA que le polyéthylène téréphtalate (PET). D'autres auteurs ont obtenues des teneurs en BPA dans les huiles raffinées variant de 0,5 à 4,37 µg/g (Abou Omar *et al.*, 2017; Nemati *et al.*, 2018). Le calcul de l'exposition de la population camerounaise via l'huile de palme brute donne 0,7 ng/ kg de Pc/jour ou 0,018% de la t-TDI. C'est une source

très faible en bisphénol, mais une étude doit être effectuée avec un plus grand nombre d'échantillons. Car les pratiques de production et de conservation varient d'un site de production à un autre.

3.3.2. Evaluation de l'exposition aux Phtalates

Le Tableau III.18 présente la teneur en phtalates totaux présents dans les échantillons des essais de migration effectués avec les biberons, les seaux de peinture et de colle industrielle. Les teneurs en phtalates totaux libérés par les biberons sont comprises entre 4 et 13 $\mu\text{g/L}$, soit une valeur d'exposition de 0,8 – 2,6 $\mu\text{g/kg}$ de Pc/jour. La dose journalière acceptable (TDI) par voie alimentaire pour le DEHP c'est 34 $\mu\text{g/kg}$ de Pc/jour (Larsson *et al.*, 2017). Etant donné que les autres phtalates sont reconnus pour avoir les mêmes effets, la TDI du DEHP a été considérée pour l'exposition aux phtalates totaux. Le maximum d'exposition serait donc 7,65% de la TDI. Tous les biberons, en dépit de leurs polymères ont libéré les phtalates aux teneurs supérieures aux limites de quantification. Il se remarque que les biberons qui n'ont aucune information sur la nature du polymère ou sur leurs origines présentent des teneurs en BPA et phtalates similaires ou inférieures à celles des autres. Les phtalates sont essentiellement des additifs dans la formulation des plastiques, c'est pourquoi leur teneur ne dépend pas du type de polymère des biberons utilisés.

Les récipients non alimentaires (seaux de peinture et de colle industrielle) ont tous libéré les phtalates, quel que soit les conditions de migration effectuées. Contrairement à ce qui est observé lors de la recherche des bisphénols, ces récipients libèrent les phtalates dans l'eau ultrapure conservée dans leur sein. Les concentrations des phtalates totaux relargués dans l'eau à température ambiante, l'acide acétique 3%, et l'eau chaude étaient respectivement de 5,7 – 7,2 $\mu\text{g/L}$, 8,2 – 9,6 $\mu\text{g/L}$ et 11,5 – 11,8 $\mu\text{g/L}$. En termes d'exposition ces valeurs deviennent respectivement 0,285 - 0,360 $\mu\text{g/kg}$ de Pc/jour, 0,136 - 0,160 $\mu\text{g/kg}$ de Pc/jour et 0,191 - 0,197 $\mu\text{g/kg}$ de Pc/jour. Ceci s'explique par le fait que l'eau à température ambiante traduisait l'eau de boisson conservée dans les ménages, pour une consommation d'environ 3 L par jour. L'acide acétique 3% permettait de simuler la conservation de jus acide dans ces récipients, pour une consommation approximée à 1 L maximum par jour. Tandis que l'eau chaude simulait la conservation de bouillie chaude dans ces récipients non alimentaires, pour une consommation approximée à 1 L par jour. Comme l'eau de boisson est plus consommée, aux concentrations en phtalates voisines de celles des autres boissons, l'exposition est plus grande.

Les teneurs en phtalates totaux des eaux minérales embouteillées varient de 3,5 à 10,7 $\mu\text{g/L}$ (Tableau III.18). Ces résultats sont comparables à ceux observés par des auteurs qui ont travaillé avec les eaux embouteillées de Jordanie (3 à 20 $\mu\text{g/L}$) (Zaater *et al.*, 2014). Les études menées sur les eaux minérales embouteillées au PET montrent que 61,7% de celle-ci possèdent le DEHP et le DBP. Dans les eaux de boisson, seule la limite du DEHP existe, elle est de 6 $\mu\text{g/L}$ (F. Luo *et al.*, 2008). Si on considère que 61% des phtalates retrouvés dans les eaux embouteillées au PET c'est du DEHP, alors les teneurs en phtalates trouvés dans les eaux du Cameroun seraient acceptables. Le calcul des valeurs d'exposition permet d'obtenir 0,175 – 0,535 $\mu\text{g/kg}$ de Pc/jour soit maximum 1,57% de la TDI. L'exposition des phtalates totaux par consommation d'eaux embouteillées est donc faible au Cameroun. Les deux marques d'eaux en sachet présentent des teneurs en phtalates totaux entre 7,9 et 22,3 $\mu\text{g/L}$, un peu plus que les eaux minérales embouteillées (3,5 à 10,7 $\mu\text{g/L}$) (Tableau III.19). Ces valeurs correspondent à une exposition journalière de 0,395–1,12 $\mu\text{g/kg}$ de Pc/jour pour une personne. Pour un bébé de 5kg, qui consomme 1 L par jour, cela équivaut à une exposition de 1,58 à 4,46 $\mu\text{g/kg}$ de Pc/jour, quatre fois plus élevée que celle de l'adulte de 60 kg.

Les boissons traditionnelles analysées avaient une teneur en phtalates totaux de 15,8 – 16,3 $\mu\text{g/L}$. L'exposition aux phtalates via ces boissons est comprise entre 0,263 et 0,271 $\mu\text{g/kg}$ de Pc/jour. Cette exposition reste très faible comme celles des autres échantillons. Des auteurs ont effectué les analyses des phtalates totaux dans différents vins rouges et observe qu'il n'y a pas d'influence du matériau d'emballage (verre ou polyéthylène) sur les teneurs en phtalates totaux des vins rouges commerciaux. Ils observent également que la teneur en phtalates totaux dépend du procédé et l'environnement de fabrication des vins rouges. Les vins rouges commerciaux avaient des teneurs médianes en phtalates totaux de 385 $\mu\text{g/L}$. Dans les vins pris directement chez les vigneronns cette teneur était de 204 $\mu\text{g/L}$, tandis que dans un vin fait à l'échelle pilote c'était 138 $\mu\text{g/L}$ (Del Carlo *et al.*, 2008). Ceci justifie le fait que les vins traditionnels, produits parfois loin des zones de pollution, ont peu de phtalates totaux. Tous les whiskys en sachets contiennent les phtalates totaux aux teneurs de 18,6 – 18,8 $\mu\text{g/L}$ (Tableau III.19). Pour une consommation journalière de whiskys en sachets de 300 mL par une personne de 60 kg, cela donne une exposition de 0,093 – 0,094 $\mu\text{g/kg}$ de Pc/jour.

Les teneurs en phtalates totaux des récipients en polycarbonate (PC), polypropylène (PP) et ceux n'ayant aucune information (SI), soumis aux mêmes conditions ont été analysés à l'aide du logiciel R. Les résultats sont présentés sur la Figure III.7. Les données des biberons et des seaux non alimentaires possédant le même type de polymère ont été regroupées. Il apparaît que les récipients sans information (SI) ont globalement des teneurs en phtalates

totaux inférieures à celles des récipients en PC ou en PP. La différence entre les teneurs en phtalates des récipients sans information significativement différente de celles des récipients en PC ($P=0,024 < 0,05$) et en PP ($P=0,034 < 0,05$). Par contre, il n'existe pas de différence significativement significative entre les récipients en PC et ceux en PP ($P=0,855 > 0,05$). La nature du polymère n'a donc pas d'influence sur la teneur en phtalates des récipients. En effet, les phtalates sont des plastifiants utilisés dans la formulation de presque tous les plastiques, afin d'augmenter leur flexibilité. Pour une flexibilité ou une plasticité similaire, les récipients peuvent avoir les teneurs en phtalates voisines.

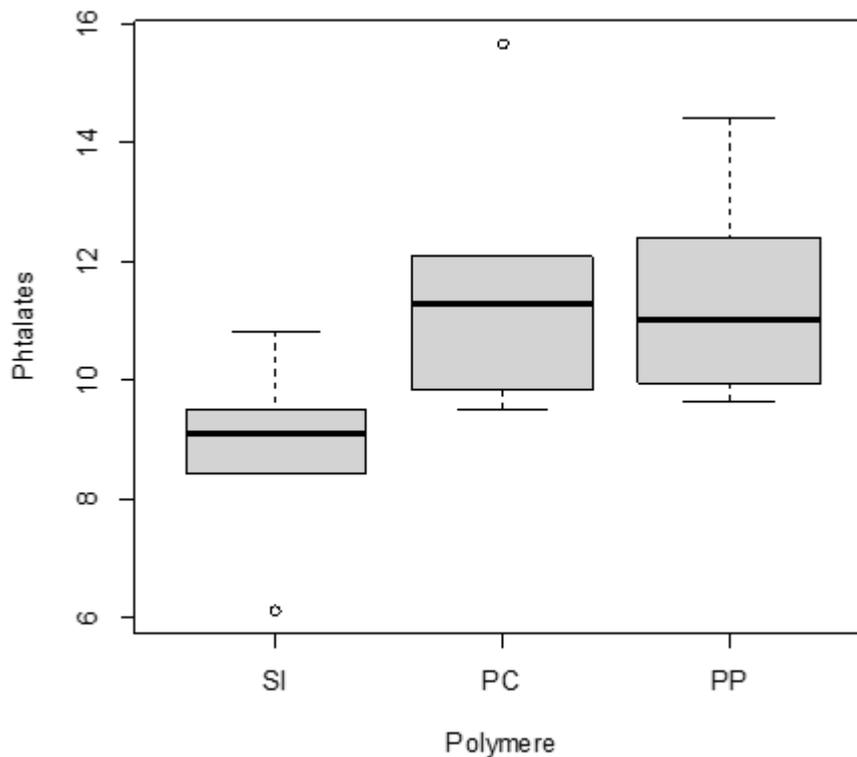


Figure III.7: Influence de la nature du polymère sur la teneur en phtalates des récipients.

Conclusion partielle

L'objectif de cette partie était de mettre en place les méthodes d'analyses des bisphénols et celles des phtalates. Deux méthodes ont été développées pour l'analyse des bisphénols. Une méthode adaptée pour l'analyse des échantillons aqueux qui se fait avec dérivation et sans étape d'extraction, et une méthode qui se fait avec des courtes étapes d'extraction, pour l'analyse des boissons et de l'huile de palme brute. Toutes ces méthodes sont rapides, présentent une bonne sensibilité et une spécificité. Le taux d'extraction des

bisphénols dans les boissons traditionnelles augmente avec la polarité du solvant. L'extraction en phase solide des bisphénols des boissons traditionnelles est meilleure que l'extraction liquide de ceux-ci. La méthode développée pour l'analyse des phtalates totaux se fait après dérivation. Tous les récipients et emballages plastiques ont libérés les phtalates. Les bisphénols par contre n'ont pas été détectés dans les eaux minérales, la majorité des biberons, et les boissons traditionnelles. Les taux de transfert des bisphénols et des phtalates dans les aliments au travers des récipients plastiques sont faibles, donc l'exposition journalière par cette voie est faible. Cependant, les données sur les ingestions cumulées ne sont pas encore déterminées dans la littérature. L'analyse statistique a montré que libération des phtalates par les récipients ne dépend pas de la nature du polymère de ceux-ci. Les seaux de peintures utilisés dans la conservation des aliments ont libéré le bisphénol A et les phtalates totaux aux valeurs supérieures aux limites de quantification.

CHAPITRE IV :

**RECHERCHE DES MECANISMES DE
TRANSFERT DES PHTALATES DES
RECIPIENTS PLASTIQUES VERS
LES MATRICES ALIMENTAIRES.**

IV.1. Introduction

Le chapitre III a permis de mettre en place des méthodes plus sensibles et efficaces d'identification et de quantification de différents bisphénols (A, B et C) et des phtalates totaux. Ces méthodes ont permis de montrer que peu d'échantillons contenaient les bisphénols. Cependant, les bisphénols sont présents dans les biberons en polycarbonate et dans les seaux de peinture. Les phtalates quant à eux sont présents dans tous les récipients plastiques testés. En conséquence, ce nouveau chapitre porte sur la recherche des mécanismes de transfert des phtalates des récipients plastiques vers les matrices alimentaires.

La recherche du niveau d'influence des différents paramètres sur la migration des phtalates permettra de définir des conditions d'utilisation de ces récipients. La modélisation cinétique permettra de comprendre les mécanismes de diffusion des phtalates des récipients plastiques vers les matrices alimentaires. Les seaux de peinture font partie des récipients qui ont le plus libéré les phtalates lors des tests de migration, mais ils n'ont pas encore fait l'objet d'une étude systématique de transfert. Ils ont été choisis dans la présente étude comme échantillon pour la recherche des mécanismes de transfert des phtalates. Plus spécifiquement il sera question de :

- ✓ Déterminer les paramètres les plus influents du transfert des phtalates des seaux en plastique vers les aliments ;
- ✓ Déterminer les conditions de migration des phtalates des seaux en plastiques vers les aliments ;
- ✓ Déterminer les paramètres cinétiques du transfert des phtalates des seaux de peinture vers les aliments.

VI.2. Matériel et méthodes

VI.2.1. Réactifs et solutions standards

Tous les réactifs de l'analyse des phtalates présentés à la section III.2.1 ont été utilisés. En plus de ces réactifs, l'amidon de maïs (CAS : 9005-25-8) et le saccharose (pureté \geq 99,5% ; CAS : 57-50-1) ont été achetés chez Sigma Aldrich (Milan, Italie). Le chlorure de sodium (NaCl) (Pureté \geq 99,5% ; CAS : 7647-14-5) a été acheté chez Merck (Darmstadt, Germany).

VI.2.2. Equipements

Tous les équipements de l'analyse des phtalates présentés à la section III.2.2 ont été utilisés.

VI.2.3. Echantillons

Le matériel soumis à l'étude ce sont les anciens seaux de peinture en plastique les plus utilisés dans les ménages et les beignetariat du Cameroun pour la conservation d'eau de boisson, de pâte à beignets ou de la bouillie chaude.

La bouillie à 5 ou 10 g d'amidon /L était préparée pour servir de simulant alimentaire lors des études de migration des phtalates. La préparation consiste à porter à ébullition l'eau ultrapure sur une plaque chauffante. La quantité d'amidon souhaitée était pesée dans un bécher puis on y ajoutait un peu d'eau ultrapure et remuait à l'aide d'une barre en verre précédemment nettoyée avec un solvant de qualité LC-MS. Ensuite, le mélange était versé dans l'eau ultrapure bouillante en remuant de temps en temps, de manière à cuire l'amidon. En fonction de la température souhaitée, la bouillie était soit utilisée à chaud ou refroidi dans un bain de glace.

Pour les études en situation de simulation, les seaux étaient découpés en fraction de 2,5 cm x 5,0 cm pour leur permettre d'entrer dans les bocaux en verre de 100 mL où on y versait la bouillie ou l'eau. Par bocal, 8 pièces de seaux étaient introduits, soit 100 cm² ou 1 dm² de surface interne. Chaque pièce avait une épaisseur de 2 mm pour une masse moyenne de 2,08 ± 0,15 g.

Pour les études en situation dite réelle (SR), la bouillie est directement introduite dans le seau, et on prélève des volumes donnés par intervalle de temps pour effectuer l'analyse. Cette étude a notamment été effectuée pour la cinétique de la migration.

VI.2.4. Extraction de l'acide phtalique dans les conditions d'études

Au chapitre III, le taux d'extraction de l'acide phtalique par l'acétate d'éthyle a été déterminé dans les conditions d'application, dans les eaux minérales et les boissons, mais pas dans la bouillie. Pour déterminer le taux d'extraction des phtalates dans la bouillie, celle-ci était dopée avec une solution mixte de phtalates à trois niveaux de concentration (en phtalates totaux) 1µg/L, 10µg/L et 100 µg/L. En parallèle, la bouillie était analysée sans dopage.

Lors de l'étude de l'influence des paramètres sur la migration, le sucre et le sel étaient ajoutés dans la matrice alimentaire. Afin de déterminer l'effet de la teneur en sel sur le taux d'extraction de l'acide phtalique, des solutions de NaCl aux concentrations de 1%, 2%, 3% et 5% (m/v ou g/100 mL) étaient dopées chacune à 10 µg de phtalates /L. La même étude était réalisée avec les solutions de saccharose à 1%, 2%, 5% et 10%, dopées chacune à 10 µg de phtalates/L. En parallèle, l'eau ultrapure (blanc), le NaCl 3%, le saccharose à 5%, et une

solution de phtalates à 10µg/L étaient analysées. L'étude du taux d'extraction dans les solutions contenant le NaCl et le saccharose a aussi été effectuée. Pour une solution de NaCl 3%, les teneurs en saccharose étaient respectivement de 1%, 5% et 10%. Ces solutions étaient codifiées NaCl/Sucre 3/1, 3/5 et 3/10 (% m/m). Elles étaient analysées sans dopage et dopées à 10 µg de phtalates/L. Toutes les solutions et le blanc contenaient l'étalon interne (DEHP-d4) à 400µg/L. Enfin, 10 mL de chacune des solutions subissait les étapes d'hydrolyse, d'extraction et de dérivation décrites dans la section III.2.5.2.

Le taux d'extraction dans ces diverses matrices était calculé en utilisant l'équation 23.

$$TE (\%) = \left[\frac{(A/Ais)_E}{(A/Ais)_M} \right] \times 100 \quad (23)$$

Avec A, l'aire du pic de l'acide phtalique dérivé (PA-BPTAB) ; Ais, l'aire de l'étalon interne (PA-BPTAB-d4) ; (A/Ais)_E c'est le ratio A/Ais pour la solution étalon du mix de phtalates à 10 µg/L ; (A/Ais)_M c'est le ratio A/Ais pour la matrice d'étude considérée (NaCl, Saccharose, etc).

VI.2.5. Criblage des facteurs qui influencent la migration des phtalates

Le criblage des facteurs par les plans d'expériences, peut permettre de classer les facteurs selon leurs niveaux respectifs d'influence et d'entrevoir les interactions possibles entre ces facteurs. Un plan composite permettra par la suite de déterminer les niveaux effectifs de ces facteurs et de déterminer une zone optimale de transfert ou de réduction du transfert. Le Tableau IV.1 présente les facteurs retenus après lecture de la littérature (Voir chapitre 1), ainsi que la codification des variables.

Tableau IV.1 : Facteurs et codification des variables.

Variables	Facteurs (unité)	Niveaux*		
		-1	0	+1
X ₁	pH de l'aliment	4	7	10
X ₂	Température de l'aliment (°C)	4	47	90
X ₃	Teneur en amidon (g/L)	0	5	10
X ₄	Teneur en NaCl (% ou g/100 mL)	0	1,25	2,5
X ₅	Teneur en sucre (% ou g/100 mL)	0	5	10
X ₆	Temps de contact (en heure)	1	36,5	72
X ₇	Nombre de lavages du récipient	1	25	50

*Niveaux -1 et +1 correspondent respectivement aux niveaux bas et haut du domaine d'étude. Le niveau 0 ce sont les valeurs du centre du domaine d'étude qui seront important pour effectuer les tests de répétabilité.

Les niveaux des différents paramètres de composition et des propriétés alimentaires que sont la teneur en amidon, la teneur en NaCl, la teneur en sucre et le pH ont été déterminés à partir de la revue de la littérature (Ponka *et al.*, 2015), des observations personnelles et des

essais préliminaires. Le pH a été défini en considérant le fait que les personnes préparent la bouillie soit avec du citron (pH acide) ou du sel gemme (pH basique). La température élevée (90°C) a été définie en considérant le fait que la bouillie chaude est conservée dans les anciens seaux de peinture au niveau des beignetariat. Les basses températures traduisent le fait que dans les seaux de peinture on y vend souvent de l'eau froide. La température moyenne de réfrigération (4°C) a donc été arrêtée pour tester cette condition d'utilisation. La teneur en amidon a été revue à la baisse par rapport aux bouillies réelles, afin de réduire l'étape analytique due à une extraction plus complexe. Il s'agit donc de bouillie légère. Le niveau -1 pour la bouillie correspond à l'eau ultra pure, ce qui permet de voir l'influence de la quantité de matière. Les teneurs en sucre ajouté et en NaCl sont restées conformes aux bouillies couramment consommées au Cameroun (Ponka *et al.*, 2015). Le temps de contact a été fixé de 1h à 72h (trois jours) afin de se mettre dans les conditions d'utilisation des seaux dans les ménages. Le nombre de lavages permettait de mettre en évidence l'utilisation réelle des seaux de peinture sur une longue période. En effet, après un certain temps, les seaux de peinture comme tout récipient de stockage sont lavés.

Le plan de Plackett-Burman a été choisi pour faire ce criblage à l'aide du logiciel Design Expert version 13. Le Tableau IV.2 présente la matrice d'expérience produite par le logiciel. Le niveau 0 représente les valeurs des facteurs au centre du domaine d'étude. Ces points au centre permettent d'améliorer l'analyse statistique et notamment d'assurer l'homocédacité. Cette dernière traduit une répartition homogène de l'erreur expérimentale sur l'ensemble des essais.

Une décodification de la matrice d'expériences permet d'avoir la matrice des essais. C'est cette dernière qui est utilisée au laboratoire pour l'implémentation des analyses et l'obtention des résultats associés.

IV.2.6. Recherche des interactions entre les facteurs les plus influents

La recherche des facteurs les plus influents et leurs interactions lors de la migration des phtalates des seaux s'est effectuée à l'aide d'un plan factoriel complet. L'analyse des résultats du criblage a permis de retenir 4 facteurs. Les niveaux des facteurs restent les mêmes que ceux présentés au Tableau IV.1. Quatre essais au centre du domaine ont également été effectués pour les tests de répétabilité. Le Tableau IV.3 présente la matrice d'expérience du plan factoriel complet générée par le logiciel Design Expert version 13. La validation du modèle mathématique obtenu s'est effectuée conformément à la section I.9.4.

Tableau IV.2: Matrice d'expériences pour le plan de Plackett-Burman.

N° essai	pH	T °C	Nature	NaCl (%)	Sucre (%)	Temps (h)	Lavages
1	1	1	1	-1	1	-1	-1
2	-1	1	1	1	-1	1	-1
3	-1	-1	1	1	1	-1	1
4	1	-1	-1	1	1	1	-1
5	-1	1	-1	-1	1	1	1
6	1	-1	1	-1	-1	1	1
7	1	1	-1	1	-1	-1	1
8	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
9	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0

Tableau IV.3: Matrice d'expériences du plan factoriel complet.

N° essai	pH	T °C	Temps (h)	Amidon (g/L)
1	1	-1	1	-1
2	1	-1	-1	-1
3	1	1	1	-1
4	-1	-1	1	-1
5	1	1	1	1
6	-1	-1	1	1
7	-1	1	-1	1
8	-1	-1	-1	1
9	1	1	-1	1
10	1	-1	-1	1
11	-1	1	1	1
12	1	1	-1	-1
13	-1	-1	-1	-1
14	1	-1	1	1
15	-1	1	1	-1
16	-1	1	-1	-1
17	0	0	0	0
18	0	0	0	0
19	0	0	0	0
20	0	0	0	0

IV.2.7. Recherche des conditions minimales de migration des phtalates.

Les trois facteurs les plus influents, issus du plan factoriel complet sont ensuite utilisés dans un plan composite à faces centrées afin de définir les conditions minimales de migration

des phtalates des seaux de peintures vers les aliments. Un modèle mathématique quadratique a été défini, et validé conformément à la section I.9.4.

IV.2.8. Etude de la cinétique de migration des phtalates totaux des seaux de peinture

L'étude de la cinétique de migration des phtalates des seaux permet de modéliser ce phénomène. Elle s'est effectuée de deux manières. Une première étude avec les fractions de seaux dans la bouillie, et une seconde dite en situation réelle (SR), qui s'est effectuée en versant la bouillie chaude dans les seaux. Dans le premier cas, les échantillons sont constitués des fractions de seaux comme décrit dans la section IV.2.3. Huit fractions sont introduites dans les bocaux en verre de 200 mL avec couvercle. Puis, on ajoute dans chaque bocal, 100 mL de bouillie de maïs et l'ensemble est porté dans un bain marie à la température de consigne (50, 70 et 90°C). Parallèlement une étude dite en situation réelle est effectuée. En situation réelle, la bouillie (à 10g d'amidon/L) était préparée dans une grande marmite en aluminium à l'aide de l'amidon de maïs et 10 L d'eau ultrapure. La bouillie portée à ébullition ($95 \pm 2^\circ\text{C}$) est versée dans un seau de peinture puis fermé. Les prélèvements de bouillie sont effectués aux temps prédéterminés. L'étude cinétique s'est effectuée pendant 180 min (3h). Les temps de consigne sont : 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150, 165 et 180 min. Le temps $t=0$ min est considéré comme celui où la bouillie se trouve encore dans la marmite en aluminium. Pour l'étude cinétique en situation réelle, les prélèvements ont également été effectués après les 180 min pendant 21h, 45h et 69 h, soit une durée totale de trois jours. En situation réelle, la température de la bouillie était notée chaque fois. Chaque essai était effectué en double.

Les concentrations obtenues après analyses UPLC-MS/MS sont utilisés pour le calcul des paramètres des modèles de pseudo-premier ordre, pseudo-second ordre et de diffusion intra particulaire. La validation des modèles s'est effectuée en calculant le coefficient de détermination, l'analyse absolue de la déviation et les facteurs de biais.

IV.2.9. Analyse et traitement des données

Le traitement des données de validation méthode s'est effectué avec Excel 2016. L'acquisition et le traitement des données d'analyse chromatographique se sont effectués avec le logiciel Masslynx version 4.1 et ils ont ensuite été exportés vers Excel 2016. Les logiciels R version 4.0.1 et Design Expert version 13.0 était utilisé pour l'analyse statistique (analyse de la variance et diagramme à moustache) et la modélisation par plan d'expériences.

IV.3. Résultats et discussion

IV.3.1. Taux d'extraction des phtalates dans les conditions d'étude de migration

a) Taux d'extraction dans la bouillie

Le Tableau IV.4 présente le taux d'extraction des phtalates dans la bouillie. Ce taux est compris entre 78 et 95%, il est comparable aux taux couramment rencontrés dans la littérature avec d'autres matrices (75 – 110%) (Ibrahim *et al.*, 2014; Z. Li *et al.*, 2011; Notardonato *et al.*, 2020). Le taux d'extraction dans la bouillie est plus faible pour un dopage à 1 µg/L et l'écart type est plus important. En effet, lorsqu'une méthode d'analyse est sensible, l'erreur expérimentale est plus grande lorsque les concentrations sont plus faibles. D'autres auteurs ont obtenu des résultats semblables lors de l'extraction des phtalates dans l'huile de palme. Le taux d'extraction était de 59,4 – 103,8% aux faibles valeurs de dopage, tandis qu'aux valeurs élevées il était de 89,9 – 101,4 (Ibrahim *et al.*, 2014).

Tableau IV.4: Taux d'extraction des phtalates dans la bouillie.

Composé	Bouillie (10 g d'amidon/L)		
	Taux d'extraction (%) ± ET* (n=4)		
	1 µg/L	10 µg/L	100 µg/L
PA-BPTABP	78,8 ± 12,2	94,6 ± 10,9	81,5 ± 5,1

*ET : Ecart type

b) Taux d'extraction en présence de sel et de sucre

Il en ressort que le taux d'extraction varie en présence de NaCl, il est de 50 à 70% (Figure IV.1 (A)). Ce taux croit lorsque la teneur en NaCl passe de 1% à 3%, puis diminue pour 5% NaCl. Le même résultat a été observée par Ma *et al.*, (2022) au cours de leurs travaux d'extraction en phase solide (SPE) des phtalates d'un mélange contenant du méthanol. Ils ont obtenus un taux d'extraction de 90% pour une teneur en NaCl de 3%. Dans la présente étude c'est l'extraction liquide-liquide à l'aide de l'acétate d'éthyle qui a été utilisée. Plus la force ionique est élevée, plus faible est la solubilité des molécules. Par conséquent, la teneur en NaCl augmente le caractère apolaire de la solution, ce qui rend facile l'extraction des phtalates avec les solvants organiques. Les faibles taux d'extraction obtenus en présence de NaCl seraient dus à l'étape d'hydrolyse qui précède celle-ci (l'extraction). La Figure IV.1 (B) montre que le taux d'extraction est de 80 - 95% pour une teneur en saccharose comprise entre 1 et 5 %, puis devient supérieur à 100% lorsque la teneur en saccharose est 10%. La présence de saccharose augmente la teneur en matière sèche soluble de la solution qui devient

alors moins polaire. L'étape d'hydrolyse décompose le saccharose en glucose et en fructose qui ont leur fonction alcool libre, ce qui facilite l'extraction de l'acide phtalique par l'acétate d'éthyle. Le même résultat est obtenu quand on mélange le sucre et le sel. Le taux d'extraction est maintenu entre 95 et 105% (Figure IV.1 (C)). En présence de sucre, l'étape d'hydrolyse des phtalates en acide phtalique semble être améliorée.

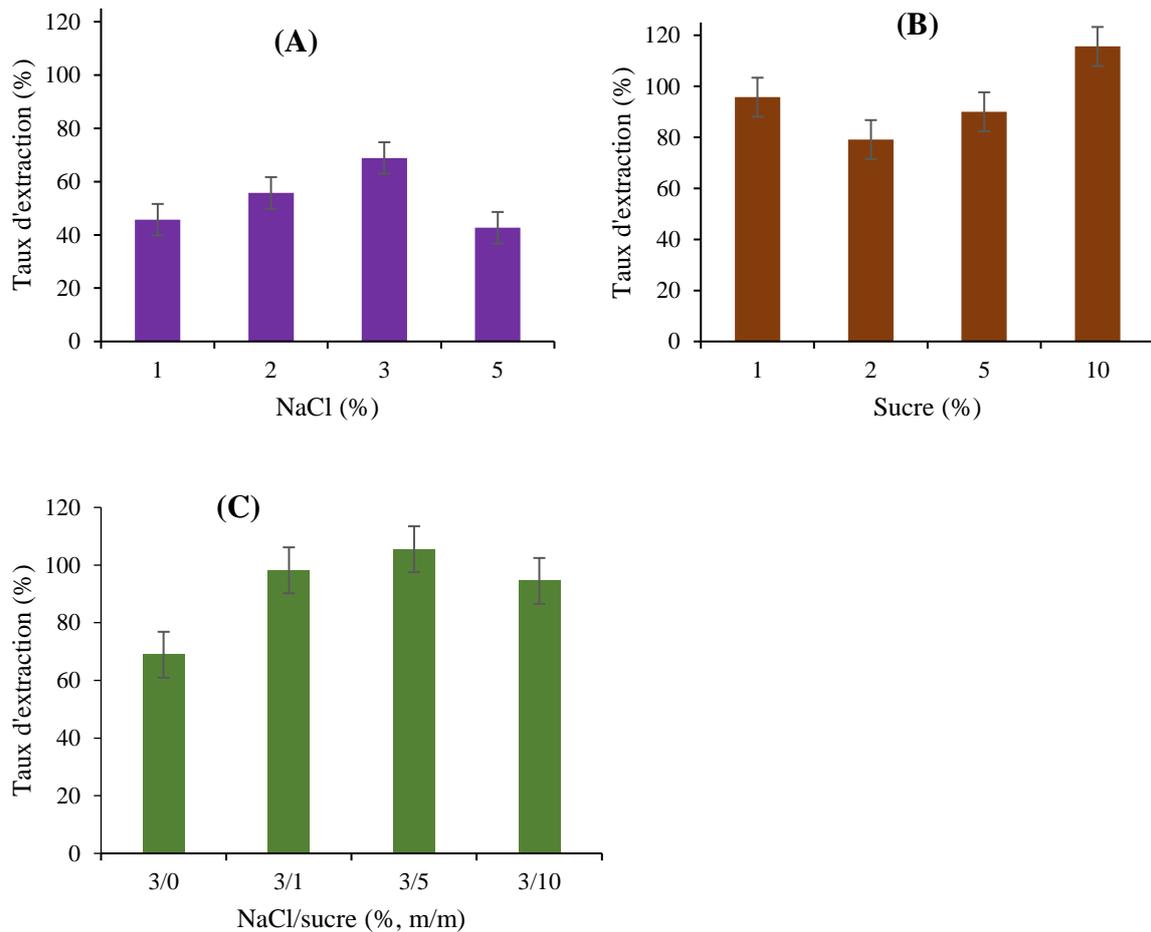


Figure IV.1: Effet de la teneur en sel et en sucre sur l'extraction des phtalates.

IV.3.2. Niveaux des facteurs et interactions

Le Tableau IV.5 donne la matrice des essais du plan de criblage.

Les critères de validation reportés dans le Tableau IV.6 se trouvent tous dans les normes, les résultats sont donc fiables. L'équation du modèle est le suivant :

$$PA-BPTAB = 14,0 + 7,26A + 7,79B + 3,16C - 2,49D + 3,09E - 5,36F - 2G \quad (24)$$

Où A est le pH, B la température, C la teneur en amidon, D la teneur en sel, E la teneur de sucre, F le temps de contact et G le nombre de lavage. Les coefficients du modèle sont rapportés au Tableau IV.7.

Tableau IV.5: Matrice des essais pour le criblage des facteurs.

Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3	Facteur 4	Facteur 5	Facteur 6	Facteur 7	Réponse
A:pH	B:Température	C:Amidon	D:Sel	E:Sucre	F:temps	G:Lavage	PA-BPTAB
	°C	g/L	%	%	h		µg/L
10	90	10	0	10	1	1	46
4	90	10	2,5	0	72	1	9,6
4	4	10	2,5	10	1	50	6,9
10	4	0	2,5	10	72	1	8,4
4	90	0	0	10	72	50	10,4
10	4	10	0	0	72	50	9,5
10	90	0	2,5	0	1	50	24,5
4	4	0	0	0	1	1	3,4
7	47	5	1,25	5	36,5	25	12,3
7	47	5	1,25	5	36,5	25	12,2
7	47	5	1,25	5	36,5	25	12,6
7	47	5	1,25	5	36,5	25	12,4

Tableau IV.6: Validation du modèle de criblage des facteurs.

	Plan de Plackett-Burman	Critères de validation
R ²	0,988	> 0,900
R ² ajusté	0,963	> 0,850
AADM	0,012	≈ 0,0
Biais (Bf)	0,973	0,75 – 1,2
Exactitude (Af)	1,119	0,75 – 1,2

Tableau IV.7: Effets des facteurs sur la migration des phtalates des seaux de peinture.

Facteurs	Coefficient estimé	Effet des facteurs	Erreur standard
A-pH	7,26	14,52	0,72
B-Température	7,79	15,58	0,72
C-Amidon	3,16	6,32	0,72
D-Sel	-2,49	-4,98	0,72
E-Sucre	3,09	6,18	0,72
F-temps	-5,36	-10,72	0,72
G-Lavage	-2	-4	0,72

Le Tableau IV.7 montre que la température et le pH sont les facteurs les plus importants (et d'égales valeurs) et augmentent la migration des phtalates totaux. Ces facteurs

sont suivis en importance par le temps de contact mais ce dernier a une contribution négative. La contribution du sucre est la moitié des deux premiers facteurs. Le nombre de lavage et la teneur en sel semble être les facteurs les moins importants. Cette classification des facteurs ainsi que leurs contributions au sens d'évolution de la migration ne sont pas définitives. En effet les différences entre les facteurs ne sont pas très grandes, les interactions entre facteurs peuvent exister. La présence probable des interactions peut expliquer les conclusions contradictoires que l'on trouve dans la littérature. La littérature montre que la température et le temps de contact augmentent la migration des phtalates vers les aliments (Arfaeinia *et al.*, 2020; Luo *et al.*, 2018; Zaater *et al.*, 2014). Les effets du pH sont contradictoires (Bosnir *et al.*, 2007; Rastkari *et al.*, 2017). Les teneurs en amidon et en sucre font partie de l'influence de la nature de l'aliment.

IV.3.3. Interactions entre les facteurs les plus influents

Le Tableau IV.8 présente la matrice des essais du plan factoriel. Les coefficients de validation du Tableau IV.9 montrent que les données obtenues sont valides.

Tableau IV.8: Matrice des essais du plan factoriel complet.

A:pH	B:Température (°C)	C:temps (h)	D:Amidon (g/L)	PA-BPTAB (µg/L)
10	4	72	0	22
10	4	1	0	17,2
10	90	72	0	28,7
4	4	72	0	46,3
10	90	72	10	21,4
4	4	72	10	45,9
4	90	1	10	49,2
4	4	1	10	18,9
10	90	1	10	31,8
10	4	1	10	21,9
4	90	72	10	62,1
10	90	1	0	25,2
4	4	1	0	3,3
10	4	72	10	9,9
4	90	72	0	63,9
4	90	1	0	20,1
7	47	36,5	5	28,5
7	47	36,5	5	28,9
7	47	36,5	5	29
7	47	36,5	5	28,2

Tableau IV.9: Validation du modèle du plan factoriel complet.

	Plan factoriel complet	Critères de validation
R ²	0,998	> 0,900
R ² ajusté	0,981	> 0,850
AADM	0,006	≈ 0,0
Biais (Bf)	0,993	0,75 – 1,2
Exactitude (Af)	1,028	0,75 – 1,2

Equation du modèle du plan factoriel complet :

$$PA-BPTAB = 30,12 - 8,22A + 7,32B + 7,04C + 2,15D - 2,80AB - 8,80AC - 3,16AD - 0,82BC + 1,17BD - 4,85CD \quad (25)$$

Le Tableau IV.10 montre qu'il existe des interactions entre le pH, la température, la nature de l'aliment et le temps de contact. Les effets des facteurs pris deux à deux sont globalement significatifs ($p < 0,05$). Ceci implique que le phénomène de migration des phtalates des seaux de peintures vers les aliments ne saurait s'expliquer en étudiant uniquement les effets principaux de chacun de ces facteurs. Il s'observe que pour le pH et le temps, l'effet secondaire lié à leur interaction est supérieur à celui de chacun d'eux pris individuellement. Ceci implique que l'effet du pH ne saurait s'interpréter sans prendre en compte le temps de stockage et vice versa. Les effets des interactions de troisième ordre (ABC et ABD) sont quant à eux presque négligeables ($p > 0,05$). Lors de la modélisation du phénomène de migration ils peuvent ne pas être considérés. Les valeurs élevées des interactions de second ordre indiquent que la variation de la réponse avec tout paramètre n'est pas toujours linéaire.

Tableau IV.10: Effets et interactions des facteurs les plus influents.

Facteurs	Effet des facteurs	Coefficients Estimés	Erreur standard	P-value
A-pH	-16,44	-8,22	0,4186	< 0,0001
B-Température	14,62	7,32	0,4186	< 0,0001
C-temps	14,08	7,04	0,4186	< 0,0001
D-Amidon	4,30	2,15	0,4186	0,0068
AB	-5,60	-2,80	0,4186	0,0026
AC	-17,60	-8,80	0,4186	< 0,0001
AD	-6,32	-3,16	0,4186	0,0016
BC	-1,62	-0,81	0,4186	0,1242
BD	2,34	1,17	0,4186	0,0485
CD	-9,70	-4,85	0,4186	0,0003
ABC	1,70	0,85	0,4186	0,1121
ABD	-0,68	-0,34	0,4186	0,4653
ACD	2,02	1,01	0,4186	0,0729
BCD	-1,50	-0,75	0,4186	0,1477

IV.3.4. Conditions minimales de migration des phtalates des seaux

Le Tableau IV.11 présente la matrice des essais et le Tableau IV.12 les critères de validation du plan composite à faces centrées. Les critères de validation sont dans la norme, les données sont donc valables.

Equation du modèle quadratique :

$$PA-BPTAB = 9,27 - 0,37A + 14,01B + 11,0C - 2,36AB + 2,81AC + 6,19BC + 5,90A^2 + 3,92B^2 + 9,72C^2 \quad (26)$$

Les coefficients de ce modèle montrent une valeur faible de l'effet principal du pH, par contre les effets principaux du temps de contact et de la température sont très élevés. Les coefficients d'interactions sont élevés, il en est de même pour les effets quadratiques. La variation de la réponse en fonction de l'un ou l'autre des facteurs n'est donc pas linéaire. Ceci est en accord avec les résultats du plan factoriel complet. La variation de la réponse en fonction des différents facteurs peut être représentée sur les courbes des surfaces de réponse (Annexes 10 à 12). Les courbes des surfaces de réponse sont souvent difficiles à interpréter, c'est pourquoi on leur préfère les courbes d'isoreponses. Dans ce dernier cas un facteur est fixé et on représente la variation de la réponse en fonction de deux autres facteurs.

Tableau IV.11: Matrice des essais du plan composite à faces centrées.

N°	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3	Réponse
	A: pH	B:Température °C	C : temps h	PA-BPTAB µg/L
1	7	47	36,5	9,25
2	7	47	72	29,6
3	7	90	36,5	25,2
4	4	4	72	14,5
5	4	90	1	31,65
6	10	4	72	23,9
7	4	90	72	60,75
8	4	47	36,5	15
9	7	4	36,5	1,3
10	7	47	36,5	9,25
11	10	47	36,5	15,45
12	7	47	1	8,5
13	10	90	72	60,5
14	10	90	1	20,4
15	4	4	1	10,4
16	7	47	36,5	9,1
17	10	4	1	8,35

Tableau IV.12: Validation du modèle du plan composite à faces centrées.

	Plan composite faces centrées	Critères de validation
R ²	0,997	> 0,900
R ² ajusté	0,989	> 0,850
AADM	0,072	≈ 0,0
Biais (Bf)	0,982	0,75 – 1,2
Exactitude (Af)	1,058	0,75 – 1,2

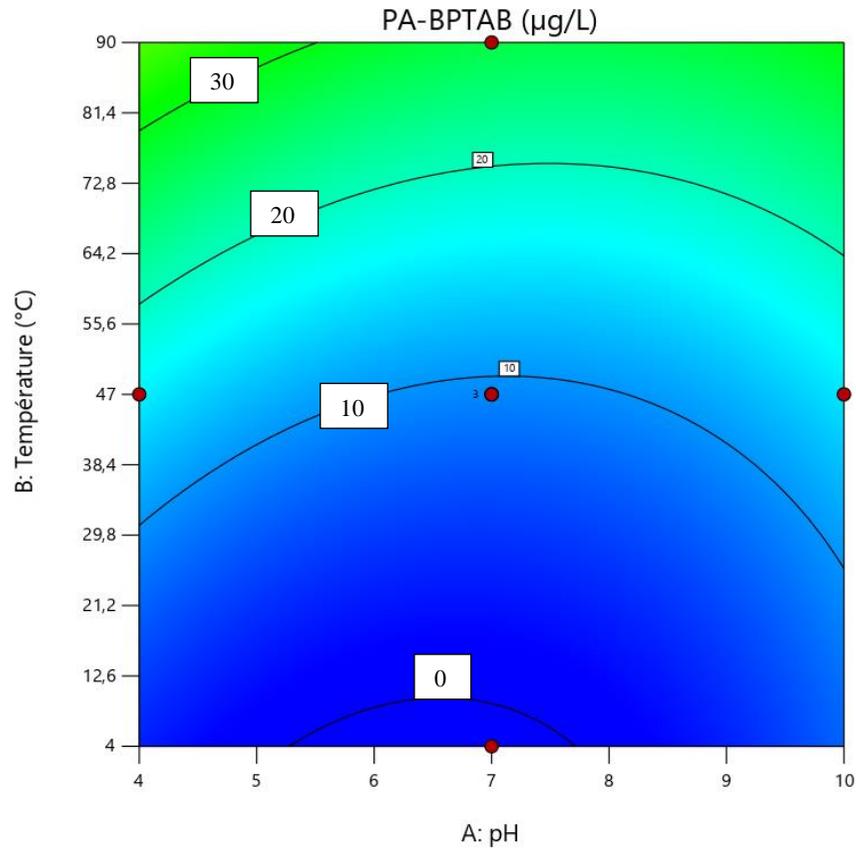
Les Figures IV.2 à IV.4 présentent les courbes d'iso-réponses de la variation de la teneur en phtalates totaux en fonction du pH, de la température et du temps. La Figure IV.2 montre que globalement, l'effet de la température sur la diffusion des phtalates des seaux de peinture est plus grand aux pH extrêmes (pH<4 et pH>10). Aux pH neutres, l'effet de la température reste fort, mais moindre que ce qui est observé aux pH extrêmes, et qui est dû aux interactions entre ces deux paramètres. En fait, aux pH extrêmes, la température augmente l'agitation moléculaire en fragilisant la structure du polypropylène, ce qui va permettre au

liquide acide d'entrer en contact avec les additifs de formulation comme les charges (le Kaolin, le Talc ou le Carbonate de calcium etc) qui sont affectés par les pH acides (Harper & Petrie, 2003). Les liquides basiques quant à eux peuvent affecter les stabilisateurs UV ou antioxydant. Les amines et les phénols sont les familles de composés les plus utilisés comme stabilisateurs UV (Harper, 2000; Walsh et al., 2021). Aux températures en dessous de 4°C, la migration des phtalates est très faible.

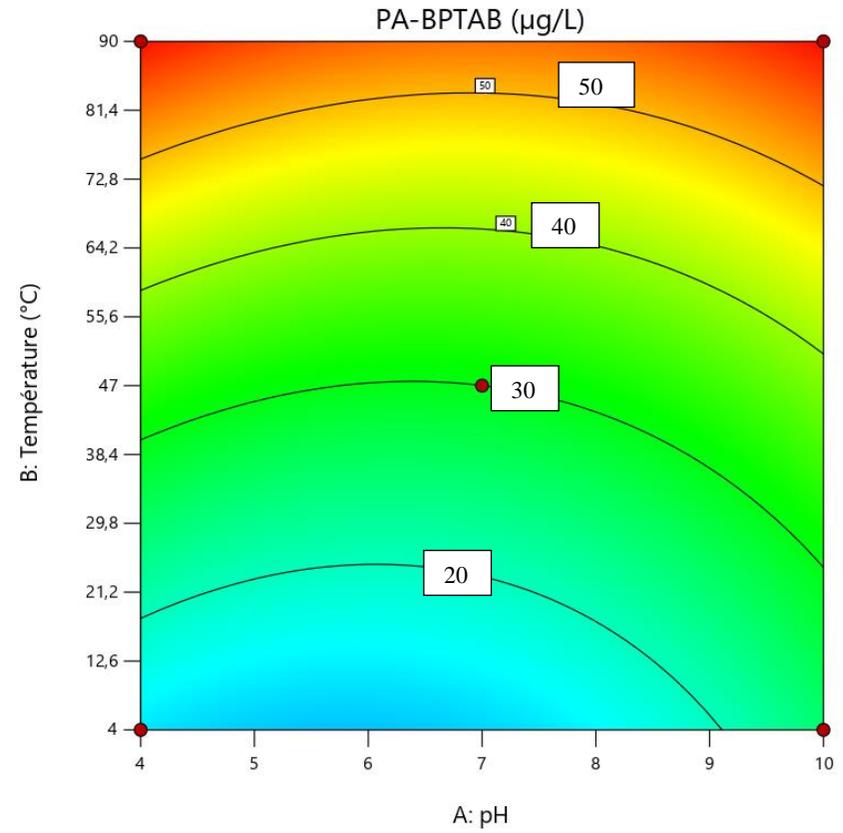
La Figure IV.3 montre les courbes d'iso-réponses de l'influence du temps de contact sur la migration des phtalates des seaux de peinture à différents pH. Tout comme la température, le temps de contact augmente plus la libération des phtalates des seaux vers les aliments quand les pH sont extrêmes. Des auteurs ont constaté que le temps de stockage augmentait la migration des phtalates des bouteilles vers les jus de fruits acides (vinaigres, jus d'orange...); et que plus les jus étaient acides plus la migration était élevée (Arfaeina et al., 2020). Lau *et al.*, (2005) ont montré que la vitesse de dégradation des phtalates est plus élevée aux deux limites de plages de pH ≥ 10 et ≤ 3 . Ils sont plus facilement enlevés de la structure des récipients à ces deux limites de pH. C'est dans les premiers instants (≤ 1 h) du contact entre la bouillie et les seaux de peinture que la migration est la plus basse lorsque le pH est neutre.

La Figure IV.4 présente les courbes d'iso-réponses de l'influence du temps en fonction de la température. Quel que soit le temps de contact ($t \leq 72$ h), les teneurs en phtalates totaux libérés par les seaux sont supérieurs à 50 $\mu\text{g/L}$ seulement quand la température dépasse 70°C. Les travaux d'autres auteurs montrent que la libération des phtalates des gamelles conservées pendant 10 jours est significativement grande à 60°C qu'à 40°C (J. Liu et al., 2020). On observe sur la Figure IV qu'aux températures inférieures à 10°C la teneur en phtalates totaux ayant migrés est globalement inférieure à 10 $\mu\text{g/L}$.

La condition minimale de migration des phtalates est obtenue pour un pH de 7, une température de 4°C et un temps de contact d'1h. Ces conditions ne sont pas en adéquation avec l'usage qui est faite quand on vend de la bouillie. Par conséquent, il est recommandé de ne plus utiliser les seaux de peintures en plastique pour la conservation de la bouillie chaude. L'eau de boisson a le plus souvent un pH neutre, donc peut être conservée pour une durée n'excédant pas 51 h (Figure IV.4), afin de garantir une teneur en phtalate totaux $< 10 \mu\text{g/L}$.

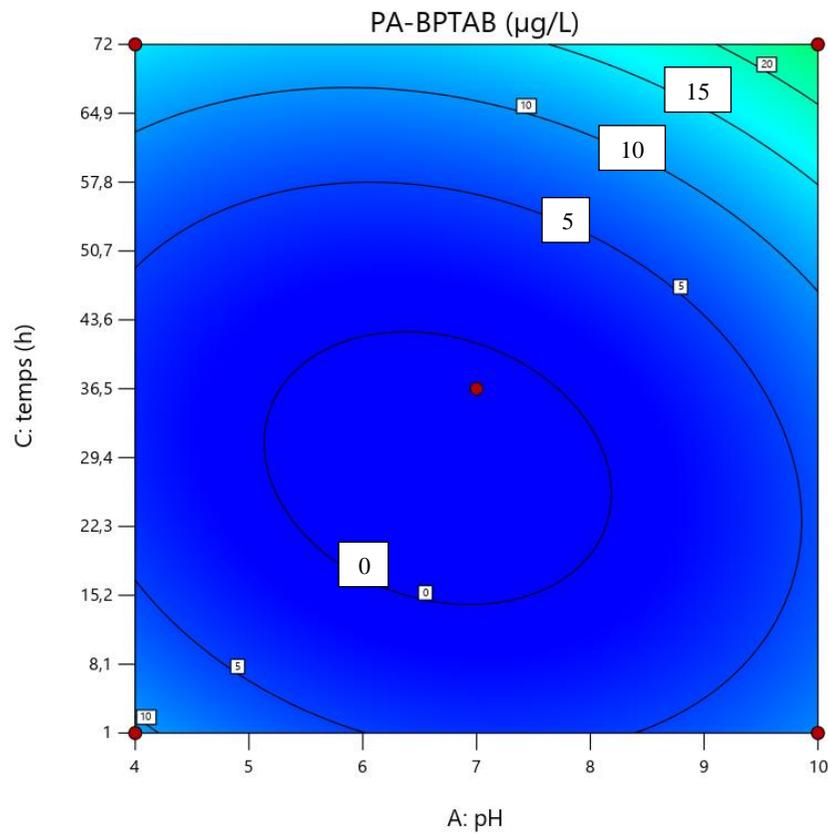


(1) Temps=36,5 h

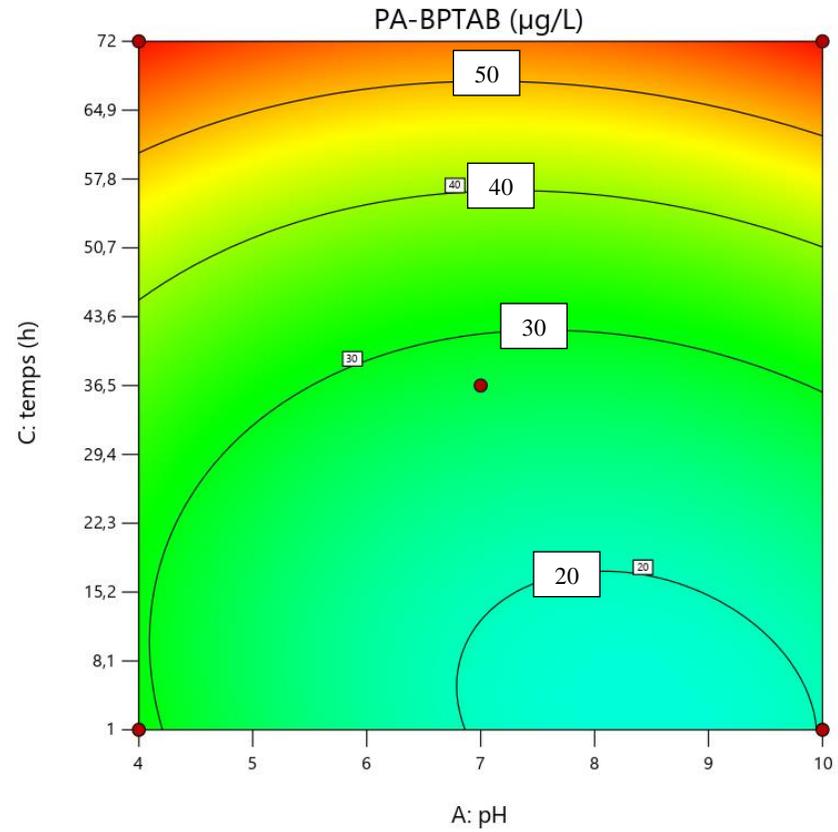


(2) Temps =72 h

Figure IV.2: Courbes d'iso-réponses de la température en fonction du pH aux temps (1) 35,5h et (2) 72h.



(1) Température = 4°



(2) Température=90°C

Figure IV.3: Courbes d'iso-réponses du temps en fonction du pH aux températures (1) 4°C et (2) 90°C.

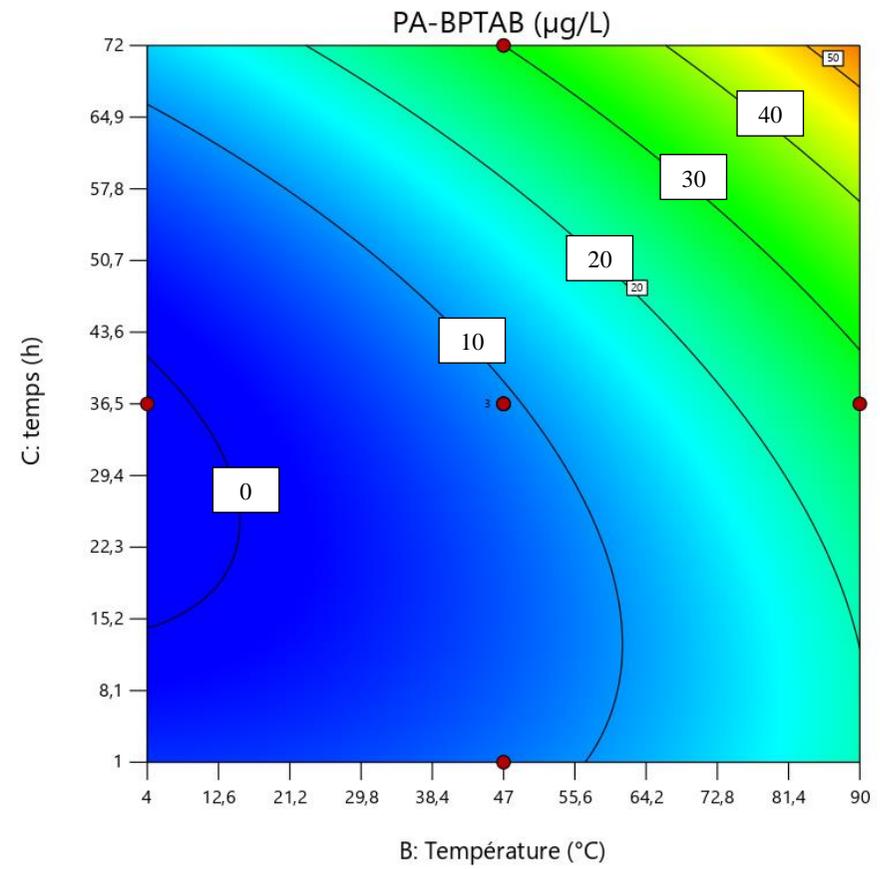
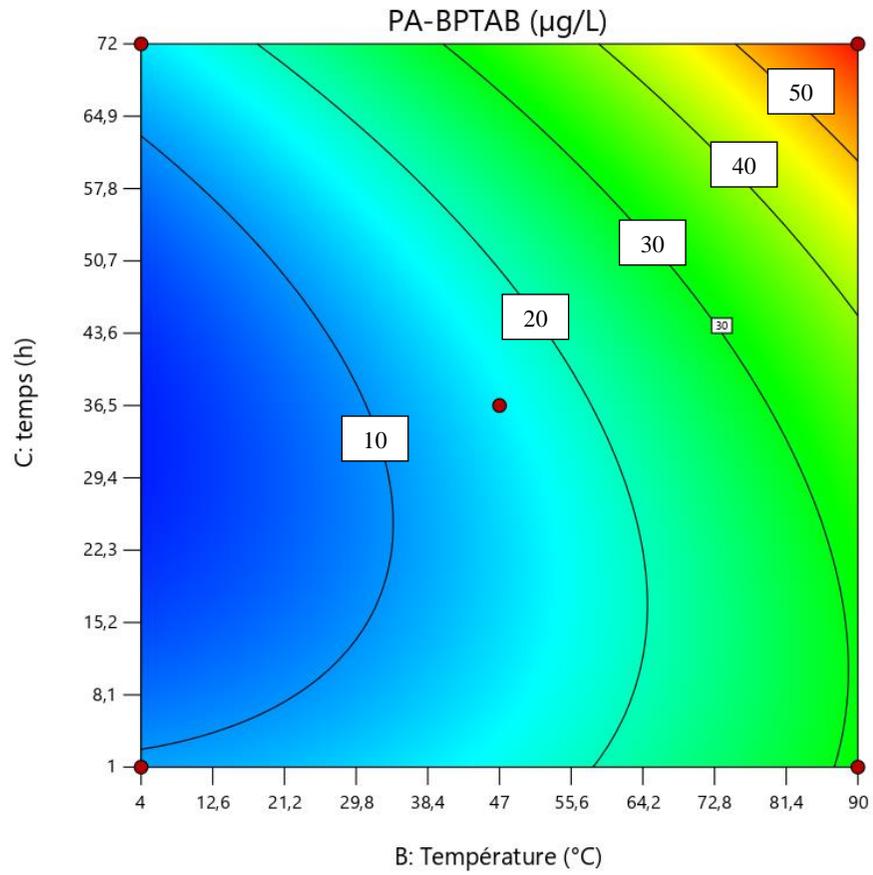


Figure IV.4: Courbes d'iso-réponses de la température en fonction du temps aux pH (1) 4 et (2) 7.

IV.3.5. Cinétique de migration des phtalates des seaux

La Figure IV.5 montre la cinétique de migration des phtalates totaux (PAEs) des seaux de peinture en plastique vers la bouillie (amidon 10 g/L). La teneur en phtalates totaux augmente rapidement dans la bouillie chaude les 40 premières minutes, ensuite croît très faiblement. Cette forte libération des phtalates pendant les premières minutes montre qu'il s'agit des phtalates de la surface du seau (revêtement). Ils diffusent rapidement au contact avec un aliment (Grinbaum *et al.*, 2019). Par contre ceux qui sont libérés au-delà d'une heure semblent être liés à la structure du polymère plastique (additifs de la formulation). Les études sur la libération des phtalates des bouteilles en PET avec la durée de stockage se déroulent souvent pendant plusieurs mois, voire un an. Elles révèlent que la libération des phtalates croît légèrement pendant les 50 premiers jours, puis suit une croissance exponentielle jusqu'à 365 jours (F. Luo *et al.*, 2008). Dans la présente étude, le temps de contact maximum est de 72h pour simuler ce qui est fait dans les ménages.

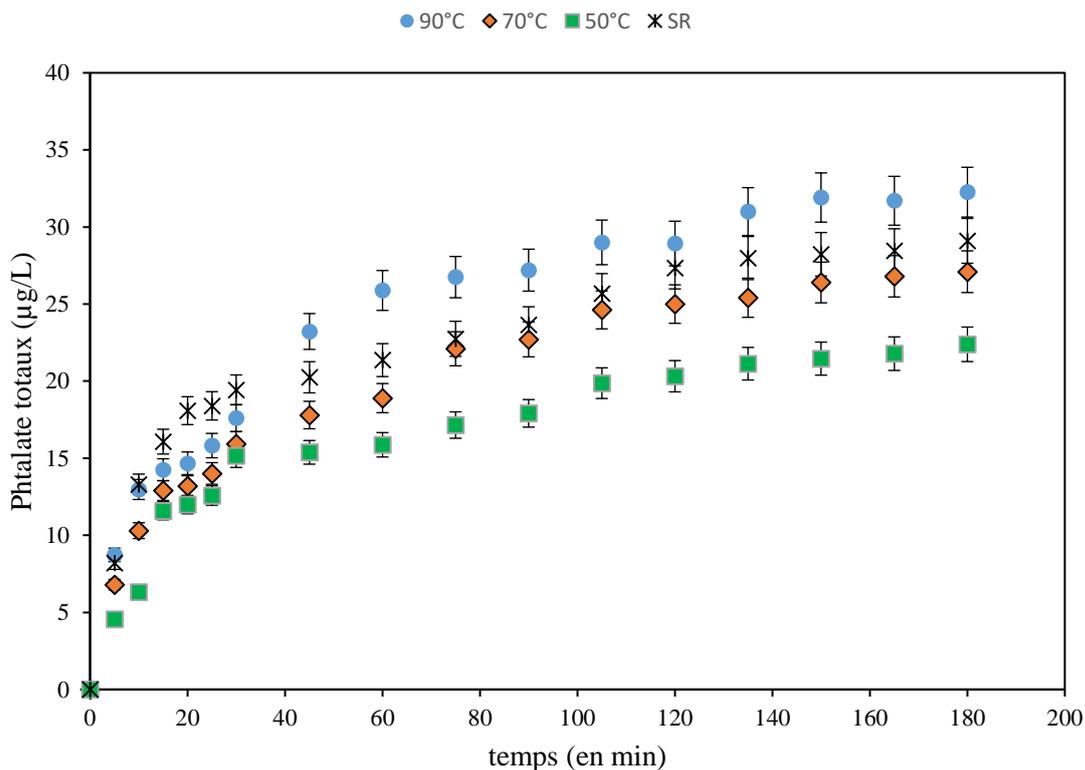


Figure IV.5: Evolution de la teneur en phtalates totaux (PA-BTAB) de la bouillie chaude conservée dans un seau de peinture en plastique.

Les résultats de l'étude cinétique ont été ajustés aux modèles de pseudo-premier ordre, pseudo-second ordre et de diffusion intra-particulaire. Le Tableau IV.14 présente les résultats de cette modélisation et les critères de validation des modèles. En observant le coefficient de

détermination R^2 et le R^2 ajusté le meilleur modèle c'est celui de pseudo-second ordre, suivi du pseudo-premier ordre. Les valeurs de ces modèles sont comparables, mais le modèle de pseudo-second ordre donne les meilleures valeurs de la concentration d'équilibre.

Tableau IV.14: Caractéristiques des modèles cinétiques.

Paramètre	50°C	70°C	90°C	SR	Critères de validation
$Ce_{(exp)}$ ($\mu\text{g/L}$)	23,0	28,0	33,0	30,0	
Modèle de pseudo-premier ordre					
k_1 (min^{-1}) $\times 10^2$	3,800	3,938	4,352	3,685	
$Ce_{(calculé)}$ ($\mu\text{g/L}$)	17,27	21,74	26,19	19,87	$\approx Ce_{(exp)}$
R^2	0,970	0,992	0,978	0,974	$> 0,9$
R^2 ajusté	0,920	0,960	0,976	0,913	$> 0,85$
AAD	-0,029	0,002	0,004	-0,040	$\approx 0,0$
BF	1,016	0,996	0,995	1,003	0,75 – 1,2
Af	1,102	1,041	1,038	1,068	0,75 – 1,2
Modèle de pseudo-second ordre					
k_2 ($\text{L } \mu\text{g}^{-1} \text{ min}^{-1}$) $\times 10^3$	1,586	1,264	1,077	1,689	
$Ce_{(calculé)}$ ($\mu\text{g/L}$)	24,81	30,49	36,36	31,25	$\approx Ce_{(exp)}$
R^2	0,992	0,993	0,993	0,991	$> 0,9$
R^2 ajusté	0,938	0,977	0,988	0,926	$> 0,85$
AAD	0,011	0,016	0,013	0,023	$\approx 0,0$
BF	0,985	0,979	0,980	0,972	0,75 – 1,2
Af	1,067	1,071	1,076	1,081	0,75 – 1,2
Modèle de diffusion intra-particulaire					
k_{ind} ($\mu\text{g L}^{-1} \text{ min}^{-0,5}$)	1,333	1,668	2,012	1,501	
C	4,916	5,57	6,61	9,323	
R^2	0,917	0,977	0,957	0,926	$> 0,9$
R^2 ajusté	0,928	0,39	0,923	0,946	$> 0,85$
AAD	-0,023	0,006	0,005	-0,002	$\approx 0,0$
BF	1,004	0,989	0,990	0,993	0,75 – 1,2
Af	1,122	1,063	1,066	1,073	0,75 – 1,2

$Ce_{(exp)}$: Concentration d'équilibre obtenue lors des expériences ; $Ce_{(Calculé)}$: Concentration d'équilibre calculé par le modèle ; SR : Situation réelle.

La concentration d'équilibre calculé par le modèle de pseudo-second ordre aux températures de 50, 70 et 90°C est respectivement de 24,81 $\mu\text{g/L}$, 30,49 $\mu\text{g/L}$ et 36,36 $\mu\text{g/L}$. Ces valeurs sont très proche des valeurs expérimentales (23 $\mu\text{g/L}$, 28 $\mu\text{g/L}$ et 33 $\mu\text{g/L}$), soit un biais maximal d'environ 10%. Tandis qu'avec le modèle de pseudo premier ordre le biais

atteint 24,9%. Cependant, avec le modèle de pseudo-second ordre, la constante de vitesse diminue avec la température. Ceci suppose que la vitesse. ($V \approx k_2 [PAE]^2$) est plus influencée par la concentration initiale en phtalate dans le matériau que par la constante de vitesse. On observe que la constante de vitesse diminue avec la température alors que les quantités libérées après 72h sont plus importantes. On peut en déduire qu'à température plus élevée il y a destruction de la structure du polymère. Les mécanismes mis en jeu ne sont pas les mêmes dans les deux cas.

Les résultats obtenus au cours de cette étude sont différents de ceux obtenus par certains auteurs. Les ordres de libération sont du pseudo-premier ou pseudo-zéro ordre. La différence avec les résultats de la présente étude réside sur le fait que les seaux de peinture ont une épaisseur bien plus grande que les gamelles utilisées par d'autres auteurs. L'étude de la cinétique en situation réelle (bouillie versée dans le seau) permet d'obtenir des résultats semblables à ceux des seaux découpés et mélangés à la bouillie (Tableau IV.14). Les valeurs obtenues sont proches de celles de la cinétique à 70°C. L'évolution de la température de la bouillie dans le seau fermé au cours de cette étude en situation réelle (SR) est présentée en Annexe 12. Elle montre qu'après 3h de temps la température reste supérieure à 50°C. Ceci est dû à l'épaisseur des seaux et la faible conductivité thermique du plastique. Les résultats de la cinétique en situation réelle permettent donc de confirmer les résultats de l'étude cinétique à différentes températures.

Conclusion partielle

Les quatre facteurs qui influencent plus la migration des phtalates des seaux de peinture en plastique vers les aliments sont le pH, la température, la nature de l'aliment et le temps de contact. Le plan factoriel complet de ces facteurs a permis de comprendre que leurs influences ne sont pas linéaires et qu'il faut prendre en compte les effets des interactions des paramètres pour comprendre le phénomène de migration des phtalates des seaux de peinture vers les aliments. Les conditions de migration minimale des phtalates des seaux ont pu être définies à pH neutre, un temps de contact inférieur à une heure, et une température inférieure ou égale à 4°C. Ces conditions sont différentes de celles de l'utilisation réelle des seaux de peinture pour la conservation des aliments chauds. L'étude a révélé qu'au-dessus de 70°C, aux pH $\leq 4,0$ et ≥ 10 , pour des temps de contact de plus de 2h, la migration des phtalates totaux devient supérieur à 50 $\mu\text{g/L}$. L'étude cinétique a révélé que la migration des phtalates dans la bouillie chaude est mieux décrite par un modèle de pseudo-second ordre.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'objectif général du présent travail était d'étudier le transfert des bisphénols et des phtalates des récipients plastiques vers les matrices alimentaires. L'enquête a révélé que les récipients plastiques de diverses origines étaient utilisés par tous les ménages indépendamment du niveau de formation ou de revenu. Les grandes familles de polymères y sont vendus, même ceux interdits dans plusieurs pays tel que le polycarbonate (PC). Le choix des biberons par la majorité des ménages se fait sur la base du prix le moins disant sans tenir compte des règles en matière de sécurité alimentaire. C'est ainsi que 43% des biberons étaient en PC et 22,2% n'avaient pas d'informations. Les usages des récipients dans les ménages ont montré que 36,4% de la population d'étude, sans distinction de couche sociale, utilisaient les anciens seaux de peinture pour le stockage de leurs aliments et boissons.

Les résultats de l'enquête ont montré la nécessité de quantifier les bisphénols et les phtalates dans les récipients plastiques et d'étudier la diffusion de ces substances dans les aliments. Trois méthodes d'analyse ont été développées pour l'analyse des bisphénols avant et après dérivation suivi de la chromatographie liquide couplée au spectromètre de masse en tandem. Toutes ces méthodes d'analyse des bisphénols sont rapides, présentent une bonne sensibilité et une spécificité. L'extraction en phase solide des bisphénols des boissons traditionnelles est meilleure que l'extraction liquide de ceux-ci. Une méthode a été développée pour l'analyse des phtalates totaux après dérivation. L'application de cette méthode a montré que tous les échantillons contenaient les phtalates. Les bisphénols ont été détectés dans une marque d'eaux minérale en sachet, une marque de biberon en PC, les whiskies en sachet et l'huile de palme brute. L'exposition alimentaire des bisphénols et des phtalates via les échantillons analysés s'est avérée faible par rapport aux seuils admis en Europe. Cependant, des inquiétudes résident quant aux ingestions cumulées et à l'action conjointe d'autres contaminants qui ne sont pas encore évaluées la littérature.

Les Phtalate totaux libérés par les seaux de peinture ont été quantifiés et l'influence des facteurs sur leur migration montrait que le pH, la température, la nature de l'aliment et le temps de contact sont ceux qui influencent le plus. L'étude a révélé qu'il faut considérer les effets des interactions des facteurs pour comprendre leurs influences sur cette migration. Les conditions de migration minimale des phtalates des seaux ont pu être définies à pH 7, temps de contact 1h, et une température de 4°C. Cette étude a révélé qu'au-dessus de 70°C, aux pH $\leq 4,0$ et ≥ 10 , pour des temps de contact de plus de 2h, la migration des phtalates totaux était supérieure à 50 $\mu\text{g/L}$. Enfin l'étude cinétique a montré que la migration des phtalates dans la bouillie chaude était mieux décrite par le modèle de pseudo-second ordre.

Au regard des résultats présentés, il est recommandé aux chercheurs des pays en voie de développement de mener des enquêtes à plus grande échelle, afin de collecter plus de données épidémiologiques et analytiques pour une meilleure appréciation de l'exposition. Les plateaux techniques des laboratoires doivent être relevés, et les pouvoirs publics doivent définir une politique nationale de contrôle de l'alimentarité des emballages alimentaires.

En guise de perspectives au présent travail, il serait important de :

- Elargir le travail sur d'autres emballages alimentaires tels que les seaux de chocolats ou de beurre en plastique ;
- Faire une analyse de la structure et la composition des seaux au cours de la migration.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abou Omar, T. F., Sukhn, C., Fares, S. A., Abiad, M. G., Habib, R. R., & Dhaini, H. R. (2017). Bisphenol A exposure assessment from olive oil consumption. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(7), 341. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6048-6>
- Ali, M., Jaghbir, M., Salam, M., Al-Kadamany, G., Damsees, R., & Al-Rawashdeh, N. (2019). Testing baby bottles for the presence of residual and migrated bisphenol A. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(1), 7. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-7126-0>
- Almeida, S., Raposo, A., Almeida-González, M., & Carrascosa, C. (2018). Bisphenol A: Food Exposure and Impact on Human Health: Bisphenol A and human health effect.... *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(6), 1503-1517. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12388>
- Arfaeina, L., Dobaradaran, S., Nasrzadeh, F., Shamsi, S., Poureshgh, Y., & Arfaeina, H. (2020). Phthalate acid esters (PAEs) in highly acidic juice packaged in polyethylene terephthalate (PET) container: Occurrence, migration and estrogenic activity-associated risk assessment. *Microchemical Journal*, 155, 104719. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104719>
- Arukwe, A., Eggen, T., & Möder, M. (2012). Solid waste deposits as a significant source of contaminants of emerging concern to the aquatic and terrestrial environments—A developing country case study from Owerri, Nigeria. *Science of The Total Environment*, 438, 94-102. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.08.039>
- Ates, E., & Mittendorf, K. (2011). *Analysis of Plasticizer Contaminants in Beverages and Milk using an Automated System Based on Turbulent-flow Chromatography Coupled to LC-MS/MS*. Thermo fisher Scientific. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Methods-&-Protocols/TG-52251-Analysis-Plasticizer-Contaminants-Beverages-Milk-TG52251-E.pdf>
- Ayofe, N. A., Oladoye, P. O., & Jegede, D. O. (2018, avril). Extraction and quantification of phthalates in plastic coca-cola soft drinks using high performance liquid chromatography (HPLC). *Chemistry International*, 85-90.
- Azizullah, A., Khan, S., Gao, G., & Gao, K. (2022). The interplay between bisphenol A and algae – A review. *Journal of King Saud University - Science*, 34(5), 102050. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102050>
- Baluka, S. A., & Rumbeiha, W. K. (2016). Bisphenol A and food safety: Lessons from developed to developing countries. *Food and Chemical Toxicology*, 92, 58-63. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.03.025>
- Belaid, K. D., & Kacha, S. (2011). Étude cinétique et thermodynamique de l'adsorption d'un colorant basique sur la sciure de bois. *Revue des sciences de l'eau*, 24(2), 131-144. <https://doi.org/10.7202/1006107ar>
- Bhunja, K., Sablani, S. S., Tang, J., & Rasco, B. (2013). Migration of Chemical Compounds from Packaging Polymers during Microwave, Conventional Heat Treatment, and Storage: Migration of chemical compounds.... *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(5), 523-545. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12028>
- Biles, J. E., McNeal, T. P., Begley, T. H., & Hollifield, H. C. (1997). Determination of Bisphenol-A in Reusable Polycarbonate Food-Contact Plastics and Migration to Food-Simulating Liquids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(9), 3541-3544. <https://doi.org/10.1021/jf970072i>
- Bocqué, M., Voirin, C., Lapinte, V., Caillol, S., & Robin, J.-J. (2016). Petro-based and bio-based plasticizers: Chemical structures to plasticizing properties. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 54(1), 11-33. <https://doi.org/10.1002/pola.27917>
- Bosnir, J., Puntaric, D., Galic, A., Skes, I., Dijanic, T., Klaric, M., Grgic, M., Curkovic, M., & Smit, Z. (2007). Migration of Phthalates from Plastic Containers into Soft Drinks and Mineral Water. *Food Technol. Biotechnol.*, 91-95.
- Brede, C., Fjeldal, P., Skjevraak, I., & Herikstad, H. (2003). Increased migration levels of bisphenol A from polycarbonate baby bottles after dishwashing, boiling and brushing. *Food Additives and Contaminants*, 20(7), 684-689. <https://doi.org/10.1080/0265203031000119061>
- British Standard. (2002). *Materials and articles in contact with foodstuffs—Plastics—Part 1: Guide to the selection of conditions and test methods for overall migration*.
- Caban, M., & Stepnowski, P. (2020). The quantification of bisphenols and their analogues in wastewaters and surface water by an improved solid-phase extraction gas

- chromatography/mass spectrometry method. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(23), 28829-28839. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09123-2>
- Cao, X.-L., & Corriveau, J. (2008). Migration of Bisphenol A from Polycarbonate Baby and Water Bottles into Water under Severe Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6378-6381. <https://doi.org/10.1021/jf800870b>
- Cardama, A. L., de Quirós, A. R.-B., & Sendón, R. (2017). Analysis of Bisphenol A in Beverages and Food Packaging by High- Performance Liquid Chromatography. *Food & Nutrition Journal*, 5(5). <https://doi.org/10.29011/2575-7091.100043>
- Chan, J. (2012). *Rapid, Sensitive and Robust detection of Phthalates in food using GC-MS or LC-MS*. Agilent Technologies.
- Cherif Lahimer, M., Ayed, N., Horriche, J., & Belgaied, S. (2017). Characterization of plastic packaging additives : Food contact, stability and toxicity. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1938-S1954. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.07.022>
- Cordle, M., Elliott, L., Elliott, T., Kemp, D. S., Sherrington, D. C., & Woods, O. (2019). *A Deposit Refund System for the Czech Republic*. 104.
- Couto, G. R., Dias, V., & Oliveira, I. de J. (2020). Benefits of exclusive breastfeeding : An integrative review. *Nursing Practice Today*. <https://doi.org/10.18502/npt.v7i4.4034>
- Cunha, S. C., Almeida, C., Mendes, E., & Fernandes, J. O. (2011). Simultaneous determination of bisphenol A and bisphenol B in beverages and powdered infant formula by dispersive liquid–liquid micro-extraction and heart-cutting multidimensional gas chromatography-mass spectrometry. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 28(4), 513-526. <https://doi.org/10.1080/19440049.2010.542551>
- Dean, A. M., Morris, M., Stufken, J., & Bingham, D. (Éds.). (2015). *Handbook of design and analysis of experiments*. CRC Press, a Chapman & Hall book.
- Del Carlo, M., Pepe, A., Sacchetti, G., Compagnone, D., Mastrocola, D., & Cichelli, A. (2008). Determination of phthalate esters in wine using solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Food Chemistry*, 111(3), 771-777. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.065>
- Deng, P., Zhan, Y., Chen, X., & Zhong, D. (2012). Derivatization methods for quantitative bioanalysis by LC–MS/MS. *Bioanalysis*, 4(1), 49-69. <https://doi.org/10.4155/bio.11.298>
- Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J.-P., Giudice, L. C., Hauser, R., Prins, G. S., Soto, A. M., Zoeller, R. T., & Gore, A. C. (2009). Endocrine-Disrupting Chemicals : An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocrine Reviews*, 30(4), 293-342. <https://doi.org/10.1210/er.2009-0002>
- Djuissi Tekam, D., Vogue, N., Nkfusai, C. N., Ebode Ela, M., & Cumber, S. N. (2019). Accès à l'eau potable et à l'assainissement: Cas de la commune d'arrondissement de Douala 5ème(Cameroun). *Pan African Medical Journal*, 33. <https://doi.org/10.11604/pamj.2019.33.244.17974>
- Dreolin, N., Aznar, M., Moret, S., & Nerin, C. (2019). Development and validation of a LC–MS/MS method for the analysis of bisphenol a in polyethylene terephthalate. *Food Chemistry*, 274, 246-253. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.109>
- Ehlert, K. A., Beumer, C. W. E., & Groot, M. C. E. (2008). Migration of bisphenol A into water from polycarbonate baby bottles during microwave heating. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 25(7), 904-910. <https://doi.org/10.1080/02652030701867867>
- El-Dars, F., Hashim, H. A., & Ameen, S. M. (2018). *Determination of Bisphenol A (BPA) levels in some preserved food Products in Egypt*. 439-450.
- Elobeid, M., Almarhoon, Z., Virk, P., Hassan, Z., Omer, S., ElAmin, M., Daghestani, M., & AlOlayan, E. (2012). Bisphenol A Detection in Various Brands of Drinking Bottled Water in Riyadh, Saudi Arabia Using Gas Chromatography/Mass Spectrometer. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11(3), 455-459. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v11i3.15>
- Fan, Y.-Y., Zheng, J.-L., Ren, J.-H., Luo, J., Cui, X.-Y., & Ma, L. Q. (2014). Effects of storage temperature and duration on release of antimony and bisphenol A from polyethylene terephthalate drinking water bottles of China. *Environmental Pollution*, 192, 113-120. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.05.012>

- Farahani, H., Norouzi, P., Dinarvand, R., & Ganjali, M. R. (2007). Development of dispersive liquid–liquid microextraction combined with gas chromatography–mass spectrometry as a simple, rapid and highly sensitive method for the determination of phthalate esters in water samples. *Journal of Chromatography A*, 1172(2), 105-112. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.10.001>
- Fei, F., Liu, Z., Chen, Q., & Liu, F. (2012). Kinetic Migration of Diethylhexyl Phthalate in Functional PVC Films. *Plasma Science and Technology*, 14(2), 152-156. <https://doi.org/10.1088/1009-0630/14/2/13>
- Food authority. (2015). *FOOD GRADE PACKAGING*. NSW Government. <https://www.food-authority.nsw.gov.au>
- Gake, B., Moussa, D., Abessolo Abessolo, H., Maidadi Foudi, M., Oumarou Goni, H., Adamou Oumar, P., Akwah, L., Makoge, V., Gake, N. M., & Lombart, J. P. (2022). Bacteriological Analysis of Sachet Water Sold in Some Municipalities Markets of Garoua Urbain City, Cameroon. *Journal of Environment Pollution and Human Health*, 10(1), 6-12. <https://doi.org/10.12691/jephh-10-1-2>
- Gao, G., Chen, H., Chai, Y., Jin, L., Liu, X., & Lu, C. (2019). A method based on precolumn derivatization and ultra high performance liquid chromatography with high-resolution mass spectrometry for the simultaneous determination of phthalimide and phthalic acid in tea. *Journal of Separation Science*, 42(7), 1304-1311. <https://doi.org/10.1002/jssc.201801128>
- Giuliani, A., Zuccarini, M., Cichelli, A., Khan, H., & Reale, M. (2020). Critical Review on the Presence of Phthalates in Food and Evidence of Their Biological Impact. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(16), 5655. <https://doi.org/10.3390/ijerph17165655>
- Goupy, J. (2013). *Introduction aux plans d'expériences : Avec applications* (5e éd). « l'Usine nouvelle » Dunod.
- Grinbaum, M., Camponovo, A., Desseigne, J.-M., Poupault, P., Meisterman, E., Chatelet, B., Davaux, F., & Lempereur, V. (2019). Phthalates : Potential sources and control measures. *BIO Web of Conferences*, 12, 04008. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191204008>
- Guo, L., & Lee, H. K. (2013). Vortex-assisted micro-solid-phase extraction followed by low-density solvent based dispersive liquid–liquid microextraction for the fast and efficient determination of phthalate esters in river water samples. *Journal of Chromatography A*, 1300, 24-30. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.01.030>
- Hadjmohammadi, M. R., Fatemi, M. H., & Taneh, T. (2011). Coacervative extraction of phthalates from water and their determination by high performance liquid chromatography. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 8(1), 100-106. <https://doi.org/10.1007/BF03246206>
- Hahladakis, J. N., Velis, C. A., Weber, R., Iacovidou, E., & Purnell, P. (2018). An overview of chemical additives present in plastics : Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *Journal of Hazardous Materials*, 344, 179-199. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.10.014>
- Hao, P.-P. (2020). Determination of bisphenol A in barreled drinking water by a SPE–LC–MS method. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 55(6), 697-703. <https://doi.org/10.1080/10934529.2020.1732764>
- Harper, C. A. (Éd.). (2000). *Modern plastics handbook*. McGraw-Hill.
- Harper, C. A., & Petrie, E. M. (2003). *Plastics materials and processes : A concise encyclopedia*. Wiley-Interscience.
- Healthy Building Network. (2009). *Bisphenol A in Building Materials : High Performance Paint Coatings*. <https://prod-hml.s3.amazonaws.com/resources/Bisphenol-A-in-Building-Materials-High-Performance-Paint-Coatings.pdf>
- Hermabessiere, L., Dehaut, A., Paul-Pont, I., Lacroix, C., Jezequel, R., Soudant, P., & Duflos, G. (2017). Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms : A review. *Chemosphere*, 182, 781-793. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.096>
- Hermann, G., Patience, B. K. A., Irène, G. S., Joséphine, M. A. E., Christian, G. N. F., & Pauline, M. (2018). Physico-chemical and bacteriological characterization of sachet water sold in Yaounde City, Cameroon. *African Journal of Biotechnology*, 17(11), 343-349. <https://doi.org/10.5897/AJB2017.16075>

- Hoekstra, E. J., & Simoneau, C. (2013). Release of Bisphenol A from Polycarbonate—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(4), 386-402. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.536919>
- Huang, R., Liu, Z., Yuan, S., Yin, H., Dang, Z., & Wu, P. (2017). Worldwide human daily intakes of bisphenol A (BPA) estimated from global urinary concentration data (2000–2016) and its risk analysis. *Environmental Pollution*, 230, 143-152. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.06.026>
- Ibrahim, N., Osman, R., Abdullah, A., & Saim, N. (2014). Determination of Phthalate Plasticisers in Palm Oil Using Online Solid Phase Extraction-Liquid Chromatography (SPE-LC). *Journal of Chemistry*, 2014, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2014/682975>
- Ingenbleek, L., Hu, R., Pereira, L. L., Paineau, A., Colet, I., Koné, A. Z., Adegboye, A., Hossou, S. E., Dembélé, Y., Oyedele, A. D., Kisito, C. S. K. J., Eyangoh, S., Verger, P., Leblanc, J.-C., & Le Bizec, B. (2019). Sub-Saharan Africa total diet study in Benin, Cameroon, Mali and Nigeria : Pesticides occurrence in foods. *Food Chemistry: X*, 2, 100034. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2019.100034>
- Ingenbleek, L., Jazet, E., Dzossa, A. D., Adebayo, S. B., Ogungbangbe, J., Dansou, S., Diallo, Z. J., Kouebou, C., Adegboye, A., Hossou, E., Coulibaly, S., Eyangoh, S., Le Bizec, B., Verger, P., Kamanzi, J., Merten, C., & Leblanc, J.-C. (2017). Methodology design of the regional Sub-Saharan Africa Total Diet Study in Benin, Cameroon, Mali and Nigeria. *Food and Chemical Toxicology*, 109, 155-169. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.08.017>
- Ingenbleek, L., Sulyok, M., Adegboye, A., Hossou, S. E., Koné, A. Z., Oyedele, A. D., Kisito, C. S. K. J., Dembélé, Y. K., Eyangoh, S., Verger, P., Leblanc, J.-C., Le Bizec, B., & Krska, R. (2019). Regional Sub-Saharan Africa Total Diet Study in Benin, Cameroon, Mali and Nigeria Reveals the Presence of 164 Mycotoxins and Other Secondary Metabolites in Foods. *Toxins*, 11(1), 54. <https://doi.org/10.3390/toxins11010054>
- Inna, S., Alvine, E. E. C., Henriette, A. Z., & Joseph, S. (2020). Enhancing of Copper (II) Adsorption Efficiency by Mixing Plantain and Orange Peelings as Bio-Sorbent Support. *American Journal of Applied Sciences*, 17(1), 218-230. <https://doi.org/10.3844/ajassp.2020.218.230>
- INS. (2014). *QUATRIEME ENQUETE CAMEROUNAISE AUPRES DES MENAGES : MANUEL DE L'AGENT ENQUETEUR*. Institut Nationale de Statistique du Cameroun.
- INS. (2015). *Quatrième enquête camerounaise auprès des ménages : Tendances, profil et déterminants de la pauvreté au Cameroun entre 2001-2014*. Institut Nationale de Statistique du Cameroun. <https://www.statistics-cameroon.org>
- INS. (2020). *Enquête Complémentaire à la quatrième Enquête Camerounaise Auprès des Ménages (EC-ECAM 4) : MONOGRAPHIE DE LA REGION D'ENQUETE DU LITTORAL SANS DOUALA*. Institut Nationale de Statistique du Cameroun. https://ins-cameroun.cm/wp-content/uploads/2022/07/RAPPORT-MONOGRAPHIE-LITTORAL-SANS-DLA_VF-1.pdf
- Jiang, S., Liu, H., Zhou, S., Zhang, X., Peng, C., Zhou, H., Tong, Y., & Lu, Q. (2020). Association of bisphenol A and its alternatives bisphenol S and F exposure with hypertension and blood pressure: A cross-sectional study in China. *Environmental Pollution*, 257, 113639. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113639>
- Josh, S., Devi, S., Balachandran, S., Pradeep., S., & Vijayalekshmy, A. (2016). Kinetics Study of Plasticizer Migration from Commercial PVC Blood Storage Bag into Aqueous Organic Solvents. *Journal of the Academy of Chemistry Teachers*, 1-5.
- Kanouo, B. M. D., Tsobeng, M. D., Fonteh, M. F., Sagne, J. M., Ndongsong, B. L., & Sobze, M. S. (2022). Diagnostic en vue de l'élaboration d'une stratégie municipale concertée pour l'accès à l'eau potable et l'assainissement: Cas de la commune de Kye-Ossi au Sud-Cameroun. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(7), 120-130. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v15i7.12S>
- Karam, S. (2004). *Application de la méthodologie des plans d'expériences et de l'analyse de données à l'optimisation des processus de dépôt*. Thèse de doctorat de l'Université de Limoges.
- Kim, M., Li, D., Shim, W. J., Oh, J.-R., & Park, J. (2007). *Simultaneous Gas Chromatography-Mass Spectrometric Determination of Total and Individual Phthalic Esters Utilizing Alkaline Hydrolysis and Silyl Derivatization Technique*. <https://doi.org/10.5012/bkcs.2007.28.3.432>

- Krevelen, D. W. van, & Nijenhuis, K. te. (2009). *Properties of polymers: Their correlation with chemical structure: their numerical estimation and prediction from additive group contributions* (4th, completely rev. ed éd.). Elsevier.
- Kubwabo, C., Kosarac, I., Stewart, B., Gauthier, B. R., Lalonde, K., & Lalonde, P. J. (2009). Migration of bisphenol A from plastic baby bottles, baby bottle liners and reusable polycarbonate drinking bottles. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 26(6), 928-937. <https://doi.org/10.1080/02652030802706725>
- Lamb, A., Roberts, D., & Cajocariu, C. (2018). *Routine determination of phthalates in vegetable oil by single quadrupole GC-MS*. Thermo fisher Scientific.
- Lang, I. A. (2008). Association of Urinary Bisphenol A Concentration With Medical Disorders and Laboratory Abnormalities in Adults. *JAMA*, 300(11), 1303. <https://doi.org/10.1001/jama.300.11.1303>
- Larsson, K., Lindh, C. H., Jönsson, B. A., Giovanoulis, G., Bibi, M., Bottai, M., Bergström, A., & Berglund, M. (2017). Phthalates, non-phthalate plasticizers and bisphenols in Swedish preschool dust in relation to children's exposure. *Environment International*, 102, 114-124. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.02.006>
- Lau, T. K., Chu, W., & Graham, N. (2005). The degradation of endocrine disruptor di-n-butyl phthalate by UV irradiation: A photolysis and product study. *Chemosphere*, 60(8), 1045-1053. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.01.022>
- Leena, O., Hassn, A., & Abdalla, E. (2016). Determination of bisphenol A in exposed bottled water samples to direct sun light using multi walled carbon nanotubes as solid phase extraction sorbent. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 8(7), 51-57. <https://doi.org/10.5897/JECE2015.0363>
- Li, G., Qiu, Y., Ruan, Y., Long, M., & Xia, Z. (2020). Rapid determination of bisphenol A in environmental water by solid phase extraction-ultra performance convergence chromatography. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 446(3), 032081. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/446/3/032081>
- Li, Y., Li, A. C., Shi, H., Zhou, S., Shou, W. Z., Jiang, X., Naidong, W., & Lauterbach, J. H. (2005). The use of chemical derivatization to enhance liquid chromatography/tandem mass spectrometric determination of 1-hydroxypyrene, a biomarker for polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 19(22), 3331-3338. <https://doi.org/10.1002/rcm.2196>
- Li, Z., Xue, F., Peng, C., Kuang, H., Ding, T., Xu, C., & Sheng, C. (2011, avril). Simultaneous Determination of Nine Types of Phthalate Residues in Commercial Milk Products Using HPLC-ESI-MS-MS. *Journal of Chromatographic Science*, 339-343.
- Liu, J., Li, C., Yang, F., Zhao, N., Lv, S., Liu, J., Chen, L., He, Z., Zhang, Y., & Wang, S. (2020). Assessment of migration regularity of phthalates from food packaging materials. *Food Science & Nutrition*, 8(10), 5738-5747. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1863>
- Liu, S., Xie, Q., Chen, J., Sun, J., He, H., & Zhang, X. (2013). Development and comparison of two dispersive liquid-liquid microextraction techniques coupled to high performance liquid chromatography for the rapid analysis of bisphenol A in edible oils. *Journal of Chromatography A*, 1295, 16-23. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.04.054>
- Luo, F., Yang, C., Chen, Y., Shukla, P., Tang, L., Wang, L. X., & Wang, Z. J. (2008). Reversal of Chronic Inflammatory Pain by Acute Inhibition of Ca²⁺/Calmodulin-Dependent Protein Kinase II. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 325(1), 267-275. <https://doi.org/10.1124/jpet.107.132167>
- Luo, Q., Liu, Z., Yin, H., Dang, Z., Wu, P., Zhu, N., Lin, Z., & Liu, Y. (2018a). Migration and potential risk of trace phthalates in bottled water: A global situation. *Water Research*, 147, 362-372. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.10.002>
- Luo, Q., Liu, Z., Yin, H., Dang, Z., Wu, P., Zhu, N., Lin, Z., & Liu, Y. (2018b). Migration and potential risk of trace phthalates in bottled water: A global situation. *Water Research*, 147, 362-372. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.10.002>
- Ma, J.-K., Wei, S.-L., Tang, Q., & Huang, X.-C. (2022). A novel enrichment and sensitive method for simultaneous determination of 15 phthalate esters in milk powder samples. *LWT*, 153, 112426. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112426>

- Maduka Ignatius, C., Ezeonu Francis, E., Neboh Emeka, E., Shu Elvis, N., & Ikekpeazu Ebele, J. (2010). BPA and Environmental Estrogen in Potable Water Sources in Enugu Municipality, South-East, Nigeria. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 85(5), 534-537. <https://doi.org/10.1007/s00128-010-0111-0>
- Makinwa, T. T., & Uadia, P. O. (2015). A Survey of the Level of Bisphenol A (BPA) in Effluents, Soil Leachates, Food Samples, Drinking Water and Consumer Products in South-Western Nigeria. *World Environment*, 135-139.
- Maragou, N. C., Makri, A., Lampi, E. N., Thomaidis, N. S., & Koupparis, M. A. (2008). Migration of Bisphenol A from polycarbonate baby bottles under real use conditions. *Food Additives and Contaminants*, 25(03), 373-383. <https://doi.org/10.1080/02652030701509998>
- Marsh, K., & Bugusu, B. (2007). Food Packaging? Roles, Materials, and Environmental Issues. *Journal of Food Science*, 72(3), R39-R55. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00301.x>
- Mavuka, R., & Shepard Ndlela. (2017). *Empty pesticide container management: Which way Zimbabwe?* <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.24391.50084>
- Mayor, M., & Bourrié, G. (2010). *Validation d'une méthode de chimie analytique*. 18.
- Mbodiam, B. (2017, octobre). La bataille des eaux minérales au Cameroun. *Investir au Cameroun*, 66, 36.
- Meecker, J. D., Sathyanarayana, S., & Swan, S. H. (2009). Phthalates and other additives in plastics : Human exposure and associated health outcomes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2097-2113. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0268>
- Melingui, B., Assene, M.-N., & Nzali, A. (2021). La personnalité perçue des marques des eaux minérales en milieu étudiant au Cameroun : Une approche combinatoire. *Revue africaine de management*, 6(3), 187-206. <https://doi.org/10.48424/IMIST.PRSM/ram-v6i3.23442>
- MINSANTE. (2018). *PLAN NATIONAL DE REPOSE A L'EPIDEMIE DE CHOLERA AU CAMEROUN* (p. 51) [Rapport épidémiologique]. Ministère de la Santé Publique du Cameroun. <https://www.minsante.cm.gov>
- Mohagir, A. M., Bup, N. D., Abi, C. F., Kamga, R., & Kapseu, R. C. (2015). Optimisation of Decolourisation Conditions of Crude Shea (<i>Vitellaria paradoxa</i> Gaertner F) Butter : Black Type. *Advances in Chemical Engineering and Science*, 05(04), 515-525. <https://doi.org/10.4236/aces.2015.54054>
- Mostafa, A. R., Soliman, E. A., Mohy El-Din, M. S., & Abd El-Naeem, G. (2012). *Survey of bisphenol A in infant feeding baby bottles in the local market of egypt*. <http://www.researchgate.net/publication/259873145>
- Nanjundeswaraswamy, T. S., & Divakar, S. (2021). Determination of sample size and sampling methods in applied research. *Proceedings on Engineering Sciences*, 3(1), 25-32. <https://doi.org/10.24874/PES03.01.003>
- Nemati, M., Nofozi, S., Ahmadi, S., & Monajjemzadeh, F. (2018). Quality Control of the Migration of Bisphenol a from Plastic Packaging into Iranian Brands of Food Grade Oils. *Pharmaceutical Sciences*, 24(2), 141-147. <https://doi.org/10.15171/PS.2018.21>
- Net, S., Delmont, A., Sempéré, R., Paluselli, A., & Ouddane, B. (2015). Reliable quantification of phthalates in environmental matrices (air, water, sludge, sediment and soil): A review. *Science of The Total Environment*, 515-516, 162-180. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.013>
- Nilsson, N., Schjøth-Eskesen, J., Malmgren-Hansen, B., & Jacobsen, E. (2016). *Determination of Migration Rates for Certain Phthalates*. The Danish Environmental Protection Agency.
- Niu, Y., Zhang, J., Wu, Y., & Shao, B. (2011). Simultaneous determination of bisphenol A and alkylphenol in plant oil by gel permeation chromatography and isotopic dilution liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218(31), 5248-5253. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.06.005>
- Niu, Y., Zhang, J., Wu, Y., & Shao, B. (2012). Analysis of Bisphenol A and Alkylphenols in Cereals by Automated On-line Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(24), 6116-6122. <https://doi.org/10.1021/jf301401k>

- Nkengfack, H., Noubissi Domguia, E., & Kamajou, F. (2017). *ANALYSE DES DETERMINANTS DE L'OFFRE DE L'EAU POTABLE AU CAMEROUN*. HAL Archives Ouvertes; <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01510111>.
- Notardonato, I., Passarella, S., Ianiri, G., Di Fiore, C., Russo, M. V., & Avino, P. (2020). Analytical Scheme for Simultaneous Determination of Phthalates and Bisphenol A in Honey Samples Based on Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Followed by GC-IT/MS. Effect of the Thermal Stress on PAE/BP-A Levels. *Methods and Protocols*, 3(1), 23. <https://doi.org/10.3390/mps3010023>
- Notardonato, I., Protano, C., Vitali, M., Bhattacharya, B., & Avino, P. (2019). A Method Validation for Simultaneous Determination of Phthalates and Bisphenol A Released from Plastic Water Containers. *Applied Sciences*, 9(14), 2945. <https://doi.org/10.3390/app9142945>
- Noureddine El Moussawi, S., Ouaini, R., Matta, J., Chébib, H., Cladière, M., & Camel, V. (2019). Simultaneous migration of bisphenol compounds and trace metals in canned vegetable food. *Food Chemistry*, 288, 228-238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.116>
- Nyarko, A., & Adu, K. (2016). Impact of Sachet Water and Plastic Bottle Waste on Agricultural Land in the Ada East District of Ghana. *Asian Research Journal of Agriculture*, 1(3), 1-10. <https://doi.org/10.9734/ARJA/2016/28461>
- Onn Wong, K., Woon Leo, L., & Leng Seah, H. (2005). Dietary exposure assessment of infants to bisphenol A from the use of polycarbonate baby milk bottles. *Food Additives and Contaminants*, 22(3), 280-288. <https://doi.org/10.1080/02652030500077502>
- Ortega-Zamora, C., González-Sálamo, J., Varela-Martínez, D. A., González-Curbelo, M. Á., & Hernández-Borges, J. (2020). Extraction of Phthalic Acid Esters and Di(2-ethylhexyl) Adipate from Tap and Waste Water Samples Using Chromabond® HLB as Sorbent Prior to Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis. *Separations*, 7(2), 21. <https://doi.org/10.3390/separations7020021>
- Ostrovsky', I., Cabala, R., Kubinec, R., Górová, R., Blaško, J., Kubincová, J., Rímnáková, L., & Lorenz, W. (2010, juin 9). Determination of phthalate sum in fatty food by gas chromatography. *Food Chemistry*, 392-395.
- Paju, J., Pehk, T., & Christjanson, P. (2009). Structure of phenol-formaldehyde polycondensates. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*, 58(1), 45. <https://doi.org/10.3176/proc.2009.1.08>
- Pardo-Mates, N., Serrano, F., & Nunez, O. (2017). Determination of phthalic acid esters in drinking water and olive oil by ultra-high performance liquid chromatography electrospray-tandem mass spectrometry: Study of phthalate migration from plastic bottles to drinking water at different domestic exposure conditions. *Trends in Chromatography*, 28-48.
- Patil, H. (2012). *Polymers: General Properties and Applications*. Ramaiah School of Advanced Studies - Bangalore. <https://fr.scribd.com/document/444547219/Session-11-Polymers-General-Properties-and-Applications-pdf>
- Pedersen, Søren Hvilsted, & Jens Højslev Petersen. (2015). *Migration of bisphenol A from polycarbonate plastic of different qualities*. The Danish Environmental Protection Agency.
- Ponka, R., Bouba, A., Fokou, E., Beaucher, E., Piot, M., Leonil, J., & Gaucheron, F. (2015). Nutritional Composition of Five Varieties of Pap Commonly Consumed in Maroua (Far-North, Cameroon). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 65(3), 183-190. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2015-0016>
- Pouokam, G. B., Ajaezi, G. C., Mantovani, A., Orisakwe, O. E., & Frazzoli, C. (2014). Use of Bisphenol A-containing baby bottles in Cameroon and Nigeria and possible risk management and mitigation measures: Community as milestone for prevention. *Science of The Total Environment*, 481, 296-302. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.02.026>
- Quirós-Alcalá, L., Hansel, N. N., McCormack, M., Calafat, A. M., Ye, X., Peng, R. D., & Matsui, E. C. (2020). Exposure to bisphenols and asthma morbidity among low-income urban children with asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, S009167492030751X. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.05.031>
- Rastkari, N., Zare Jeddi, M., Center for Air Pollution Research, Institute for Environmental Research, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, Yunesian, M., Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical

- Sciences, Tehran, Iran, Ahmadkhaniha, R., & Department of Human Ecology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. (2017). The Effect of Storage Time, Temperature and Type of Packaging on Release of Phthalate Ester into Packed Acidic Juice. *Food Technology and Biotechnology*, 55(4). <https://doi.org/10.17113/ftb.55.04.17.5128>
- Regueiro, J., Breidbach, A., & Wenzl, T. (2015). Derivatization of bisphenol A and its analogues with pyridine-3-sulfonyl chloride : Multivariate optimization and fragmentation patterns by liquid chromatography/Orbitrap mass spectrometry: Bisphenol derivatization with pyridine-3-sulfonyl chloride. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 29(16), 1473-1484. <https://doi.org/10.1002/rcm.7242>
- Regueiro, J., & Wenzl, T. (2015). Determination of bisphenols in beverages by mixed-mode solid-phase extraction and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1422, 230-238. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.10.046>
- Rochester JR, Bolden AL.(2015).Bisphenol S and F:a systematic review and comparison of the hormonal activity of bisphenol A substitutes. *Environ Health Perspect* 123(7):643–650, PMID: 257-75505, <https://doi.org/10.1289/ehp.1408989>.
- Rodier, J., Legube, B., & Merlet, N. (2009). *L'analyse de l'eau*. Dunod.
- Rodriguez, R., Castillo, E., & Sinuco, D. (2019). Validation of an HPLC Method for Determination of Bisphenol-A Migration from Baby Feeding Bottles. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2019, 1-6. <https://doi.org/10.1155/2019/1989042>
- Russo, G., Laneri, S., Di Lorenzo, R., Neri, I., Dini, I., Ciampaglia, R., & Grumetto, L. (2022). Monitoring of Pollutants Content in Bottled and Tap Drinking Water in Italy. *Molecules*, 27(13), 3990. <https://doi.org/10.3390/molecules27133990>
- Saint-Laurent, L., & Rhainds, M. (2004). Les phtalates : état des connaissances sur la toxicité et l'exposition de la population générale. Institut national de santé publique- québec.
- Santa, T., Al-Dirbashi, O., & Fukushima, T. (2007). *Derivatization reagents in liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry for biomedical analysis*. Drug Discov Ther. <http://www.ddtjournal.com>
- Santillana, M. I., Ruiz, E., Nieto, M. T., Bustos, J., Maia, J., Sendón, R., & Sánchez, J. J. (2011). Migration of bisphenol A from polycarbonate baby bottles purchased in the Spanish market by liquid chromatography and fluorescence detection. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 28(11), 1610-1618. <https://doi.org/10.1080/19440049.2011.589036>
- Schierow, L.-J., & Mikyung Lee, M. (2008). *Phthalates in Plastics and Possible Human Health Effects*. CRS report for congress.
- Selvaraj, K. K., Shanmugam, G., Sampath, S., Joakim Larsson, D. G., & Ramaswamy, B. R. (2014). GC-MS determination of bisphenol A and alkylphenol ethoxylates in river water from India and their ecotoxicological risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 99, 13-20. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.09.006>
- Serra, H., Beausoleil, C., Habert, R., Minier, C., Picard-Hagen, N., & Michel, C. (2019). Evidence for Bisphenol B Endocrine Properties : Scientific and Regulatory Perspectives. *Environmental Health Perspectives*, 127(10), 106001. <https://doi.org/10.1289/EHP5200>
- Shah, D., & Burgess, J. (2015). *A Simple, Fast, and Reliable LC-MS/MS Method for Determination and Quantification of Phthalates in Distilled Beverages*. Waters Corporation.
- Shrinithiviahshini, Mahamuni, & Praveen. (2014, avril 25). Bisphenol A migration study in baby feeding bottles of selected brands available in the Indian market. *CURRENT SCIENCE*, 1882-1884.
- Soto, A. M., & Sonnenschein, C. (2010). Environmental causes of cancer : Endocrine disruptors as carcinogens. *Nature Reviews Endocrinology*, 6(7), 363-370. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2010.87>
- Stärker, C., & Welle, F. (2019). Migration of Bisphenol A from Can Coatings into Beverages at the End of Shelf Life Compared to Regulated Test Conditions. *Beverages*, 5(1), 3. <https://doi.org/10.3390/beverages5010003>
- Stenmarck, Å., Belleza, E. L., Fråne, A., Busch, N., Larsen, Å., & Wahlström, M. (2017). *Hazardous substances in plastics* (2017:505). Nordic Council of Ministers. <https://doi.org/10.6027/TN2017-505>

- Sungur, Ş., Koroğlu, M., & Özkan, A. (2014). Determination of bisphenol a migrating from canned food and beverages in markets. *Food Chemistry*, 142, 87-91. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.034>
- Szczepańska, N., Kubica, P., Kudlak, B., Namieśnik, J., & Wasik, A. (2019). Stabilities of bisphenol A diglycidyl ether, bisphenol F diglycidyl ether, and their derivatives under controlled conditions analyzed using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 411(24), 6387-6398. <https://doi.org/10.1007/s00216-019-02016-5>
- Szymański, A., Rykowska, I., & Wasiak, W. (2006). DETERMINATION OF BISPENOL A IN WATER AND MILK BY MICELLAR LIQUID CHROMATOGRAPHY. *Acta Chromatographica*, 17, 161-1721.
- Talsness, C. E., Andrade, A. J. M., Kuriyama, S. N., Taylor, J. A., & vom Saal, F. S. (2009). Components of plastic : Experimental studies in animals and relevance for human health. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2079-2096. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0281>
- Temgoua, E., Ngnikam, E., & Ndongson, B. (2009). Drinking water quality : Stakes of control and sanitation in the town of Dschang - Cameroon. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3(3). <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v3i3.45346>
- Torres, A., Ramirez, C., Romero, J., Guerrero, G., Valenzuela, X., Guarda, A., & Galotto, M. J. (2015). Experimental and theoretical study of bisphenol A migration from polycarbonate into regulated EU food simulant. *European Food Research and Technology*, 240(2), 335-343. <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2333-6>
- UNICEF. (2022). *Factors Influencing the Practice of Exclusive Breastfeeding and Other Infant Feeding Practices in the First Six Months of Life in West and Central Africa*. UNICEF. https://www.aliveandthrive.org/sites/default/files/literature_review_-_breastfeeding_in_west_africa_-_feb2022.pdf
- Vandenberg, L. N., Maffini, M. V., Sonnenschein, C., Rubin, B. S., & Soto, A. M. (2009). Bisphenol-A and the Great Divide : A Review of Controversies in the Field of Endocrine Disruption. *Endocrine Reviews*, 30(1), 75-95. <https://doi.org/10.1210/er.2008-0021>
- Walsh, A. N., Reddy, C. M., Niles, S. F., McKenna, A. M., Hansel, C. M., & Ward, C. P. (2021). Plastic Formulation is an Emerging Control of Its Photochemical Fate in the Ocean. *Environmental Science & Technology*, 55(18), 12383-12392. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c02272>
- Wang, C., Huang, P., Qiu, C., Li, J., Hu, S., Sun, L., Bai, Y., Gao, F., Li, C., Liu, N., Wang, D., & Wang, S. (2021). Occurrence, migration and health risk of phthalates in tap water, barreled water and bottled water in Tianjin, China. *Journal of Hazardous Materials*, 408, 124891. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124891>
- World Health Organization & Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2009). *Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food*. 18.
- WWF. (2022). *Plastic pollution in Africa : Identifying policy gaps and opportunities*. WWF. https://wwfafrica.awsassets.panda.org/downloads/wwf_plastic_pollution.pdf
- Xian, Y., Wu, Y., Dong, H., Guo, X., Wang, B., & Wang, L. (2017). Dispersive micro solid phase extraction (DMSPE) using polymer anion exchange (PAX) as the sorbent followed by UPLC–MS/MS for the rapid determination of four bisphenols in commercial edible oils. *Journal of Chromatography A*, 1517, 35-43. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.08.067>
- Xie, Q., Sun, D., Han, Y., Jia, L., Hou, B., Liu, S., & Li, D. (2016). Determination of total phthalates in edible oils by high-performance liquid chromatography coupled with photodiode array detection : Liquid Chromatography. *Journal of Separation Science*, 39(5), 857-863. <https://doi.org/10.1002/jssc.201501169>
- Xiong, L., Yan, P., Chu, M., Gao, Y.-Q., Li, W.-H., & Yang, X.-L. (2018). A rapid and simple HPLC–FLD screening method with QuEChERS as the sample treatment for the simultaneous monitoring of nine bisphenols in milk. *Food Chemistry*, 244, 371-377. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.030>
- Yang, J., Song, W., Wang, X., Li, Y., Sun, J., Gong, W., & Sun, C. (2019). Migration of phthalates from plastic packages to convenience foods and its cumulative health risk assessments. *Food*

- Additives & Contaminants: Part B*, 12(3), 151-158. <https://doi.org/10.1080/19393210.2019.1574909>
- Yang, Y., Lu, L., Zhang, J., Yang, Y., Wu, Y., & Shao, B. (2014). Simultaneous determination of seven bisphenols in environmental water and solid samples by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1328, 26-34. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.12.074>
- Yuan, H., Hao, Q., Su, R., Qi, W., & He, Z. (2020). Migration of phthalates from polyvinyl chloride film to fatty food simulants: Experimental studies and model application. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 15(2), 135-143. <https://doi.org/10.1007/s00003-019-01249-x>
- Yun, W. M., Ho, Y. B., Tan, E. S. S., & How, V. (2018). *Release of Bisphenol A From Polycarbonate and Polyethylene Terephthalate Drinking Water Bottles Under Different Storage Conditions and Its Associated Health Risk*. 9.
- Zaater, M. F., Tahboub, Y. R., & Al Sayyed, A. N. (2014). Determination of Phthalates in Jordanian Bottled Water using GC–MS and HPLC–UV: Environmental Study. *Journal of Chromatographic Science*, 52(5), 447-452. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmt059>
- Zhao, H., Xiang, L., Li, J., Yang, Z., Fang, J., Zhao, C., Xu, S., & Cai, Z. (2016). Investigation on fragmentation pathways of bisphenols by using electrospray ionization Orbitrap mass spectrometry: Fragmentation studies of bisphenols using ESI Orbitrap MS. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 30(16), 1901-1913. <https://doi.org/10.1002/rcm.7666>
- Zhou, Q., Fang, Z., & Liao, X. (2015). Determination of phthalate esters from environmental water samples by micro-solid-phase extraction using TiO₂ nanotube arrays before high-performance liquid chromatography: Sample Preparation. *Journal of Separation Science*, 38(14), 2526-2531. <https://doi.org/10.1002/jssc.201500361>

Site internet

https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/2022-03/les_sols_du_cameroun.pdf
consulté le 10 octobre 2022.

ANNEXES

Annexe 1 : Fiche d'enquête des industries et administrations

I-Information sur l'Industrie ou l'administration	
Ville	<input type="text"/>
1- Cochez votre secteur d'activité	
a-Production d'eau de boisson	<input type="checkbox"/>
b-Production de boisson gazeuse	<input type="checkbox"/>
c-Production de jus naturelle	<input type="checkbox"/>
d-Production de boisson traditionnelle	<input type="checkbox"/>
e-Production d'huile raffinée	<input type="checkbox"/>
f-Production d'huile non raffinée	<input type="checkbox"/>
g-Production de peinture	<input type="checkbox"/>
h-Production de récipient plastique	<input type="checkbox"/>
i-Commercialisation de récipients plastiques	<input type="checkbox"/>
j-Contrôle de la circulation des plastiques	<input type="checkbox"/>
K-autres	<input type="checkbox"/>
2-Qualité de l'interlocuteur (cocher une qualité)	
a-directeur	<input type="checkbox"/>
b-cadre	<input type="checkbox"/>
c-agent de maîtrise	<input type="checkbox"/>
d-ouvrier	<input type="checkbox"/>
e-autres	<input type="checkbox"/>
II-Fabrication des récipients plastiques	
3-Cochez le (ou les) type (s) de récipient(s) plastique(s) fabriqué(s)	
a-bouteille	<input type="checkbox"/>
b-bibéron	<input type="checkbox"/>
c-seau/bassine	<input type="checkbox"/>
d-fût	<input type="checkbox"/>
e-bâche	<input type="checkbox"/>
f-Autre	<input type="checkbox"/>
4-Cochez le (ou les) type (s) de polymère (s) fabriqué(s)	
a-PP (Polypropylène)	<input type="checkbox"/>
b-PC (Polycarbonate)	<input type="checkbox"/>
c-PET (Polyéthylène téréphtalate)	<input type="checkbox"/>
d-PEHD (Polyéthylène haute densité)	<input type="checkbox"/>
e-PEBD (Polyéthylène basse densité)	<input type="checkbox"/>
f-PVC (Polychlorure de vinyl)	<input type="checkbox"/>
f-Autre	<input type="checkbox"/>
<i>N.B : Vous pouvez voir ces sigles sur une des face du récipient</i>	

Annexe 1 (suite et fin)

	Oui	Non				
5-Utilisez-vous des préformés pour la fabrication?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
6-Si oui, cochez le (ou les) zone(s) d'importation des préformés						
a- Europe	<input type="checkbox"/>					
b- Asie (Chine, Inde etc)	<input type="checkbox"/>					
c- Nigéria	<input type="checkbox"/>					
e-Autre	<input type="checkbox"/>					
III-Importation des récipients plastiques						
<i>N.B : cette partie est réservée aux Ministères ou administrations compétent(e)s</i>						
7-Cocher le pourcentage approximatif d' importation des récipients plastiques						
	<10%	1 0 à 30 %	30 à 50%	50 à 70 %	70 à 95%	>95%
a-Europe	<input type="checkbox"/>					
b-Asie	<input type="checkbox"/>					
c-Nigéria	<input type="checkbox"/>					
d-Autres	<input type="checkbox"/>					
8-Cocher le pourcentage approximatif d'importation des préformés plastiques						
	<10%	1 0 à 30 %	30 à 50%	50 à 70 %	70 à 95%	>95%
a-Europe	<input type="checkbox"/>					
b-Asie	<input type="checkbox"/>					
c-Nigéria	<input type="checkbox"/>					
d-Autres	<input type="checkbox"/>					

Annexe 2 : Fiche d'enquête des ménages

I-Information sur l'enquête			
Sexe		Ville	
Age		Profession	
Niveau d'étude			

N.B: Votre niveau d'étude est lié au diplôme le plus élevé que vous avez obtenu. Exemple : CEPE ou Bac+2

II-Chauffage aux microondes

1-Chauffez-vous des récipients plastiques aux microondes?

Oui	Non
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2-Si oui, cochez le (ou les) type (s) de récipient (s) concerné (s)

a-bibéron	b-bouteille	c-bol	d-gamelle
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

III-Utilisation de récipient recyclé

*N.B : un récipient recyclé c'est tout récipient (bouteille, seau, bonbonne, gamelle etc) qui après son utilisation originelle, a été nettoyé pour servir à d'autres fins.
Exemple : les anciens seaux de peinture utilisés pour la conservation de l'eau*

3-Utilisez-vous un récipient recyclé dans l'alimentation ?

Oui	Non
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

4- Cochez le type d'utilisation actuelle de ce récipient

a-conservation d'eau de boisson	<input type="checkbox"/>
b-conservation de bouillie	<input type="checkbox"/>
c-conservation de boisson alcoolisée	<input type="checkbox"/>
d-conservation de jus naturel	<input type="checkbox"/>
e-conservation d'huile alimentaire	<input type="checkbox"/>
f-autres	<input type="checkbox"/>

5- Cochez le type d'utilisation originelle de ce récipient

a-conservation de carburant	<input type="checkbox"/>
b-conservation de cosmétiques (savons, javel, etc)	<input type="checkbox"/>
c-conservation de pesticides	<input type="checkbox"/>
d-conservation de peinture	<input type="checkbox"/>
e-autres	<input type="checkbox"/>

6-Cochez le type de polymère marqué sur votre récipient

a-PP (Polypropylène)	<input type="checkbox"/>
b-PC (Polycarbonate)	<input type="checkbox"/>
c-PET (Polyéthylène téréphtalate)	<input type="checkbox"/>
d-PEHD (Polyéthylène haute densité)	<input type="checkbox"/>
e-PEBD (Polyéthylène basse densité)	<input type="checkbox"/>
f-Autre	<input type="checkbox"/>

N.B : Vous pouvez voir ces sigles sur une des faces du récipient

1/2

Annexe 2 (Suite et fin)

IV-Utilisation des bibérons en plastique					
<i>7-Avez-vous des enfants qui se nourrissent avec des bibérons en plastiques?</i>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 50%; padding: 2px;">Oui</th> <th style="width: 50%; padding: 2px;">Non</th> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center; padding: 2px;"><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>	Oui	Non	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Oui	Non				
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
<i>8-Si oui, cochez le type de polymère marqué sur ce bibéron</i>					
a-PP (Polypropylène)	<input type="checkbox"/>				
b-PC (Polycarbonate)	<input type="checkbox"/>				
c-PET (Polyéthylène téréphtalate)	<input type="checkbox"/>				
d-PEHD (Polyéthylène haute densité)	<input type="checkbox"/>				
e-PEBD (Polyéthylène basse densité)	<input type="checkbox"/>				
f-Autre	<input type="checkbox"/>				
V-Consommation d'eau embouteillée					
<i>9-Consommez-vous de l'eau minérale ?</i>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 50%; padding: 2px;">Oui</th> <th style="width: 50%; padding: 2px;">Non</th> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center; padding: 2px;"><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>	Oui	Non	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Oui	Non				
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
<i>10-Si oui, choisissez une fréquence approximative</i>					
a- moins de 5 litres par mois	<input type="checkbox"/>				
b- 5 à 10 litres par mois	<input type="checkbox"/>				
c- 10 à 20 litres par mois	<input type="checkbox"/>				
d- 20 à 30 litres par mois	<input type="checkbox"/>				
e-Plus de 30 litres par mois	<input type="checkbox"/>				
<i>11-Avez-vous des enfants de moins de 5 ans qui consomment de l'eau minérale?</i>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 50%; padding: 2px;">Oui</th> <th style="width: 50%; padding: 2px;">Non</th> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center; padding: 2px;"><input type="checkbox"/></td> </tr> </table>	Oui	Non	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Oui	Non				
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>				
<i>12-Si oui, quel est leur effectif ?</i>	<input style="width: 80px; height: 15px;" type="text"/>				
<i>13-Quelle est leur fréquence approximative globale de consommation ?</i>					
a- moins de 5 litres par mois	<input type="checkbox"/>				
b- 5 à 10 litres par mois	<input type="checkbox"/>				
c- 10 à 30 litres par mois	<input type="checkbox"/>				
d- 30 à 50 litres par mois	<input type="checkbox"/>				
e-Plus de 50 litres par mois	<input type="checkbox"/>				
<i>14-Quelle est la marque d'eau la plus consommée dans votre domicile ?</i>	<input style="width: 150px; height: 15px;" type="text"/>				
Exemple de marques d'eau minérale : Sano, Supermont, Tanguai					

Annexe 3 : Fiche d'enquête des commerçants

I-Information sur l'enquêté			
Sexe		Ville	
Age		Profession	
Niveau d'étude			

N.B: Votre niveau d'étude est lié au diplôme le plus élevé que vous avez obtenu. Exemple : CEPE ou Bac+2

II-Activités

1-Cochez le (ou les) activité (s) que vous exercez.

a-Commercialisation de médicament traditionnel	<input type="checkbox"/>
b-Commercialisation de jus naturel	<input type="checkbox"/>
c-Commercialisation de beignet/haricots	<input type="checkbox"/>
d-Commercialisation de boisson traditionnelle alcoolisée	<input type="checkbox"/>
e-Commercialisation d'huile non raffinée	<input type="checkbox"/>

III-Utilisation de récipient recyclé

*N.B : un récipient recyclé c'est tout récipient (bouteille, seau, bonbonne, gamelle etc) qui après son utilisation originelle, a été nettoyé pour servir à d'autres fins.
Exemple : les anciens seaux de peinture utilisés pour la conservation de l'eau*

	Oui	Non
2-Utilisez vous un récipient recyclé dans votre commerce ?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

3- Cochez le type d'utilisation actuelle de ce récipient

a-conservation d'eau de boisson	<input type="checkbox"/>
b-conservation de bouillie	<input type="checkbox"/>
c-conservation de boisson alcoolisée	<input type="checkbox"/>
d-conservation de jus naturel	<input type="checkbox"/>
e-conservation de médicament traditionnel	<input type="checkbox"/>
f-conservation de la pâte à beignet	<input type="checkbox"/>
g-conservation de l'huile non raffinée	<input type="checkbox"/>
h-autre	<input type="checkbox"/>

4- Cochez le type d'utilisation originelle de ce récipient

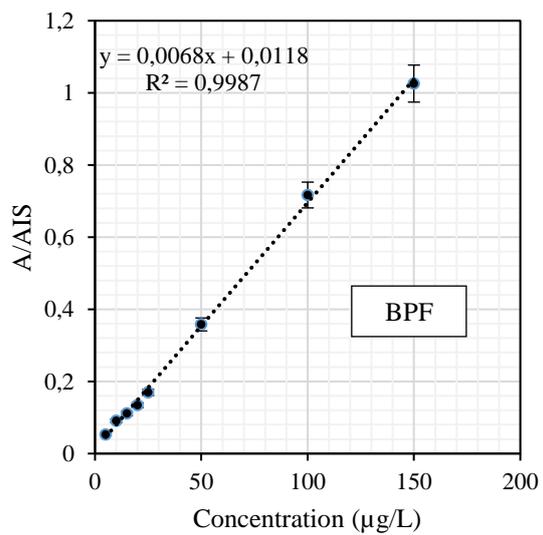
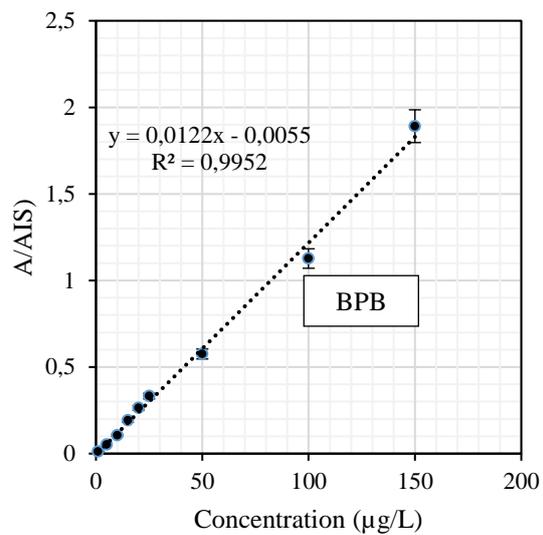
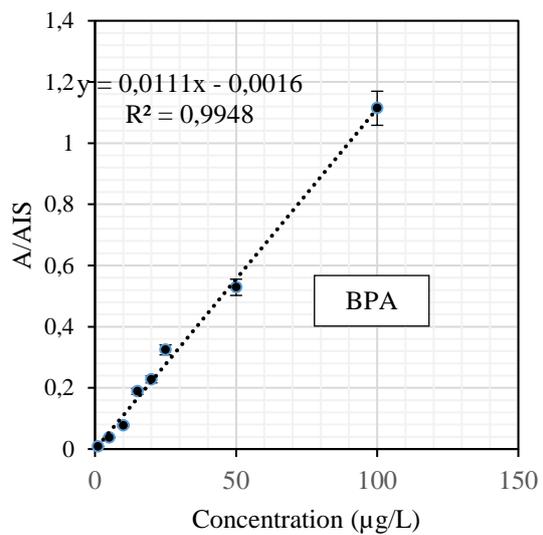
a-conservation de carburant	<input type="checkbox"/>
b-conservation de cosmétiques (savon, javel, détergent, etc)	<input type="checkbox"/>
c-conservation de pesticides	<input type="checkbox"/>
d-conservation de peinture	<input type="checkbox"/>
e-conservation de l'eau minérale ou de boisson gazeuse	<input type="checkbox"/>
f-autres	<input type="checkbox"/>

5-Cochez le type de polymère marqué sur votre récipient

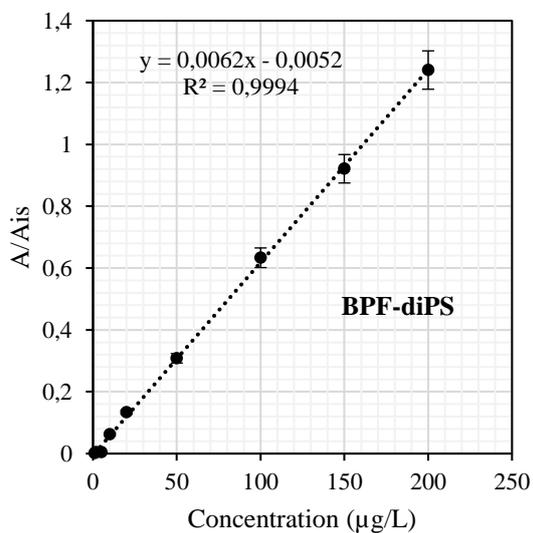
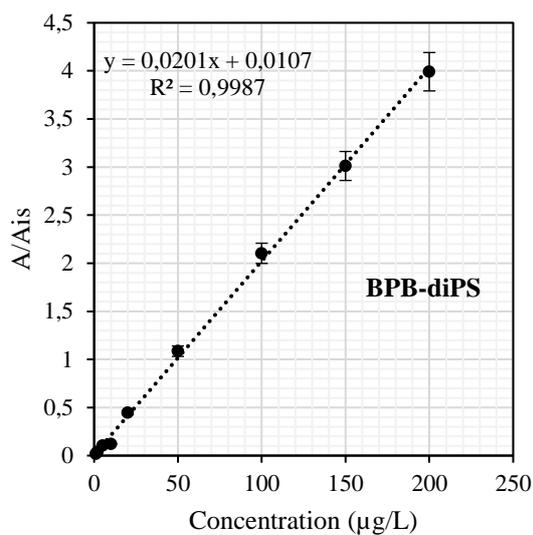
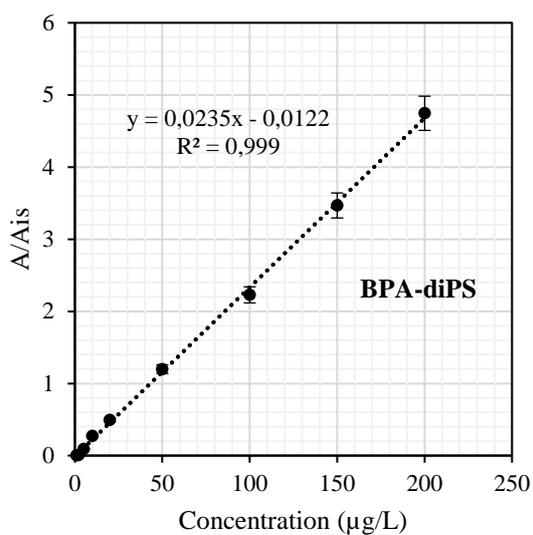
a-PP (Polypropylène)	<input type="checkbox"/>
b-PC (Polycarbonate)	<input type="checkbox"/>
c-PET (Polyéthylène téréphtalate)	<input type="checkbox"/>
d-PEHD (Polyéthylène haute densité)	<input type="checkbox"/>
e-PEBD (Polyéthylène basse densité)	<input type="checkbox"/>
f-Autre	<input type="checkbox"/>

N.B : Vous pouvez voir ces sigles sur une des face du récipient

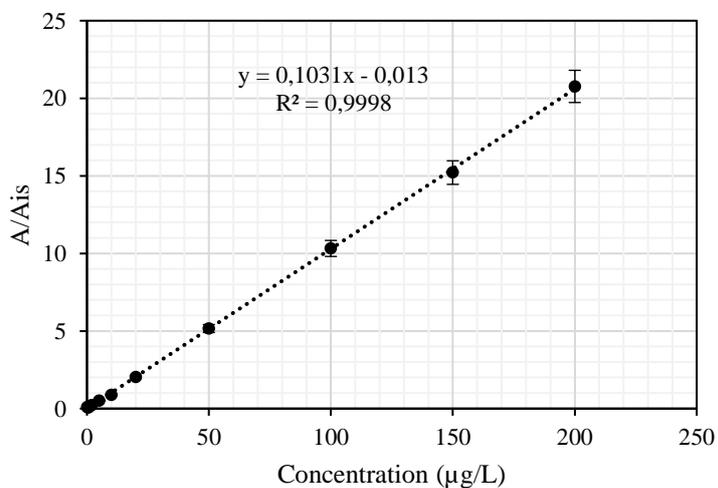
Annexe 4 : Droites de calibration interne du BPA, BPB et BPF.



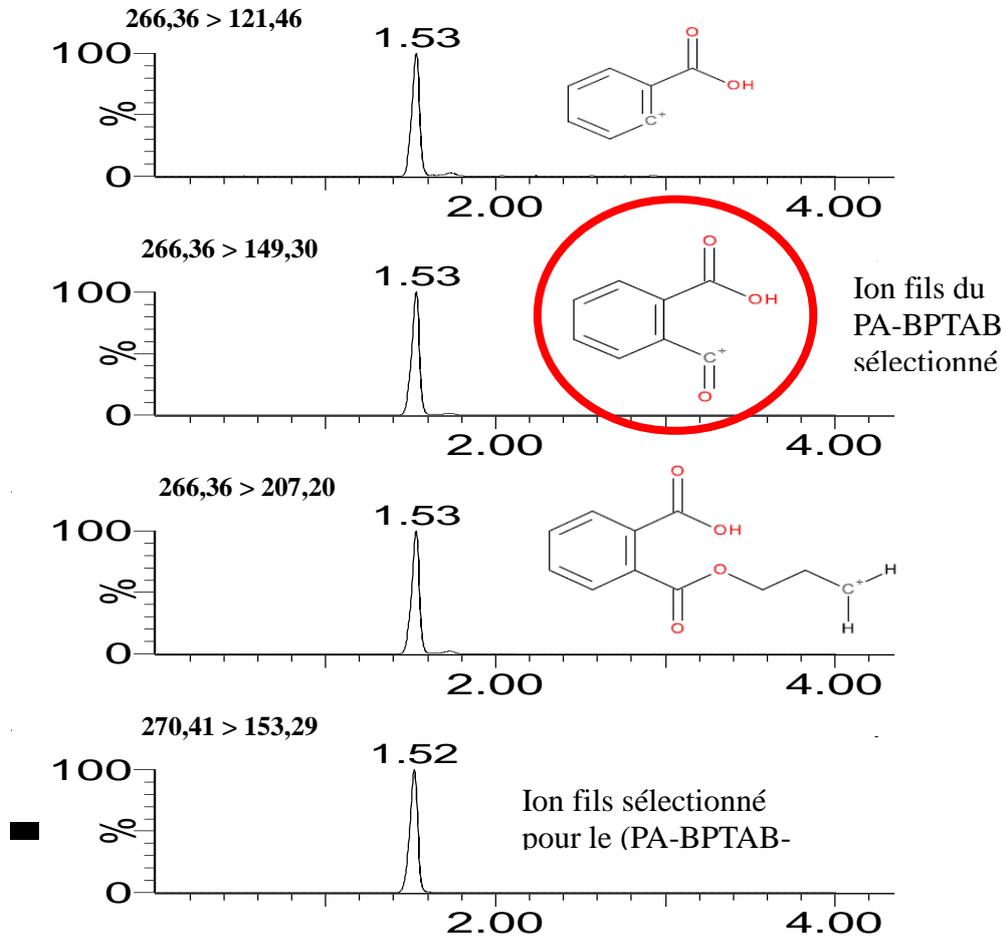
Annexe 5 : Droites de calibration interne du BPA-diPS, BPB-diPS et BPF-diPS.



Annexe 6 : Droites de calibration interne du PA-BPTAB (Phtalates totaux)



Annexe 7: Chromatogrammes des ions fils sélectionnés pour le PA-BPTAB.

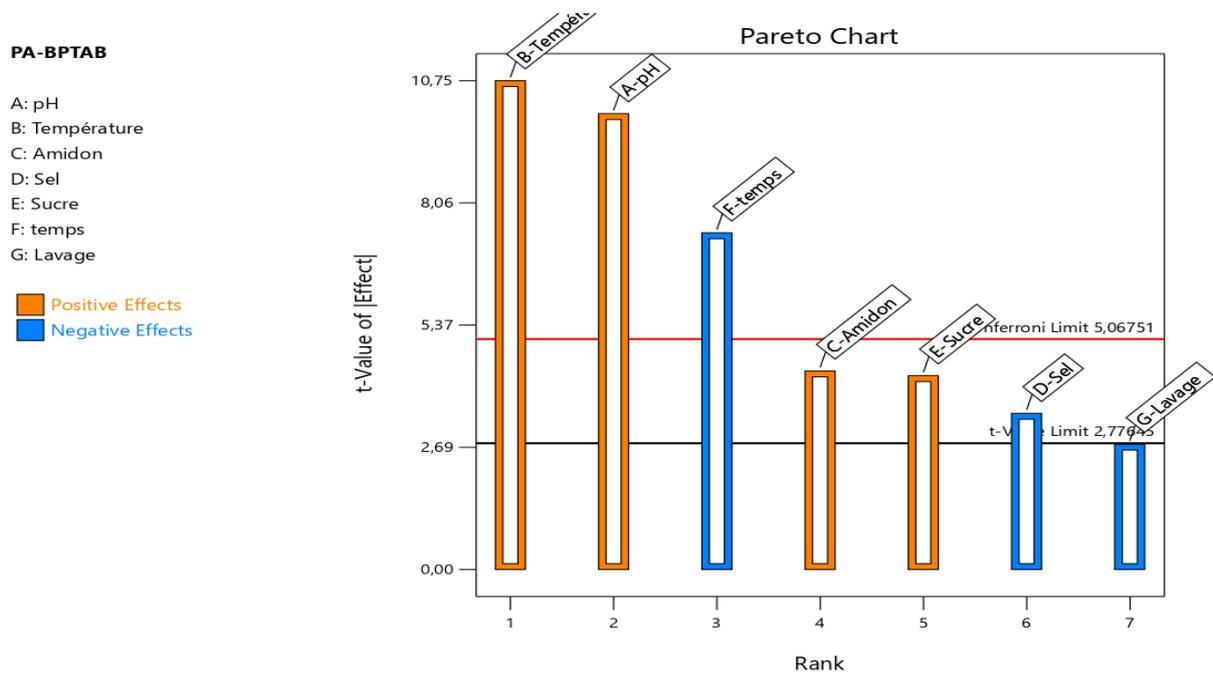


Annexe 8 : Performances analytiques des méthodes développées pour l'analyse des bisphénols dans les eaux

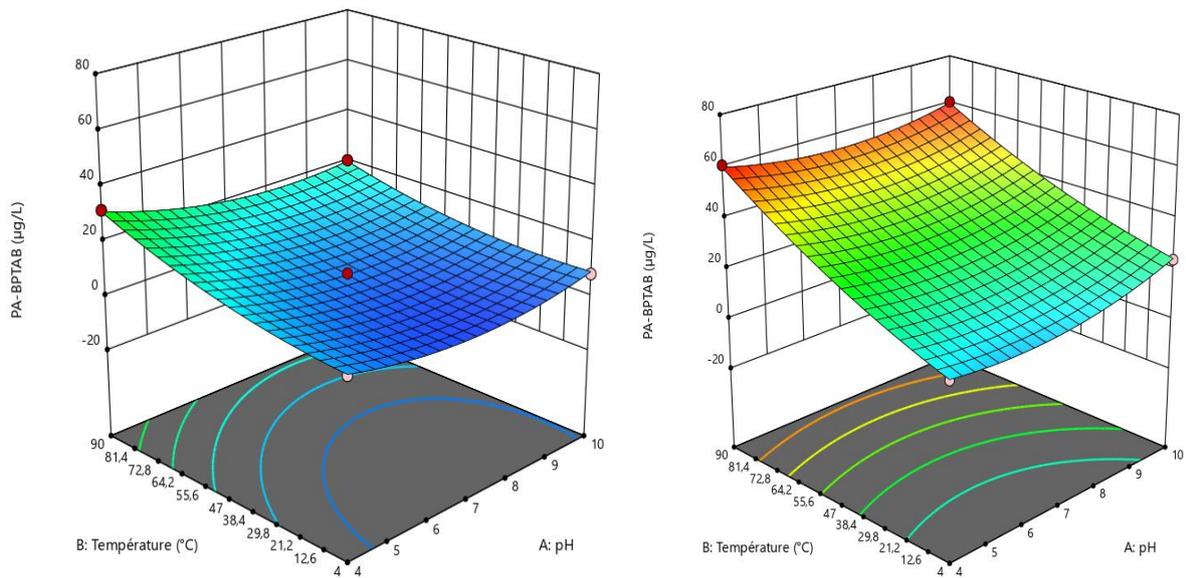
Analyse des bisphénols après SPE sans dérivation									
Composés	Taux d'extraction (%) (\pm ET) (n=5)			LD ($\mu\text{g/L}$)	LQ ($\mu\text{g/L}$)	Linéarité ($\mu\text{g/L}$)	R^2	Incertitudes %U (k=2,201)	Biais (%)
	0,1 $\mu\text{g/L}$	0,5 $\mu\text{g/L}$	2 $\mu\text{g/L}$						
BPA	109,1 \pm 9,5	98,7 \pm 5,2	85,9 \pm 5,7	0,017	0,064	0,1 – 3,0	0,9938	12,7	-14,1
BPB	110,2 \pm 10,1	100,8 \pm 7,5	87,6 \pm 4,3	0,014	0,052	0,1 – 3,0	0,9942	11,8	-12,4
BPF	103,0 \pm 3,8	91,7 \pm 5,2	86,4 \pm 3,4	0,013	0,046	0,1 – 3,0	0,9977	9,4	-13,6
Analyse des bisphénols après SPE et dérivation									
Composés	Taux d'extraction (%) (\pm et) (n=5)			LD ($\mu\text{g/L}$)	LQ ($\mu\text{g/L}$)	Linéarité ($\mu\text{g/L}$)	R^2	Incertitudes %U (k=2,201)	Biais (%)
	0,1 $\mu\text{g/L}$	0,5 $\mu\text{g/L}$	2 $\mu\text{g/L}$						
BPA-diPS	108,2 \pm 8,8	106,2 \pm 6,5	88,3 \pm 4,4	0,070	0,016	0,02 - 4	0,9962	9,3	13,8
BPB-diPS	111,9 \pm 8,6	103,8 \pm 1,9	84,4 \pm 3,5	0,030	0,012	0,02 - 4	0,9957	7,6	11,8
BPF-diPS	93,3 \pm 7,7	101,0 \pm 8,4	82,5 \pm 3,4	0,028	0,010	0,02 - 4	0,9984	7,0	-9,5
Analyse des bisphénols avec dérivation direct sur échantillon brut									
Composés	Taux d'extraction (%) (\pm ET) (n=5)			LD ($\mu\text{g/L}$)	LQ ($\mu\text{g/L}$)	Linéarité ($\mu\text{g/L}$)	R^2	Incertitudes %U (k=2,201)	Biais (%)
	/	/	/						
BPA-diPS	N.A	N.A	N.A	0,419	1,139	1,5 - 200	0,9990	7,1	12,1
BPB-diPS	N.A	N.A	N.A	0,151	0,504	1 - 200	0,9987	3,4	11
BPF-diPS	N.A	N.A	N.A	0,147	0,489	1 - 200	0,9994	4,6	10,3

ET : Ecart type ; N.A : Non applicable.

Annexe 9 : Diagramme de Pareto du criblage des facteurs



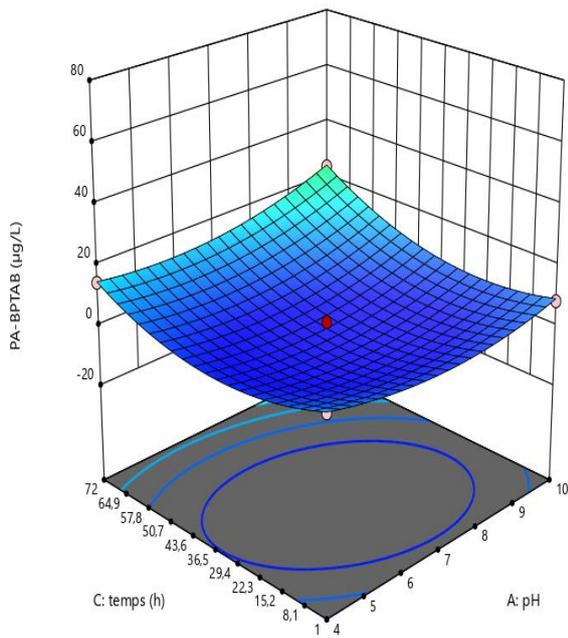
Annexe 10 : Surface de réponse de l'influence de la température et du pH sur la migration des PAE



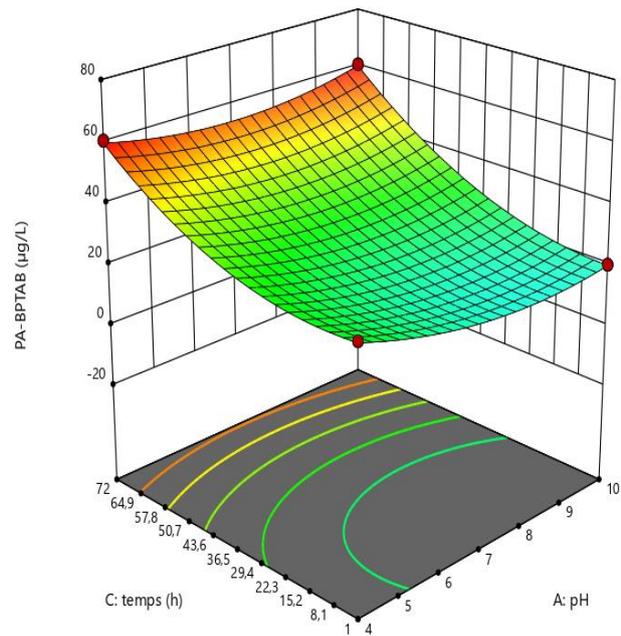
(1) Temps=1h h

(2) Temps=72h

Annexe 11: Surface de réponse de l'influence du temps et du pH sur la migration des PAE

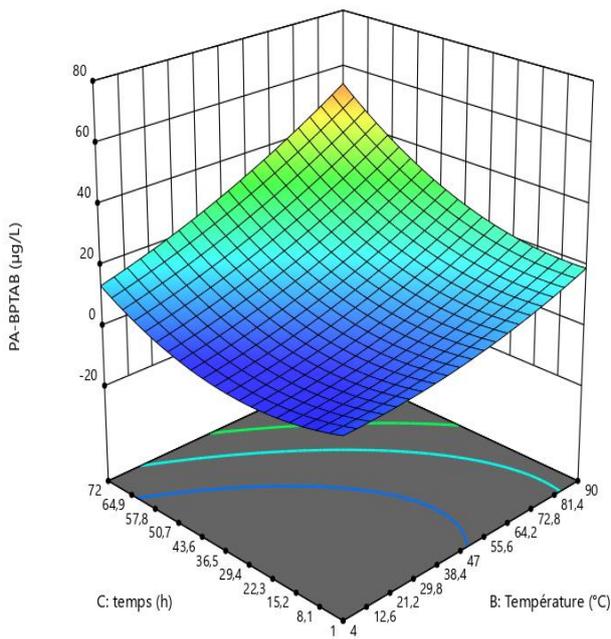


(1) Temperature = 4°C

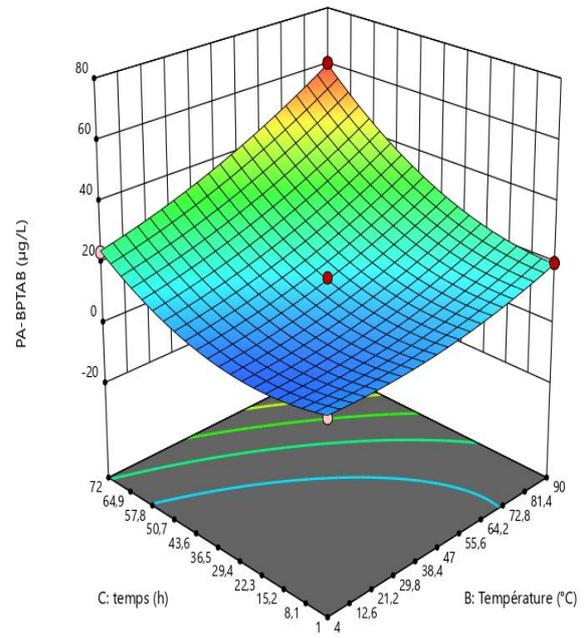


(2) Temperature = 90°C

Annexe 12 : Surface de réponse de l'influence du temps et de la température sur la migration des PAE

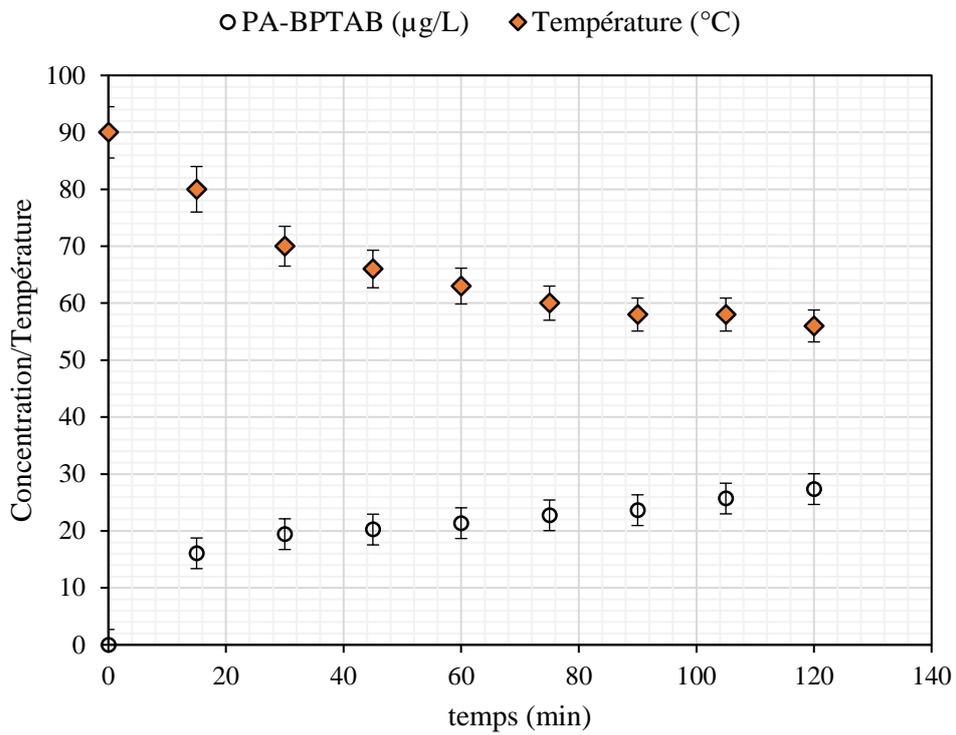


(1) pH=7

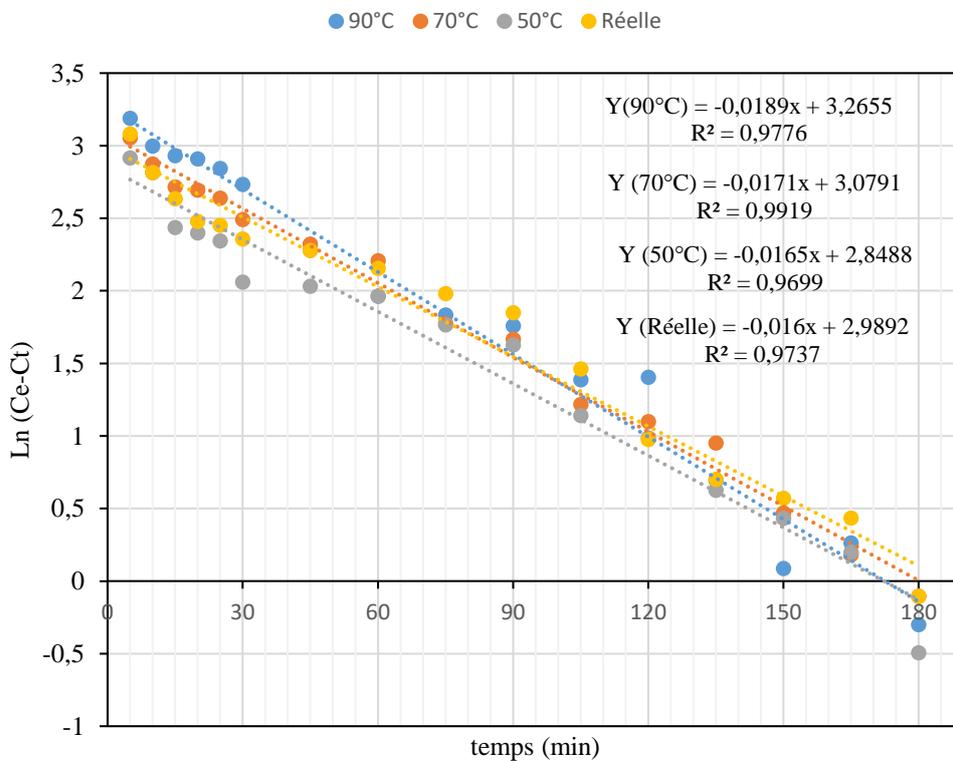


(2) pH=10

Annexe 13 : Courbe de la cinétique en situation réelle de migration des PAE des saux vers la bouillie

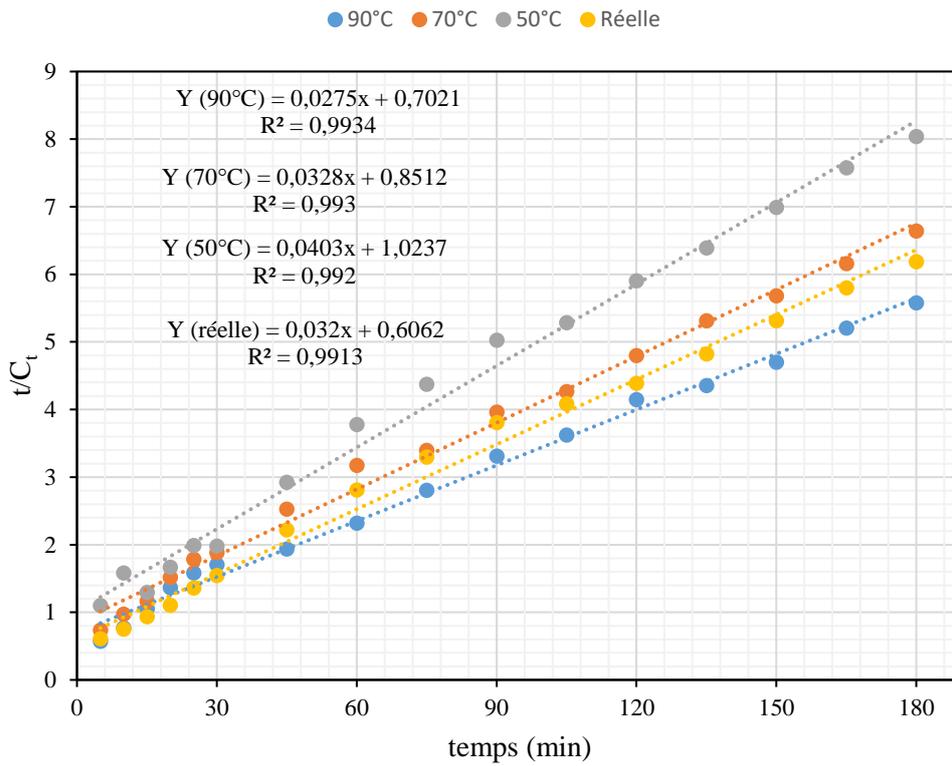


Annexe 14 : Droites de régression pour la cinétique de pseudo premier ordre

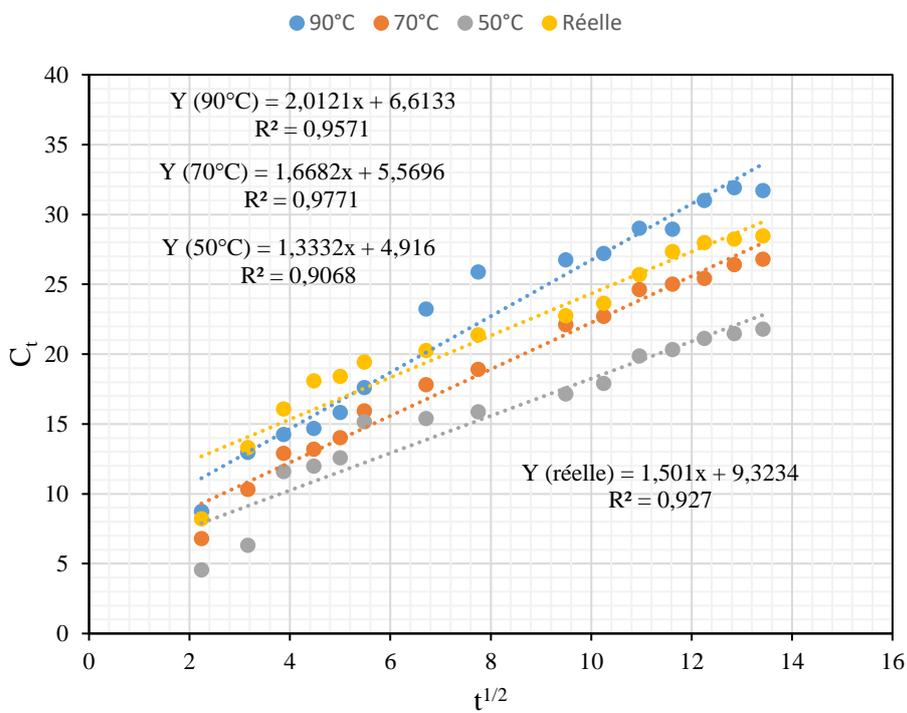


N.B : Ces résultats ont une incertitude maximale de 5%.

Annexe 15 : Droites de régression pour la cinétique de pseudo second ordre



Annexe 16 : Droites de régression pour la cinétique de diffusion intraparticulaire



N.B : Ces résultats ont une incertitude maximale de 5%.

RESUME

Les récipients plastiques sont soit alimentaires ou non alimentaires. Les récipients alimentaires sont utilisés dans les conditions bien réglementées par divers pays développés, afin de s'assurer qu'ils ne libèrent pas les polluants dans les aliments. En Afrique et au Cameroun en particulier, cette réglementation n'existe pas. De plus, c'est une zone de grande contrebande, et l'usage de récipients non alimentaires dans la préservation des aliments est pratiqué. Les plastiques sont constitués de longues chaînes polycarbonées appelées polymères dont les bonnes propriétés mécaniques, électriques et thermiques proviennent de l'ajout des additifs lors de leur formulation. Parmi ces additifs, les bisphénols et les phtalates sont utilisés respectivement comme des antioxydants et plastifiants. Ces molécules ont été reconnues comme dangereuses pour la santé humaine du fait qu'elles sont des perturbateurs endocriniens et sont impliquées dans de nombreux cancers. La principale voie d'entrée de ces molécules dans l'Homme est alimentaire. Leur migration des récipients plastiques vers les aliments est facilitée par les conditions de conservation, les modes de traitement et la nature de ces derniers. L'objectif du présent travail est d'étudier le transfert des bisphénols et phtalates des récipients plastiques vers les matrices alimentaires. Il était question de dégager les risques de contamination humaine par les récipients plastiques au travers d'une enquête auprès des ménages et des industries. Puis, l'évaluation de l'exposition de la population passait par la mise au point des méthodes de chromatographie liquide couplée au spectromètre de masse pour quantifier ces molécules dans les matrices alimentaires. Enfin, l'étude du transfert des phtalates des seaux de peinture vers les aliments était effectuée via les plans d'expériences et l'étude cinétique. Ce travail a montré que 36,5% des ménages utilisaient des anciens seaux de peintures dans l'alimentation, et cette utilisation ne dépend pas de la classe sociale. Les méthodes par dérivation suivies de l'analyse en chromatographie liquide se sont avérées très fiables, sensibles et rapides pour la quantification des bisphénols (A, B et F) et des phtalates totaux dans les aliments. Le calcul des doses journalières ingérées a montré que l'exposition à ces composés reste faible via l'alimentation. L'étude cinétique a révélé que la migration des phtalates est mieux décrite par le modèle de pseudo-second ordre et dépend principalement de la température, du temps de contact, et le pH. Ces paramètres présentent tous des interactions non négligeables.

Mots clés : Bisphénols, phtalates, chromatographie liquide, spectromètre de masse, plan d'expériences, plastique, matrices alimentaires.

ABSTRACT

Plastic containers are either food or non-food grade. The food grade containers are used under the well-regulated conditions by various developed countries, to ensure that the pollutants cannot diffuse into food. In Africa and Cameroon in particular, this regulation does not exist. In addition, it is an area of great smuggling, and the use of non-food grade containers in the preservation of food is practiced. Plastics are made up of long polycarbon chains called polymers whose good mechanical, electrical and thermal properties come from the addition of additives during their formulation. Among these additives, bisphenols and phthalates are used respectively as antioxidants and plasticizers. These molecules have been recognized as dangerous for human health because they are endocrine disruptors and are involved in many cancers. The main route of entry of these molecules into humans is food. Their migration from plastic containers to food is facilitated by storage conditions, processing methods and the nature of food. The objective of this work is to study the transfer of bisphenols and phthalates from plastic containers to food matrices. It was a question of identifying the risks of human contamination by plastic containers through a survey of households and industries. Then, the evaluation of the exposure of the population went through the development of a method based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry to quantify these molecules in food matrices. Finally, the study of the transfer of phthalates from paint buckets to food was carried out via experimental design and the kinetic study. This work showed that 36.5% of households used old paint buckets in food, and this use did not depend on social class. Derivatization methods followed by liquid chromatography analysis have proven to be precise and rapid for the quantification of bisphenols (A, B and F) and total phthalates in foods. The estimated dietary daily intake of bisphenols and phthalates through foods remains low in Cameroon. The kinetic study revealed that the migration of phthalates is best described by the pseudo-second-order model and depends mainly on temperature, contact time, and pH. These parameters present significant interactions.

Keywords: Bisphenols, phthalates, liquid chromatography, mass spectrometer, experimental design, plastic, food matrices.