



République Tunisienne



Échantillonnage et analyse des matrices nationales à intérêt majeur

Centre International des Technologies de l'Environnement de Tunis

Projet continuer le support régional pour le plan mondial de surveillance des Pops, conformément à la convention de Stockholm dans la région de l'Afrique

Point Focal: Mr Yousef ZIDI
Coordinatrice: Mme. Chedia BEN JEMAA

GMP Africa Midterm Workshop 23-25 July 2018,
Lusaka, Zambia

Plan

- Objectifs
- Sélection des matrices
- Échantillonnage des matrices nationales
- Préparation des matrices nationales
- Détermination du taux d'Humidité, du taux lipidique de l'échantillon
- Conclusions

Objectifs

Les objectifs de cette activité est

- d'identifier les différences entre les méthodes d'analyse des polluants organiques persistants (POPs) utilisées dans les pays participants et dans les laboratoires de référence.
- de rassembler des informations sur les niveaux des POPs et leur répartition géographique par continent.

Sélection des matrices

- Les matrices sujettes, sont des matrices vulnérables aux pesticides et ont été choisies pour des fins différentes. Quatre matrices ont été sélectionnées et se sont basées sur l'intérêt majeur de la production du pays et le taux lipidiques de ces produits.
- **Le poisson:** Dorade sauvage, nom scientifique "Sparus aurata"
- La **pêche en Tunisie** est une activité économique importante, dont le secteur primaire représente 13 % du PIB.
- le Tunisien consommant environ onze kilos de poisson par an. Il s'agit de la deuxième production agricole exportée par le pays après l'huile d'olive.
- **L'Huile d'Olive:** Extrait de la variété d'olive "Chemlali" du Sahel, la culture d'olives joue un rôle essentiel dans la vie sociale et économique de la Tunisie et représente environ 15% de la valeur totale de la production agricole finale. Le commerce international en huile d'olive représente 50% des exportations agricoles totales et 5.5% des exportations globales.
- **Les Œufs:** Provenant de poules d'une ferme traditionnelle,
- L'évolution du secteur avicole en Tunisie a été similaire à la plupart des pays développés ou en voie de développement, qui sont passés d'un élevage traditionnel familial à une industrie avicole bien établie.
- **Le Beurre:** Acheté à l'état brut dans le marché local, La fabrication du beurre constitue une activité importante pour la Tunisie. La capacité de production du beurre à partir du lait frais est estimée à 9.000 t/an.

Échantillonnage des matrices nationales

Échantillonnage des matrices nationales

- L'échantillonnage a été réalisé **conformément aux indications souscrites dans le protocole pour l'échantillonnage** et le prétraitement des échantillons nationaux durant le projet de renforcement des capacités de l'UNEP (2016-2019) préparé par l' université "IVM-VU", Amsterdam, Les Pays-Bas.
- Le but de n'importe quel type d'échantillonnage est d'obtenir un échantillon qui peut servir l'objectif de l'étude. Dans cette activité, il est impérativement de considérer **la représentative et l'intégrité de l'échantillon** pendant le processus d'échantillonnage entier.
- De plus, les exigences de qualité en termes d'équipement, de transport, de standardisation et de traçabilité sont indispensables.

Composition chimique de chaque matrice

- **Poisson:** la dorade (ou daurade) est un poisson particulièrement maigre : elle comprend moins d'1g de lipides pour 100 g de chair (contre plus de 10 g pour les poissons gras). Riche en protéines de grande qualité, elle renferme également des vitamines du groupe B et de bonnes concentrations en minéraux et oligo-éléments.
- **Huile d'olive:** est composée de 99% de lipides, c'est à à dire de matière grasses appelées triglycérides qui sont dans le cas de huile d'olive, des acides gras mono insaturés.
- **Œufs :** un œuf de poule moyenne contient 75 % d'eau, des lipides: 6,5 g dont 1/3 d'acides gras saturés et 2/3 d'insaturés, des protéines: 8,1g ; des glucides : 0.2g du cholestérol : 250mg/l.
- **Beurre:** le beurre est composé à 80 % de gras. Il contient des gras saturés, insaturés, dont des gras trans d'origine naturelle, et du cholestérol.

Fiches d'échantillonnage

Fiche d'échantillonnage des poissons

Les poissons sont achetés à l'état frais dans le port maritime la "Goulette Tunis".

C'est un poisson couramment vendu et consommé par le public.

Date du prélèvement : 05/09/2017

Personnes ayant effectué l'échantillonnage :

Prénoms & Noms	Fonction
Chedia BEN JEMAA	Coordinatrice du projet
Jalel RIABI	Personnel Technique

I. Spécificités de l'échantillon

Nom scientifique : *Sparus aurata*

Nom commun : Daurade Sauvage

Lot : 1-2017

Code de l'échantillon : TUNPS

Quantité : 3kg

II. Point d'échantillonnage

Pays : Tunisie

Ville : Tunis Port la GOULETTE

Nature du point d'échantillonnage : Port maritime

Longitude : 10°18'17" Est

Latitude : 36°49'05" Nord Latitude par rapport à la mer ± 3m

Conditions influençant l'échantillonnage :

III. Conditionnement des échantillons

Durée de stockage : du 05/09/2017 au 05/10/2017

Nature du stockage : Congélation, lyophilisation à -60°C sous une pression de 0.035mbar et réfrigération à (5°C ±3°C)

Conditions influençant le stockage :

Température	Humidité	Lumière
-18°C	-	Obscurité

Fiche d'échantillonnage de l'huile d'olive

L'huile d'olive est achetée sur le marché local. Les spécificités se rapporteront donc aux informations mentionnées sur l'emballage avec un petit descriptif.

Date de l'achat : le 05/09/2017

Personnes ayant effectué l'achat :

Prénoms & noms	VISAS
Chedia BEN JEMAA	Coordinatrice du projet
Jalel RIABI	Personnel Technique

I. Spécificités de l'échantillon

- Nom de la variété d'olives dont l'huile a été extrait : olive "Chemlali" du sahel
- Lieu de production : Manzel Hayet
- Lot : H OB17164
- Code de l'échantillon : TUNHO (2017-1)
- Quantité : 500 ml

II. Point d'achat

- Pays : TUNISIE
- Ville : TUNIS
- Conditions influençant l'échantillonnage : Lumière

III. Conditionnement des échantillons

- Durée de stockage : du 05/09/2017 au 05/10/2017
- Nature du stockage : Réfrigérateur à (5°C±3°C)
- Conditions influençant le stockage :

Température	Humidité	Lumière
5 ± 3°C	-	Obscurité

Remarques :

Fiches d'échantillonnage

Fiche d'échantillonnage des Œufs

Les œufs sont achetés à l'état frais dans une ferme traditionnelle. Ce sont des œufs couramment vendus et consommés par le public.

Date de l'achat : 05/09/2017

Personnes ayant effectué l'achat :

Prénoms & Noms	Fonctions
Chedia BEN JEMAA	Coordinatrice du projet
Jalel RIABI	Personnel technique

I. Spécificités de l'échantillon

Nature de l'échantillon : Œufs provenant de poules d'une ferme traditionnelle.

Quantité : 28 pièces

Lot : I-2017

Code de l'échantillon : TUNOP

II. Conditions sur l'échantillon

Pays : Tunisie

Ville : Ben Arous "Mornegue"

Lieu d'achat : Marquer la case correspondante par (X)

Marché local	Grande surface	Fromagerie	Ferme
			X

III. Conditions de stockage

Durée de stockage : du 05/09/2017 au 05/10/2017

Nature du stockage : Congélation (-18°C), lyophilisation à -60°C sous une pression de 0.035mbar et réfrigération à (5°C±3°C)

Fiche d'échantillonnage du Beurre

Le beurre est acheté à l'état brut dans le marché local. Les spécificités se rapportent donc aux informations mentionnées sur l'emballage avec un petit descriptif.

Date de l'achat : le 05/09/2017

Personnes ayant effectué l'achat :

Prénoms & noms	VISAS
Chedia BEN JEMAA	coordinatrice du projet
Jalel RIABI	Personnel Technique

I. Spécificités de l'échantillon

Nature de l'échantillon : Cocher la case correspondante par (X)

Beurre	Margarine	Feuillantine
X		

Poids : 200g

Lot 50247.2.1609

Date de fabrication : 21/08/2017

Code de l'échantillon : TUNB (2017-1)

II. Conditions sur l'échantillon

Pays : Tunisie

Ville : Rades

Lieu d'achat : Marquer la case correspondante par (X)

Marché local	Grande surface	Fromagerie	Ferme
	X		

III. Conditions de stockage

Durée de stockage : du 05/09/2017 au 05/10/2017

Nature du stockage : Réfrigérateur à (5°C±3°C)

Conditions influençant le stockage :

Préparation des matrices nationales à intérêt majeur

Préparation des matrices nationales à intérêt majeur

■ Le Poisson

❖ Préparation des filets de poisson

- Couper les poissons, récupérer le muscle du poisson frais en le découpant en filets
- Peser les filets afin de déterminer leurs poids frais puis les congeler à -20°C.

❖ Lyophilisation

- Lyophiliser les filets pendant trois à quatre jours à -60°C sous une pression de 0.035mbar.
- Broyer et homogénéiser l'échantillon.
- Deviser l'échantillon en 3 portions puis le conserver dans le réfrigérateur à 5°C ± 3 dans des flacons en verre ambré.

Fiche de préparation des poissons

Référence de l'échantillon : TUNPS (2017-1)

Durée de préparation : du 05/09/2017 au 22/09/2017

Référence interne du protocole utilisé : PAP-01-2017

Mode de prétraitement de l'échantillon : lyophilisation des filets de poissons puis broyé

Indications pratiques :

- Quantité initiale utilisée : 3kg
- Quantité finale lyophilisée :500g
- Taux d'humidité :7.02%.....
- Taux lipidique :8,0086%.....
- Photo :



GMP Africa Midterm Workshop 23-25
July 2018, Lusaka, Zambia

Préparation des matrices nationales à intérêt majeur

■ Les Œufs

❖ Préparation des œufs

- L'utilisation d'œufs à l'état brut poserait problème quant au transport sachant que les œufs sont constitués de 75,3% d'eau, 12,5% de protéines et de 10% en lipide total dont 9,6% d'acides gras différents ce qui permettra de choisir les solvants d'extraction adéquats.

❖ Lyophilisation

- Prendre l'équivalent de 500g d'albumine et d'ovalbumine, les mixer à l'aide d'un mélangeur domestique pendant deux minutes et les peser.
- Lyophiliser pendant 24h à -60°C sous une pression de 0.035mbar.
- Broyer et homogénéiser l'échantillon puis le conserver dans le réfrigérateur à $5^{\circ}\text{C} \pm 3$ dans des flacons en verre ambré.

Fiche de préparation des Œufs

Référence de l'échantillon : TUNOP (2017-1)

Durée de préparation : du 05/09/2017 au 22/09/2017

Référence interne du protocole utilisé : PAOP -01-2017

Mode de prétraitement de l'échantillon : Prendre l'équivalent de 1000g d'albumine et d'ovalbumine, les mixer à l'aide d'un mélangeur domestique pendant deux minutes et les peser.

Lyophiliser pendant 24h à -60°C sous une pression de 0.035mbar.

Broyer et homogénéiser l'échantillon puis le conserver dans le réfrigérateur à $5^{\circ}\text{C} \pm 3$ dans des flacons en verre ambré.

Indications pratiques :

- **Quantité initiale utilisée :** 28 pièces
- **Quantité finale lyophilisée :**500g
- **Taux d'humidité :**6.76%.....
- **Taux lipidique :**4,6192%.....
- **Photo :**



Préparation des matrices nationales

■ L'Huile d'Olive

- ❖ L'huile d'olive est achetée sur le marché local. Les spécificités se rapporteront donc aux informations mentionnées sur l'emballage avec un petit descriptif.

Fiche de préparation de l'huile d'olive

Référence de l'échantillon : TUNHO (2017-1)
Durée de préparation : acheté sur le marché local
Référence interne du protocole utilisé : PAHO -01-2017
Mode de prétraitement de l'échantillon : à l'état naturel

Indications pratiques :

- Quantité initiale utilisée : 500mL
- Quantité finale :5 g
- Taux lipidique :80,9021%.....
- Photo :



GMP Africa Midterm Workshop 23-25
July 2018, Lusaka, Zambia

Préparation des matrices nationales à intérêt majeur

■ le Beurre

- ❖ Le beurre est acheté à l'état brut dans le marché local. Les spécificités se rapporteront donc aux informations mentionnées sur l'emballage avec un petit descriptif.

Fiche de préparation du Beurre

Référence de l'échantillon : TUNB (2017-1)

Durée de préparation : acheté sur le marché local
Référence interne du protocole utilisé : PAB -01-2017
Mode de prétraitement de l'échantillon : à l'état naturel

Indications pratiques :

- Quantité initiale utilisée : 200g
- Quantité finale : 20 g
- Taux lipidique :19,089>10%.....
- Photo :



GMP Africa Midterm Workshop 23-25
July 2018, Lusaka, Zambia

Extraction et purification des matrices nationales à intérêt majeur

Extraction et purification des matrices nationales à intérêt majeur

Une relation de proportionnalité existe entre le taux lipidique contenu dans la matrice et la quantité de contamination organiques

■ Étapes d'isolement :

- ❖ Le but de cette étape est d'enlever les interférences d'extraction et de séparer les PCB non polaire (HCB et 4,4' DDE) des PCB les plus polaires ceci est réalisé en mettant l'extrait dans un petit volume de solvant non polaire et en le fractionnant par élution avec l'hexane ou l'isooctane suivi par une ou deux autres élution de polarité croissante.

■ Élimination des lipides :

- ❖ Utiliser des colonnes d'alumine et éluer avec le pentane vu qu'ils ont une haute capacité pour le déplacement du gras. Après le fractionnement, un traitement à l'acide sulfurique concentré, en secouant, aide à rendre l'extrait propre. Etant donné que le dieldrine et endrine ne sont résistants à un tel traitement et devraient être déterminés avant le traitement de l'acide sulfurique. Le fractionnement suivants sur la silice ou sur le florisil est transféré avec une seringue dans des viales pour l'analyse.
- ❖ La concentration est nécessaire sous flux d'azote jusqu' obtention d'un volume de 1 à 2ml.

Détermination du taux d'Humidité, du taux lipidique de l'échantillon

■ Taux d'Humidité

- Cette méthode a été utilisée par **analogie avec celle pour les boues et les sédiments**
- C'est une méthode **gravimétrique** pour la détermination de la terre pondérale en eau.
- **Sécher une masse $m=20g$** de l'échantillon dans **une tare en aluminium à $105^{\circ}C \pm 5^{\circ}C$** pendant minimum 2 heures.
- La différence de masse entre la matière avant et après séchage nous permet de déterminer les teneurs en matière sèche et en humidité de la matière suivante:

- $$H\% = \frac{100 \cdot (m_2 - m_1)}{m_0}$$

■ Taux lipidique de l'échantillon

Le contenu lipidique de toutes les matrices **est déterminé de la matière gravimétrique** suivante:

Après **l'étape de l'extraction, le volume final est pesé.**

Transféré **1 ml de cet extrait dans une tare en aluminium** puis **laissée sous la hotte une nuit** pour que le solvant d'extraction s'évapore.

La quantité d'extrait lipidique est alors calculée à partir de la différence des masses avant et après évaporation dans 1ml d'extrait.

- $$m_L = \frac{(c - a)}{(b - a)}$$

Résultats

Matrices	Taux d'Humidité	Taux lipidique
Poisson	7,02%	8,008 %
Huile d'olive	-	80,902%
Œuf	6,76%	4,619%
Beurre	-	19,089%

Conclusion

- Des essais préliminaires ont été réalisés dans le laboratoire du CITET, afin d'optimiser les méthodes d'analyse dans les deux matrices huiles d'olive et œufs ont montrés la présence de certains POCs (Héptachlor, lindane, Aldrine, Endosulfane, Dieldrine, DDT,DDD,) et PCB(6) reste à confirmer dans la partie avenante conformément au calendrier des activités prévu par la conventions.

Merci pour votre attention