

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique



المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
Ecole Nationale Polytechnique

Ecole Nationale Polytechnique
Département Génie de l'Environnement

MEMOIRE DE Master

Pour l'obtention du diplôme de Master en Génie de l'Environnement

Thème

***Analyse des résidus de pesticides dans les tomates par chromatographie
sur couche mince à haute performance***

Présenté par
Mr. HAMMAD Karim

Soutenu publiquement le 13/10/2016

Composition du jury :

Président : Mr. R. KERBACHI

Promoteurs : Mr. A. CHERGUI

Mme. W. GHILOUBI

Examineur : Mme. S. AROUA

Professeur à l'ENP

Professeur à l'ENP

Expert à L'INCC

MCB à l'ENP

ENP 2016

Dédicace

Aux deux êtres qui me sont les plus chers au monde, mes parents, ma mère qui m'a toujours soutenue, et mon père qui a tout fait pour que je ne manque de rien, Que Dieu vous protège

A mes frères et sœurs

A mes amis

A tous ceux qui me sont chers

Remerciement

Je veux d'abord et avant tout remercier Dieu tout-puissant de m'avoir donné à la fois la force et le courage pour accomplir ce travail.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur le Professeur Chergui Abdelmalek pour l'aide qu'il m'a apportée, pour sa patience, sa confiance, son encouragement, et son œil critique qui m'a été très précieux pour structurer le travail et pour améliorer la qualité des différentes sections de mon mémoire, je le remercie vivement.

Je tiens aussi à remercier ma Co-promotrice Madame GHILLOUBI Wassila, expert à l'Institut National de Criminalistique et de Criminologie, pour son soutien technique et moral, si précieux, sa disponibilité et ses qualités scientifiques. Je la remercie aussi pour m'avoir accueillie au sein de son équipe, pour la confiance qu'elle m'a témoignée et pour avoir mis à ma disposition des moyens performants pour réaliser ce travail.

Mes remerciements vont à tous les membres du Laboratoire de Toxicologie de l'Institut National de Criminalistique et Criminologie de la Gendarmerie Nationale (INCC) de Bouchaoui, particulièrement Monsieur BOUMRAH Yacine, Monsieur BOUCHAMA Sami, Monsieur BELHADJ Redouane ainsi que le personnel de l'INCC pour leur soutien et la bonne ambiance partagée.

Je tiens à remercier Mr KERBACHI RABAH professeur à l'école nationale polytechnique pour avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury. Je tiens aussi à remercier Mme Aroua pour avoir accepté de consacrer de son temps pour examiner ce travail

Enfin, une pensée concerne bien évidemment tous mes proches, mes amis et en particulier, mes parents, mes frères et sœurs et toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réussite de ce projet.

Merci à tous

ملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو تطوير طريقة تحليل بقايا المبيدات الحشرية في الطماطم الطازجة عن طريق الامتزاز الاستشرابي الغشائي عالي الأداء. لذلك تم استخدام جدول أعمال شامل يحمل تقنية كويتشرز لإجراء عملية الاستخراج المبيدات. هذه الطريقة تسمح لنا بتحديد عشرة مبيدات حشرية داخل الطماطم الطازجة.

الكلمات المفتاحية: المبيدات الحشرية؛ كويتشرز؛ الامتزاز الاستشرابي الغشائي عالي الأداء؛ استخلاص.

Abstract :

The objective from this study is to develop a method of multi-residual analysis of Pesticides in fresh tomatoes by High performance thin layer chromatography equipped with a UV scanner. A comprehensive protocol comprising QuiEACHERS technique to extraction was used. The optimized method allows the detection of ten pesticides in fresh tomatoes.

Keywords : Pesticides ; QuiEACHERS ; HPTLC ; extraction.

Résumé :

L'objectif de cette étude est de développer une méthode d'analyse multi-résiduelle de Pesticides dans les tomates fraîches par chromatographe sur couche mince de haute performance équipé d'un scanner UV. Un protocole global comprenant la technique de QuiEACHERS pour l'extraction a été utilisé. La méthode optimisée permet la détection dix pesticides dans les tomates fraîches.

Mots clés : Pesticides ; QuiEACHERS ; CCMHP ; extraction.

Sommaire :

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Liste des symboles

Introduction générale	11
1. Généralités sur les pesticides.....	14
1.1. Définition des pesticides.....	14
1.2. Classification des pesticides	14
1.2.1. Premier système de classification.....	14
1.2.2. Deuxième système de classification	15
1.3. Effets des pesticides sur la santé.....	17
1.4. Effets des pesticides sur l'environnement.....	18
1.5. Règlementation.....	19
2. Généralités sur les Tomates.....	22
2.1. Introduction :	22
2.2. Principaux types de tomate	22
2.3. Classification botanique de la tomate (systématique)	22
2.4. Importance nutritive de la tomate	23
2.5. Importance de la tomate en Algérie :	23
2.6. Les pesticides utilisés dans la cultivation des tomates en Algérie	25
3. Matériel et méthodes	28
3.1. Introduction	28
3.2. Principe de la chromatographie sur couche mince.....	28
3.3. Les pesticides utilisés dans nos expériences	30
3.4. Les éluant utilisés dans nos expériences	32
3.5. Produits chimiques utilisés dans nos expériences	32
3.6. Matériel utilisé	33
3.7. Protocoles expérimentaux.....	33
3.7.1. Optimisation des conditions opératoires.....	33
3.7.2. Détermination du rendement d'extraction.....	35
4. Résultats et discussion	38
Partie 1 : Optimisation des conditions opératoires	38
Partie 2 : Détermination de la limite de détection et de rendement d'extraction.....	42
Conclusion générale	44
Références	46

Liste des tableaux

tableau 1- 1 1 les LMR fixé par l’OMS pour les pesticides que nous avons utilisés dans des différentes matrices	19
tableau 1- 2 LES LMR pour l'eau de consommation HUMAINE EN Algérie	20
tableau 2- 1 pesticides utilisés dans la cultivation des tomates et leurs LMR.....	25
Tableau 3- 1 Les pesticides étudié et leurs caractéristique	30
Tableau 3- 2 Les produits chimiques utilisés dans nos expériences.....	32
Tableau 3- 3 la LISTE DES EQUIPEMENTS UTILISE DANS NOS EXPERIENCES	33
Tableau 3- 4 Paramètres opératoires pour l’étude de l’influence de conditionnement	34
Tableau 3- 5 Paramètres opératoires pour l’étude de l’influence de la distance de migration	34
Tableau 3- 6 Paramètres opératoires pour l’étude de l’influence de l'éluant	35
Tableau 4- 1 Résultats expérimentaux d'étude des conditions opératoires pour le bain screening sur la migration des pesticides	38
Tableau 4- 2 Résultats expérimentaux d'étude de l'effet de l'éluant sur la migration des pesticides	39
Tableau 4- 3 identification des substance présent dans le mélange inconnu.....	42

Liste des figures

figure 1- 1 Structures chimiques des principales familles des pesticides selon le deuxième système de classification	16
figure 1- 2 Mécanismes de transferts et de transformations des pesticides dans les milieux	18
Figure 2- 1 Progression des superficies de la tomate maraichère en Algérie entre 2001-2009[24]	24
Figure 2- 2 Augmentation de la production de la tomate maraichère en Algérie entre 2001-2009	24
Figure 2- 3 Evolution des rendements de la tomate maraichère en Algérie entre 2001-2009	25
Figure 4- 1 MIGRATION DES PESTICIDES ETUDIE AINSI QUE LA SEPARATION DE MELANGE DES PESTICIDES POUR LE BAIN N°1	40
Figure 4- 2 MIGRATION DES PESTICIDES ETUDIE AINSI QUE LA SEPARATION DE MELANGE DES PESTICIDES POUR LE BAIN N°2	40
Figure 4- 3 MIGRATION DES PESTICIDES ETUDIE AINSI QUE LA SEPARATION DE MELANGE DES PESTICIDES POUR LE BAIN Screening	41
Figure 4- 4 MIGRATION DES PESTICIDES ETUDIE AINSI QUE LA SEPARATION DE MELANGE DES PESTICIDES POUR LE BAIN N°1	41

Liste des abréviations

CCM : Chromatographie a couche mince

CCMHP : Chromatographie à couche mince de haute performance

R_f : Rapport frontal

OMS : Organisation Mondiale de la Sante

LMR : La limite maximale de résidus

TLC : Thin Layer Chromatography

HPTLC : High Performance Thin Layer Chromatography

Liste des symboles

P1 : Acetamipride

P2 : Trifloxystrobine

P3 : Cypermethrine

P4 : Lufenuron

P4 : Téflobenzuron

P5 : Deltaméthrine

P6 : Methomyl

P7 : Chlorpyrifos

P8 : Bifenthrine

P9 : Fenoxycarb

M : Mélange des pesticides

B : Blanc

mg : milli gramme

min : minute

Kg : kilogramme

ha : hectare

Qx : quintaux

Introduction générale

Introduction générale

Dans le 20^{ème} siècle, le monde a connu une explosion démographique sans précédent qui a causé un déséquilibre dans tous les domaines particulièrement dans le domaine agricole.

Le développement de l'agriculture est accompagné par l'utilisation des produits phytosanitaires ou pesticides, cette utilisation a montré ses avantages notamment dans l'augmentation des rendements de production par l'élimination ou la réduction des prédateurs des cultures. Toutefois, derrière ces bienfaits, se cachent des effets négatifs sur l'environnement, sur la qualité des produits agricoles et sur la santé de la population.

La culture de la tomate occupe une place très importante dans le domaine agricole en Algérie où près de 33000 ha sont consacrés annuellement à la culture de tomate (maraîchère et industrielle), donnant une production moyenne de 11 millions de quintaux et des rendements moyens d'environ 311Qx/ha [1].

Malheureusement cette culture est le sujet de nombreuses attaques parasitaires par une gamme assez large de ravageurs (mouches blanches, pucerons, thrips, nématodes...) et maladies (mildiou, oïdium, pourriture grise...) causant ainsi des pertes remarquables au rendement ce qui a conduit les producteurs de tomate à utiliser une panoplie de méthodes de lutte. La lutte chimique demeure le pilier de toute protection vu sa rapidité et sa facilité, néanmoins, ces produits phytosanitaires sont utilisés d'une manière irrationnelle.

Le non-respect des délais de carences pourraient être à l'origine de l'accumulation des résidus dans les produits végétaux et la contamination du consommateur et de la nappe phréatique. L'utilisation intensive et répétée des pesticides ayant le même mode d'action et appartenant à la même famille chimique pourrait induire des cas de résistance. Cette utilisation non raisonnable menace la santé publique ainsi que l'environnement et par conséquent le contrôle de ces produits devient indispensable.

C'est dans ce contexte que notre travail s'inscrit, qui se veut une contribution à l'analyse qualitative et quantitative de dix pesticides par chromatographie sur couche mince de haute performance sur une variété de tomate cultivée en Algérie.

Pour cela, nous avons structuré notre travail en quatre chapitres :

- En chapitre 1, nous avons donné des généralités sur les pesticides.
- dans le 2ème chapitre nous avons donné des généralités sur les tomates
- Le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation des différentes expériences sont décrits dans le chapitre 3.
- Les résultats expérimentaux obtenus accompagnés d'interprétation et de discussion sont présentés en chapitre 4

Ce travail se termine par une conclusion générale et perspective.

Chapitre 1

Généralités sur les pesticides

1. Généralités sur les pesticides

1.1. Définition des pesticides

Bien que communément appelé « pesticides » par le grand public, le terme utilisé par les législations relatives à la protection des cultures est « produits phytosanitaires » [2]. sont définis comme des substances dont les propriétés chimiques contribuent à la protection des plantes cultivées et des produits récoltés des attaques de champignons, parasites, d'insectes, d'acariens, de rongeurs champêtres ou encore à détruire les adventices ou « mauvaises herbes ». Ce sont des formulations contenant une ou plusieurs substances chimiques minérales ou organiques, synthétiques ou naturelles. Les formulations sont en générale composées d'une ou de plusieurs substances actives et d'un ou de plusieurs adjuvants. La substance active exerce une action générale ou spécifique sur les organismes nuisibles ou sur les végétaux ; c'est elle qui confère au produit l'effet désiré. L'adjuvant quant à lui est une substance dépourvue d'activité biologique jugée suffisante dans la pratique mais capable de modifier les propriétés physiques, chimiques ou biologiques des produits phytosanitaires. Il renforce l'efficacité, la sécurité du produit et sa facilité d'utilisation [3].

1.2. Classification des pesticides

D'une manière générale, les substances actives peuvent être classées soit en fonction de la nature de l'espèce à combattre (1er système de classification), soit en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose (2eme système de classification).

1.2.1. Premier système de classification

Le premier système de classification repose sur la cible à contrôler. Il existe principalement trois grandes familles d'activités qui sont les herbicides, les fongicides et les insecticides.

- **Les herbicides** représentent les pesticides les plus utilisés dans le monde, toutes cultures confondues. Ils sont destinés à éliminer les végétaux rentrant en concurrence avec les plantes à protéger en ralentissant leur croissance.
- **Les fongicides** permettent quant à eux de combattre la prolifération des maladies des plantes provoquées par des champignons ou encore des bactéries. Ils peuvent agir différemment sur les plantes soit en inhibant le

système respiratoire ou la division cellulaire, soit en perturbant la biosynthèse des stérols, des acides aminés, des protéines ou le métabolisme des glucides.

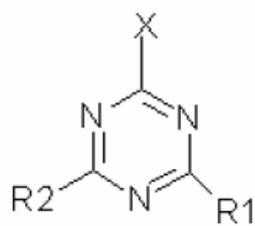
- **Les insecticides** sont utilisés pour la protection des plantes contre les insectes. Ils interviennent en les éliminant ou en empêchant leur reproduction. Différents types existent : les neurotoxiques, les régulateurs de croissance et ceux agissant sur la respiration cellulaire.

Outre ces trois grandes familles mentionnées précédemment, d'autres peuvent être citées, par exemple : les acaricides contre les acariens, les nématicides contre les vers du groupe des nématodes, les rodenticides contre les rongeurs, les taupicides contre les taupes, les molluscicides contre les limaces et escargots ou encore les corvicides et corvifuges respectivement contre les corbeaux et les autres oiseaux ravageurs de culture [4].

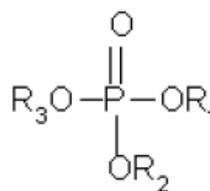
1.2.2. Deuxième système de classification

Le deuxième système de classification tient compte de la nature chimique de la substance active qui compose majoritairement les produits phytosanitaires. Compte tenu de la variété des propriétés physico-chimiques des pesticides disponibles sur le marché, il existe un très grand nombre de familles chimiques. Les principaux groupes chimiques sont (figure 1-1) :

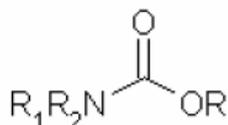
- ✓ les organophosphorés,
- ✓ les carbamates,
- ✓ les triazines
- ✓ les urées substituées.



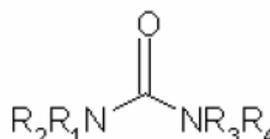
Triazines



Organophosphorés



Carbamates



Urées

FIGURE 1- 1 STRUCTURES CHIMIQUES DES PRINCIPALES FAMILLES DES PESTIC SELON LE DEUXIEME SYSTEME DE CLASSIFICATION

Ce deuxième système de classification ne permet pas de définir de manière systématique un composé. Certains pesticides peuvent, en effet, être composés de plusieurs fonctionnalités chimiques. Ils peuvent alors être classés dans une ou plusieurs familles chimiques [4].

Il n'est pas possible d'établir de règles générales de correspondance entre la nature chimique des pesticides et leur activité biologique, mais il est possible de faire quelques remarques intéressantes pour une grande partie d'entre eux :

- Les acides, les chloracétanilides, les nitriles, les urées substituées, les uraciles et les ammoniums quaternaires sont des herbicides.
- Les dérivés organophosphorés sont pour la plupart, des insecticides mais certains sont des fongicides.
- Les pyréthrinoides sont des insecticides ou des acaricides.
- Des familles comme les 1,3,5-triazines et les thiocarbamates comprennent surtout des herbicides mais aussi quelques fongicides.
- Les carbamates constituent une famille polyvalente puisqu'on y trouve aussi bien des herbicides que des fongicides ou des insecticides.
- Les azoles sont des fongicides [5].

1.3. Effets des pesticides sur la santé

La contamination de l'homme par les pesticides peut se faire par différentes voies. Il peut les absorber via les aliments, l'eau, par contact avec la peau ou encore par inhalation. De plus, les pesticides regroupent un grand nombre de molécules dont les effets sur l'homme sont différents. Certains produits qui présentent une toxicité aiguë importante peuvent être éliminés facilement par l'organisme. A l'inverse, d'autres substances de toxicité moindre sont susceptibles de s'accumuler dans l'organisme et d'induire des effets à plus long terme qui sont difficilement quantifiables. Par ailleurs, ces produits sont transformés parallèlement en différents métabolites susceptibles d'engendrer d'autres répercussions sur l'organisme humain.

De manière générale, dans la littérature scientifique, il a été montré que les résidus de pesticides peuvent entraîner des désagréments pour la santé comme des troubles de la reproduction, du développement et du système nerveux [6]. Une toxicité neurologique aiguë l'affaiblissement du développement neurologique chronique, un dysfonctionnement des systèmes immunitaire, de reproduction et endocrinien ont également été rapportés. L'exposition aux pesticides peut aussi être la cause du développement de cancer [7]. Les risques modérés liés à une mauvaise application incluent des maux de tête, des éruptions cutanées ou encore des troubles de la vision [8]. Certains pesticides sont aussi considérés comme étant des perturbateurs endocriniens, c'est-à-dire qu'ils interfèrent avec les hormones en simulant leur action. Par ailleurs, il a été montré que chez les agriculteurs, les cancers de la prostate et de l'estomac étaient plus fréquents [9].

Une étude conduite aux Etats Unis a mis en évidence la présence de résidus de pesticides dans différentes matrices : urine, sang, tissus adipeux et lait maternel [10]. Le lien éventuel entre la présence de ces molécules dans le lait maternel et le développement anormal du fœtus et des malformations congénitales a été également souligné [11]. De plus, il a été confirmé l'existence d'un lien entre l'exposition à un pesticide organophosphoré et des problèmes persistants de mémoire à court terme et d'attention [12,13], donc il semble clair que les pesticides constituent un danger sanitaire réel et peuvent avoir des effets néfastes sur la santé humaine. La protection du consommateur constitue donc un enjeu majeur de santé publique, c'est pourquoi, des réglementations portant sur les pesticides ont été mises en place par les différentes autorités gouvernementales.

1.4. Effets des pesticides sur l'environnement

Le processus de dégradation de la vie biologique en milieu terrestre est consécutif à l'intensification du système de production qui a longtemps été la règle en agriculture. Ainsi, les produits phytosanitaires parviennent jusqu'au sol et touchent bactéries, champignons, algues, vers de terre et insectes.

Ces dégradations cumulées ont un effet nocif sur la fertilité du sol [14]. Les produits phytosanitaires et plus particulièrement les insecticides sont également dangereux pour les prédateurs, parasites et compétiteurs des ravageurs cibles. Des études ont montré que l'emploi massif de pesticides conduit en général à la diminution des effectifs d'insectes et autres invertébrés[15].

Bien que la plupart des traitements soit appliquée sur les parties aériennes des plantes, une bonne partie du produit atteint toujours le sol. Durant les épisodes pluvieux, les pesticides présents sur les plantes ou adsorbés sur les particules du sol, peuvent rejoindre les écosystèmes aquatiques par l'intermédiaire des phénomènes de ruissellement et par conséquent impliquer une pollution des eaux des nappes phréatiques. [16].

La faune des milieux aquatiques n'est pas non plus épargnée. En effet, des concentrations importantes en lindane ont été retrouvées dans des tissus d'anguilles pêchées dans la réserve naturelle de la Camargue impliquant la mortalité des poissons [17].

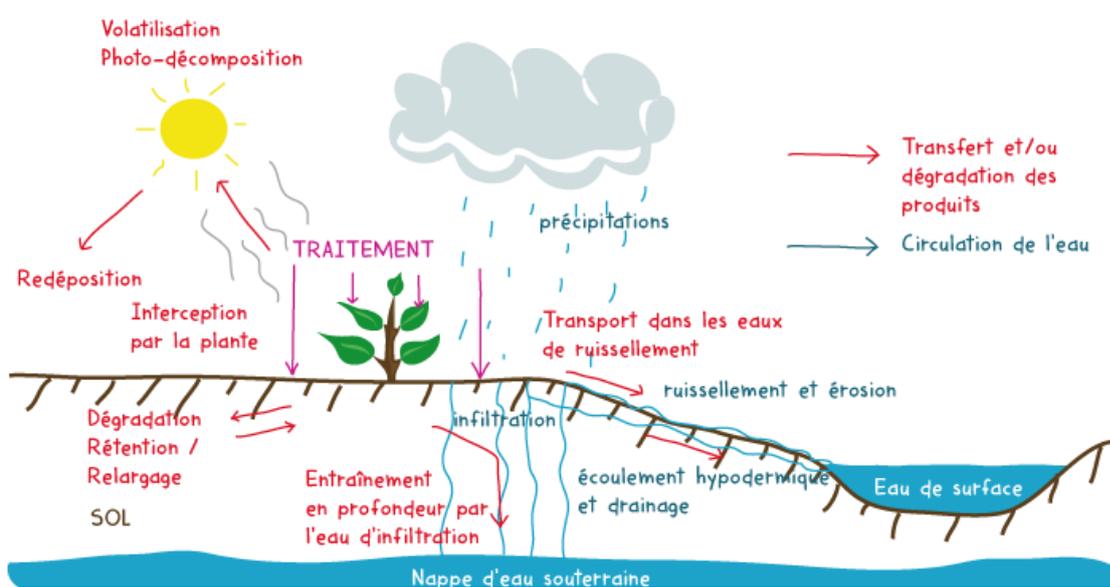


FIGURE 1- 2 MECANISMES DE TRANSFERTS ET DE TRANSFORMATIONS DES PESTICIDES DANS LES MILIEUX

L'intérêt public concernant les résidus de pesticides dans les produits de consommation n'a cessé d'augmenter ces dernières années [18] et a conduit les autorités législatives à mettre en place des réglementations strictes ainsi que des suivis de la qualité des produits de consommation. Ces actions sont menées dans le but d'éviter les risques pour le consommateur mais aussi pour régulariser le marché international [19,20]. Il existe des normes sur les taux de résidus des pesticides autorisés dans l'eau ou dans les aliments d'origines diverses.

1.5. Règlementation

La limite maximale de résidus (LMR) est la concentration maximale d'un résidu qui est légalement autorisée ou reconnue comme acceptable dans ou sur un aliment ou un produit agricole ou aliments pour les animaux [21]. Les limites maximales de résidu (LMR) sont établies par couple substance « active-dénrée » à partir des données toxicologiques et agronomiques. Elles sont exprimées en milligrammes de pesticides par kilogramme de denrée (mg/kg). Les LMR sont définies au niveau international, européen et national [22].

Les valeurs de LMR pour les pesticides que nous avons utilisés dans quelque matrice ainsi que dans l'eau de consommation humaine sont représenté dans les tableaux 1-1 et 1-2 respectivement

TABLEAU 1- 1 LES LMR FIXE PAR L'OMS POUR LES PESTICIDES QUE NOUS AVONS UTILISES DANS DES DIFFERENTES MATRICES [23]

Pesticide	Lait (mg/kg)	Tomate(mg/kg)	Fraise(mg/kg)	Pomme de terre (mg/kg)
Acétamipride	0,02	0,2	0,5	/
Trifloxystrobine	0,02	0,7	1	0,02
Cypermethrine	0,05	0,2	0,07	/
Téflubenzuron	/	/	/	0,05
Deltaméthrine	0,05	0,3	0,2	0,01
Bifentrine	0,2	0,3	1	/

TABLEAU 1- 2 LES LMR POUR L'EAU DE CONSOMMATION HUMAINE EN ALGERIE [24]

Les pesticides	LMR ($\mu\text{g/L}$)
Pesticides par substance individualisée - Insecticides organochlorés persistants, organophosphorés et carbamates, les herbicides, les fongicides, les P.C.B. et PC.T	0,1
Aldrine et dieldrine	0,03
Pesticides (Totaux)	0.5

Chapitre 2

Généralités sur les Tomates

2. Généralités sur les Tomates

2.1. Introduction :

La tomate est un légume-fruit issu d'une espèce de plante herbacée originaire du nord-ouest de l'Amérique du Sud. Elle est cultivée pour son fruit charnu, l'un des fruits les plus consommés dans l'alimentation humaine. Elle appartient à la famille des solanacées. La tomate a donné lieu au développement d'une importante industrie de transformation, pour la production de concentré, de sauce tomate, notamment de «ketchup », de jus et de conserves.

2.2. Principaux types de tomate

La forme des fruits de tomates diffère suivant les variétés. On trouve des variétés [1] :

- A fruits sphériques et côtelés
- A fruits sphériques et lisses (les plus demandées)
- A fruits cylindriques
- A confire ou d'ornement (tomate pruneau, tomate cerise, etc....)

2.3. Classification botanique de la tomate (systématique)

La tomate dont l'appartenance à la famille des solanacées avait été reconnue par les botanistes a été classée par Linné 1753 comme *solanum lycopersicon*. D'autres botanistes lui ont attribué différents noms : *solanum lycopersicum*, *solanum esculentum*, *lycopersicon licopersicum* : c'est finalement *lycopersicon esculentum* attribué par philip miller en 1754 , qui a été retenue [25]

CRONQUIST (1981), GAUSSEN et al. (1982), rappellent que la tomate appartient à la classification suivante [26] :

- Règne..... Plante
- Sous règne Trachenobionta.
- Divisionmagnoliophyta
- Classe.....magnolipsida.
- Sous classe.....asteridae.
- Ordresolonales
- Famille.....solanaceae
- Genresolanum ou lycopersicon
- Espècelycopersicon esculentum Mill

2.4. Importance nutritive de la tomate

Grâce à ses constituants, la tomate est antioxydant, diurétique, antiscorbutique et reminéralisante, elle est excellente pour la bonne santé de l'organisme et, est un élément équilibrant et idéal dans l'alimentation [1] :

- par ses fibres et la pectine de sa pulpe, elle stimule la digestion et facilite le transit intestinal ;
- Le potassium et l'eau qu'elle contient, agissent sur les reins. Le potassium sert à équilibrer le pH du sang et à stimuler la production d'acide chlorhydrique par l'estomac. Il facilite la contraction des muscles, incluant le cœur, et participe à la transmission de l'influx nerveux ;
- le lycopène, un antioxydant, protège les cellules des attaques radicales et favorise la montée de mélanine. Il joue un rôle dans la prévention de nombreux cancers, des maladies cardio-vasculaires et permet de retarder l'apparition des rides ;
- le bêta-carotène favorise la croissance des os et des dents, protège la peau contre les infections. Il joue aussi un rôle antioxydant et contribue à la bonne vision, particulièrement dans l'obscurité ;
- la tomate tonifie et affine, par sa contenance en vitamine B, l'épiderme fatigué et ses propriétés sont assainissantes et purifiantes dans l'hygiène des peaux grasses.

2.5. Importance de la tomate en Algérie :

La culture de la tomate occupe une place prépondérante dans l'économie agricole algérienne. Près de 33 000 ha sont consacrés annuellement à la culture de tomate (maraîchère et industrielle), donnant une production moyenne de 11 millions de quintaux et des rendements moyens d'environ 311 Qx/ha. Ces derniers demeurent faibles et assez éloignés de ceux enregistrés dans d'autres pays du bassin méditerranéen (Tunisie, Maroc, Espagne, France, Italie) producteurs de tomate, où les rendements varient entre 350 Qx/ha à 1500 Qx/ha [27].

La figure n° 2-1 montrent une augmentation de la superficie qui été de 16760 en 2001 se stabilisent aux alentours de 20000Ha en 2008 / 2009 si on remarque sur la figure 2-2 une augmentation considérable de la production de la tomate avec 3735340Qx en 2001 qui a doublé en 2009 avec 6410343Qx Nous remarquons aussi sur la figure

2-3 une augmentation du rendement. Cette augmentation de la production et du rendement n'est pas liée uniquement à l'augmentation des superficies mais aussi à l'utilisation excessive d'intrant agricole (produit phytosanitaire).

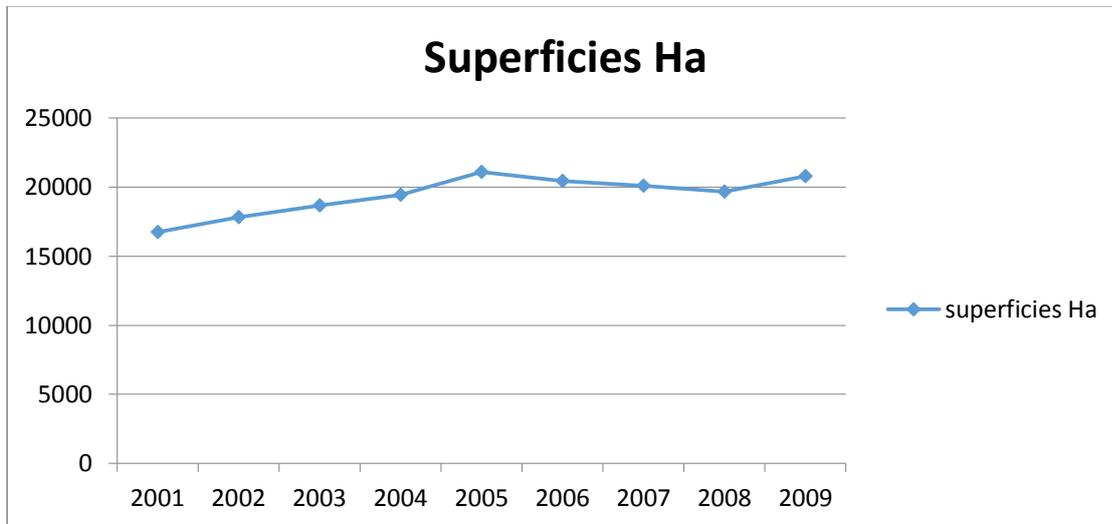


FIGURE 2- 1 PROGRESSION DES SUPERFICIES DE LA TOMATE MARAICHERE EN ALGERIE ENTRE 2001-2009[1]

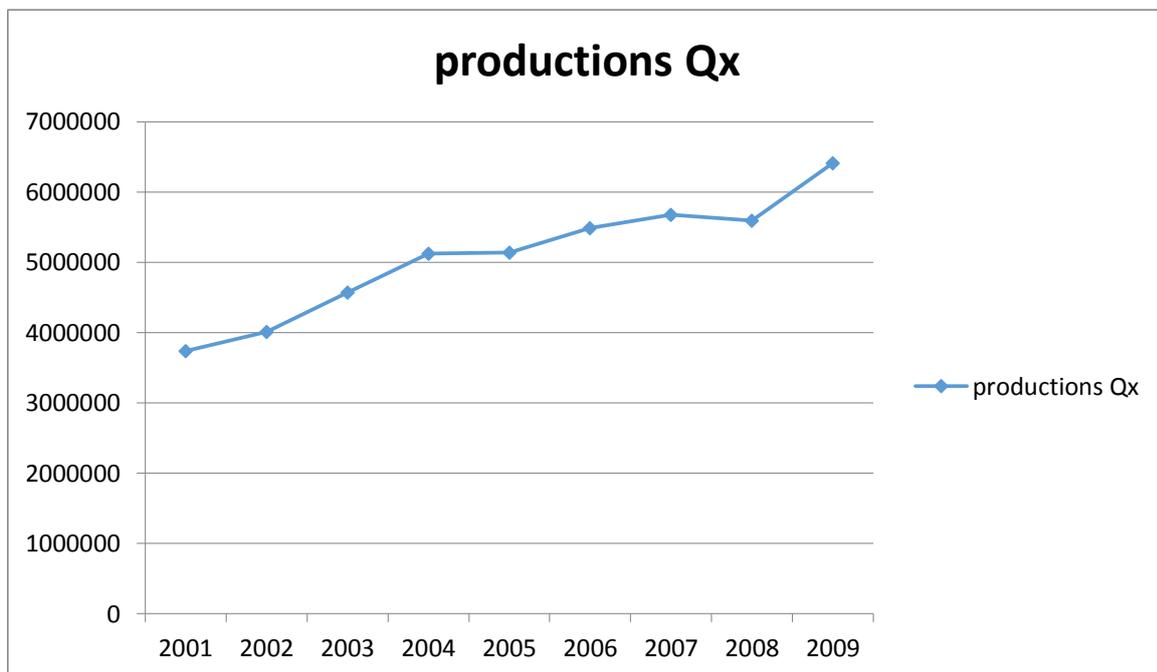


FIGURE 2- 2 AUGMENTATION DE LA PRODUCTION DE LA TOMATE MARAICHERE EN ALGERIE ENTRE 2001-2009

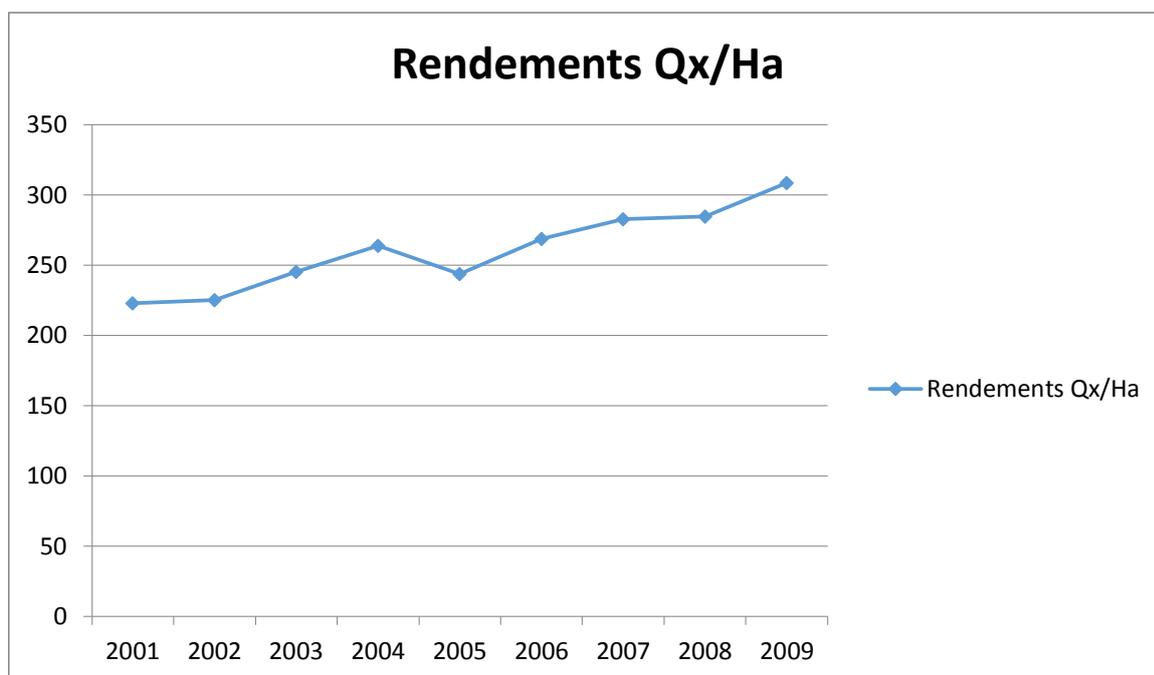


Figure 2- 3 Evolution des rendements de la tomate maraichère en Algérie entre 2001-2009

2.6. Les pesticides utilisés dans la cultivation des tomates en Algérie

La prévention des maladies et des ravageurs est extrêmement importante pour la culture de la tomate. Pratiquement tous les ravageurs et maladies sont réprimés adéquatement par l'application de pesticides, parmi les pesticides utilisés nous avons (tableau 2-1) [23] :

TABLEAU 2- 1 PESTICIDES UTILISES DANS LA CULTIVATION DES TOMATES ET LEURS LMR

Pesticides	LMR (mg/kg)
Acétamipride	0,2
Trifloxystrobine	0,7
Cypermethrine	0,2
Deltaméthrine	0,2
Bifentrine	1
Clofentézine	0,5
Cycloxydime	1,5

Cyflumetofen	0,3
Esfenvalérate	0,1
Fenpropathrine	1
Myclobutanil	0,3

Chapitre 3

Matériel et Méthodes

3. Matériel et méthodes

3.1. Introduction

Dans cette partie, il sera exposé le principe de la CCM et toutes les méthodologies concernant la préparation, l'analyse et l'optimisation des conditions opératoires ainsi que le matériel utilisé.

3.2. Principe de la chromatographie sur couche mince

Le principe de la Chromatographie sur Couche Mince (CCM ou TLC dans la terminologie anglo-saxonne) et de la HPTLC (High Performance Thin Layer Chromatography = chromatographie sur couche mince de haute performance) est, comme pour toutes les méthodes de chromatographie, un procédé de partage multi-étapes. Ce procédé nécessite :

- Un adsorbant (la phase stationnaire) adapté, déposé en une couche mince sur un support approprié (plaque de verre, feuille de polyester ou d'aluminium)
- Un solvant ou un mélange de solvants (la phase mobile, ou éluant)
- Le mélange à séparer

La CCM s'effectue en quatre étapes importantes qui sont :

➤ **La 1ère étape consiste à préparer l'échantillon**

Pour réaliser une bonne séparation, l'échantillon à chromatographie sur couche mince doit remplir plusieurs conditions. La plaque étant à usage unique, la préparation de l'échantillon est en général moins exigeante que dans le cas des autres méthodes de chromatographie. Cependant la préparation peut se faire en plusieurs étapes (prélèvement, réduction mécanique de l'échantillon, extraction, filtration, ...)

➤ **La 2ème étape est le dépôt de l'échantillon**

La technique de dépôt de l'échantillon sur la plaque dépend du but de la séparation chromatographique. La méthode la plus commode est l'application point par point avec une pipette capillaire en verre.

Pour obtenir de meilleurs résultats, particulièrement pour une quantification instrumentale, il vaut mieux appliquer l'échantillon de façon linéaire.

➤ **La 3ème étape est le Développement d'un chromatogramme**

La méthode la plus courante est l'élution ascendante effectuée dans une cuve de développement. On réalise généralement un développement simple. Mais un

développement multiple avec changement éventuel de solvant, permet d'obtenir des séparations plus efficaces. Dans le cas d'une séparation bi-dimensionnelle, on effectue le dépôt de l'échantillon dans un coin de la plaque. Après un premier développement chromatographique, on sèche la plaque et on la tourne de 90°, elle est alors développée avec un autre éluant. Cette technique de chromatographie bi-dimensionnelle est surtout utilisée pour des mélanges complexes, car elle permet d'utiliser les caractéristiques spécifiques de séparation de deux solvants.

➤ **La 4ème étape est la révélation et l'interprétation du chromatogramme**

La révélation se fait en fonction du but de l'analyse.

Pour une évaluation qualitative, la visualisation et la localisation des substances séparées suffisent généralement. Pour la détermination des substances inconnues nous pouvons opérer simplement par analogie avec des substances de référence chromatographies (des standards pur) susceptible d'être présent dans l'échantillon en même temps que l'échantillon ou de calculer le facteur de rétention R_f ou encore sa valeur multipliée par 100, notée hR_f , puis le comparé avec la littérature.

La valeur de R_f est définie par la relation (1) :

$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par la substance}}{\text{distance parcourue par le front de solvant}} = \frac{b}{a} \quad (1)$$

Les valeurs de R_f sont donc comprises entre 0 et 1.

L'analyse quantitative est possible avec un étalonnage approprié. Pour ce faire, soit on évalue la superficie de la tâche, soit on effectue une mesure photométrique directement sur la plaque.

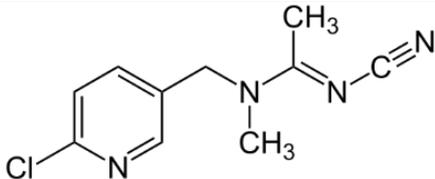
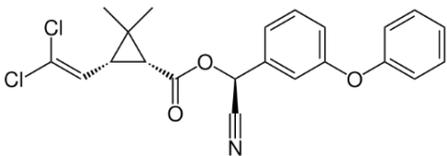
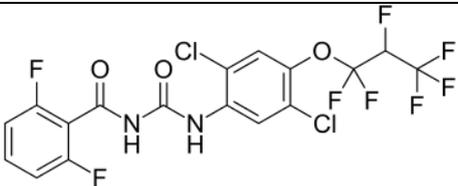
Lorsque la plaque sur laquelle est déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et d'autre part de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase

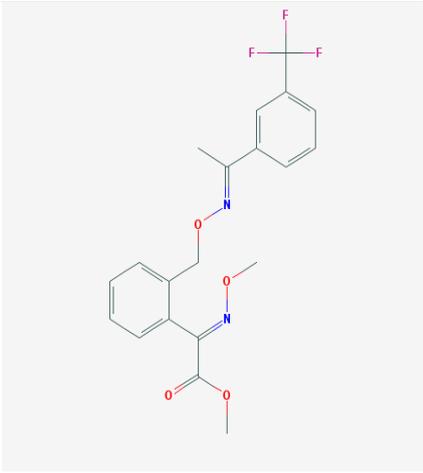
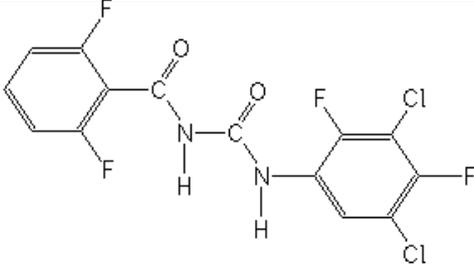
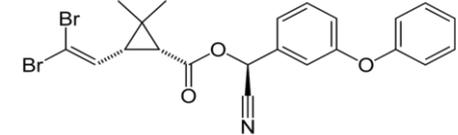
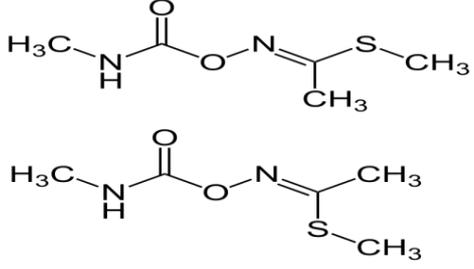
mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption [28].

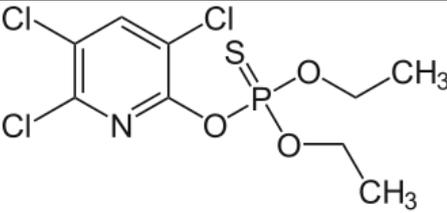
3.3. Les pesticides utilisés dans nos expériences

Les pesticides étudiés ainsi que leurs structures et leurs classifications sont représentés dans le tableau 3-1 :

TABLEAU 3- 1 LES PESTICIDES ETUDIÉS ET LEURS CARACTERISTIQUES

Nom	Formule brute	Structure	classification	Solvant
acetamipride	$C_{10}H_{11}ClN_4$		Insecticide	Acetone acetonitrile Dichloromethane Ethyl acetate Hexane Methanol
Cypermethrine	$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$		Insecticide	Méthanol Acetone Dichloromethane Hexane Toluène Acetonitrile Iso-octane Ethyl acetate
Lufénurone	$C_{17}H_8Cl_2F_8N_2$ O_3		Insecticide	Acetone Ethyl acetate Hexane Toluène Méthanol Acetonitrile Dichloromethane

Trifloxystrobin	$C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$		Fongicide	Methanol Acetone Dichloromethane Toluène Acetonitrile Hexane Ethyl acetate
Téflubenzuron	$C_{14}H_6Cl_2F_4N_2O_2$		Insecticide	Acetone Dimethyl sulfoxide Dichloromethane Hexane Toluène Methanol Acetonitrile
Deltaméthrine	$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$		Insecticide	Methanol Acetone Dichloromethane Hexane Toluène Acetonitrile Iso-octane Ethyl acetate Isopropanol Dimethyl sulfoxide
Methomyle	$C_5H_{10}N_2O_2S$		insecticide	Methanol Acetone Dichloromethane Hexane Toluène Acetonitrile Ethyl acetate

Chlorpyrifos	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS		insecticide	Methanol Acétone Dichloromethane Acétonitrile
--------------	--	---	-------------	--

3.4. Les éluant utilisés dans nos expériences

Dans ce travail, nous avons testé trois éluant qui sont :

- Ether de pétrole (60-40 °C) – acétone (80 :20 , V/V) (Bain n°1)
- Toluène – Benzène – diéthylamine (75 : 30: 3, V/V/V) (Bain n°2)
- Toluène – acétone – ethanol- ammoniac (45 : 45 : 7 : 3, V/V/V/V) (screening)

3.5. Produits chimiques utilisés dans nos expériences

Les produits chimiques utilisés durant toutes nos expériences sont donnés dans le tableau 3-2.

TABLEAU 3- 2 LES PRODUITS CHIMIQUES UTILISES DANS NOS EXPERIENCES

Produit	La marque	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Qualité
Ether de pétrole (60-40 °C)	VWR	/	Qualité analyse
Acétone	PANREAC	58,08	Qualité analyse
Toluène	VWR	92,14	Qualité analyse
Benzène	VWR	78,11	Qualité analyse
Diéthylamine	VWR	73,14	Qualité analyse
Hexane	VWR	86,17	Qualité analyse
Dichloromethane	VWR	84,93	Qualité analyse
Ethanol	PANREAC	46,07	Qualité HPLC
ammoniac	VWR	17,031	Qualité analyse
acétonitrile	VWR	41,05	Qualité HPLC

3.6. Matériel utilisé

L'appareil CCMHP utilisée est de type CAMMAG AUTOMATIC TLC SAMPLER 4.

Les principaux éléments d'une séparation par la CCMHP sont :

- Une cuve chromatographique à double bac en verre, de forme variable, fermée par un couvercle étanche ;
- Une plaque de CCM recouverte avec du gel de silice de type HPTLC, plates Silicagel 60 F 254 ;
- Un spotteur automatique pour effectuer des dépôts d'échantillons sur la plaque ;
- Un scanner UV pour la révélation.

Les références du matériel utilisé dans nos différentes expériences sont mentionnées dans le tableau 3-3 :

TABLEAU 3- 3 LISTE DES EQUIPEMENTS UTILISE DANS NOS EXPERIENCES

Matériel	Références
Plaque CCM	20*20 TLC aluminium plaque silica gel 60F254
Plaque CCMHP	10*10 TLC plaque silica gel sur verre
scanner UV-visible	CAMAG Automatique scanner3
Centrifugeuse 5000 tr/min	SINGMA 3-16PK
Centrifugeuse 6000 tr/min	MINI SPIN PLUS EPPENDORF
chromatographie sur couche mince spotter	CAMAG, Automatique TLC sampler

3.7. Protocoles expérimentaux

3.7.1. Optimisation des conditions opératoires

Afin d'avoir les meilleurs résultats possible nous avons étudié les différents paramètres qui influent sur la chromatographie à couche mince pour cela nous avons étudié le conditionnement, le temps de migration ainsi que les éluant.

3.7.1.1. Préparation des standards et le dépôt des échantillons

Tout d'abord nous avons procédé à la préparation des solutions de 1g/L de chaque pesticide étudié dans l'acétonitrile.

Après la préparation des solutions nous les avons filtrés pour éliminer tous les particules qui peuvent colmater la seringue du CCM spotter.

Les dépôts des taches des pesticides ont été faits moyennant un CCM spotter de type CAMAG, Automatique TLC sampler, contrôlé avec le logiciel winCATS. Nous avons mis des taches de 10µl de chaque pesticide sur une plaque CCM (CCMHP) qui nous l'avons déjà préparé (limité la distance de migration).

Après migration, la révélation a été faite par un scanner UV-visible de type CAMAG Automatique scanner3, contrôler par le logiciel winCATS ou nous avons déterminé le rapport frontal ainsi que toutes les spectres UV de chaque pesticide, dans cette partie nous avons utilisé une longueur d'onde moyenne de 254nm.

visons pour une recherche rapide dans la bibliothèque que contiens toutes les informations sur les pesticides, nous pouvons effectuer une évaluation qualitative on utilisant le rapport frontal ainsi que le spectre UV de pesticides inconnu.

3.7.1.2. Conditionnement

Pour le conditionnement nous avons mis l'éluant dans la chambre de migration et attendre 0 et 30 min avant de commencer la migration.

TABLEAU 3- 4 PARAMETRES OPERATOIRES POUR L'ETUDE DE L'INFLUENCE DE CONDITIONNEMENT

Temps d'attendre (conditionnement)	0 et 30min
Plaque utilisé	CCM 20x20
Eluant utilisé	Screening
Distance parcourue par l'éluant	14 et 18 cm

3.7.1.3. Distance de migration

Pour étudier l'effet du temps de migration nous avons varié la distance parcourue par l'éluant entre 14 et 18 cm.

TABLEAU 3- 5 PARAMETRES OPERATOIRES POUR L'ETUDE DE L'INFLUENCE DE LA DISTANCE DE MIGRATION

Temps d'attendre (conditionnement)	0 et 30min
Plaque utilisé	CCM 20x20
Eluant utilisé	Screening

Distance parcourue par l'éluant	14 et 18 cm
---------------------------------	-------------

3.7.1.4. *L'effet de l'éluant sur la séparation des pesticides*

Pour étudier l'effet de l'éluant, nous avons fixé toutes les conditions opératoires (Conditionnement, Plaque, Distance parcourue par l'éluant) et nous avons testé trois bains différent qui sont mentionnés dans le paragraphe 3.3.

TABLEAU 3- 6 PARAMETRES OPERATOIRES POUR L'ETUDE DE L'INFLUENCE DE L'ELUANT

Temps d'attendre (conditionnement)	0 min
Plaque utilisé	CCMHP 10x10
Eluant utilisé	Bain1 – Bain2 – screening
Distance parcourue par l'éluant	7 cm

3.7.2. Détermination du rendement d'extraction

3.7.2.1. *Préparation d'échantillon de tomate*

Pour la préparation de l'échantillon de tomate, nous avons pris une tomate (130 g) et nous l'avons lavé abondamment avec de l'eau pour éliminer toutes les traces des pesticides sur cette tomate (supposant qu'il n y a pas des résidus de pesticides dans cette tomate) puis nous l'avons broyé.

Le jus obtenu a été récupère puis nous avons injecté 1ml d'acetamipride et 1ml de Téflubenzuron de concentration de 1g L⁻¹ et nous les avons mélangé, puis nous avons pris 10g de ce jus, nous avons appliqué la technique de QueChERS pour extraire les pesticides qui existe dans ce jus et les analysés.

3.7.2.2. *Méthode de QueChERS*

QuEChERS qui est l'acronyme de Quick (rapide), Easy (facile), Cheap (peu cher), Effective (efficace), Rugged (robuste) et Safe (sûr) est une technique d'extraction proposée par Anastassiades et coll. en 2003 [29].

Contrairement à de nombreuses autres techniques de préparation des échantillons adaptés à l'extraction sélective d'analytes cibles, l'approche QuEChERS vise le retrait de la matrice, pouvant être regroupée en différentes catégories liées à la pigmentation et la quantité de gras dans le type d'échantillon.

Le processus QuEChERS comporte trois étapes simples :

- **Extraction** : Basée sur la séparation avec extraction par relargage, impliquant un équilibre entre une couche aqueuse et organique
- **Nettoyage** : Une extraction en phase solide (SPE) dispersive impliquant un nettoyage plus approfondi avec diverses combinaisons de sels et d'absorbants poreux pour éliminer les substances interférentes
- **Analyse** : Détection de composés utilisant généralement la spectrométrie de masse couplée à un chromatographe en phase gazeuse et/ou la spectrométrie de masse couplée à un chromatographe en phase liquide [30].

Dans la pratique, le procédé comporte les étapes suivantes :

- Peser 10g de l'échantillon
- Ajouter 10ml d'acetonitrile
- Mélanger vigoureusement pendant 1min
- Ajouter 4g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
- Ajouter 1g NaCl
- Mélanger vigoureusement puis centrifuge 5min a 5000tr/min
- Transférer 1ml du surnageant dans un tube contenant 80 mg de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ et 150 mg du charbon actif.
- Mélanger vigoureusement puis centrifuger une minute à 6000tr/min

L'extrait final peut être directement analysé.

3.7.2.3. Calcul de rendement d'extraction

Après préparation d'une courbe d'étalonnage et d'analysé l'échantillon nous déterminons la concentration de chaque pesticides présent dans l'échantillon.

Le rendement R_{ext} de l'extraction est défini par la relation (2) :

$$R_{ext} = \frac{C_{mesuré}}{C_{injecté}} \times 100 \quad (2)$$

Avec :

$C_{mesuré}$: la concentration des pesticides mesurés en mg de pesticide/kg de tomate

$C_{injecté}$: la concentration des pesticides injectés lors de la préparation d'échantillon en mg de pesticide/kg de tomate.

Chapitre 4

Résultats et discussion

4. Résultats et discussion

Partie 1 : Optimisation des conditions opératoires

Cette partie a pour but l'optimisation des différents facteurs influant sur la migration des pesticides qui sont mentionnés dans le paragraphe 3.6.1 à savoir le conditionnement, la distance entre le front du solvant et la ligne du départ, la nature des plaques ainsi que l'éluant étudié.

Les Résultats Obtenus sur l'optimisation des conditions opératoires pour la CCM sont représentés dans les tableaux 4.1 et 4.2

➤ Effet de conditionnement, distance de migration et la plaque sur la migration et la séparation des pesticides par chromatographie sur couche mince

Le tableau 4-1 représente les résultats expérimentaux d'étude des conditions opératoires pour le bain screening sur la migration des pesticides.

TABLEAU 4- 1 RESULTATS EXPERIMENTAUX D'ETUDE DES CONDITIONS OPERATOIRES POUR LE BAIN SCREENING SUR LA MIGRATION DES PESTICIDES

Bain	Screening				
Plaque	CCM (20x20 cm)				CCMHP (10x10 cm)
Conditionnement	0min		30min		0min
Front du solvant	14cm Rf	18cm Rf	14cm Rf	18cm Rf	8 cm Rf
Acetamipride	0.62	0.64	0.46	0.58	0.61
Trifloxystrobine	0.96	0.93	0.73	0.94	0.94
Cypermethrine	0.98	0.93	0.75	0.95	0.97
Lufnuron	0.96	0.91	0.60	0.93	0.93
Téflubenzuron	0.91	0.91	0.76	0.92	0.88
Deltaméthrine	0.98	0.91	0.75	0.94	0.97
Bifenthrine	0.98	0.93	0.73	0.93	0.94
Fenoxcarb	0.92	0.90	0.75	0.94	0.90

D'après les résultats obtenus (tableau 4.1) nous avons constaté que :

Les résultats obtenus pour le bain screening montrent que les pesticides étudiés ont plus ou moins le même rapport frontal R_f .

Lorsque nous avons augmenté le temps de conditionnement pour une distance de migration de 14 cm le rapport frontal R_f a significativement diminué mais ils sont restés toujours plus ou moins les mêmes.

Nous avons remarqué aussi que sans conditionnement, la distance de migration n'a aucun effet sur la migration des pesticides, alors que nous avons noté une augmentation significative dans les R_f lorsque nous avons augmenté la distance de migration après 30min de conditionnement.

➤ **Effet de l'éluant**

Le tableau 4-2 représente les résultats expérimentaux d'étude de l'effet de l'éluant sur la migration des pesticides.

TABLEAU 4- 2 RESULTATS EXPERIMENTAUX D'ETUDE DE L'EFFET DE L'ELUANT SUR LA MIGRATION DES PESTICIDES

Bain	Bain 1	Bain 2	Screening
Plaque	CCMHP (10x10 cm)	CCMHP (10x10 cm)	CCMHP (10x10 cm)
Conditionnement	0min	0min	0min
Front du solvant	8 cm R_f	8 cm R_f	8 cm R_f
Acetamipride	0.06	0.08	0.61
Trifloxystrobine	0.41	0.30	0.94
Cyperméthrine	0.61	0.79	0.97
Lufenuron	0.26	0.33	0.93
Téflubenzuron	0.29	0.21	0.88
Deltaméthrine	0.59	0.82	0.97

Dans cette partie, nous avons essayé trois bains qui sont mentionnés dans le paragraphe 3.3 et nous avons obtenu les résultats présentés dans le tableau 4.2 ainsi que dans les figures 4-1, 4-2 et 4-3. D'après ces résultats nous remarquons que les R_f des pesticides étudiés sont différents dans chaque bain 1 et 2 et dans le bain n°3 sont presque identiques. Dans le bain n°1, nous avons obtenu une très bonne séparation par rapport aux autres bains.

BAIN 1

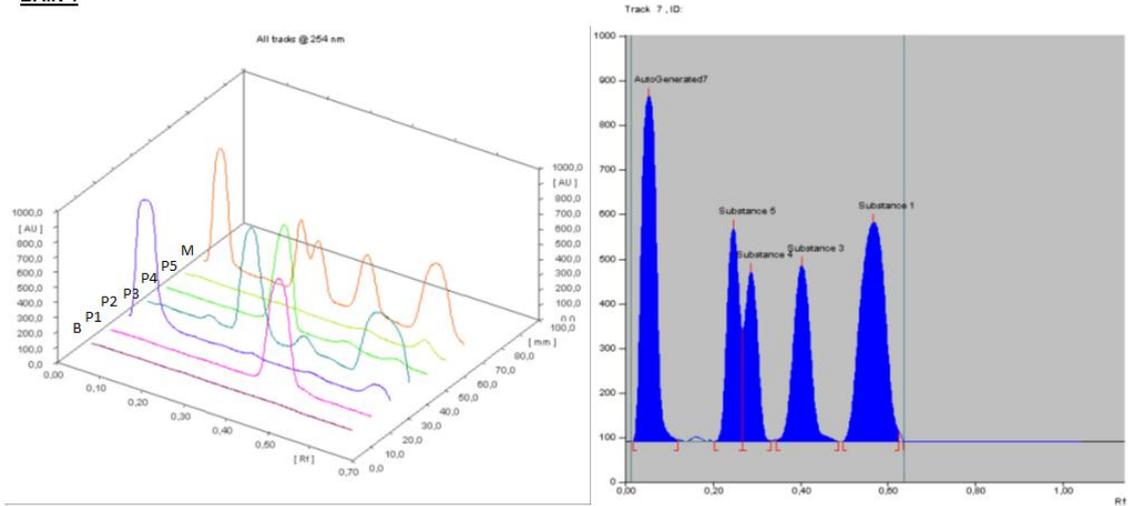


FIGURE 4- 1 MIGRATION DES PESTICIDES ETUDIE AINSI QUE LA SEPARATION DE MELANGE DES PESTICIDES POUR LE BAIN N°1

Bain 2

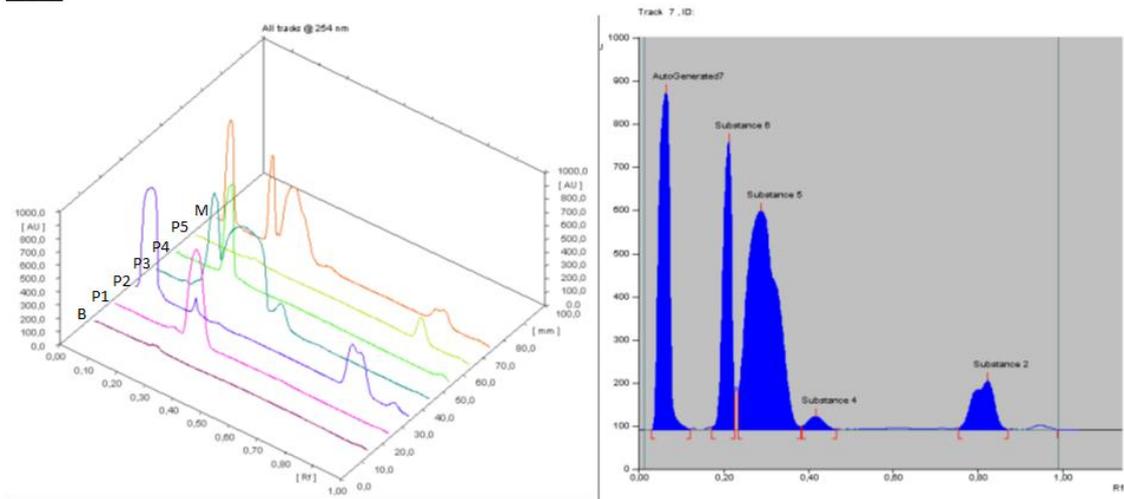


FIGURE 4- 2 MIGRATION DES PESTICIDES ETUDIE AINSI QUE LA SEPARATION DE MELANGE DES PESTICIDES POUR LE BAIN N°2

Bain screening

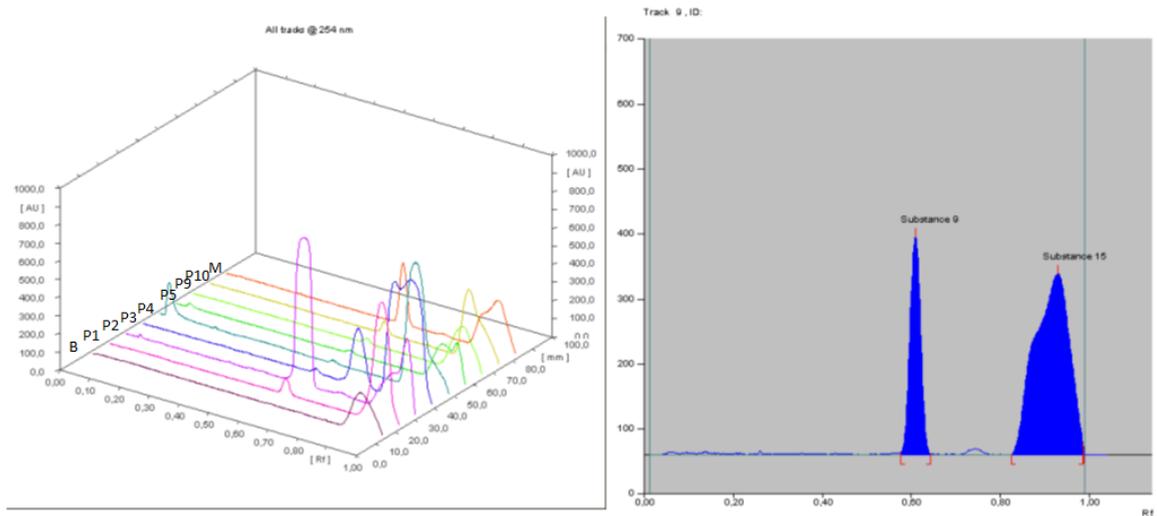


FIGURE 4- 3 MIGRATION DES PESTICIDES ETUDIE AINSI QUE LA SEPARATION DE MELANGE DES PESTICIDES POUR LE BAIN SCREENING

D'après ces résultats nous avons décidé d'utilisé le bain n°1 pour le reste de travail.

➤ **Évaluation qualitative sur le Bain n°1 :**

BAIN 1

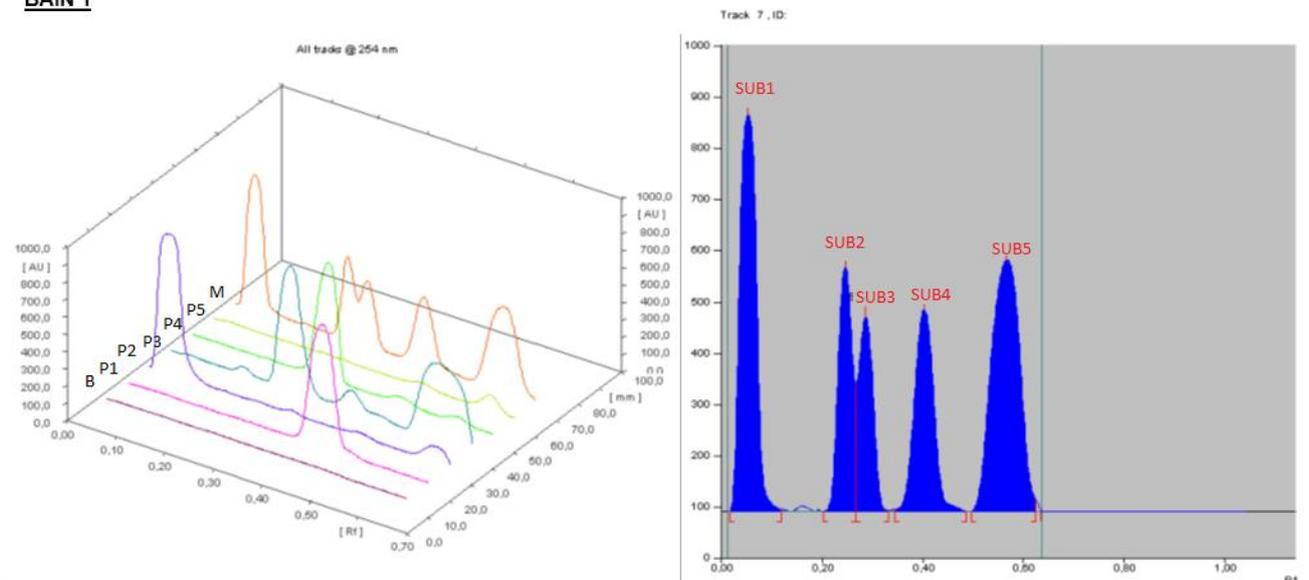


FIGURE 4- 4 MIGRATION DES PESTICIDES ETUDIE AINSI QUE LA SEPARATION DE MELANGE DES PESTICIDES POUR LE BAIN N°1

En se basant sur les pesticides témoins que nous les avons utilisé pendant la séparation du mélange inconnu nous pouvons identifier les composés de ce mélange (tableau 4-3)

TABLEAU 4- 3 IDENTIFICATION DES SUBSTANCE PRESENT DANS LE MELANGE INCONNU

Les composés de mélange	Pesticide correspond
SUB1	Acétamipride
SUB2	Lufenuron
SUB3	Téflubenzuron
SUB4	Trifloxstrobine
SUB5	Deltaméthrine

Partie 2 : Détermination de la limite de détection et de rendement d'extraction

Malheureusement nous n'avons pas pu réaliser le travail expérimental de cette partie mais nous allons décrire les étapes à suivre pour la détermination de la limite de détection et le rendement d'extraction.

L'optimisation des conditions opératoire nous permet de déterminer la limite de détection de l'appareil pour chaque pesticide étudié. Il faut que la limite de détection soit inférieure à la concentration maximale autorisée par la réglementation.

Après détermination de la limite de détection nous devons déterminer le rendement de l'extraction par la méthode de QueChERS, pour cela il faut suivre le mode opératoire présenté dans le paragraphe 3.7.2, pour déterminer la concentration des pesticides dans la solution que nous avons eu après extraction, il faut préparer des courbes d'étalonnage pour chaque pesticide étudié pour pouvoir les quantifier.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif de notre travail est le développement d'une méthode d'analyse des pesticides par chromatographie sur couche mince à haute performance dans les aliments. Comme matrice étudiée nous avons choisi la tomate parce que c'est le fruit-légume le plus utilisé dans toutes les gastronomies qui existe dans le monde et parce les agriculteurs utilisent beaucoup de pesticide pour la cultivation de cette espèce.

Le travail expérimental a été divisé essentiellement en deux parties. La première partie consiste à optimiser les conditions opératoires de la chromatographie à couche mince de haute performance à savoir le conditionnement, la distance de migration, la plaque ainsi que l'éluant utilisé. Et la deuxième partie consiste à déterminer le rendement d'extraction des pesticides dans les tomates par la méthode de QuChERS.

Les essais ont montrés que les meilleures plaques sont les plaques CCMHP qui donnent les mêmes résultats que les plaques CCM, mais avec un temps de migration nettement inférieur à celui des plaques CCM à cause de la distance de migration que nous avons fixés dans chaque cas.

Les résultats ont montré que l'éluant – Ether de pétrole (60-40 °C) – acétone (80 :20 , V/V) (bain n° 1) donne une très bonne séparation par rapport aux autres éluants (bains 2 et 3) et que le conditionnement de la chambre de migration pour une durée de 30 min ralenti la migration des pesticides et nous avons aussi observé que la distance de migration n'a aucun effet sur la migration des pesticides sur les plaques CCMHP.

Nous avons choisi suivant nos conditions opératoires le bain n°1, les plaques de type CCMHP ainsi qu'une distance de migration de 7 cm sans conditionnement pour l'identification des pesticides.

Références

Références

- [1] C.Aoufi, H.Khaldoun. Identification et quantification de quatre pesticides Methomyl, Bifenthrine, Difenoconazole et Fenoxycarbe par GC/MS dans la tomate de la région d'Alger, projet de fin d'étude, 2013, université SAAD DAHLAB de BLIDA.
- [2] A.Couteux, C. Salau, Index phytosanitaire acta, 45e édition, MAME, 2009.
- [3] A.Couteux, V.Lejeune, Index Phytosanitaire ACTA 2006. 41eme edition, ACTA, Paris. 2006
- [4] A. Kouzayha, Développement des méthodes analytiques pour la détection et la quantification de traces des HAP et de pesticides dans l'eau. Application à l'évaluation de la qualité des eaux libanaises, Thèse de doctorat, université BORDEAUX 1, 2011.
- [5] R. Calvet, Les pesticides dans le sol. [Paris]: Ed. France agricole, 2005.
- [6] Kh. El-Marabet, Développement d'une méthode d'analyse de résidus de pesticides par dilution isotropique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem dans les matrices céréalières après extraction en solvant chaud pressurisé, thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie, 2008.
- [7] A. Hercegová, M. Dömötöróvá, E. Matisová, J. A. Chrom, 1153 (2007) 54-73.
- [8] S.N. Rekha, R. Prasad, J. Chem. Health Saf., 13 (2006) 12-19.
- [9] A.Meyer, J.Chrisman, J.C. Moreira, S. Koifman, Environ. Res., 93 (2003) 264-271.
- [10] Observatoire des résidus de pesticides, <http://www.observatoire-pesticides.gouv.fr>.
- [11] M. Levario-Carrillo, D. Amato, P.Ostrosky-Wegman, C.González- Horta, Y.Corona, L. H. Sanin, Chemosphere, 55 (2004) 1421-1427.
- [12] E. A.Guillette, M. M. Meza, M. G. Aquilar, A. D. Soto, I. E.Garcia, Environ. Health Perspect., 106 (1998) 347–353.
- [13] P. Z. Ruckart, K. Kakolewski, F. J. Bove, W. E. Kaye, Environ. Health Perspect., 112 (2004) 46–51.
- [14] F. Heimbach, Field tests on the side effects of pesticides on earthworms: Influence of plot size and cultivation practices, Soil Biology and Biochemistry, 29, 1997, pp: 671-676.
- [15] T. Mahaut, R. Deleu, B. Rasquin, B. Schiffers, Comparaison de la toxicité directe et des effets sublétaux de 4 pesticides à l'égard de différents stades de développement d'*Adalia bipunctata* (Coleoptera, coccinellidae), Actes du 30ème congrès du groupe français des pesticides, 2001 , pp : 183-189.

- [16] S. Paris-Palacios, S. Biaganti-Risbourg, G. Vernet, Perturbations hépatiques induites par la procymidone chez le gardon : approches biochimique et structurale, Actes du 30ème congrès du groupe français des pesticides, 2001 pp : 167-174
- [17] H.Roche, A. Buet, A. Jonot, F. Ramade, Organochlorine residues in european eel (*anguilla anguilla*), crusian carp (*Carassius carssius*), and catfish (*Ictalurus nebolosus*) from Vaccares lagoon (Frensh National Reserve of Camargue)- Effects on some physiological parameters, *Aquatic Toxicology*, 48, 2000, pp: 443-449.
- [18] J.Habib, I. Hofer, J.M. Renaud, Analysis of multiple pesticide residues in tobacco using pressurized liquid extraction, automated solid-phase extraction clean-up and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.*, 1020, 2003, pp: 173-187.
- [19] A. G. Frenich, J. L. M. Vidal, T. López, S.C. Aguado, I. M. Salvador, Monitoring multi-class pesticide residues in fresh fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem mass spectrometry, *J.Chrom.A*,1048 (2004), pp: 199-206.
- [20] O. Nunez, E. Moyano, M. T. Galceran, LC-MS/MS analysis of organic toxics in food. *Trends in Anal.Chem.*, 24(2005),pp : 683-703.
- [21] Code international de conduite pour la distribution et l'utilisation des pesticides, <http://www.fao.org/DOCREP/006/Y4544F/y4544f02.htm>, FAO 2003.
- [22] Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, Evaluation des risques sanitaires liés aux dépassements de la limite de qualité des pesticides dans les eaux destinées à la consommation humaine, Juin 2004 à avril 2007, Tom I.
- [23] les LMR des pesticides dans les aliments, http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/pestres/commodities-detail/fr/?lang=fr&c_id=320, 21 mars 2005
- [24] journal officiel de république algérienne démocratique et populaire n°18, 50ème année, Annexe : Paramètres de qualité de l'eau de consommation humaine, 23 mars 2011.
- [25] D B. Munro, E. Small, Les legumes du Canada .NRC Research Press, 2008.
- [26] K. Krid, S. Messati, Efficacité de la résistance de six variétés de la tomate à *Tuta absoluta* sous abris plastique à l'ITDAS de Hassi Ben Abdellh (Ouargla), mémoire de Master academique, universite kasdi merbah ouargla, 2013.
- [27] FAO. L'actualité agricole en Méditerranée. Ed. Ciheam, 1998,33p
- [28] C.BENZIDANE, Effet toxique des résidus des pesticides utilisés sur la flore de la région de Sétif, thèse de Magister, 2012, Université Ferhat Abbas Sétif.

[29] M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbaher, F. J. Schenck, Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. J.AOAC Int. 86, 2, 2003, 412-431.

[30] chromnews, La préparation des échantillons pour la recherche de pesticides devient simple comme bonjour, http://www.chromnews.com/eu_fr/la-preparation-des-echantillons-pour-la-recherche-de-pesticides-devient-simple-comme-bonjour/, 23

JUILLET 2014