



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE
ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

ECOLE DOCTORALE

INGENIERIE ET ENVIRONNEMENT-I.E.

Domiciliée à

L'ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

Mémoire

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTER

Option : Gestion et Protection de l'Environnement.

Thème

**Recherche de résidus de quelques pesticides par couplage CPG/SM
dans quelques fruits et légumes.**

Présenté par :

M. MOKHTARI Moussa

Jury:

Président : M. BELLAL M. M. ; Professeur (ENSA).

Directrice de thèse : M^{me} MOUHOUCHE F. ; Professeur (ENSA).

Examineurs : M. LOUNICI H. ; Professeur (UMMTO).

: M^{me} ABDI N. ; Professeur (ENP).

Invitée : M^{me} BENSEMMANE R. ; Docteur (CNT).

Année universitaire 2010/2011

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو البحث عن بقايا 3 مبيدات (mercaptodimethur, chlorpyrifos و bifenthrine) في 3 خضر و فواكه (الكوسة، الفراولة و الطماطم) بواسطة تقنيتي GC-MS و GC-NPD .
عملية تحسين عوامل التحليل الكروماتوغرافي سمحت لنا بتمييز جيد لمختلف مخططات الجزيئات المدروسة، كما سمحت لنا طريقة الاستخراج المستعملة بالحصول على مردود محتوى في المجال المنصوح به لهذا النوع من التحاليل.
اغلب عوامل التحقيق المدروسة تم التأكد منها و كنا التحليل الكمي لبقايا المبيدات اثبت تكديسها بعد عدة معالجات متتالية، و كنا نواجهها بنسبة أعلى من التي حددت قانونيا (LMR).

الكلمات الدالة : بقايا المبيدات، خضر، فواكه، المبيدات الحشرية، تقنيتي GC-MS و GC-NPD.

Résumé

Le présent travail porte sur la recherche de résidus de trois pesticides (mercaptodimethur, chlorpyrifos et bifenthrine) dans trois fruits et légumes (courgettes, tomates et fraises) par GC-MS et GC-NPD.

L'optimisation des différents paramètres chromatographiques d'analyse nous a permis d'obtenir une bonne résolution des différents pics des molécules étudiées, ainsi la méthode d'extraction utilisée nous a donné des rendements d'extractions dans l'intervalle préconisé pour l'analyse des résidus de pesticides dans les fruits et légumes.

La plupart des paramètres de validation testés, pour les molécules recherchés dans les cultures étudiées, ont été validés.

La quantification de résidus de pesticides a révélé un effet cumulatif suite à l'application successive des traitements, présentant des teneurs supérieures aux LMRs fixées dans la pluparts des fruits et légumes analysés.

Mots clés : résidus de pesticides, insecticides, fruits, légumes, GC-MS, GC-NPD.

Summary

The aim of this work is the research of residues of three pesticides (mercaptodimethur, chlorpyrifos and bifenthrin) in three fruits and vegetables (zucchini, tomato and strawberry) by GC-MS and GC-NPD.

The optimization of various chromatographic parameters allowed us to obtain good resolution of different peaks of the molecules studied and the extraction method used allowed us to have yields of extraction in the range recommended for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables.

Most of the validation parameters tested, for molecules sought in the crops studied, have been validated.

Quantification of pesticide residues showed their accumulation after applying successive treatments; their contents were exceeding the MRLs fixed in most fruits and vegetables analyzed.

Keywords : pesticides residues, insecticides, fruits, vegetables, GC-MS, GC-NPD.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

- À mes chers parents.*
- À mes frères et sœurs.*
- À toute ma famille.*
- À tous mes amis.*
- À tous ceux qui me sont chers.*

MOUSSA

Remerciements

Au terme de ce travail, il m'est agréable d'exprimer mes sincères remerciements à ma directrice de thèse Mme MOUHOUCHE F., professeur à l'ENSA, pour la confiance qu'elle m'a toujours manifestée, l'aide, les orientations et les conseils judicieux prodigués tout le long de ce travail. Je lui souhaite toute la réussite le long de sa carrière.

Mes remerciements vont également à M. BELLAL M.M., professeur à l'ENSA et responsable de l'option: Gestion et protection de l'Environnement, pour ses conseils précieux, son soutien et sa disponibilité, ainsi que de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury.

Je tiens aussi à dire merci à M. LOUNICI H., professeur à l'UMMTO, et Mme ABDI N., professeur à l'ENP d'avoir accepté d'examiner ce mémoire et pour tous leurs efforts consentis pour le bon déroulement de notre Ecole Doctorale.

Mes remerciements vont aussi à Mme ALAMIR B. professeur et directrice générale du Centre Nationale de Toxicologie pour avoir accepté de m'accueillir au sein de son centre, pour ses conseils judicieux, pour son intérêt dans la réussite du projet et son support compétent pour la résolution des problèmes rencontrés.

Un grand merci à Mme BENSEMMANE R. docteur au CNT, pour son aide, son soutien, sa confiance et ses efforts fournis pour la réalisation de ce travail, ainsi que d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

Je tiens à remercier également M. AMZIAN A. et Melle OUZANI C. docteurs au CNT, pour leur grande aide et soutien, lors de la réalisation de ce mémoire.

Je remercie aussi, Mme DELABANI N. ingénieur au centre national de toxicologie pour leurs précieuses aides lors de l'élaboration de ce mémoire. Ainsi je remercie tous le personnel du Centre National de Toxicologie.

Mes remerciements vont également à M. ELKFEL B. animateur du pôle fonctionnel de la société Cevi-Agro, à Hocine, Amine, Nazim, Khodir, Abdelkrim et Miassa, ingénieurs à Cevi-Agro, ainsi qu'à tout le personnel de Cevi-Agro d'avoir accepté de m'accueillir dans leur honorable société et pour leur grande aide pour la réalisation de ce travail.

Un merci spécial à M. Bali A., Professeur à l'ENP, coordonateur de notre Ecole Doctorale pour son soutien, ainsi que pour tous ses efforts consentis pour le bon déroulement et la réussite de notre Ecole Doctorale.

Merci à Nabil, Farid, Mustapha, Amine, Imène et Ghania amis et collègues de l'Ecole Doctorale, pour leur esprit de groupe qui m'a aidé à surmonter les moments difficiles.

Enfin, je remercie tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail.

LISTE DES ABREVIATIONS

ACh : acétylcholine.

AChEs : acétylcholinestérase.

ADN: adenosine desoxyrebose.

AMD: automated multiple-development technique.

C.N.T. : Centre National de Toxicologie.

CCM : chromatographie sur couche mince.

CE : électrophorèse capillaire.

CL : chromatographie en phase liquide.

CL50 : concentration létale 50.

CRP : Comite régional PHYTO.

DAR : délai d'application avant récolte.

DES : dose sans effet.

DGCCRF : direction générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des fraudes.

DJA/ ADI : dose journalière admissible.

DL 50 : dose létale 50.

DME0 : Dose minimal ayant un effet observé.

DSEO /NEL/ NOAEL: dose sans effet Observé.

EC : Concentré émulsionnable.

ECD : détecteur à capteur d'électron.

EEC: European Economic Community

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assays.

ELL: extraction liquide-liquide.

FAO: food and agriculture organization.

FFDCA : loi Fédérale sur aliments, les médicaments et les produits cosmétiques.

FIFRA : loi Fédérale sur les insecticides, les fongicides et les rodenticides.

FQPA : loi de protection de la qualité des aliments.

g : gramme.

GC/ CPG: chromatographie en phase gaz.

h : heure.

ha : hectare.

HS: Valeur Hautement Significative au risque considéré.

INPV : institut national de la protection des végétaux.

ISO: International standardisation organization.

j : jours.

JORA : journal officiel de la république algérienne.

Kg : kilogrammes

l : litre.

LMR : limite maximale de résidus.

LOD : limite analytique de détection.

m: mètre.

mAChR : muscarinic acetylcholine receptor

MADR : ministère de l'agriculture et du développement rural.

mg : milligramme.

min : minute.

MS/SM : spectrométrie de masse.

NF: norme française.

NPD : détecteur nitrogène-phosphore.

NS: Valeur Non Significative au risque considéré.

OC : organochlorés.

OMS : organisation mondiale de la santé.

OPs : organophosphorés.

PCPA : loi sur les produits antiparasitaires.

ppb : partie par billion.

ppm : partie par million.

QuEChERS: quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe.

Qx : quintaux.

RMN : résonance magnétique nucléaire.

S.A.T : Surface Agricole Totale.

S.A.U : Surface Agricole Utile.

S: Valeur Significative au risque considéré.

SF : facteur de sécurité.

SFE : extraction en phase super critique.

SFSTP : société française des sciences et techniques pharmaceutiques.

SIR : spectre ion mode

SLM : extraction liquide supportée par membrane.

SNC : système nerveux central

SPE : extraction en phase solide.

SPME micro-extraction en phase solide.

STP : surface totale du pays.

T: tonne.

USA: united States of America.

USDA: united States department of agriculture.

USEPA : agence de protection de l'environnement des Etats unis.

UV : ultra violets.

WP : Wettable Powders.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
I.1. Les fruits et légumes.....	3
I.1.1. Définition des légumes.....	3
I.1.2. Définition des fruits.....	3
I.1.3. Importance des fruits et légumes dans le monde.....	3
I.1.3.1. Surface, production et rendement en fruits et légumes.....	3
I.1.3.2. La consommation des fruits et légumes dans le monde.....	4
I.1.4. Les fruits et légumes en Algérie.....	5
I.1.4.1. Superficies, productions et rendements des cultures maraîchères.....	5
I.1.4.2. Superficies, productions et rendements des arbres fruitiers.....	6
I.2. Les pesticides.....	7
I.2.1. Définition.....	7
I.2.2. Marché des pesticides.....	8
I.2.2.1. Marché des pesticides dans le monde.....	8
I.2.2.2. Marché des pesticides en Algérie.....	9
I.2.3. Modes d'action des pesticides.....	11
I.2.3.1. Les organophosphorés.....	11
I.2.3.2. Les carbamates.....	12
I.2.3.3. Les pyrèthrinoïdes de synthèses.....	13
I.2.4. Toxicité des pesticides.....	14
I.2.4.1. Quelques définitions toxicologiques.....	14
I.2.4.2. Toxicité des pesticides pour l'environnement.....	16
I.2.4.2.1. Dispersion des pesticides dans l'environnement.....	17
I.2.4.2.2. Effet des pesticides sur l'environnement aquatique.....	18
I.2.4.2.3. Effet des pesticides sur les invertébrés.....	18

I.2.4.2.4. Effet des pesticides sur les vertébrés.....	20
I.2.4.3. Toxicité Pour l'homme	21
I.2.4.3.1. Effets neurologiques	21
I.2.4.3.2. Effets respiratoires	22
I.2.4.3.3. Effets cutanés.....	22
I.2.4.3.4. Anomalies de la reproduction	22
I.2.4.3.5. Cancer	23
I.2.4.3.6. Génotoxicité.....	23
I.2.4.3.7. Perturbation du système endocrinien :	24
I.2.4.3.8. Exemple de Toxicité par les pesticides	25
I.3. Les résidus de pesticides dans les denrées alimentaires	27
I.3.1. Définition des résidus de pesticides.....	27
I.3.2. Causes de présence des résidus de pesticides dans les denrées alimentaires.....	28
I.4. Réglementations sur les pesticides.....	29
I.4.1. Définition du délai d'application avant récolte (DAR).....	29
I.4.2. Définition de la limite maximale de résidus (LMR).....	29
I.4.3. Réglementations à travers le monde	30
I.4.3.1. L'Union Européenne	30
I.4.3.2. Le Japon.....	31
I.4.3.3. Les Etats unis	31
I.4.3.4. le Canada.....	32
I.4.4. Réglementations en Algérie	33
I.5. Méthodes de recherche des résidus de pesticides dans les aliments	35
I.5.1. Stockage et conservation des échantillons.....	35
I.5.2. Extraction et purification	35
I.5.2.1. L'extraction liquide-liquide (ELL).....	36
I.5.2.2. L'extraction liquide supportée par membrane (SLM).....	36

I.5.2.3. L'extraction en phase solide (SPE).....	36
I.5.2.4. La micro-extraction en phase solide (SPME).....	36
I.5.2.5. L'extraction en phase super critique(SFE).....	37
I.5.3. Techniques d'analyse et de détection des pesticides	37
I.5.3.1. La chromatographie en phase gazeuse (GC).....	37
I.5.3.2. La chromatographie en phase liquide (CL).....	38
I.5.3.3. La chromatographie sur couche mince (CCM).....	39
I.5.3.4. L'électrophorèse capillaire (EC).....	39
I.5.3.5. Méthodes immunochimiques :.....	39
I.5.3.6. Exemples récents de méthodes d'analyse des pesticides dans les fruits et légumes:	40
II. MATERIELS ET METHODES	42
II.1. Description des stations d'expérimentations.....	42
II.2. Matériel végétal.....	47
II.3. Traitement avec les produits phytosanitaires	47
II.3.1. Les pesticides choisis	47
II.3.2. Application des traitements	52
II.4. L'échantillonnage	55
II.5. Conservation des échantillons	56
II.6. Analyses des résidus de pesticides.....	57
II.6.1 Réactifs	57
II.6.2. Méthodes d'analyses.....	58
II.6.2.1. Mise au point de la méthode d'analyse	58
II.6.2.1.1. Optimisation des paramètres chromatographiques	58
II.6.2.2. Protocole d'analyse	59
II.6.2.2.1. Prétraitement des échantillons	59
II.6.2.2.2. Conditions opératoires	63

II.6.2.3. Essai de validation	64
II.6.2.3.1. Choix du domaine de linéarité	64
II.6.2.3.2. Etude des paramètres de validation	66
II.6.2.3.3. Analyses statistiques	67
II.6.2.4. Quantification des résidus de pesticides recherchés dans les fruits et légumes étudiés	67
II.6.2.4.1. GC-MS.....	68
II.6.2.4.2. GC-NPD.....	68
III. RESULTATS ET INTERPRETATIONS.....	69
III.1. Caractéristiques chromatographiques des molécules étudiées.....	69
III.1.1. GC-NPD.....	69
III.1.1. GC-MS.....	71
III.2. Analyse des extractum obtenus	74
III.2.1. Blanc de procédure.....	74
III.2.2. Echantillons de cultures non traités :	75
III.2.2. Echantillons dopés (rendements d'extractions)	77
III.3. Essai de validation :	78
III.3.1. Domaine de linéarité :	78
III.3.2. Paramètres de validation	82
III.3.2.1. Spécificité	82
III.3.2.2. Linéarité.....	82
III.3.2.2.1. Mercaptodimethur	82
III.3.2.2.2. Chlorpyrifos :	85
III.3.2.3. Exactitude :	90
III.3.2.2.1. Mercaptodimethur :	90
III.3.2.2.2. Chlorpyrifos :	91
III.3.2.5. Limites de détection et de quantification :	93

III.4. Quantification des résidus de pesticides dans les fruits et légumes :.....	94
III.4.1. GC-MS :.....	94
III.4.2. GC-NPD :.....	98
CONCLUSION GENERALE :.....	102
Références bibliographiques	
Annexe	

Liste des tableaux

Tab.1 : Nombre de décision d'homologation des pesticides (MADR 2006).....	10
Tab.2 : comparaison des effets observés sur la reproduction chez les couples engagés dans la pulvérisation OC, OPs, et des carbamates (colonne exposés) dans les champs de coton, avec des sujets non exposés selon RUPA et al. 1991	23
Tab.3 : Résumé des résultats d'une étude expérimentale sur la génotoxicité des pesticides selon BOLOGNESI et al., 2000	24
Tab.4 : ensemble des effets les plus communs (aigus et chroniques) sur la santé dues à l'exposition aux pesticides, tel que rapporter dans la littérature internationale (VERGUCHT, 2006).....	27
Tab.5 : occupation du site de Rouiba par les cultures campagne 2009/2010.....	46
Tab.6 : occupation du site de Derghana par les cultures campagne 2009/2010.....	46
Tab.7 : principales caractéristiques des cultures étudiées.....	47
Tab.8 : Pesticides utilisés pour le traitement des cultures choisies.....	48
Tab.9 : Informations concernant modalités du traitement et les produits utilisés.....	54
Tab.10 : Echantillonnage des cultures étudiées.....	56
Tab.11 : Nature et provenance des étalons de pesticides.....	57
Tab.12 : formules développées des molécules étudiées.....	59
Tab.13 : pesticides utilisés pour le dopage des matrices.....	63
Tab. 14 : LMRs (en µg/ kg) fixées par le Codex Alimentarius et l'ACTA 2009 pour les cultures choisies.....	65
Tab.15 : temps de rétention des molécules analysées par GC-NPD.....	69
Tab.16 : temps de rétention des molécules analysées par GC-MS.....	71
Tab.17 : fragments de masse choisis.....	73
Tab.18 : Rendements de la méthode d'extraction utilisée.....	78
Tab.19 : récapitulatif des résultats des tests statistiques de linéarité du mercaptodiméthur.....	85

Tab.20: récapitulatif des résultats des tests statistiques de linéarité du chlorpyrifos pour la matrice fraise.....	88
Tab.21: récapitulatif des résultats des tests statistiques de linéarité du chlorpyrifos pour la matrice tomate.....	90
Tab. 22 : Récapitulatif des résultats du test d'exactitude du Mercaptodimethur dans la courgette.....	90
Tab. 23 : Récapitulatif des résultats du test d'exactitude du chlorpyrifos dans la fraise.....	91
Tab.24 : Récapitulatif des résultats du test d'exactitude du chlorpyrifos dans la tomate.....	91
Tab. 25 : Récapitulatif des résultats du test de répétabilité du mercaptodimethur dans la courgette.....	91
Tab. 26 : Récapitulatif des résultats du test de répétabilité du chlorpyrifos dans la fraise....	92
Tab. 27 : Récapitulatif des résultats du test de répétabilité du chlorpyrifos dans la tomate...	92
Tab.28: résumé des différents paramètres étudiés dans l'essai de validation pour chaque molécule dans chaque matrice.....	93
Tab.29: Limites de détection et de quantification des différentes molécules analysées.....	94
Tab.30: teneurs en résidus de Bifenthrine dans la fraise et tomate.....	96
Tab.31: teneurs en résidus de Mercaptodimethur dans la courgette	98
Tab.32: teneurs en résidus de chlorpyrifos dans la fraise et la tomate	99

Liste des figures

Fig. 1 : (a) : Evolution mondiale des surfaces, (b) : productions et (c) : rendements en fruits et légumes (FAO 2010).....	4
Fig. 2 : (a) : Evolution des surfaces, (b) : productions et (c) : rendements des cultures maraichères en Algérie (MADR 2007).....	5
Fig.3 : (a) : Evolution des surfaces, (b) : productions et (c) : rendements des arbres fruitières en Algérie (MADR 2007).....	6
Fig.4 : importation mondiale des pesticides (FAO, 2010)	8
Fig.5 : évolution de la production mondiale des pesticides (CARVALHO, 2006).....	9
Fig. 6 : utilisation des pesticides en Algérie (MOUSSAOUI <i>et al.</i> , 2005).....	10
Fig.7: évolution du nombre de pesticides homologués en Algérie (MADR 2006).....	10
Fig.8 : évolution des valeurs de l'importation des pesticides en Algérie (FAO, 2010)	11
Fig. 9: Mécanisme d'action de l'acétylcholinestérase (FOURNIER, 2009).....	13
Fig.10 : La hiérarchie toxicologiques de la DL50, LMR, ADI, NOAEL, limite analytique de détection (LOD) et les résidus de pesticides dans les aliments (SHAW, 2005).....	16
Figure 11: les pertes diffuses (CRP, 2004).....	17
Fig.12 : schéma du site de ROUIBA.....	44
Fig. 13 : Schéma du site de Dergana.....	45
Fig.14 : Schéma démonstratif de l'application des traitements aux cultures étudiées.....	53
Fig.15 : chromatogramme du chlotpyrifos obtenu par GC-NPD.....	69
Fig.16 : chromatogramme du mercaptodimethur obtenu par GC-NPD.....	70
Fig.17 : chromatogramme du Fenthion obtenu par GC-NPD.....	70
Fig.18 : chromatogramme de la mixture des trois molécules précédentes obtenu par GC-NPD.....	70
Fig. 19 : chromatogramme et spectre de masse de la Bifenthrine obtenu par GC-MS.....	71
Fig. 20 : chromatogramme et spectre de masse de la Fenpropathrine obtenu par GC-MS.....	72
Fig. 21 : chromatogramme de la mixture de Bifenthrine et Fenpropathrine obtenu par GC-MS.....	72
Fig. 22 : Spectres de masse de la Bifenthrine.....	74
Fig. 23 : Spectres de masse de la Fenpropathrine.	74
Fig. 24 : chromatogramme du blanc de procédure par GC-NPD.....	75

Fig. 25 : chromatogramme du blanc de procédure par GC-MS.....	75
Fig. 26 : Chromatogramme d'échantillon de courgette non traitée par GC-NPD.....	76
Fig. 27 : Chromatogramme d'échantillon de fraise non traitée par GC-NPD.....	76
Fig. 28 : Chromatogramme d'échantillon de tomate non traitée par GC-NPD.....	76
Fig. 29 : Chromatogramme d'échantillon de fraise non traitée par GC-MS.....	77
Fig. 30 : Chromatogramme d'échantillon de tomate non traitée par GC-MS.....	77
Fig. 31 : variation des rapports des surfaces des pics en fonction des concentration du mercaptodimethur allant de 0,038 à 0,758ppm	79
Fig. 32 : variation des rapports des surfaces des pics en fonction des concentration du chlorpyrifos allant de 0,05 à 1ppm	79
Fig. 33 : variation des rapports des surfaces des pics en fonction des concentration du mercaptodimethur allant de 0,076 à 0,53ppm	80
Fig. 34 : variation des rapports des surfaces des pics en fonction des concentration du chlorpyrifos allant de 100 à 700ppm	80
Fig. 35 : variation des rapports des surfaces des pics en fonction des concentration du mercaptodimethur allant de 0,076 à 0,379ppm	81
Fig. 36 : variation des rapports des surfaces des pics en fonction des concentration du chlorpyrifos allant de 100 à 500ppb	81
Fig. 37 : gamme étalon de mercaptodimethur préparée en J1.....	82
Fig. 38 : gamme étalon de mercaptodimethur préparée en J2.....	83
Fig. 40 : gamme matrice courgette de mercaptodimethur préparée en J1.....	83
Fig. 39 : gamme étalon de mercaptodimethur préparée en J3.....	83
Fig. 42 : gamme matrice courgette de mercaptodimethur préparée en J3.....	84
Fig. 41 : gamme matrice courgette de mercaptodimethur préparée en J2.....	84
Fig. 43 : gamme étalon de chlorpyrifos préparée en J1.....	86
Fig. 44 : gamme étalon de chlorpyrifos préparée en J2.....	86
Fig. 45 : gamme étalon de chlorpyrifos préparée en J3.....	86
Fig. 46 : gamme matrice fraise de chlorpyrifos préparée en J1.....	87
Fig. 47 : gamme matrice fraise de chlorpyrifos préparée en J2.....	87
Fig. 48 : gamme matrice fraise de chlorpyrifos préparée en J3.....	87
Fig. 49 : gamme matrice tomate de chlorpyrifos préparée en J1.....	89

Fig. 50 : gamme matrice tomate de chlorpyrifos préparée en J2.....	89
Fig. 51 : gamme matrice tomate de chlorpyrifos préparée en J3.....	89
Fig. 54 : gamme matrice tomate de la bifenthrine.....	95
Fig. 53 : gamme matrice fraise de la bifenthrine.....	95
Fig. 52 : gamme étalon de la bifenthrine.....	95
Fig.55 : Evolution des teneurs en résidu de bifenthrine dans la fraise	96
Fig.56 : Evolution des teneurs en résidu de bifenthrine dans la tomate.....	97
Fig.57 : Evolution des teneurs en résidu de Mercaptodimethur dans la courgette.....	98
Fig.58 : Evolution des teneurs en résidu du chlorpyrifos dans la fraise.....	100
Fig.59 : Evolution des teneurs en résidu du chlorpyrifos dans la tomate.....	100
Fig. 1 : gamme matrice fraise et tomate utilisées pour la lecture des concentrations de la bifenthrine.....	Annexe1
Fig. 2 : gamme matrice courgette utilisée pour la lecture des concentrations de Mercaptodimethur.....	Annexe1
Fig. 3 : gamme matrice fraise et tomate utilisées pour la lecture des concentrations du chlorpyrifos.....	Annexe1
Fig.1 : Chromatogrammes : a, b, c et d des Echantillons 1, 2, 3, et 4 de courgette par GC-NPD.	Annexe2
Fig.2 : Chromatogrammes : a, b et c des Echantillons 1, 2, et 3 de fraise par GC-NPD.....	Annexe2
Fig.3 : Chromatogrammes : a, b et c des Echantillons 1, 2, et 3 de tomate par GC-NPD.....	Annexe2
Fig.5 : Chromatogrammes : a, b et c des Echantillons 1, 2, et 3 de tomate par GC-MS.....	Annexe2
Fig.4 : Chromatogrammes : a, b et c des Echantillons 1, 2, et 3 de fraise par GC-MS.....	Annexe2
Fig.1 : Chromatogrammes : a et b d'Echantillon dopé et de solution étalon respectivement de courgette par GC-NPD.....	Annexe3
Fig.2 : Chromatogrammes : a, b et c d'Echantillon dopé de fraise et tomate et de solution étalon respectivement par GC-NPD.....	Annexe3
Fig.3 : Chromatogrammes : a et b d'Echantillon dopé et de solution étalon respectivement de fraise par GC-MS.....	Annexe3
Fig.4 : Chromatogrammes : a et b d'Echantillon dopé et de solution étalon respectivement de tomate par GC-MS.....	Annexe3

VALORISATION

Les résultats que nous avons obtenus ont fait l'objet d'une communication internationale orale lors du « 3^{eme} congrès international de toxicologie », le 04 et 05 mai 2011, organisé par la Société Algérienne de Toxicologie (SATOX) et le Centre National de Toxicologie (CNT) au Cercle National de l'Armée -Beni Messous- Alger.

L'intitulé de la communication:

Détermination des teneurs en résidus de trois pesticides (chlorpyrifos, methiocarbe, bifenthrine) dans certains fruits et légumes : application dans l'évaluation des bonnes pratiques agricoles.

**Mokhtari M¹., Mouhouche F¹., Bensemmane R²., Amziane A²., Ouzani C².,
Alamir B².**

¹ Ecole Doctorale Ingénierie et Environnement (ENP), Alger.

² Centre National de Toxicologie d'Alger.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Aujourd'hui, il n'est plus possible de réussir la culture des plantes sans la protection chimique. Elle intervient partout où les mesures biologiques naturelles deviennent insuffisantes à l'égard de l'action que les insectes, les champignons nuisibles, les bactéries et les virus ont sur la santé, l'alimentation et les biens économiques de l'homme. Dans le domaine de la santé publique contre les maladies à transmission vectorielle (*typhus, paludisme ou malaria, bilharziose*), dans l'agriculture, vis-à-vis d'insectes, champignons et mauvaises herbes, estimés nuisibles à la production et la conservation de cultures et produits agricoles, dans certaines industries en vue de la conservation de produits en cours de fabrication (textiles, bois, papiers), vis-à-vis des moisissures, dans des circuits de refroidissement vis-à-vis des algues et pour la désinfection des locaux.

Ces substances intègrent toutes les composantes de la biosphère : eau, sol, air, végétation, animaux et Homme. On les rencontre aussi dans les fruits (fraises, agrumes, pêches, pommes), les légumes (salade, tomate, poivron et courgette) les céréales (blé) et les produits d'origine animale (viande, lait). Ils existent sous leur forme initiale mais ils peuvent aussi exister sous forme partiellement dégradée ou de métabolites parfois plus toxiques que le produit initialement utilisé.

Les pesticides sont aujourd'hui très largement utilisés en agriculture afin d'améliorer la qualité des produits et d'en augmenter les rendements. Malheureusement, qui dit traitement, dit résidus ! Nous sommes donc régulièrement exposés aux pesticides par le biais de notre alimentation.

En Algérie les quantités de pesticides utilisés sont de l'ordre de 16,7 millions de tonnes en 2007 soit 1.9kg/ha. Ce qui représente 1/3 à 1/6 des quantités utilisées dans les pays développés 5kg/ha à 12kg/ha (**MADR, 2007**). Le problème des pesticides réside dans la façon dont ils sont utilisés. En effet les agriculteurs n'ont pas l'éducation phytosanitaire pour être sensibilisés aux risques. Ils ignorent et ne respectent pas la réglementation et manipulent incorrectement les pesticides.

La contamination de nos aliments par les pesticides constitue la plus grande cause de l'entrée dans nos organismes d'un véritable cocktail de molécules de pesticides dont on sait que beaucoup sont des cancérogènes suspectés, des perturbateurs endocriniens, des neurotoxiques. Ce n'est donc pas pour rien que la présence de résidus dans l'alimentation est la première crainte alimentaire des pays développés alors qu'elle est ignorée par une grande partie de notre population. Le contrôle des pesticides sur les produits alimentaires est aujourd'hui indispensable. Actuellement, il n'existe pas de normes propres à l'Algérie, fixant les limites maximales de résidus de pesticides et les doses journalières admissibles dans les aliments.

Ce travail a pour but de déterminer les résidus de quelques insecticides dans quelques fruits et légumes. Il portera sur l'effet du nombre des interventions effectuées sur les cultures et il comprend quatre parties :

- ❖ La première partie sera consacrée à l'étude bibliographique et portera sur l'importance des fruits et légumes, les pesticides utilisés pour leurs traitements ainsi que sur les effets de ces traitements.
- ❖ La seconde le sera réservée aux matériels et méthodes utilisées au cours de ce travail.
- ❖ La troisième sera destinée aux interprétations des différents résultats obtenus.
- ❖ Finalement, la quatrième présentera la conclusion générale.

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Les fruits et légumes

I.1.1. Définition des légumes

Ils représentent la partie comestible de la plante. On les trouve dans les salades et les soupes. Ils peuvent être transformés en boisson ou en confiture, mangés à l'état frais, transformés, desséchés ou congelés, ils confèrent leurs caractéristiques de saveur, couleur et texture aux plats et peuvent subir des changements lors de la cuisson ou le stockage (VICKIE *et al.*, 2008).

I.1.2. Définition des fruits

Sont définis selon différentes manières ; Pour les botanistes le fruit est issu de la maturité de l'ovaire de la fleur de la plante avec ses graines. Cependant cette définition inclut les grains, les légumes, les noix, les graines et les « fruits-légumes » communs comme le concombre, les olives, le poivron et la tomate. Quand on considère leur rôle culinaire, un fruit est la partie charnue de la plante souvent mangée seule ou servie comme dessert.

Les fruits sont plus riches en acides organiques et en sucre que les légumes. Les éléments nutritifs (vitamines, minéraux, fibres, etc...) contenus dans les fruits et légumes sont extrêmement importants dans le régime alimentaire. En outre les bonnes propriétés médicinales et diététiques des fruits et légumes, qui sont de plus en plus découvertes, les rendent de jour en jour plus consommables (VICKIE *et al.*, 2008).

I.1.3. Importance des fruits et légumes dans le monde

I.1.3.1. Surface, production et rendement en fruits et légumes

D'après les trois courbes ci-dessous on observe que les surfaces cultivées, les productions obtenues ainsi que les rendements atteints durant ces deux dernières décennies dans le monde sont en nette augmentation, ce qui peut être expliqué par le développement du secteur agricole en terme d'utilisation des nouvelles technologies, d'amélioration des programmes de fertilisation et surtout la diminution des pertes

dues aux ennemies des cultures par l'utilisation, de plus en plus intensive, des pesticides.

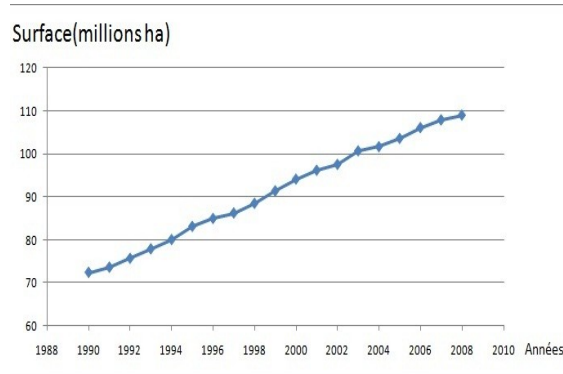


Fig.1(a) : évolutions des surfaces des fruits et légumes

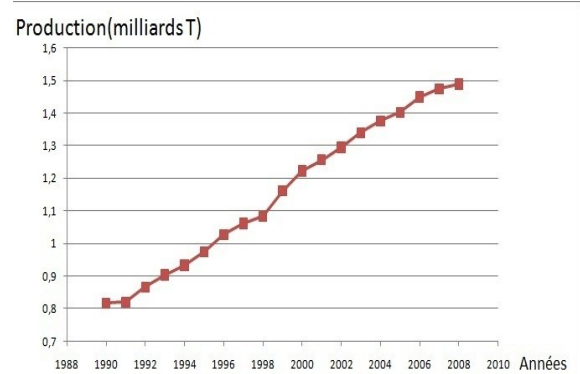


Fig.1(b) : évolutions des productions des fruits et légumes

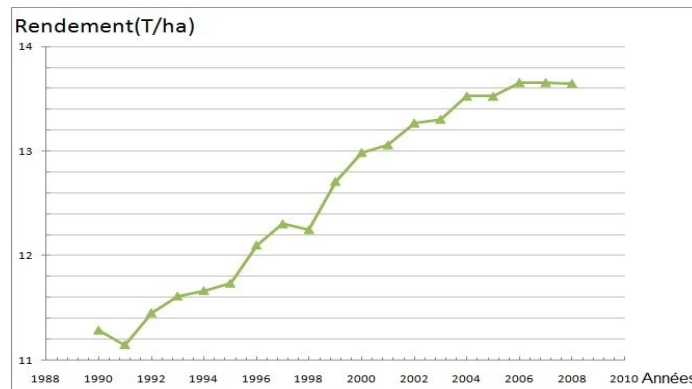


Fig.1(c) : évolutions des rendements des fruits et légumes

Fig. 1: Evolution mondiale des (a) : surfaces, (b) : productions et (c) : rendements en fruits et légumes (FAO 2010).

I.1.3.2. La consommation des fruits et légumes dans le monde

Les bilans alimentaires établis par la FAO sont la principale source d'informations pour comparer les niveaux de consommation des différents pays du monde. Au niveau mondial, on constate une consommation moyenne de légumes (hors pommes de terre) plus forte dans le modèle européen (372 g/j) que dans les modèles moyen-oriental (233 g/j), asiatique (179 g/j), latino-américain (150 g/j) et africain (77 g/j). Pour les fruits, les consommations moyennes sont plus fortes dans le modèle latino-américain (271 g/j) que dans les modèles européen (212 g/j), moyen oriental (204 g/j) africain (95 g/j) et asiatique (85 g/j) (REMILLER, 2009).

I.1.4. Les fruits et légumes en Algérie

La Surface Agricole Totale (S.A.T) est de 40,6 millions d'hectares, représentant 17% de la surface totale du pays (STP). La Surface Agricole Utile (S.A.U) est de quelques 8,458 millions d'hectares, représentant 20,8% de la S.A.T et à peine 3,54% de STP. L'utilisation de la S.A.U, selon le dernier recensement de 2008, est répartie en: Grandes cultures: 50,45% de la S.A.U, Jachère: 39%, Arboriculture: 6,39%, Cultures maraîchères et industrielles: 3,24% (dont 5,68 millions de Qx de tomate, 1,62 millions de Qx de courgette et de 30 milles Qx de fraise), Prairies naturelles: 0,31%.

Le recensement agricole opéré en 2008, dénombre un total de 1.023.799 exploitations agricoles, dont 55.935 orientées vers des activités hors sol et 967.864 réparties sur les 8.458.680 ha de la S.A.U (**MADR 2008**).

I.1.4.1. Superficies, productions et rendements des cultures maraîchères

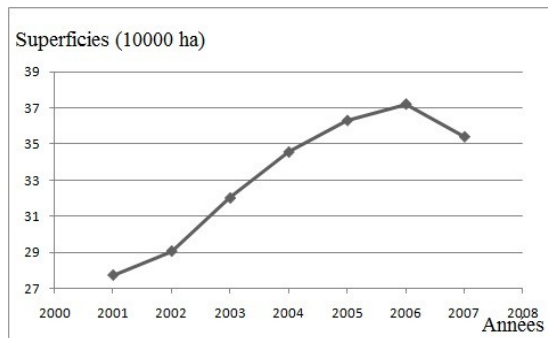


Fig. 2(a): évolutions des superficies

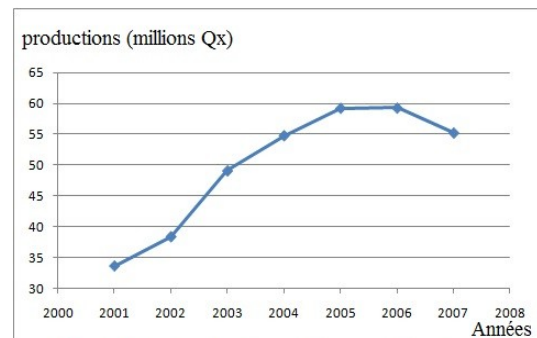


Fig. 2(b): évolutions des productions

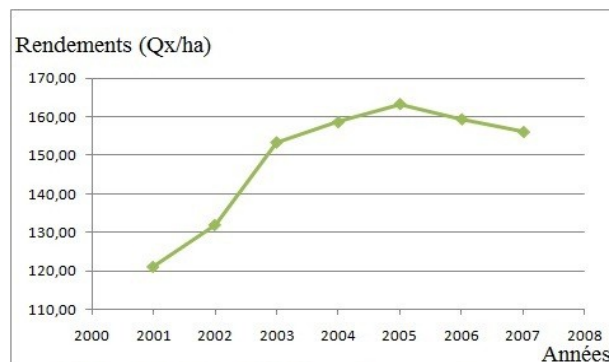


Fig. 2(c): évolutions des rendements

Fig. 2 : Evolution des (a) : surfaces, (b) : productions et (c) : rendements des cultures maraîchères en Algérie (**MADR 2007**)

I.1.4.2. Superficies, productions et rendements des arbres fruitiers

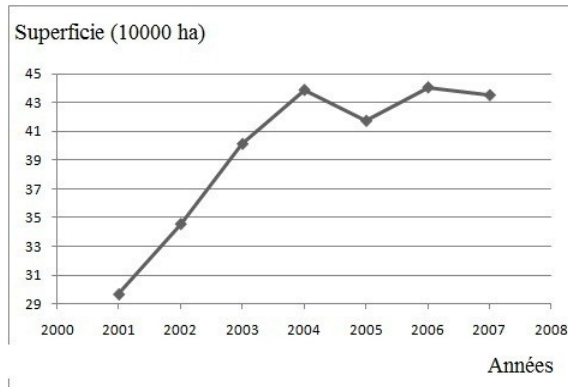


Fig. 3(a): évolutions des superficies

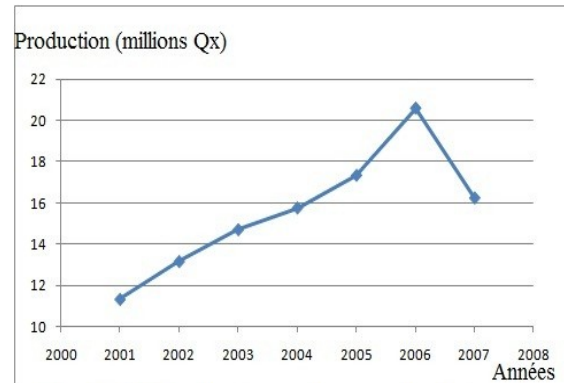


Fig. 3(b): évolutions des productions

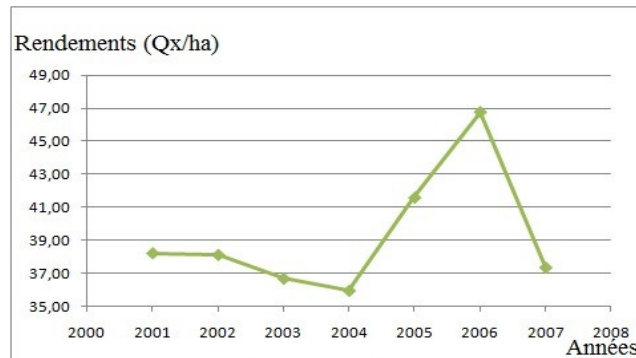


Fig. 3 (c): évolutions des rendements

Fig.3 : Evolution des (a) : surfaces, (b) : productions et (c) : rendements des arbres fruitiers en Algérie (**MADR 2007**)

Après l'analyse des six courbes ci-dessus, qui représentent l'évolution des surfaces cultivées, productions réalisées et rendements obtenus des cultures maraîchères et des arbres fruitiers en Algérie de la saison 2000/2001 jusqu' à la saison 2006/2007, on peut conclure que l'allure générale de ces courbes tend vers l'augmentation, à l'exception de la dernière saison où on observe une légère diminution surtout pour la production et les rendements des arbres fruitiers, est cela peut être expliqué par le passage de notre agriculture d'un système extensif vers un autre intensif qui utilise d'avantage les nouvelles techniques, les matériels végétaux plus adaptés ainsi que l'introduction massive des engrais et des produits phytosanitaires.

I.2. Les pesticides

I.2.1. Définition

Il existe plusieurs définitions des pesticides :

Selon l'OMS les pesticides désignent tous les produits chimiques ou biologiques destinés à détruire des éléments vivants considérés comme nuisibles (microbes, animaux ou végétaux) ou destinés à s'opposer à leur développement, incluant les espèces non désirées de plantes ou d'animaux responsables de dommages durant ou interférant avec la production, le traitement, l'entreposage ou la commercialisation des aliments, des denrées agricoles, du bois, les vecteurs des maladies humaines ou animales et les organismes nuisibles des matériaux, locaux et habitats (OMS 2005).

D'après le dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau, les pesticides sont des substances chimiques minérales ou organiques de synthèse utilisées à vaste échelle contre les ravageurs des cultures, les animaux nuisibles et les agents vecteurs d'affections parasitaires ou microbiologiques de l'homme et des animaux domestiques (GIGLEUX, 2010).

Les pesticides de formulation commerciale sont composés de deux types de substances:

Les substances actives : On appelle **substance active** toute matière, pure ou technique, corps pur ou mélange isomérique, issue d'une réaction chimique ou extraite de plante, algue, production bactérienne, etc., dotée d'activité pesticide. Dans l'industrie parachimique (pharmaceutique et phytosanitaire), le mot « **molécule** » est employé avec le sens de substance active, que celle-ci soit moléculaire (comme l'atrazine), ionique (comme le paraquat), polymérique (comme le zinèbe) ou même un mélange isomérique (comme le fenvalérate ou le dinocap). Les substances actives confèrent au produit son effet toxique. Ce sont elles qui sont analysées et qui sont réglementées. Plusieurs matières actives peuvent être mélangées dans un même produit commercialisé.

Les adjuvants : qui ont pour but de permettre, voir renforcer, l'efficacité du produit.

Spécialités commerciales : On appelle **spécialités commerciales** les préparations d'une ou plusieurs substances actives additionnées de solvants, diluants, pigments, émulsifiants, conservateurs, etc., livrées à l'utilisateur (FOURNIER, 2009).

On note que la presse et le grand public ont adopté le nom anglais de pesticides (du mot «*pest*», ravageur). Le terme produit phytosanitaire est plus spécifique des pesticides utilisés pour la protection des végétaux, cependant les deux termes seront employés ici sans distinction.

I.2.2. Marché des pesticides

I.2.2.1. Marché des pesticides dans le monde

Le marché mondial représente environ 40 milliards de dollars et stable depuis les années 2000.

La consommation mondiale de pesticides est en augmentation constante depuis les années 40, passant de 0,49 kg/ha en 1961 à 2 kg/ha en 2004. 20% de la surface totale des Etats-Unis et 35% de celle de la France, sont soumis à des traitements.

Les Etats-Unis sont le premier consommateur mondial de pesticides, suivent l'Inde, la France, 1er consommateur en Europe, puis l'Allemagne.

Le Japon utilise 12 kg/ha et est le 1er consommateur de pesticides à l'hectare, l'Europe 3 kg, les Etats-Unis 2,5 kg, l'Inde, gros producteur, 0,5 kg/ha (DGCCRF 2006).

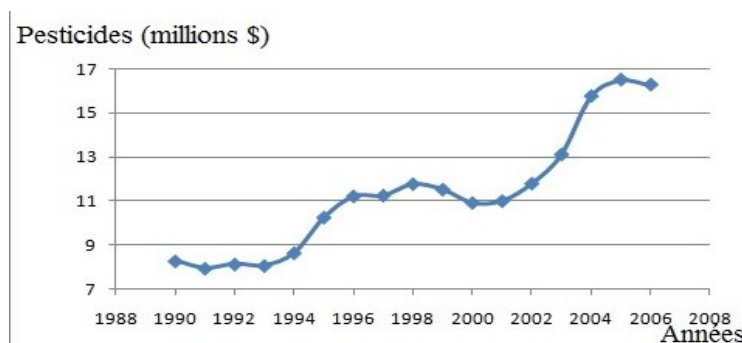


Fig. 4 : Importation mondiale des pesticides (FAO 2010).

Le graphique ci-dessus montre l'évolution mondiale de l'importation des pesticides en 10^6 \$. On remarque que la valeur des importations est passée de 8.10^6 \$, à la fin des années 80, à environ 16.10^6 \$ durant les années 2006-2007, ce qui signifie un doublement de la valeur en moins de 20 ans. Donc on peut constater que la stratégie générale des pays, en termes de la protection des cultures, tend vers l'augmentation de l'utilisation des pesticides dans ces deux dernières décennies.

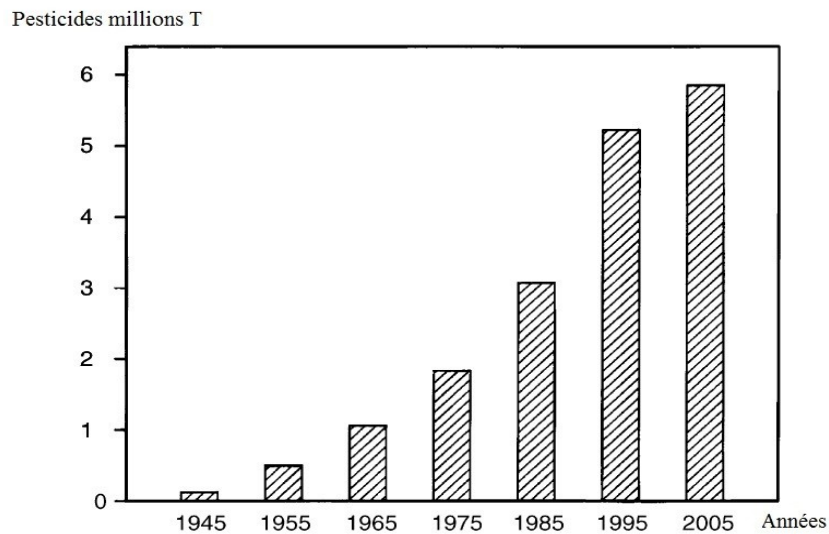


Fig. 5: evolution de la production mondiale de pesticides (CARVALHO,2006)

L'histogramme de la **Fig.5** montre l'évolution mondiale de la production des pesticides depuis 1945 jusqu'à 2005. On remarque clairement que cette production est en nette augmentation d'où elle est passée d'environ 100.000 tonnes à environ 6 millions de tonnes, soit un doublement de 60 fois durant cette période.

I.2.2.2. Marché des pesticides en Algérie

L'Algérie utilise 6.000 à 10.000 T/an de pesticides. Le graphique suivant illustre la répartition de l'utilisation des pesticides en Algérie. (MOUSSAOUI *et al*, 2005)

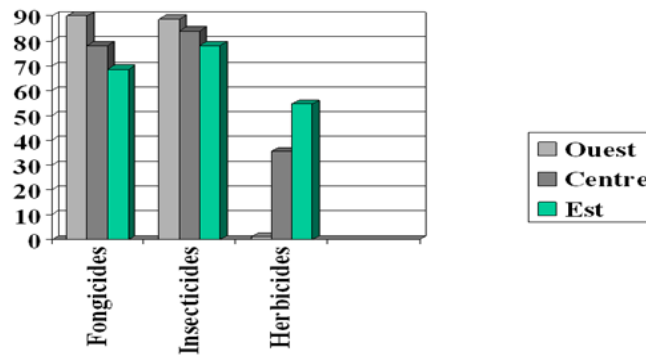


Fig. 6 : utilisation des pesticides en Algérie (MOUSSAOUI *et al.*, 2005).

Tab.1 : Nombre de décision d'homologation des pesticides (MADR 2006)

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	cumul
Nombre de décision d'homologation des pesticides	57	129	116	163	215	303	330	1313

Le tableau ci-dessous montre qu'il est mis à la disposition des agriculteurs **1313** pesticides homologués, passant de **57** en 2000 à **330** en 2006.

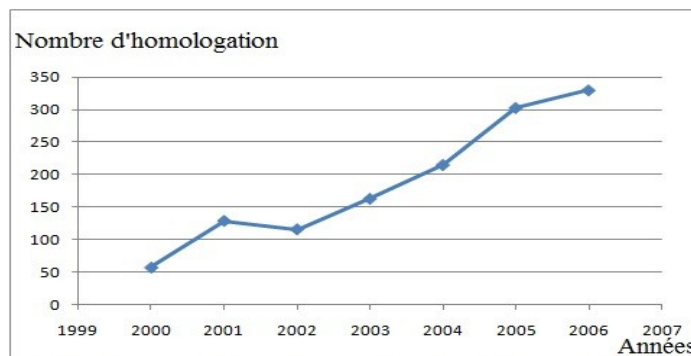


Fig. 7 : Evolution du nombre de décision d'homologation des pesticides en Algérie (MADR 2006).

Le graphique ci-dessus illustre l'évolution du nombre de pesticides homologués à partir de l'année 2000 jusqu'à 2006. On remarque une nette augmentation du nombre de pesticides homologués passant de **57** en 2000 à **330** en 2006, soit un nombre de pesticides homologués 5 fois plus important en 2006 qu'en 2000.

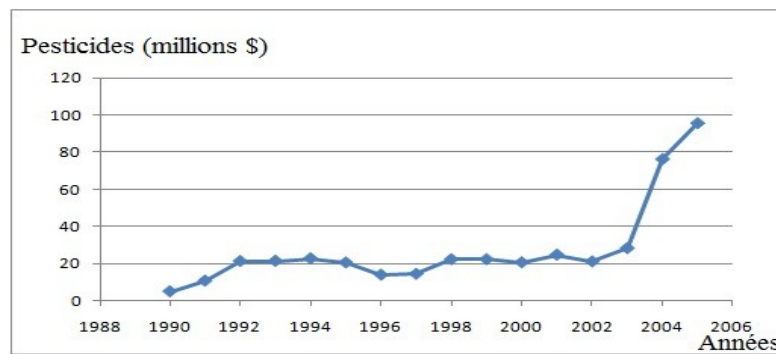


Fig. 8 : Evolution des valeurs des importations des pesticides en Algérie (FAO 2010).

La Fig.8 montre l'évolution des valeurs de l'importation des pesticides en Algérie, qui a connue une légère augmentation de 1990 à 1992 et à partir de 1993 jusqu'à 2002 on remarque une stagnation de ces importations puis à partir de 2002 on note une évolution exponentielle de ces importations, probablement suite à la restriction de ces produits en Europe et leur orientation vers le marché algérien à des prix bas.

I.2.3. Modes d'action des pesticides

Il existe plusieurs modes d'action selon le groupe de pesticides considérés, donc on ne va s'intéressé qu'aux familles de pesticides prises en considération dans cette étude.

I.2.3.1. Les organophosphorés

Les OPs sont des substances neurotoxiques qui agissent sur le système nerveux des insectes ciblés. Malheureusement, leur action n'est pas spécifique aux insectes et ces produits peuvent causer des effets similaires chez de plus hautes formes de vie, l'humain n'y échappe pas. Leurs effets toxiques sont principalement dus à leur capacité d'inhiber l'acétylcholinestérase (AChEs) des tissus du système nerveux. Ces enzymes sont responsables de la désactivation, par hydrolyse, du neurotransmetteur acétylcholine (ACh) et empêchent son accumulation aux jonctions synaptiques tout en les rendant disponibles pour de nouvelles stimulations des récepteurs cholinergiques qui viennent d'être activés. Les radicaux phosphates des OPs se lient aux sites actifs des AChEs et les inhibent. Une forte proportion de ces

liaisons devient irréversible dans les 24 heures à 48 heures : 5 % à 15 %, selon les molécules. La transmission synaptique de toutes les fibres nerveuses qui libèrent de l'ACh est affectée par la présence d'OPs. Ce type de synapses se retrouve aux jonctions neuromusculaires de la structure musculosquelettique ainsi qu'aux jonctions de certaines fibres du système nerveux central (SNC) et des systèmes autonomiques sympathique et parasympathique. L'inhibition des AChEs entraînera une accumulation de d'ACh dans les fentes synaptiques de ces jonctions, lieux de contact avec des récepteurs avec lesquels ils peuvent se lier. Tous ces récepteurs cholinergiques seront stimulés par l'ACh de façon inversement proportionnelle au degré d'inhibition des AChEs : plus l'inhibition est importante, plus la stimulation sera élevée. (**Comité de la Guerre du Golf et Santé, 2003 ; JORGEN, 2004 ; ONIL et al., 2007 ; BJØRLING-POULSEN, 2008**).

I.2.3.2. Les carbamates

Les carbamates diffèrent des OPs par le fait qu'ils sont des inhibiteurs réversibles des AChEs de façon plus rapide : l'activité enzymatique tend à revenir à la normale en moins de 24 heures post exposition (**Comité de la Guerre du Golf et Santé, 2003 ; JORGEN, 2004 ; ONIL et al., 2007 ; BJØRLING-POULSEN, 2008**).

FOURNIER, 2009 a schématisé le mécanisme d'action des organophosphorés et des carbamates. (**Fig.9**)

Trois résidus d'acides aminés semblent impliqués dans l'hydrolyse du neurotransmetteur, un glutamate qui fixe réversiblement l'acétylcholine dans le site actif de l'enzyme, une sérine qui déplace la choline de sa combinaison acétylée et une histidine qui concourt, par l'intermédiaire d'une molécule d'eau, à désacétyler la sérine, restituant l'enzyme pour un nouveau cycle. Les OPs, comme les carbamates, peuvent se substituer à l'acétylcholine, le groupe hydrolysable (X) prenant la place du groupe acétyle. La restitution de l'enzyme ne se fait pas utilement ; la constante de vitesse étant beaucoup plus faible qu'avec le substrat naturel qui, par suite, s'accumule.

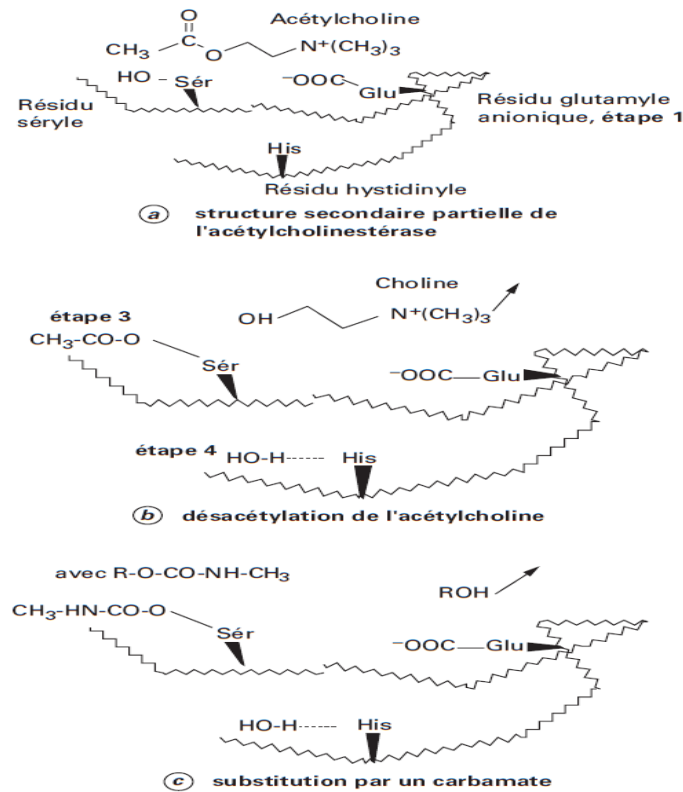


Fig. 9: Mécanisme d'action de l'acétylcholinestérase (FOURNIER, 2009).

I.2.3.3. Les pyréthrinoïdes de synthèses

La toxicité aiguë des pyréthrinoïdes est principalement médiée par la prolongation de la cinétique des canaux sodiques voltage-dépendants, qui sont responsables de la génération du courant sodique actif qui produit le potentiel d'action dans les cellules excitées. L'interaction spécifique des pyréthrinoïdes avec le canal sodique ralentit à la fois la cinétique d'activation et d'inactivation de la chaîne, conduisant à un état hyperexcité. Le ralentissement de la cinétique d'activation et d'inactivation des portes du canal sodique par les pyréthrinoïdes se traduit par une ouverture prolongée des canaux sodiques individuels par rapport à la normale (de quelques millisecondes à plusieurs centaines de millisecondes par les pyréthrinoïdes type I et de quelques secondes par les pyréthrinoïdes de type II). Bien que l'activation est ralentie au niveau du canal unique, la densité des canaux sodiques dans les cellules excitées est si élevée

qu'il ya toujours suffisamment de canaux non modifiés pour s'assurer que la phase d'activation du potentiel d'action ne soit pas retardée. Toutefois, dans la phase descendante des effets des pyréthrinoïdes sur le système nerveux central sont complexes et peuvent aussi inclure l'antagonisme de l'acide γ -aminobutyrique, la modulation de la transmission cholinergique nicotinique, l'amélioration de la libération de noradrénaline, et des actions directes sur le calcium ou le chlorure des canaux ioniques (Comité de la Guerre du Golf et Santé, 2003 ; BJØRLING-POULSEN, 2008).

I.2.4. Toxicité des pesticides

Les pesticides sont des produits généralement toxiques pour les organismes vivants. Ils se dégradent difficilement alors qu'ils deviennent à long terme des agents toxiques s'accumulant fréquemment dans les organismes vivants (CLAVER *et al.*, 2006). Cette toxicité liée à leur structure moléculaire, ne se limite pas en effet aux seules espèces que l'on souhaite éliminer (AIZEL, 2004). Beaucoup de pesticides ne sont pas mutagènes mais deviennent actifs après leurs transformations métaboliques (CALDERON-SEGURA *et al.*, 2007).

I.2.4.1. Quelques définitions toxicologiques

Comment savons-nous qu'une substance est toxique?

Les études toxicologiques faites pour déterminer la sécurité dans le cadre du processus de l'approbation peuvent être utilisées pour déterminer deux paramètres importants, la dose sans effet Observé (DSEO), et la dose journalière admissible (DJA). Ce sont de véritables mesures de toxicité (SHAW, 2005).

- **Dose sans effet observé (DSEO ou NOAEL)**

Parfois appelée le seuil sans effet (NEL) ou la dose sans effet observé (DSEO), elle est la plus forte dose d'une substance (ex: pesticides) qui ne provoque aucun signe de toxicité (SHAW, 2005) ; Ou c'est la dose maximale d'une substance qui, lors d'études expérimentales sur l'animal, s'est avérée ne pas causer d'effets observables (altération morphologique, capacité fonctionnelle, croissance, développement, durée

de vie de l'animal). Généralement elle est exprimée en milligrammes de substance par kilogramme de poids corporel et par jour (AGUILAR, 2005).

- **Dose journalière admissible (DJA ou ADI)**

C'est la dose d'une substance, si elle est donnée chaque jour durant toute la vie d'un organisme vivant, qui ne va pas se traduire par un effet mesurable pharmacologique (ou toxicologique). Elle est calculée à partir de la DSEO: $DJA = DSEO/SF$ où SF est le facteur de sécurité (généralement 1.000) (SHAW, 2005).

Selon AGUILAR, 2005, L'estimation de la dose présente dans les aliments ou l'eau de boisson, exprimée en fonction du poids corporel, qui peut être ingérée tous les jours pendant toute la vie, sans risque appréciable pour la santé du consommateur, compte tenu de tous les facteurs connus au moment de l'évaluation. Elle est exprimée en milligrammes de substance par kilogramme de poids corporel.

Pour CLUZEAU *et al.* (2000), C'est la quantité d'une substance pouvant être quotidiennement consommée au cours d'une vie entière sans présenter le moindre risque ou effet secondaire. Elle est déterminée en divisant la dose sans effet (DSE) de l'animal le plus sensible par 100, la dose sans effet étant déduite après des études toxicologiques menées à long terme sur les animaux. Elle s'exprime en milligramme (ou microgramme) de résidus par kilogramme de poids corporel (DERACHE, 1986). Ce facteur de sécurité est augmenté si la substance a un effet toxique irréversible (500 pour des néphrotoxique, 5000 pour des cancéroènes).

- **Dose minimal ayant un effet observé (DMEO)**

Dose minimale testée d'une substance qui, lors d'études expérimentales sur l'animal, s'est avérée causer des effets observables (altération morphologique, capacité fonctionnelle, croissance, développement, durée de vie de l'animal). Généralement elle est exprimée en milligrammes de substance par kilogramme de poids corporel et par jour (AGUILAR, 2005).

- **La dose létale 50 (DL 50)**

C'est la dose exprimée en mg de substance active par kg de poids vif (quelquefois donnée en ppm) qui tue 50 % d'un lot d'animaux de laboratoire auxquels elle est administrée en une seule prise (FOURNIER, 2009).

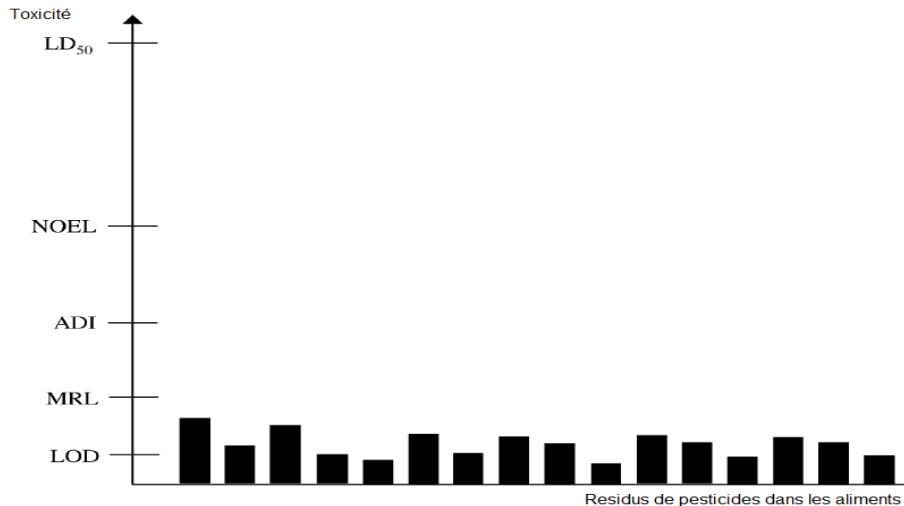


Fig.10 : La hiérarchie toxicologiques de la DL50, LMR, ADI, NOAEL, limite analytique de détection (LOD) et les résidus de pesticides dans les aliments (SHAW, 2005).

1.2.4.2. Toxicité des pesticides pour l'environnement

Bien que l'utilisation des pesticides soit plus dirigée vers le contrôle des parasites qui attaquent les plantes, une grande partie des pesticides atteint le sol. Mais ce dernier contient une population biologique qui se compose de bactéries, champignons, algues, vers de terre, acariens et insectes...etc. qui ont un rôle crucial dans le maintien de la fertilité des sols. Toutefois, il est difficile de prédire les effets à long terme de ces changements structurels sur la microflore du sol. Les vers de terre contribuent à la fertilité du sol et constituent un élément important des réseaux trophiques terrestres. La principale voie d'exposition des vers de terre aux pesticides se fait par l'eau du sol contaminé. Les dégâts sont souvent observés lorsque de fortes pluies se produisent après l'application. Les pesticides peuvent causer des dommages importants à la vie aquatique. De 1977 à 1987 aux Etats-Unis, 6-14 millions de poissons/an ont été tués par les pesticides. La toxicité aquatique des pesticides est

souvent évaluée en déterminant la toxicité pour les algues, les crustacés et les poissons, représentant les trois principaux niveaux trophiques. Il est clair que l'évaluation de l'écotoxicité d'une substance est compliquée, car elle implique des milliers d'espèces différentes qui réagissent différemment lorsqu'ils sont exposés (HAYO et WERF, 1996 ; POLYRAKIS, 2009).

I.2.5.2.1. Dispersion des pesticides dans l'environnement

Les pesticides sont principalement appliqués sur les cultures et/ou le sol. Parfois ils sont incorporés ou injectés dans le sol ou appliqués sous forme de granulé ou en traitement des semences. Une partie de la quantité de ces pesticides appliqués contamine l'environnement (sol, eau et atmosphère). Il existe deux types de pertes: les pertes directes qui sont, d'un point localisé et sont de court terme, mais ils peuvent être de forte intensité (vidange des cuves, le débordement de la cuve,...etc.) et les pertes diffuses qui ont des origines variables et qui sont plus étendues dans le temps que les pertes directes (Fig.11) (VERGUCHT, 2006).

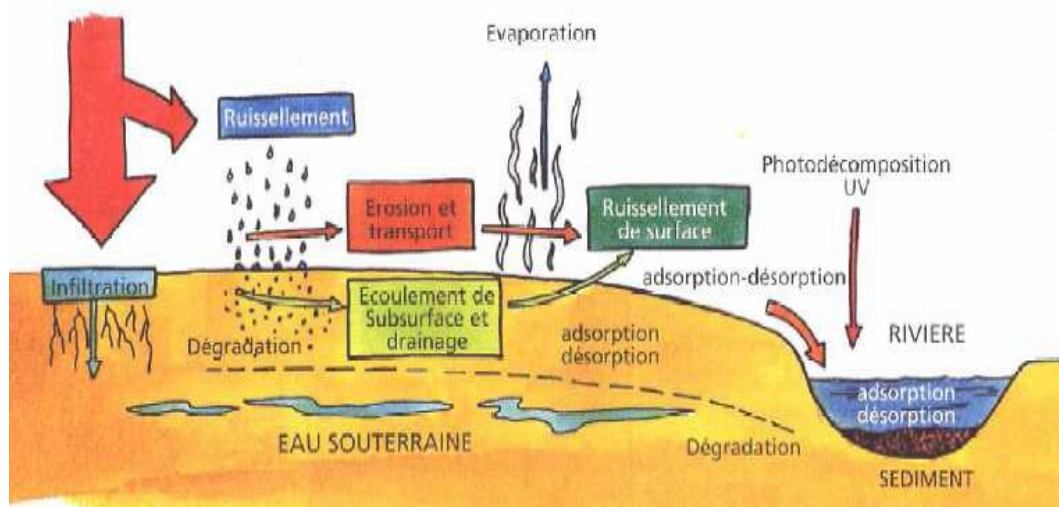


Figure 11: les pertes diffuses (CRP, 2004).

Les pesticides peuvent être dispersés dans l'eau par le drainage, l'infiltration, le ruissellement, l'essuyage des feuilles des plantes traitées par les pluies ...etc. dans certaines zones la contamination est due aux dépôts atmosphériques. Quand les pesticides atteignent l'eau, ils présentent un risque potentiel pour la santé humaine et

l'environnement. Ce risque dépend du degré d'exposition (concentration dans l'environnement) ainsi que des propriétés toxicologiques du pesticide (SAMANTHA, 2003, VERGUCHT, 2006).

I.2.4.2.2. Effet des pesticides sur l'environnement aquatique

Les effets nocifs des pesticides peuvent être évalués par la toxicité aiguë (manifestation des effets après une exposition à de fortes concentrations durant une courte période) et la toxicité chronique (une exposition à de faibles concentrations durant une longue période, plus difficile à mesurer que la toxicité aiguë à cause du temps entre l'exposition et l'effet qui peut être long) sur certaines espèces sélectionnées comme les poissons, les dauphins et quelques algues. Ils y a deux principaux mécanismes:

_ **Bioconcentration**: c'est le mouvement des substances chimiques du milieu extérieur vers l'intérieur de l'organisme.

_ **Bioaccumulation**: c'est l'augmentation de la concentration de la substance chimique dans la chaîne alimentaire. De fortes concentrations peuvent être observées chez les prédateurs au sommet de la chaîne alimentaire y compris l'Homme (VERGUCHT, 2006).

I.2.4.2.3. Effet des pesticides sur les invertébrés

Les pesticides causent généralement des effets inattendus sur l'environnement. Le principal problème de ces derniers est la non distinction entre les espèces nuisibles, contre lesquelles ils sont conçus, et la faune utile, non ciblée par ces pesticides, cohabitant dans la même zone traitée.

L'exposition à ces substances toxiques peut causer la mortalité ainsi que de multiples effets sub-létaux qui peuvent se manifester par la réduction de la durée de vie, le taux de développement, la fertilité et la fécondité, des changements dans le sex-ratio et les changements de comportement (STARK *et al.*, 2003).

L'effet direct des insecticides est influencé par plusieurs facteurs (la matière active, la dose, la persistance....) en fonction du composé et de la méthode

d'application. Les insectes peuvent être exposés directement à l'insecticide lors du traitement ou par contact avec les résidus ou par la consommation de proies contaminées. La mortalité du carabe est démontrée pour ces trois voies précédentes au laboratoire. En plus de ces effets directs de multiples effets sub-létaux ont été montrés (SUNDERLAND, 1992).

- **Effets sur les Abeilles**

L'utilisation des pesticides peut avoir des effets sur les insectes pollinisateurs comme l'abeille (*Apis mellifera*), qui jouent un rôle important dans la préservation de l'écosystème terrestre entre autre l'agro-écosystème. La première intoxication des ruches d'abeilles a été observée à la fin du 19^{ème} siècle dans les USA. Après la deuxième guerre mondiale cette intoxication a pris plus d'ampleur avec l'augmentation de l'utilisation des insecticides synthétiques: organochlorés, carbamates, organophosphorés et pyrethrinoides de synthèse. (DECOURTYE et *al.*, 2005).

- **Effets sur les vers de terre**

Les vers de terre représentent la plus grande partie de la biomasse des invertébrés du sol (>80%). Ils participent à l'amélioration des propriétés physico-chimiques et biologiques du sol représentant ainsi un maillon très intéressant dans la chaîne alimentaire. Plusieurs études ont été réalisées pour voir l'effet des pesticides sur la croissance, la reproduction et le système nerveux des vers de terre. La voie d'exposition la plus fréquente est celle via les eaux contaminées dans le sol surtout les eaux issues des précipitations qui suivent les traitements avec les pesticides. Généralement les carbamates et certains organophosphorés (chlorpyrifos) sont fortement toxiques pour les vers de terre (BOHLEN, 2002).

I.2.4.2.4. Effet des pesticides sur les vertébrés

Certains pesticides comme les organochlorés, carbamates et organophosphorés peuvent avoir une action sur le système hormonal et sont qualifiés de perturbateurs endocriniens. Ils peuvent se fixer sur les récepteurs hormonaux dans les cellules et avoir le même comportement que les hormones. Ils peuvent affecter la synthèse des stéroïdes et leur métabolisme, de même agissent sur le cerveau à partir duquel ils produisent une série de perturbations sur les systèmes hormonaux nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme. Tous ces effets ont été observés chez les reptiles, les oiseaux et les mammifères. Le système de reproduction est aussi sensible car certains pesticides se comportent comme l'œstrogène. Les modifications du potentiel reproductif des espèces peuvent conduire à la réduction de la biodiversité dans les zones contaminées. La mort des mammifères souvent a lieu quand ils se nourrissent dans les zones contaminées (**PHILOGENE, 2005**).

- **Les poissons**

Les pyrethrinoïdes de synthèse, les organophosphorés et les carbamates sont très toxiques pour les poissons.

Des essais *in vitro* ont été réalisés sur certains type de poissons à des concentrations de 0,1 à 10 mg/l de chlorpyrifos et de malathion ont révélés des effets mutagènes et une diminution dans la proportion des lymphocytes (**HARFORD *et al.*, 2005**), une concentration de carbaryl de 8mg/l a provoqué une altération de certains tissus musculaires des poissons (**SINGH *et al.*, 2004**), des effets néfastes ont été causés par le Fenvalerate à des concentrations de 0,86 à 0,19 mg/l de (**WERNER *et al.*, 2002**).

- **Les oiseaux**

Sont parmi les animaux les plus étudiés, les intoxications par les pesticides se fait par la consommation d'insectes morts à cause des insecticides, les carbamates et organophosphorés présentant un danger direct pour les oiseaux. Ces pesticides agissent de différentes manières sur les oiseaux : sur le système reproductif, sur le

système immunitaire, sur l'activité choline-estérasique et parfois ces intoxications peuvent être létales (**WADSWORTH *et al.*, 2003**).

I.2.4.3. Toxicité Pour l'homme

Les maladies de l'être humain dues aux pesticides sont considérées comme étant le prix le plus cher à payer quand ces pesticides atteignent des zones non ciblées par le traitement. Bien que la majeure source d'exposition des Hommes soit les résidus dans l'alimentation, les pesticides peuvent également être absorbés par l'eau de boisson, l'inhalation de l'air contaminé, ou par contact direct avec la peau (**HAYO et WERF, 1996**).

L'exposition aux produits phytosanitaires peut occasionner deux types de dangers sur la santé humaine : effets aigus ou effets chroniques. Les effets aigus et leurs conséquences sont le plus souvent immédiats alors que les effets chroniques se développent sur une période plus longue et peuvent persister longtemps (**OULD KANKOU, 2004 ; BHANTI, 2007**). Ces effets sont de nature cancérogène, affectant la reproduction ou sont d'ordres neurologiques, causant ainsi des troubles psychologiques, en particulier des syndromes dépressifs. Le malaise, la fatigue, le vertige arrivent généralement aux individus empoisonnés par ces composés, Ils peuvent être aussi cytotoxiques, embryotoxiques, mutagènes, tératogènes ou génotoxiques (**JAWICH, 2006, SAIBA, 2008**).

I.2.4.3.1. Effets neurologiques

Le cerveau et le système nerveux périphérique sont directement affectés par les pesticides, en tant que sites d'action et de dépôt. Tous les pesticides peuvent toucher le cerveau et le tissu nerveux même si elles ne causent pas d'effets observables. En pratique, les pesticides qui affectent plus le système nerveux sont les insecticides organophosphorés et les *N*-méthyle carbamates; ils sont responsables de la plus part des intoxications aiguës humaines dans les pays en voie de développement, de plus les organophosphorés peuvent produire des syndromes subaiguës, neurologiques chroniques ou différés, neurocomportementaux et

psychiatriques. D'autres effets neurologiques potentiellement associés à l'exposition aux pesticides sont la sclérose latérale amyotrophiques, les troubles oculaires, le syndrome de Guillain-Barré, les troubles du mouvement, l'atrophie multi-systémique, les troubles psychiatriques et une dystrophie sympathique du réflexe (KESAVACHANDRAN *et al.*, 2009).

I.2.4.3.2. Effets respiratoires

Des problèmes sanitaires ont été observés chez les paysans qui utilisent les pesticides notamment des symptômes respiratoires comme la toux, les mucosités et la respiration sifflante. Les insecticides, surtout ceux qui inhibent la cholinestérase, peuvent causer des symptômes respiratoires pour les agriculteurs (KESAVACHANDRAN *et al.*, 2009).

I.2.4.3.3. Effets cutanés

Parmi les 815 cas intoxiqués par les pesticides induits par les blessures (y compris l'intoxication) enregistrés au Japon en 1968-1970, 274 cas (soit 33,6%) de dermatite allergique de contact ont été diagnostiqués. Au Taiwan, parmi les 122 producteurs de fruits, qui pulvérisent régulièrement des pesticides, des allergies de contact aux pesticides ont été observées dans 40% des cas, et des symptômes cliniques de la dermatite de contact dans 30% des cas. En Espagne, la prévalence de l'allergie de contact aux carbamates était trois fois plus élevée chez les agriculteurs, par rapport au groupe témoin. Parmi les 104 agriculteurs polonais, traités dans une clinique de dermatologie de l'eczéma, l'allergie de contact aux pesticides a été trouvée chez deux personnes. Parmi les 263 producteurs de houblon dans l'est de la Pologne, l'allergie de contact aux pesticides a été trouvée chez 66 personnes (soit 25,1%) (KESAVACHANDRAN *et al.*, 2009).

I.2.4.3.4. Anomalies de la reproduction

Les données sur la toxicité reproductive, recueillies auprès de couples engagés dans la pulvérisation des organochlorés, organophosphorés et des carbamates dans les

champs de coton, montrent la présence d'anomalies des performances de reproduction (**Tab.2**) (**RUPA *et al.* 1991**).

Tab.2 : comparaison des effets observés sur la reproduction chez les couples engagés dans la pulvérisation OC, OPs, et des carbamates (colonne exposés) dans les champs de coton, avec des sujets non exposés selon **RUPA *et al.* 1991**.

Problèmes reproductifs	Exposés	Non exposés
Avortements	26	15
Naissances précoces	8,7	2,6
Décès néonatales	9,2	2,2
Malformations congénitales	3	0,1

I.2.4.3.5. Cancer

Les agriculteurs ont un risque plus élevé d'être atteint par le cancer d'estomac et le cancer de cerveau, par comparaison avec les autres membres de la population. Plusieurs pesticides ont été démontrés potentiellement cancérogènes dans des essais sur les animaux. L'agence Internationale des recherches sur le cancer a publié un rapport sur l'augmentation du risque d'atteinte par le cancer de la peau et des lèvres pour les pulvérisateurs professionnels de pesticides (**KESAVACHANDRAN *et al.*, 2009**).

I.2.4.3.6. Génotoxicité

Les pesticides exercent leur action toxique par génotoxicité directe, ils peuvent donc subir une activation métabolique et former des intermédiaires électrophiles capables d'interagir avec les acides nucléiques; ou par d'autres moyens indirects tel que le stress oxydatif, l'inhibition de la communication intercellulaire, la formation de récepteurs activés ou autres. En plus, les effets produits par la combinaison de plusieurs matières actives sont supérieurs aux effets individuels additionnés à cause de l'interaction entre les molécules simultanément présentes. Des enquêtes sont souvent menées auprès des personnes considérées comme exposées à un risque relativement direct par leur mode de vie quotidienne et les adduits d'ADN sont les

biomarqueurs adoptés pour la génotoxicité. Dans ce cadre, des adduits d'ADN ont été détectés dans les cellules sanguines de personnes travaillant dans la floriculture et exposées quotidiennement à des mélanges de pesticides ; 60 % présentent six différents types d'adduits avec une moyenne de 8,5 adduits par 10^9 nucléotides par rapport aux témoins présentant 2 adduits par 10^9 nucléotides. La dose de 5 mg.Kg-1 de méthomyl analytique pur ne produit pas d'adduits dans les tissus hépatiques des souris, mais une augmentation des 8-OH-dG (8-hydroxy-deoxyguanosine), alors que cette même dose de (Lannate 25), formulation commerciale avec 25 % de méthomyl, exerce le même stress oxydatif et entraîne en plus la formation de six différents adduits à l'ADN proportionnels aux doses ; cette génotoxicité proviendrait d'un composant de la formule technique ou de l'effet combiné du méthomyl avec un de ces composants (JAWICH, 2006).

Le **Tab.3** résume une étude expérimentale sur la génotoxicité de quelques pesticides faite par **BOLOGNESI et al., 2000**.

Tab.3: Résumé des résultats d'une étude expérimentale sur la génotoxicité des pesticides selon **BOLOGNESI et al., 2000**.

Pesticides étudiés (nombre de matières actives testées)	Critère d'évaluation génétique								
	Mutations géniques			Mutation chromosomique			Dommage de l'AND		
	Nbr. Tests	+	-	Nbr. tests	+	-	Nbr. tests	+	-
Organophosphorés (24)	22	15	8	22	20	2	22	17	5
Carbamates (6)	4	2	2	5	5	0	4	3	1
Pyréthroïdes (6)	6	2	4	5	5	0	3	2	1

I.2.4.3.7. Perturbation du système endocrinien :

Généralement les insecticides organophosphorés empêchent la liaison hormone thyroïdienne-récepteur et augmentent l'expression de la réponse des gènes d'œstrogènes. Pour les carbamates on pense qu'elles affectent des androgènes et des

mécanismes dépendant des récepteurs des androgènes, comme le Methiocarbe inhibe l'activité androgène en favorisant l'activité œstrogène et le Méthomyl favorise faiblement l'activité de l'Aromatase qui augmente la production d'œstrogène. Les Insecticides pyréthrinoïdes, potentialisent l'action des œstrogènes en agissant sur les récepteurs des œstrogènes ou peut-être par une autre voie de signalisation. Certains inhibent l'action de la progestérone en affectant l'hormone elle-même, la biféthrine par exemple interfère avec l'action des hormones sexuelles féminines, en provoquant une réduction du poids de l'ovaire, l'absence de l'œstrus et diminue le niveau des hormones thyroïdiennes dans le sang (MCKINLAY, 2008).

I.2.4.3.8. Exemple de Toxicité par les pesticides

- **Toxicité par les organophosphorés**

Les signes cliniques de l'intoxication par les organophosphorés, dues à l'excès de l'acétylcholine dans les terminaisons nerveuses causés par l'inhibition de l'acétylcholinestérase sont de type muscarinique (salivation, transpiration, larmoiement, bronchorrhée et broncho-constriction, crampes abdominales et diarrhée, myosis et bradycardie), nicotinique (fasciculation avec faiblesse musculaire, tachycardie et hypertension) et centrale (confusion, anxiété, tremblements, vision trouble, convulsions, dépression des voies respiratoires et coma). Chez les patients qui ont survécu à des intoxications aiguës par des organophosphorés, plusieurs anomalies psychiatriques, neurocomportementales et neurologiques ont été observées. L'exposition à de faibles doses d'organophosphorés durant une longue période est aussi associée à un nombre d'effets psychiatriques, neurocomportementaux et neurologiques, ces effets ont été regroupés sous le syndrome dit des troubles neuropsychiatriques chroniques induits par les organophosphorés (MORETTO, 2004).

- **Toxicité par les Carbamates**

Généralement les carbamates sont considérés comme moins toxiques que les organophosphorés, cependant des cas d'intoxications sévères et fatals ont été décrits. Les signes et les symptômes des carbamates qui induisent un syndrome cholinergique

sont les mêmes que ceux décrits pour les organophosphorés, la principale différence réside dans leurs durée plus courte (**MORETTO, 2004**).

- **Toxicité par les pyréthriinoïdes de synthèse**

Aucun test neuropsychologique détaillé n'a été appliqué aux quelques patients, qui ont subi une intoxication aiguë par des pyréthriinoïdes, ni examen post mortem n'a été signalés, donc on ne sait pas si les intoxications peuvent avoir des effets durables. De même, aucune information n'est disponible sur les effets à long terme de l'exposition chronique de faibles doses chez les humains. Les rats nouveau-nés sont 4 à 17 fois plus vulnérables à la toxicité aiguë des pyréthriinoïdes que les rats adultes. La toxicité la plus élevée des nouveau-nés est affectée par leur faible capacité de détoxification métabolique. Aussi chez les humains, les perturbations du développement du système nerveux ont été associées à la modification de la structure et au fonctionnement des canaux sodiques voltage-dépendants. Des mutations dans des gènes codant pour des sous-unités du canal sodique ont été identifiées, qui conduisent à une hyperexcitation neuronale. Toutes les études existantes sur la neurotoxicité des pyréthriinoïdes ont été réalisées avec des rongeurs et même si plusieurs d'entre eux ont révélé des changements persistants dans le comportement et/ou la neurochimie chez les animaux, les résultats semblent un peu contradictoires. Plusieurs études ont montré que les souris exposées aux pyréthriinoïdes 10 à 16 jours après la naissance présentent des changements dans la densité muscariniques des liaisons des récepteurs de l'acétylcholine aussi longtemps que 5 mois après la cessation de l'exposition. D'autres ont signalé des changements persistants dans le comportement et/ou la biochimie, l'apprentissage, l'activité motrice, le comportement sexuel, l'expression mAChR et la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (**MORETTO, 2004 ; BJØRLING-POULSEN, 2008**).

VERGUCHT, 2006 a résumé dans le **Tab.4** l'ensemble des effets (aigus et chroniques) des Carbamates, organophosphorés, et Pyréthriinoïdes sur la santé humaine cités dans la littérature internationale.

Tab.4: ensemble des effets les plus communs (aigus et chroniques) sur la santé dues à l'exposition aux pesticides, tels que rapportés dans la littérature internationale (VERGUCHT, 2006).

Effets	Groupe de pesticides		
	organophosphorés	Carbamates	Perythrinoides
Toxicité aiguë	X	X	X
Toxicité chronique			
Cancérogénicité	X	X	X
Neurotoxicité	X	X	
Immunotoxicité	X		
Perturbation endocrinienne	X	X	
Perturbation reproductive	X	X	

I.3. Les résidus de pesticides dans les denrées alimentaires

I.3.1. Définition des résidus de pesticides

Un résidu de pesticides est défini comme étant toute substance présente dans les aliments, les produits agricoles ou les aliments pour animaux qui provient de l'utilisation d'un pesticide. Ce terme englobe les dérivés de pesticides, tels que produits de transformation, métabolites, produits de réaction ou impuretés considérés comme toxiques (FAO/OMS, 2006).

Les résidus des pesticides, définis à l'article 3 § 2 du Règlement de la Commission Européenne N° 396/2005, sont «les reliquats, y compris les substances actives, les métabolites et/ou les produits issus de la dégradation ou de la réaction des substances actives utilisées dans (les pesticides)» qui sont présents dans ou sur des denrées alimentaires (COUTRELIS, 2009).

I.3.2. Causes de présence des résidus de pesticides dans les denrées alimentaires

Les fruits sont ravagés par de nombreux insectes et champignons. Ces préjudices peuvent avoir lieu très tôt, d'autres ne surviennent que très tard, peu de temps avant la cueillette ou durant la conservation du fruit. Dans tous les cas l'effet négatif est considérable et la perte est importante. Plusieurs solutions ont été proposées et pratiquées, mais le traitement par des pesticides organiques et systémiques s'est imposé comme la solution la plus efficace et la plus commode. Ils sont appliqués en traitements pré et post récolte pour préserver les denrées dans le champ et lors de l'entreposage et le transport. Le rapport de l'Administration des Aliments et des Médicaments pour les années 1988-1989 concernant l'alimentation des enfants aux Etats-Unis, révèle la détection de résidus de chlorpyrifos à 0,9 ppm dans les pommes fraîches, à 0,5 ppm dans le jus d'orange et à 0,13 ppm dans les pêches (**JAWICH, 2006**).

Le non respect des agriculteurs des bonnes pratiques agricoles notamment les délais d'application avant récolte recommandés, ainsi que la mauvaise utilisation sécuritaire des pesticides, n'utilisant pas les pesticides dans les doses appropriés et pulvérisant les pesticides juste avant la récolte et durant le transport a fait que le niveau de résidus de pesticides a augmenté dans les fruits et légumes . Le manque de conscience des consommateurs et la mauvaise préparation culinaire a également contribué à favoriser la présence de résidus dans les fruits et légumes (**BHANTI, 2007**).

En Algérie **AMINE, 2009** a relevé que les délais d'application avant récolte des fruits et légumes ne sont souvent pas respectés par les agriculteurs. Des délais de récolte sont, en effet, nécessaires à la plante pour réduire les résidus et permettre de le mettre sur le marché sans aucun risque pour le consommateur. Certains témoignages des agriculteurs sont accablants : «souvent, des traitements sont effectués le soir et les légumes et fruits sont récoltés et emmenés vers le marché le lendemain ».

I.4. Réglementations sur les pesticides

I.4.1. Définition du délai d'application avant récolte (DAR)

C'est le délai minimal autorisé entre le dernier traitement et la récolte d'une culture.

Note : on emploie aussi la locution « délai avant récolte » qui a donné le sigle DAR (ACTA 2009).

I.4.2. Définition de la limite maximale de résidus (LMR)

Elle représente selon le Codex les résidus acceptables sur le plan toxicologique, elle est fondée sur les données des Bonnes Pratiques Agricoles et est destinée à être appliquée dans le commerce international. Donc, c'est la concentration en résidus la plus élevée légalement acceptable pour que les denrées alimentaires restent commercialisables, elle s'exprime en milligramme de résidus par kilogramme de produit alimentaire (CLUZEAU *et al.*, 2000).

Selon SHAW, 2005, La limite maximale de résidus LMR est une norme réglementaire, c'est la concentration d'un produit phytosanitaire dans l'aliment qui résulte de la bonne utilisation de ce produit en agriculture. La bonne utilisation est définie dans un ensemble de règlements appelés les bonnes pratiques agricoles. La LMR n'est pas une mesure de toxicité mais plutôt une norme commerciale. En outre, ces LMRs sont examinées par les toxicologues afin de s'assurer qu'à des doses inférieures ou égales aux LMRs recommandées, le consommateur ne court aucun danger en mangeant l'aliment en question. Les LMRs sont arrêtées par une norme internationale qui est le codex Alimentarius. Donc si un aliment contient un résidu au dessous de la LMR il est commercialisable et ne cause aucun effet néfaste au consommateur.

I.4.3. Réglementations à travers le monde

I.4.3.1. L'Union Européenne

Les pesticides ont été réglementés par trois anciennes directives (76/895/EEC, 86/362/EEC, 90/642/EEC), faites entre 1977 et 1990. La Directive 76/895/EEC (entrée en vigueur à partir du 1^{er} janvier 1977) concernant les produits destinés à la consommation humaine et exceptionnellement, dans certains cas, la consommation animale. Dans cette directive le terme résidus de pesticides concerne toutes traces de pesticides toxiques y compris les produits de dégradation dans ou sur les produits auxquels cette directive s'applique. Elle a fixé les LMRs dans les fruits et légumes ainsi que la méthode d'échantillonnage pour la recherche de ces résidus. Elle n'est pas applicable aux produits destinés à l'exportation aux pays du tiers monde.

La Directive 86/362/EEC (entrée en vigueur à partir du 07/08/1986) fixant les LMRs dans les céréales ainsi que la méthode d'échantillonnage pour la recherche des résidus de pesticides, n'est pas applicable aux produits destinés à l'exportation aux pays du tiers monde, pas pour les produits comestibles ou potables et pour ceux destinés à l'ensemencement ou à la plantation. Les produits qui ont des teneurs en résidus de pesticides supérieurs aux LMRs sont interdits de la circulation.

La Directive 90/642/EEC (entrée en vigueur à partir du 14/12/1990) fixant les LMRs dans des pesticides pour certains produits d'origine végétale, y compris les fruits et légumes. Les produits qui ont des teneurs en résidus de pesticides supérieurs aux LMRs sont interdits de la circulation (**HUSSEY et BELL, 2004, ARVANITOYANNIS, 2008**).

Selon **COUTRELIS, 2009** depuis 1991, il est indéniable que les objectifs généraux de protection de la santé et de protection de l'environnement ont pris de plus en plus d'ampleur. Cette évolution s'inscrit aussi dans un cadre institutionnel général tendant à substituer de plus en plus les règlements, d'effet direct, aux directives, qui nécessitent une transposition dans les législations nationales, assurant ainsi une harmonisation plus complète et plus rapide, et donc une meilleure intégration du marché intérieur. On a vu aussi qu'en cette matière, comme en toute autre, la réglementation intègre les acquis de la jurisprudence de la Cour de Justice des

Communautés Européennes, comme en témoigne par exemple l'inclusion récente, dans le futur règlement sur la mise en marché des produits phytopharmaceutiques, de procédures simplifiées de reconnaissance mutuelle des autorisations nationales et d'un « certificat de commerce parallèle ». La réglementation sur les produits phytopharmaceutiques et les pesticides est donc, à la fois, et de toute évidence, d'une importance capitale pour le secteur concerné, mais aussi tout à fait représentative de l'évolution générale de la réglementation communautaire.

I.4.3.2. Le Japon

La production, la commercialisation et l'utilisation des pesticides sont réglementées par la loi de régulation des produits chimiques agricoles appliquée par le ministère de l'agriculture, des forêts et de la pêche japonais en 1948. Les fabricants et les importateurs ne peuvent pas vendre des pesticides, sauf s'ils sont enregistrés. La principale loi utilisée pour la régulation de ces produits par le Ministère de la Santé, du Travail et des Affaires sociales est celle de la salubrité des aliments en 1947, pour chaque pesticide le ministère a établi une DJA basée sur des évaluations toxicologiques. Les LMRs sont établies pour chaque couple culture-pesticide à partir des essais de bonnes pratiques agricoles. Le ministère de l'environnement est le responsable de l'évaluation des risques alimentaires des contaminants chimiques présents dans l'environnement (**FUJIMORI, 2004**).

I.4.3.3. Les Etats unis

L'intention et la concentration sur la réglementation des pesticides, aux États-Unis, ont évolué de façon spectaculaire depuis la première législation fédérale sur les aliments, la pureté des aliments et la loi sur les médicaments, qui a été adoptée en 1906. Cette loi garantit la salubrité et la véracité de l'étiquetage des aliments, des médicaments et des produits cosmétiques. Elle a été suivie par la première loi fédérale spécifique sur les pesticides, la loi sur les insecticides de 1910, administrée par le département de l'agriculture des Etats unies (USDA), elle a été conçue pour prévenir la fabrication, la vente ou le transport des insecticides ou fongicides impures ou mal étiquetés. En 1938, la législation sur les aliments a été mise à jour avec le passage à la

loi Fédérale sur aliments, les médicaments et les produits cosmétiques (FFDCA), qui a ajouté l'autorité pour l'établissement des limites réglementaires des pesticides et autres substances nocives dans les aliments. Une loi plus globale sur les pesticides, les insecticides, les fongicides et les rodenticides (FIFRA) a été adoptée en 1947, elle requière l'enregistrement des ventes inter-Etatiques de tous les pesticides, y compris les herbicides et les rodenticides, auprès de l'USDA. En 1954 la réforme de Miller requière la fixation des concentrations maximales légales des résidus de pesticides dans l'alimentation humaine et pour les animaux. Un amendement controversé et complexe à la FFDCA a été adopté par le Congrès en 1958. En 1970, le principal changement de la réglementation s'est produits lors du transfère de l'administration FIFRA à l'agence de protection de l'environnement des Etats unis (USEPA), un nouveau organisme fédéral. Une refonte complète de la FIFRA, a été adoptée en 1972, exigeait des preuves scientifiques que le pesticide ne présente «aucun effets négatifs injustifiés» pour les humains et l'environnement. Le réenregistrement des pesticides homologués avant 1984 a fait l'objet des amendements FIFRA 1988. Le 3 août 1996, la loi de protection de la qualité des aliments (FQPA) a modifié la FFDCA pour créer une norme unique, sur la base sanitaire des pesticides dans les aliments. La FQPA exige l'examen de toutes les limites existantes chaque les 10 ans afin de s'assurer qu'ils répondent aux nouvelles normes sanitaires de sécurité fondées. Dans l'établissement de ces limites, la USPEA est nécessaire pour l'assurance de la protection des enfants et nourrissons. La FQPA requière l'évaluation du risque de toutes les sources non-professionnelles de l'exposition aux pesticides, nourriture, eau potable, et les usages domestiques (évaluation du risque global), ainsi que les effets potentiel sur le système endocrinien. En outre, les risques des produits chimiques ayant un mécanisme commun de toxicité doivent être combinés (évaluation des risques cumulés) (CHAFFEY et DOBOZY, 2004).

I.4.3.4. le Canada

Au début des années 1900, les pesticides au Canada ont d'abord été réglementés comme des poisons par le ministère de la Santé et délivrés par les pharmaciens enregistrés. Avec l'utilisation croissante de produits chimiques agricoles,

la loi du contrôle des parasites agricoles est entrée en vigueur en 1927, administrée par le ministère de l'Agriculture. Tout en établissant un système d'enregistrement pré-commercial et l'introduction d'exigences d'étiquetage, la loi ne requiert pas une analyse de risque ou de l'efficacité. En 1939, la Loi a été réexaminée et, entre autres, les données relatives à l'utilité, l'efficacité et l'innocuité du produit. Avec l'évolution des préoccupations de l'impact sur l'environnement et l'émergence de pesticides synthétiques plus complexe, la loi sur les produits antiparasitaires (PCPA) a été adoptée par le Parlement en 1969. La PCPA a été mis en vigueur par l'adoption des règlements en 1972, suivie de négociations qui ont forgé une relation entre les autorités fédérales et provinciales. Après un examen approfondi du système de réglementation des pesticides en 1990 par un groupe de multi-parties prenantes, la réforme a été entreprise, et en 1995, l'Autorité de Régulation 514 Sous l'administration de l'accord du libre échange de l'Amérique du Nord. La PCPA a été transférée du ministère de l'Agriculture à celui de la Santé. Il est aussi important de citer la Loi sur les aliments et médicaments, promulguée à l'origine en 1920, a été la première loi canadienne portant sur l'altération des aliments et elle a résidé avec le ministère de la Santé depuis sa création. Révisée en 1964, cette Loi et ses règlements d'accompagnement sont essentiels pour la promulgation des limites maximales de résidus de pesticides dans les aliments. D'autres lois ayant un impact sur la réglementation des pesticides peuvent être trouvées aux niveaux fédéral, provincial et municipal (**CHAFFEY et DOBOZY, 2004**).

I.4.4. Réglementations en Algérie

En Algérie, le contrôle des produits phytosanitaires a connu une évolution dans le temps. La promulgation de la loi n° 87-17 du 01/08/1987 relative à la protection phytosanitaire a permis d'édicter les mesures relatives à la fabrication, l'étiquetage, l'entreposage, la distribution, la commercialisation et l'utilisation des produits phytosanitaires à usage agricole. Au terme de la loi, aucun produit phytosanitaire ne peut être commercialisé, importé ou fabriqué s'il n'a pas fait l'objet d'une homologation. L'homologation des produits phytosanitaires a été instituée en Algérie par le décret exécutif n° 95-405 du 02/12/1995 (**INPV, 2000**).

Et voici ci-dessous quelques textes réglementaires récents qui sont en relation avec l'utilisation des pesticides :

- *Décret exécutif n° 93-286 du 9 Joumada Ethania 1414 correspondant au 23 novembre 1993 réglementant le contrôle phytosanitaire aux frontières. JORA N° 78 du 28-11-1993. Page 18.*
- *Décret exécutif n° 95-405 du 9 Rajab 1416 correspondant au 02 Décembre 1995 relatif au contrôle des produits phytosanitaires à usage agricole. JORA N° 75 du 26-12-1995. Page 16.*
- *Décret exécutif n° 99-156 du 7 Rabie Ethani 1420 correspondant au 20 Juillet 1999 modifiant et complétant le décret exécutif n° 95- 405 du 02 Décembre 1995 relatif au contrôle des produits phytosanitaires à usage agricole. JORA N° 49 du 15-07-1999. Page 14.*
- *Décret exécutif n°04-319 du 7 octobre 2004 fixant les principes d'élaboration, d'adoption et de mise en œuvre des mesures sanitaires et phytosanitaires. JORA N°64 du 10 .10.2004. Page 18.*
- *Décret exécutif n°05-67 du 30 janvier 2005 portant création du comité national du codex alimentarius et fixant ses missions et son organisation. JORA N°11 du 09.02.2005; page 4.*
- *Arrêté interministériel du 14 Chaoual 1423 correspondant au 18 décembre 2002 modifiant et complétant la liste des points d'entrée au territoire national relatifs au contrôle phytosanitaire aux postes frontières, p. 17.JORA N°06 DU 29.01.2003.*
- *Arrêté ministériel n° 079 du 7 Dhou El Hidja 1420 correspondant au 13 mars 2000 définissant le contenu des mentions et indications d'emballage et d'étiquetage des produits phytosanitaires à usage agricole, p.20. JORA N° 28 du 17-05-2000.*
- *Arrêté du 23 Dhou El Kaada 1428 correspondant au 3 décembre 2007 portant désignation des membres de la commission des produits phytosanitaires à usage agricole. JORA N°04 du 27.01.2008; Page 21.*

- *Arrêté du 21 Rabie Ethani 1429 correspondant au 27 avril 2008 modifiant l'arrêté du 12 Ramadhan 1426 correspondant au 15 octobre 2005 fixant la liste nominative des membres du comité national du Codex Alimentarius. JORA N°32 du 18.06.2008; Page 61 (MADR, 2009).*

I.5. Méthodes de recherche des résidus de pesticides dans les aliments

I.5.1. Stockage et conservation des échantillons

À cause de l'instabilité des pesticides qui donnent généralement des produits de dégradation par l'hydrolyse, la biodégradation, la photolyse et l'évaporation, il y a souvent une perte de ces produits des échantillons à analyser, et pour faire face à ce genre de problème on a recours aux techniques de conservation et de stockage.

D'après **WILSON, 1993**, le stockage des échantillons est soumis à certaines suggestions, premièrement, après l'échantillonnage, le récipient qui contient l'échantillon doit être mis à l'abri de la lumière, deuxièmement, le temps entre l'échantillonnage et l'analyse peut être divisé en deux périodes : la première immédiatement après l'échantillonnage où la température de l'échantillon n'est pas contrôlée, la seconde quand l'échantillon est placé dans un réfrigérateur et les conditions de stockages sont contrôlées, troisièmement il faut savoir que l'instabilité de l'échantillon croît avec l'augmentation de la température, quatrièmement l'agitation des échantillons lors du transport peut avoir une influence sur les résultats.

I.5.2. Extraction et purification

Les échantillons nécessitent pour leur analyse des traitements préliminaires car en général les pesticides que l'on recherche se trouvent à de très faibles concentrations dans des matrices complexes nécessitant une extraction. L'objectif du traitement préliminaire est donc d'extraire et de concentrer l'analyte dans l'échantillon et de le rendre le plus dépourvu possible de toute autre impureté co-extraite ou Co-concentrée qui peut interférer avec l'analyte à doser (**BARCELO et al., 2003**).

Selon **BARCELO *et al.*, 2003**, Il existe plusieurs techniques d'extraction qui sont utilisées essentiellement dans le cas des pesticides :

I.5.2.1. L'extraction liquide-liquide (ELL)

Elle repose sur la répartition du composé entre deux phases non miscibles (une aqueuse et l'autre organique). Elle est très utilisée pour les pesticides car elle est très facile à réaliser. Le choix du solvant dépend du type de produit à analyser. L'efficacité de l'extraction dépend de l'affinité du composé vis-à-vis du solvant ainsi que le nombre d'extraction.

I.5.2.2. L'extraction liquide supportée par membrane (SLM)

Elle est plus récente et plus efficace que l'ELL et ne nécessite que quelques millilitres de solvant. Elle combine deux ELL dans une même étape elle utilise une membrane poreuse imprégnée par un solvant organique qui sépare deux phases aqueuses.

I.5.2.3. L'extraction en phase solide (SPE)

Cette technique est considérée actuellement comme étant la technique la plus utilisée pour l'extraction et la concentration des pesticides. Elle permet d'éviter l'utilisation de plusieurs solvants toxiques. Elle se base sur l'adsorption du composé à analyser sur un support solide et laisse l'eau passer puis à l'aide d'une petite quantité de solvant organique on récupère le composé adsorbé. Elle est facilement couplée à des systèmes d'analyse (GC, CL, CE).

I.5.2.4. La micro-extraction en phase solide (SPME)

Elle a le même principe que la SPE mais elle est plus performante en termes d'extraction car elle utilise une phase solide en fibres fusionnés enduites par la silice. Elle convient bien pour être couplée à la GC.

I.5.2.5. L'extraction en phase super critique(SFE)

Elle est rarement utilisée dans le cas des pesticides car elle nécessite une grande quantité de solvant.

I.5.3. Techniques d'analyse et de détection des pesticides

Les techniques Chromatographiques sont les plus utilisées pour la détermination des résidus de pesticides ainsi que leurs métabolites, et cela à cause de la très faible concentration de ces résidus ce qui nécessite ces techniques les plus sensibles (BARCELO *et al.*, 2003).

I.5.3.1. La chromatographie en phase gazeuse (GC)

C'est la plus utilisée pour l'analyse des pesticides grâce à sa très haute résolution et sa forte sensibilité ainsi que son habilité à se coupler à la spectrométrie de masse (SM), la résonance magnétique nucléaire (RMN) ou la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) et peut atteindre le $\mu\text{g}/\text{l}$, et elle est utilisée pour un grand nombre de pesticides, sauf ceux qui présentent une faible volatilité et/ou une instabilité thermique, nécessitant ainsi une dérivation par alkylation ou estérification. La phase stationnaire, le système d'injection et celui de détection sont choisis selon les propriétés physico-chimiques des pesticides à rechercher.

Application à quelques groupes de pesticides

Pyréthroïdes

Avec l'utilisation d'une phase stationnaire faiblement polaire (methylpolysiloxane avec 5% de Phényle) et le capteur d'électron (ECD) ou la SM

Organophosphorées

Une phase stationnaire moyennement polaire (methylpolysiloxane avec 50% de Phényle), la photométrie de flamme, l'émission atomique ou le détecteur à nitrogène-phosphore (NPD) comme détecteur.

Carbamates

L'analyse des N-méthyl carbamates a eu le plus d'attention par les chercheurs par rapport aux autres carbamates vu leur très grande utilisation en agriculture. Leur analyse n'est pas souvent directe par la GC à cause de la thermo-décomposition en leurs phénols respectifs, ce qui exige des techniques de dérivatisations et d'injection à froid est des colonnes courtes. L'ECD est le détecteur le plus utilisé mais on peut faire un couplage GC-SM (TURIEL et MARTIN-ESTEBAN, 2008).

I.5.3.2. La chromatographie en phase liquide (CL)

La CL sépare et détecte à température ambiante, généralement en utilisant le mélange méthanol-eau ou acétonitrile-eau. Elle est très appropriée pour l'analyse des composés polaires, elle est complémentaire à la GC par l'analyse des produits thermolabiles, non volatiles et très hautement polaires, elle est appropriée à l'analyse des pesticides avec leurs produits de dégradation sans la nécessité de la dérivation. Le couplage GC-CL est très utilisé pour la détermination des carbamates. Avec l'apparition des pesticides biodégradables qui sont généralement plus polaires que les anciens, la CL est devenue la plus préférée pour la détection de la plupart des insecticides et leurs métabolites, pour les herbicides et pour les régulateurs de croissance des plantes. La possibilité de son couplage avec le système d'extraction en phase solide (SPE) et la SM a beaucoup facilité les analyses.

Application à quelques groupes de pesticides

Organophosphorées

La CL est utilisée pour certains Organophosphorés thermolabiles et/ou très polaires (dichlorvos, temephos, trichlorfon ou méthyl-oxydemethon). Et la détection par l'UV est généralement convenable.

Carbamates

La CL est préférée pour ce groupe de pesticides à cause de leur thermo-dégradabilité. Mais ce n'est pas la totalité des carbamates qui peuvent être détectés par UV (ceux qui contiennent un UV chromophore, comme le carbofuran, carbaryl,

benomyl, et carbendazim), d'autres composés doivent être détectés par des détecteurs électrochimiques ou par fluorescence (SCHENCK et WONG, 2008).

I.5.3.3. La chromatographie sur couche mince (CCM)

Récemment, et grâce à l'introduction du système AMD (the automated multiple-development technique), la CCM a connu une évolution dans l'analyse des pesticides avec plus de précision et de reproductibilité des analyses, mais le problème d'interférence des composés n'est pas exclu. Ainsi pour l'analyse multi-résidus le problème est la faible séparation de la technique. Le couplage à la SM n'est pas assez facile à réaliser, mais la CCM peut être complémentaire à la GC ou à la CL (TURIEL et MARTIN-ESTEBAN, 2008)

I.5.3.4. L'électrophorèse capillaire (EC)

L'EC devient de plus en plus un outil d'analyse d'un grand nombre de composés. Elle est utilisée dans le cas des pesticides car elle offre une séparation rapide et efficace des composés ioniques, ionisables et neutres les principaux modes de séparation en EC sont capillary zone electrophoresis CZE, capillary gel electrophoresis, micellar electrokinetic capillary chromatography MEKC, capillary electrochromatography CEC, capillary isoelectric focusing et capillary isotachophoresis. Dans le cas des pesticides on utilise généralement les CZE, MEKC ou CEC. L'EC est complémentaire aux GC et CL dans l'analyse des pesticides polaires acides ou basiques qui nécessitent une dérivation pour être analysés par GC et leur détermination par la CL n'est pas suffisamment efficace, et ne nécessite que de très faibles quantités d'échantillon (SCHENCK et WONG, 2008).

I.5.3.5. Méthodes immunochimiques :

Les chercheurs ont développé de nouvelles méthodes basées sur le principe immunologique antigène-anticorps. Parmi ces méthodes la méthode ELISA (enzyme-linked immunosorbent assays) est la plus utilisée dans le cas des pesticides. Mais elles restent moins utilisées par rapport aux autres méthodes physicochimiques et nécessitent plus d'attention (MOROZOVA *et al.*, 2005).

I.5.3.6. Exemples récents de méthodes d'analyse des pesticides dans les fruits et légumes:

Dans le but de rendre les analyses plus rapides, plus sensibles, plus efficaces et moins chères plusieurs chercheurs ont essayé de combiner différentes méthodes analytiques.

KRISTENSON *et al.*, 2001, ont publié dans une étude, une méthode simple, rapide, automatisée et miniaturisée en utilisant MSPD, pour l'extraction des pesticides organophosphorés et pérythriinoïdes des oranges, couplée à la GC-MS, pour l'analyse.

JANSSON *et al.*, 2004, ont développé une nouvelle technique multi-résidus pour l'analyse des résidus de pesticides dans les fruits et légumes qui utilise l'acétate d'éthyle comme solvant et la LC-MS/MS pour la détection et ils ont testé cette méthode pour 57 pesticides dans 31 cultures différentes de fruits et légumes.

GRANBY *et al.*, 2004, ont développé d'autres techniques pour l'analyse des résidus de 20 pesticides dans 7 cultures de fruits et légumes et céréales différentes dont l'extraction était faite par l'acétate d'ammonium méthanolique et la détection par la LC-MS/MS.

BLASCO *et al.*, 2005, ont mis au point une méthode d'analyse des résidus de pesticides dans les fruits par l'analyse de 10 pesticides différents dans 5 fruits par une extraction liquide sous pression et une détection LC-MS.

Une méthode immunochimique a été développée par **GABALDON *et al.*, 2007**, pour l'analyse du chlorpyrifos dans des échantillons d'origine végétale issus de 12 cultures différentes en utilisant une extraction directe à l'aide de l'acétone.

Plus récemment **PAULINO DE PINHO *et al.*, 2010**, ont optimisé et validé une méthode d'extraction solide-liquide avec purification à basse température, pour la détermination du chlorpyrifos, λ -cyhalothrin, cyperméthrin et la deltaméthrin dans la tomate, suivie d'une analyse par GC-ECD et une confirmation par GC-MS.

GOUDA *et al.*, 2010, ont analysé deux insecticides organophosphorés dans deux végétaux par 3 techniques spectro-photométriques différentes dans le spectre UV-visible.

L'une des méthodes les plus utilisées dans le domaine de l'analyse des résidus de pesticides a été publiée par **ANASTASSIADES *et al.*, 2003** et porte le nom de QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe), elle fournit des résultats de haute qualité, elle est facile, rapide et non coûteuse par rapport aux autres méthodes utilisées (**SCHENCK et HOBBS, 2004**, **PAYÁ *et al.*, 2007**, **LEHOTAY *et al.*, 2010**). Des études suivantes ont validé la méthode pour 200 pesticides (**LEHOTAY *et al.*, 2005a**), pour 107 pesticides (**NGUYEN *et al.*, 2008**) et pour 140 pesticides (**LESUEUR *et al.*, 2008**), de plus elles ont donné de bons résultats pour quelques analytes problématiques (**LEHOTAY *et al.*, 2005b**).

La méthode QuEChERS a beaucoup d'avantage par rapport aux méthodes d'analyse traditionnelles: elle donne de bons rendements (>85%), elle est très précise, elle est rapide (analyse de 10 à 20 échantillons dans environ 30 à 40 min), elle utilise moins de solvants et de réactifs, une seule personne peut faire l'analyse sans problèmes, utilisation moindre de matériel de laboratoire, ainsi que d'autres avantages non disponibles dans les autres méthodes d'analyse classiques. (**LEHOTAY, 2006**).

Alors la présence de cette multitude de matières actives, les grandes quantités de fruits et légumes consommés par l'homme et les doses résiduelles trouvées, en accord ou non avec les normes, créent un risque certain pour le consommateur. Donc un contrôle permanent et régulier des résidus, ainsi que des études toxicologiques de ces molécules chimiques faisant partie de notre alimentation quotidienne s'avère indispensable.

CHAPITRE II

MATERIELS ET METHODES

II. MATERIELS ET METHODES

II.1. Description des stations d'expérimentations

Les expériences de traitements des plants de fruits et légumes ainsi que la cueillette des échantillons ont été réalisés dans la station de Rouïba, pour la courgette et la tomate, et dans la station de Dergana, pour la fraise. Ces stations appartiennent à l'entreprise Cevi-Agro filiale du groupe Cevital, les deux figures 13 et 14 montrent l'aménagement de ces deux stations.

Ces deux stations se situent à environ 20 km à l'est d'Alger. La station de Rouïba se situe à droite de la route nationale N°5 allant de Boumerdes vers Alger, alors que la station de Dergana est distante de 4km du chef lieu de Rouïba, à 800 mètres à gauche de la route qui va de Rouïba vers Ain-Taya. Les stations de Rouïba et Dergana occupent une superficie totale de 8ha et 22ha respectivement.

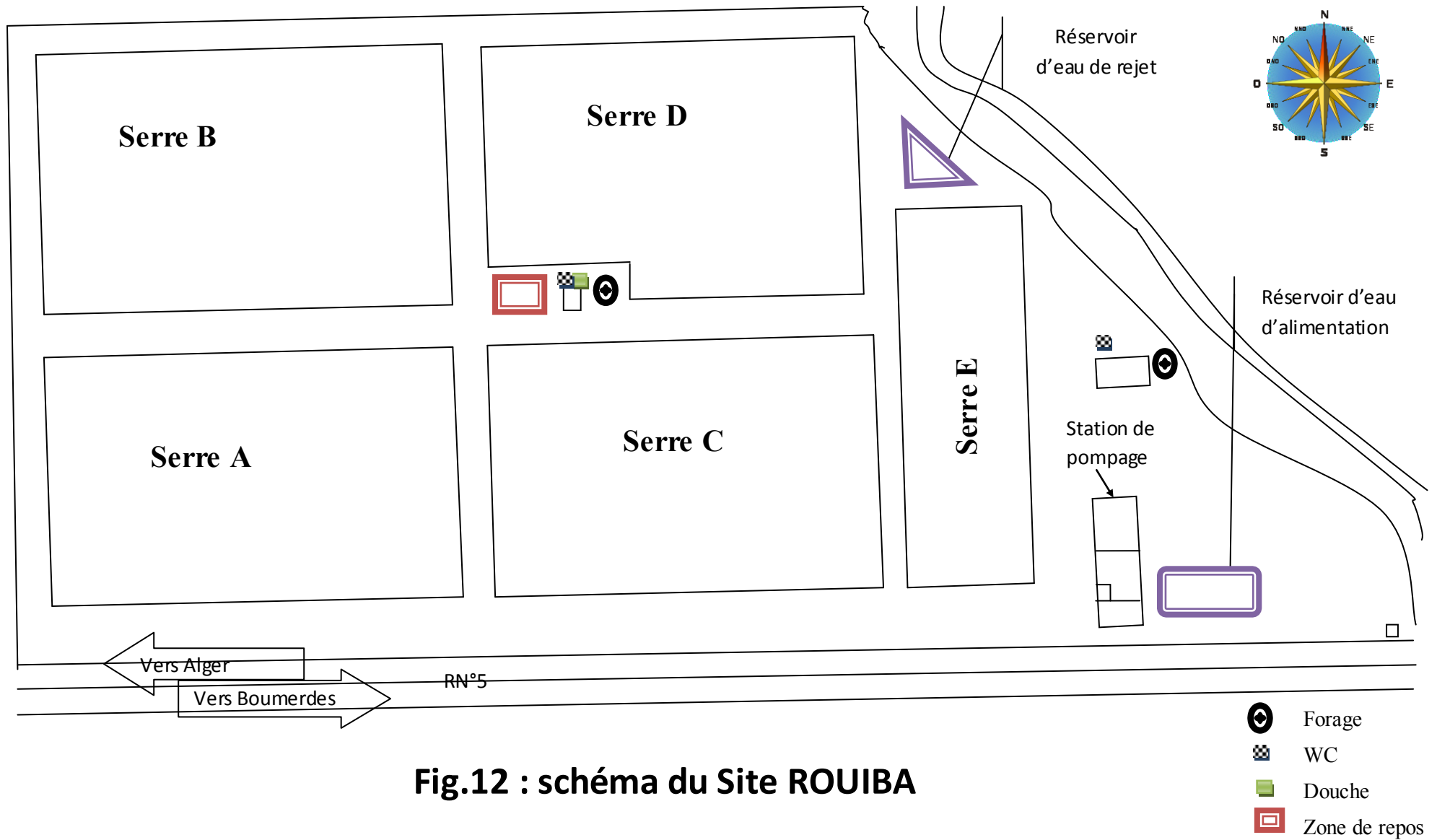
Ces deux régions font partie de la plaine de Mitidja qui est soumise à un climat méditerranéen caractérisé par deux périodes, l'une douce et humide allant de novembre à avril et l'autre chaude et sèche allant de mai à octobre, l'automne généralement humide et doux, l'hiver et le printemps sont modérément pluvieux et relativement froids et l'été est généralement chaud et sec.

On note que les serres installées dans les deux stations sont des serres multi-chapelles, équipées d'un insecte-proof (filet dont les mailles sont très étroites pour empêcher la pénétration des insectes nuisibles à l'intérieur de la serre) et recouvertes par un plastique spéciale pour serre. Les plants installés à l'intérieur de ces serres sont conduits en cultures hors-sol, qui est une nouvelle technique moderne indépendante du sol, dans laquelle le sol est remplacé par un support, les fibres de la noix de coco dans notre cas, contenus dans des sacs en plastique (appelés pain), dont l'eau et les éléments nutritifs sont apportés par le biais de canalisations reliées à la station de pompage (ferti-gation). L'apport des éléments nutritifs est calculé avec précision de telle sorte à répondre aux besoins de la plante sans excès ni carence, de plus elles sont équipées avec un réseau de drainage pour évacuer les eaux résiduelles qui vont être

conduites vers le bassin d'accumulation d'eau de rejet. Dans chaque pain trois plants sont installés. Les produits phytosanitaires sont acheminés de la station de pompage, où se font le dosage et les préparations nécessaires, vers les plants présents dans les serres en utilisant des canalisations reliant ces deux lieux.

Les **Fig. 12** et **13** représentent les schémas des stations de Rouïba et Dergana respectivement. Elles sont constituées de 5 serres chacune. Les lignes à l'intérieur des serres sont constituées des pains disposés l'un à côté de l'autre. L'espace qui sépare deux lignes est de 1,8m pour la courgette et la tomate et de 1 m pour la fraise

Les deux **Tab. 5** et **6** montrent l'occupation des surfaces des serres par les cultures ainsi que leurs principales caractéristiques pour les stations de Rouïba et de Dergana respectivement, dans lesquelles sont mentionnés les surfaces des serres les cultures qui les occupent, leurs variétés, leurs dates de plantation, le nombre de plants (et le type du porte-greffe utilisé dans le cas de la tomate).



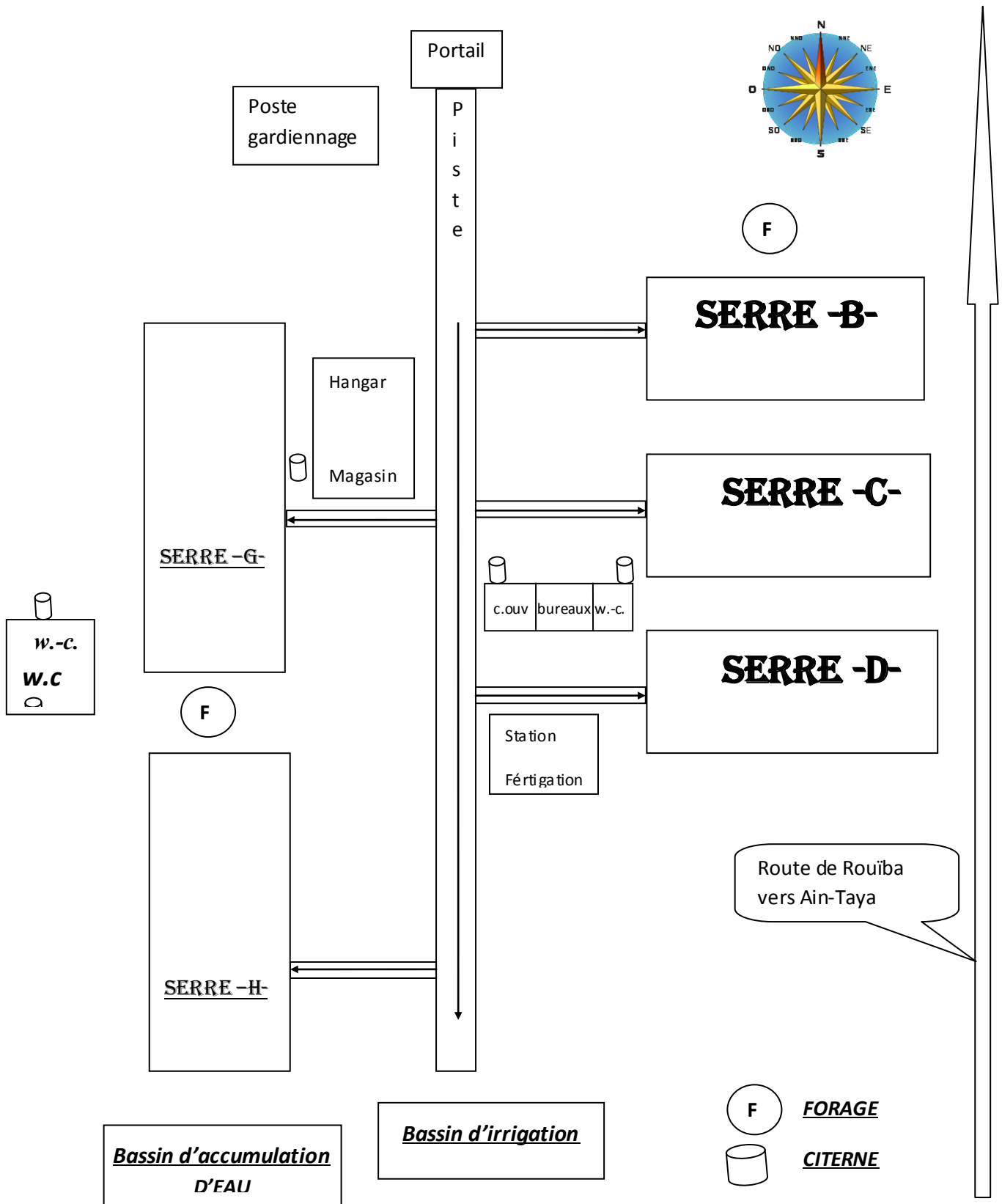


Fig. 13 : Schéma du site de Dergana

Tab.5 : occupation du site de Rouiba par les cultures campagne 2009/2010.

Code Serre	Surface	Culture	Variété	Porte greffe	Nombre de plant	Date de plantation
A	1.74 ha	Tomate	Prestylla	Beaufort	18 270	10/08/2009
B	1.76 ha	Tomate	Prestylla	Beaufort	18 480	12 /08/2009
C	1.76 ha	Tomate	Prestylla	Beaufort	18 480	19/08/2009
D	1.7 ha	Tomate	Prestylla	Beaufort	17 850	24 /08/2009
E	1 ha	Courgette	Amalthée Regas Juliette Cavilli Adendo		15 600	19/10/2009

Tab.6 : occupation du site de Derghana par les cultures campagne 2009/2010.

Code Serre	Surface	Culture	Variété	Nombre de plant	Date de plantation
B	2,112 ha	Fraise	Camarosa	175 500	03/11/2009
C	1,992 ha	Fraise	Aromas Condonga Portola Sanandreas	169 320	02/11/2009
D	2,172ha	Fraise	Aromas	157 658	31/10/2009
G	1,14 ha	Fraise	Vantana Camarosa	60 000	05/11/2009
H	1,083 ha	Fraise	Vantana Tudla Cristal	117 000	06/11/2009

II.2. Matériel végétal

Les fruits et légumes qui ont été choisis pour cette étude sont la courgette, la tomate et la fraise. Ce choix est fait selon la production nationale de ces cultures ainsi que leurs disponibilités au sein de la station. Le choix de la serre dans laquelle se trouve la variété à étudier est fait de façon aléatoire. Le choix de la variété dans la serre est aussi fait aléatoirement. Certaines caractéristiques des végétaux étudiés sont illustrées dans le **Tab.7**.

Tab.7 : principales caractéristiques des cultures étudiées.

Type de culture	Code de la serre	Variété	Date de plantation
Courgette	E	Juliette	19/10/ 2009
Fraise	B	Camarosa	03/11/2009
Tomate	D	Prestylla	24 /08/2009

II.3. Traitement avec les produits phytosanitaires

II.3.1. Les pesticides choisis

Le suivi de l'état sanitaire des serres est réalisé par les ingénieurs des deux stations deux fois par semaines grâce au système de monitoring.

Les produits phytosanitaires qui ont été choisis pour cette étude font partie de la liste des pesticides homologués par le ministère de l'agriculture publiée dans l'index phytosanitaire 2007.

Ce choix a été effectué selon la disponibilité de ces produits phytosanitaires dans la station, leur homologation pour les cultures choisies, leur fréquence d'utilisation pour ces cultures, leurs risques pour l'environnement et l'être humain, ainsi que pour la possibilité d'être analysés par les techniques disponibles.

Les pesticides utilisés pour les traitements des cultures sont mentionnés dans le **Tab.8**.

Tab.8 : Pesticides utilisés pour le traitement des cultures choisies

Famille chimique	Nom Commercial du Pesticide	Matière Active	Cultures Traitées
Carbamates	Mesuro1 50 WP	Mercaptodimethur (methiocarbe)	Courgette
Organophosphorés	Pychlorex 48EC	Chlorpyrifos-ethyl	Fraise/ Tomate
Pyréthroïdes de synthèse	Baton100EC	Bifenthrine	

- **Présentation des pesticides utilisés pour le traitement**

La Fiche technique de chaque pesticide est donnée ci-dessous :

Mesuro1 50 WP

- **Informations sur le produit**
 - Nom commercial : MESUROL 50WP
 - Matière Active : Méthiocarbe / Mercaptodimethur
 - Famille chimique : Carbamate
 - Nom systématique : 3,5-diméthyl-4-(méthylthio)phényl méthylcarbamate
 - Formule chimique brute : C₁₁H₁₅NO₂S
 - Formule chimique développée (**Tab.12**).
 - Utilisation et doses : insecticide à 150g/hl
 - Mode d'action : inhibition de l'acétylcholinestérase.
 - Mode de pénétration : cutané.
 - LMR : 100 µg/kg (courgette).
 - DAR : 15 jours.

- **Propriétés physico-chimiques**

- Forme : poudre
- Couleur : bleu clair
- Odeur : faible, caractéristique
- pH : 8 - 9 à 10 g/l
- Solubilité dans l'eau : 27mg/l à 20°C.
- Solubilité dans l'acétone : 144g/l à 20°C.

- **Informations toxicologiques**

- Toxicité aiguë par voie orale : $50 < DL50 \text{ (rat)} < 200 \text{ mg/kg}$, le test a été réalisé avec une formulation similaire.
- Toxicité aiguë par inhalation : $CL50 \text{ (rat) env. } 0,8 \text{ mg/l}$, durée d'exposition: 4 h, produit testé sous forme de fines poussières respirables, le test a été réalisé avec une formulation similaire.
- Toxicité aiguë par pénétration cutanée : $DL50 \text{ (rat)} > 5.000 \text{ mg/kg}$ Le test a été réalisé avec une formulation similaire.
- Irritation de la peau : Faiblement irritant - marquage non obligatoire (lapin), le test a été réalisé avec une formulation similaire.
- Irritation des yeux : Pas d'irritation des yeux (lapin), le test a été réalisé avec une formulation similaire.
- Sensibilisation : sensibilisant (cochon d'Inde), le test a été réalisé avec une formulation similaire.

- **Effets écotoxicologiques**

- Toxicité pour le poisson : $CL50 \text{ (Truite arc-en-ciel (} \textit{Oncorhynchus mykiss})) } 10,1 \text{ mg/l}$, durée d'exposition: 96 h
- Toxicité pour les daphnies : $CE50 \text{ (Puce aquatique (} \textit{Daphnia magna})) } 0,0077 \text{ mg/l}$, durée d'exposition: 48 h, la valeur fournie concerne la matière active technique.
- Toxicité pour les algues : $CL50 \text{ (Desmodesmus subspicatus) } 2,2 \text{ mg/l}$, durée d'exposition: 72 h, la valeur fournie concerne la matière active technique.

Pychlorax 48EC

- **Informations sur le produit**
 - Nom commercial : Pychlorax 48EC
 - Matière Active : Chlorpyrifos-éthyl
 - Famille chimique : organophosphorés
 - Formule systématique : diethoxy-sulfanylidene-(3,5,6-trichloropyridin-2-yl)oxyphosphorane.
 - Formule chimique brute : $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$
 - Formule chimique développée (**Tab.12**)
 - Utilisation et doses : Insecticide à 175 ml/hl
 - Mode d'action : inhibition de l'acétylcholinestérase.
 - Mode de pénétration : cutané.
 - LMR : 200 et 50 µg/kg (fraise et tomate respectivement)
 - DAR : 7 jours.
- **Propriétés physico-chimiques**
 - Forme : liquide
 - Couleur : rouge
 - Odeur : aromatique
 - pH : 6,2
 - Solubilité dans l'eau : 0,94mg/l à 25°C.
 - Solubilité dans l'hexane : 77.4 g/100 ml à 20°C.
- **Informations toxicologiques**
 - Toxicité aiguë par voie orale : DL50 (rat) 291.5 mg/kg.
 - Toxicité aiguë par inhalation : CL50 (rat) env. 2.41 mg/l, durée d'exposition: 4 h.
 - Toxicité aiguë par pénétration cutanée : DL50 (lapin) 2383 mg/kg.
 - Irritation de la peau : irritant (lapin)
 - Irritation des yeux : irritant (lapin).
 - Irritation du système respiratoire : irritant (rat).

- **Effets écotoxicologiques**

- Toxicité pour le poisson : CL50 (Truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*))
0,003 mg/l, durée d'exposition: 96 h
- Toxicité pour les daphnies : CE50 (Puce aquatique (*Daphnia magna*))
0,0003 mg/l, durée d'exposition: 48 h.
- Toxicité pour les algues : CL50 (*Desmodesmus subspicatus*) 0,48 mg/l,
durée d'exposition: 72 h.

Baton100EC :

- **Informations sur le produit**

- Nom commercial : Baton100EC
- Matière Active : Bifenthrine.
- Famille chimique : Pyréthrinoides de synthèse
- Formule systematique : 2-methylbiphenyl-3-ylmethyl (Z)-(1RS, 3RS)-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate.
- Formule chimique brute : $C_{23}H_{22}ClF_3O_2$
- Formule chimique développée (**Tab.12**).
- Utilisation et doses : Insecticide / Acaricide à 30 ml/hl
- Mode d'action : ouverture du canal de sodium.
- Mode de pénétration : cutané.
- LMR : 500 et 50µg/kg (fraise et tomate respectivement).
- DAR : 7 jours.

- **Propriétés physico-chimiques**

- Forme : liquide
- Couleur : transparent
- Odeur : aromatique
- pH : 6,7.
- Solubilité dans l'eau : < 1 µg/l à 20°C.
- Solubilité dans l'acétone : 48 g/l à 20°C.

- **Informations toxicologiques**

- Toxicité aiguë par voie orale : DL50 (rat) 54.5 mg/kg.
- Toxicité aiguë par inhalation : CL50 (rat) 11.5 mg/l, durée d'exposition: 1h.

- Toxicité aiguë par pénétration cutanée : DL50 (lapin) 2 mg/kg.
- Irritation de la peau : non irritant (lapin)
- Irritation des yeux : non irritant (lapin).
- **Effets écotoxicologiques**
 - Toxicité pour le poisson : CL50 (Truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*))
0.00015 mg/l, durée d'exposition: 96 h
 - Toxicité pour les daphnies : CL50 (Puce aquatique (*Daphnia magna*))
0.00016 mg/l, durée d'exposition: 48 h.

II.3.2. Application des traitements

Pour faire les traitements avec les pesticides sélectionnés nous avons choisi aléatoirement une ligne pour la tomate et la fraise et trois lignes pour la courgette dans les serres préalablement choisies, pour lesquelles nous avons appliqué le traitement phytosanitaire avec les doses homologuées pour ces pesticide, et pour des raisons pratiques et économiques nous avons calculé les quantités nécessaires et suffisantes pour le traitement de ces cultures avec les pesticides préalablement définies (**Tab.9**).

Nous avons traité la courgette avec le Mesuro1 50WP. D'abord nous avons fait le premier traitement durant la journée J0 pour la première et la troisième lignes et nous avons laissé la deuxième ligne sans traitement pour éviter la contamination entre les deux lignes traitées, après trois jours, c'est-à-dire en J3, nous avons appliqué un deuxième traitement avec le même produit pour la première ligne et la troisième ligne a resté sans traitement, puis après trois jours du deuxième traitement, c'est-à-dire en J6, nous avons appliqué un troisième traitement avec toujours le même produit et pour la même première ligne et nous avons laissé la troisième ligne toujours sans traitement (**Fig.14.a**).

Pour la fraise et la tomate nous les avons traitées avec le Pychlorex 48EC et le Baton 100EC. Pendant la journée J0 nous avons appliqué le premier traitement sur la ligne choisie avec l'ensemble des produits préalablement définis, puis en J7 nous avons appliqué le second traitement avec ces mêmes produits, enfin en J14 nous avons appliqué un troisième traitement avec toujours les mêmes pesticides (**Fig.14.b**).

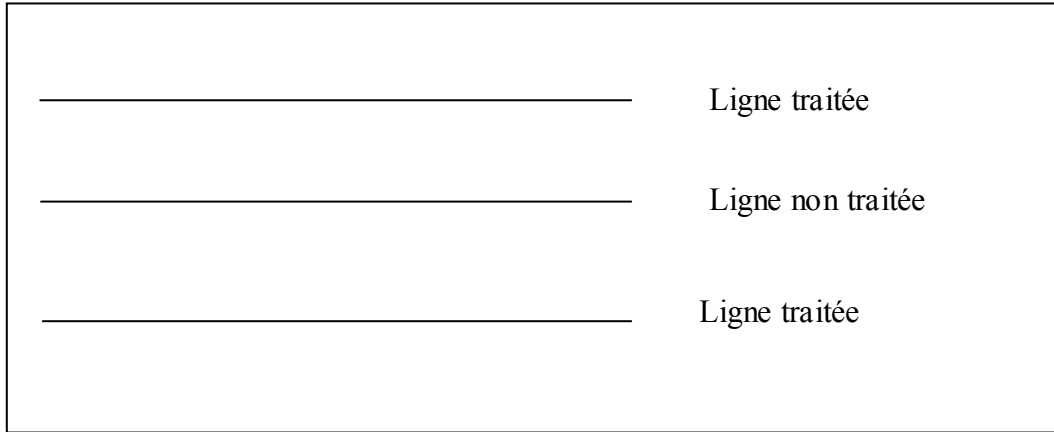


Fig.14.a : Traitements de la courgette.

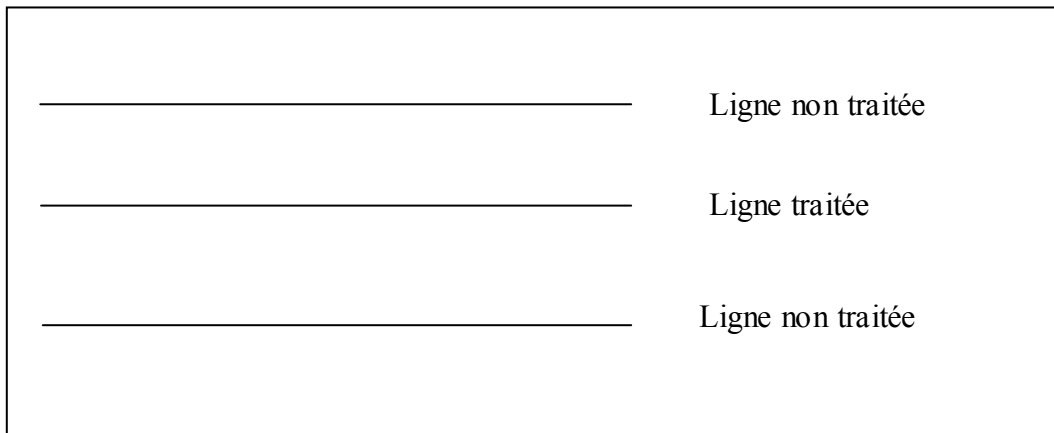


Fig.14.b : Traitements de la fraise et de la tomate.

Fig.14 : Schéma démonstratif de l'application des traitements aux cultures étudiées.

Le **Tab.9** illustre la manière suivie pour le traitement des cultures choisies, les outils utilisés, les doses utilisées pour ce traitement, ainsi que quelques caractéristiques concernant l'utilisation des pesticides choisis (DAR, déprédateurs visés).

Tab.9 : Informations concernant les modalités du traitement et les produits utilisés (DAR et Doses).

Cultures	Produits							Déprédateurs visés
	Nombre d'Intervention	Outil de Traitement	Titre de la Spécialité Commerciale du Pesticide	Matière Active	DAR	Dose Homologuée	Dose d'Utilisation	
Courgette	J0, J3, J6	Brouette de pulvérisation de 20 litre avec moteur.	Mesurool 50WP	Mercaptodimethur	15 jours	150g/hl	30g/20l	Thrips
Fraise	J0, J7, J14	Pulvérisateur à dos de 10 litres	Pychlorex 48EC	Chlorpyrifos-éthyl	7 jours	175 ml/hl	17,5ml/10l	Pucerons, noctuelles
			Baton 100EC	Bifenthrine	7 jours	30 ml/hl	3ml/10l	Acariens
Tomate	J0, J7, J14	Brouette de pulvérisation de 20 litre avec moteur.	Pychlorex 48EC	Chlorpyrifos-éthyl	7 jours	175 ml/hl	35ml/10l	Pucerons, noctuelles
			Baton 100EC	Bifenthrine	7 jours	30 ml/hl	6ml/10l	Acariens

II.4. L'échantillonnage

Il n'y a pas une méthode universelle d'échantillonnage, mais l'échantillon doit être représentatif du lot à partir duquel il est obtenu. Pour l'analyse des résidus de pesticides dans les fruits et légumes la taille de l'échantillon est de 1kg soit au moins 10 unités (pour les produits frais de taille moyenne, poids unitaire de 25-250 g en général) (HANS-PETER *et al.*, 1987, HANS-PETER *et al.*, 1992, DIRECTIVE 2002/63/CE, MEREDITH *et al.*, 2002).

Pour notre étude nous avons prélevé un fruit sur chaque mètre linéaire pour avoir en fin de la ligne un échantillon d'environ 1kg qui contient au moins 10 fruits.

Pour la courgette nous avons prélevé quatre échantillons, le premier échantillon a été prélevé de la première ligne trois jours après le premier traitement c'est-à-dire en J3 et cela juste avant de faire le deuxième traitement. Le deuxième échantillon a été prélevé aussi de la première ligne trois jours après le second traitement, avant de faire le troisième traitement, c'est-à-dire en J6. Le troisième échantillon a été prélevé toujours de la première ligne cinq jours après le troisième traitement c'est-à-dire en J11. Le quatrième échantillon a été prélevé de la troisième ligne, qui a subi un seul traitement, onze jours après le premier et seul traitement soit au J11. (Tab.10)

Pour la fraise et la tomate nous avons prélevé trois échantillons pour chacune des deux cultures. Le premier échantillonnage a été réalisé sept jours après le premier traitement c'est-à-dire en J7 et avant le deuxième traitement. Le second échantillonnage a été réalisé sept jours après le deuxième traitement, avant de faire le troisième traitement, c'est-à-dire en J14. Le troisième échantillonnage a été réalisé sept jours après le troisième traitement c'est-à-dire en J21.

Le Tab.10 illustre la façon suivie pour la réalisation de l'échantillonnage des trois cultures.

Tab.10 : Echantillonnage des cultures étudiées

Culture	Echantillon	Période d'échantillonnage
Courgette	Ech1	J3
	Ech2	J6
	Ech3	J11
	Ech4	J11
Fraise	Ech1	J7
	Ech2	J14
	Ech3	J21
Tomate	Ech1	J7
	Ech2	J14
	Ech3	J21

De plus des échantillons traités avec les pesticides préalablement choisis, nous avons récolté un échantillon non traité de chaque culture d'environ 1kg (de la même variété de la culture), qui va servir comme blanc pour nos analyses par la suite.

II.5. Conservation des échantillons

Les échantillons prélevés sont mis dans des boucaux en verre avec des couvercles, préalablement décontaminés, ces boucaux sont immédiatement mis dans des sacs en papier opaque.

Nous avons choisi le verre vu ses caractéristiques hygiéniques, ainsi il est inerte vis-à-vis des pesticides et des fruits et légumes récoltés, les flacons en verre sont emballés dans des sacs en papier opaque afin d'éviter la pénétration de la lumière qui peut être la cause de dégradation des pesticides photosensibles ce qui peut fausser les résultats.

Les fruits et légumes après avoir été récoltés sont directement mis dans un congélateur à -18°C en attente d'analyse, pour éviter toute sorte de dégradation durant

la durée de conservation soit pour les fruits et légumes ou pour les produits phytosanitaires à rechercher.

II.6. Analyses des résidus de pesticides

Les différentes analyses des résidus de pesticides dans les fruits et légumes ont été faites au Centre National de Toxicologie (C.N.T.) de Dely Brahim au service de toxicologie alimentaire, unité des pesticides.

II.6.1 Réactifs

- **Solvants**

Les solvants que nous avons utilisés sont : l'Hexane de marque Fluka pestanal, l'Acétone de marque SIGMA Aldrich et le Dichlorométhane de marque Riedel de Haën pestanal et sont tous de qualité HPLC (qualité pesticides).

- **Réactifs en poudres**

Nous avons utilisé le Sulfate de sodium anhydre ($\text{Na}_2 \text{SO}_4$) et le Chlorure de sodium (Na Cl), qui ont été préalablement décontaminées (partie décontamination).

- **Étalons et standards analytiques de pesticides**

La nature et la provenance des étalons de pesticides sont résumées dans le **Tab.11**.

Tab.11 : Nature et provenance des étalons de pesticides.

Matière active	Nature de l'étalon	Forme	Provenance
Mercaptodiméthur (Methiocarbe)	Reconstitué dans l'acetonitrile	liquide	INPV
Chlorpyrifos-ethyl	Matière première	poudre	MADR
Bifenthrine	Standard analytique	poudre	MADR
Fenprothrin	Standard analytique	poudre	CNT
Fenthion	Reconstitué dans l'acétone	liquide	CNT

Remarque : Le **Fenthion** est utilisé comme étalon interne pour les organophosphorés et les carbamates et la **Fenpropathrine** comme étalon interne pour les pyréthrinoïdes de synthèse.

II.6.2. Méthodes d'analyses

II.6.2.1. Mise au point de la méthode d'analyse

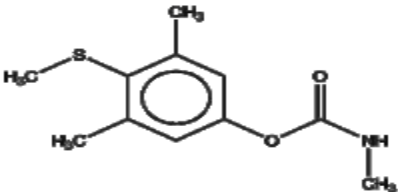
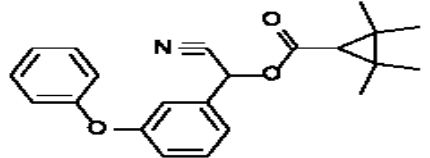
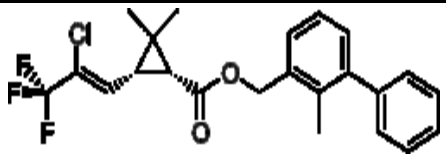
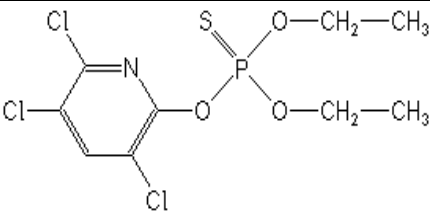
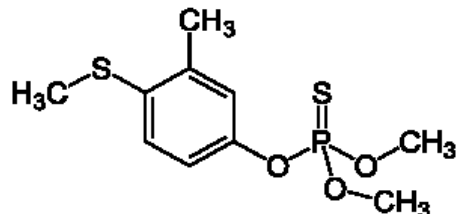
II.6.2.1.1. Optimisation des paramètres chromatographiques

Des solutions d'étalons individuels des molécules utilisées ont été préparées et analysées par GC-NPD et GC-MS pour optimiser les différentes conditions chromatographiques d'analyse (résolution des pics, temps de rétention et temps d'analyse).

Donc à partir des étalons de pesticides cités dans le **Tab.12** nous avons préparé, sous une hotte organique de marque Captair Chem réf. Filtair 936 et à l'aide d'une Seringue en verre de 1ml graduée (AGE, Analytical Science), des solutions mères de 1000 ppm, et par le biais d'une série de dilutions successives nous avons abouti à des solutions d'une concentration de 1ppm prêtes à analyser par GC-NPD et GC-MS. Ensuite nous avons préparé des mixtures de Chlorpyrifos-ethyl, de Mercaptodiméthur et de Fenthion pour les analyser en GC-NPD et de Bifenthrine et Fenpropathrine pour les analyser en GC-MS, afin d'avoir leurs profils chromatographiques.

Pour l'analyse par GC-MS nous avons choisi, à partir du spectre des molécules respectives, quatre fragments de masse afin de procéder à une analyse en mode SIR (spectre ion mode) pour la quantification.

Tab.12 : formules développées des molécules étudiées.

Molécule	Famille chimique	Formule développée	Technique d'analyse
Mercaptodiméthure	Carbamate		GC-NPD
Fenprothrine	Pyréthrinoides de synthèses		GC-MS
Bifenthrine	Pyréthrinoides de synthèses		GC-MS
Chlorpyrifos-éthyl	Organo-phosphorés		GC-NPD
Fenthion	Organo-phosphorés		GC-NPD

II.6.2.2. Protocole d'analyse

II.6.2.2.1. Prétraitement des échantillons

II.6.2.2.1.1. Décontamination de la verrerie et des réactifs en poudres

Cette étape a pour objectif l'élimination de toute substance pouvant interférer avec l'analyte à doser.

- **Décontamination de la verrerie**

D'abord nous avons fait la collecte de toute la verrerie nécessaire, qui est de classe A, puis nous l'avons rincée à l'eau chaude suivie d'un lavage à l'eau chaude savonneuse avec un détergent de laboratoire, par la suite nous avons effectué un second rinçage à l'eau chaude suivie d'un rinçage à l'eau distillée, après nous l'avons mise dans une étuve de marque NUVE KD 400 réglée à 80°C jusqu'à séchage, puis nous l'avons rincée à l'acétone, puis nous l'avons remise à l'étuve à 200° C pendant 6h, enfin nous l'avons couverte avec du papier aluminium préalablement calciné et nous l'avons conservée dans des placards propres.

- **Décontamination des poudres**

Nous avons mis les poudres (NaCl et Na₂SO₄) à l'étuve à 400°C pendant 6h, puis nous les avons laissées refroidir à une température d'environ 200°C pendant 1h, puis nous les avons laissées refroidir à température ambiante, enfin nous les avons conservées dans des flacons décontaminés hermétiquement fermés.

II.6.2.2.1.2. Extraction des résidus de pesticides des fruits et légumes

La méthode d'extraction des résidus de pesticides que nous avons utilisée est la méthode COFRAC : X01, issue de la méthode S8 du Manual of Pesticides Residue Analysis VCH vol-I, 1987 et vol-II, 1992.

Cette méthode est utilisée pour la recherche des résidus de Pesticide Organophosphorés, Organochlorés, carbamates et Pyréthriinoïdes de synthèses dans les fruits et légumes riches en eau et à faible teneur en matière grasse et sucre. Nous pouvons la résumer comme suit :

A l'aide d'un mixeur de marque Microtron MB 550 KINEMATICA AG, On broie environ 1kg d'échantillons préalablement découpés en gardant la peau, puis avec une Balance de type KERN ALS2204 N (Max= 220g, D=0,1mg), on pèse 50g de broyat dans un Erlen de 250ml, on y ajoute 100ml d'acétone et on agite pendant 30min avec un agitateur de marque HEIDOLPH UNIMAX, on filtre à l'aide d'un filtre monté, sur

un Dispositif Büchner de type Sartorius préalablement rincé à l'acétone à l'aide d'une pompe à Vide de marque Stuart RE 3022C, sans entraîner la partie solide, on lave le filtre avec 50ml d'acétone et on récupère le filtrat (150ml) dans une ampoule à décanter et on y ajoute 300ml d'eau distillée puis 30ml de solution de Na Cl et on fait l'extraction avec 70ml de CH₂Cl₂. On agite doucement pendant 5min en évacuant les gaz formés toute en évitant les émulsions, on laisse décanter pendant 10min, puis on récupère la phase organique inférieure dans un ballon monté d'un entonnoir garni d'un tampon de laine de verre et contenant environ 20g de Na₂SO₄. On extrait la phase aqueuse à nouveau avec 70ml de CH₂Cl₂, puis on agite pendant 5min comme précédemment et on recueille la phase organique dans le même ballon. On Lave le filtre contenant le Na₂SO₄ avec 20ml de CH₂Cl₂ et 20ml d'hexane (l'hexane favorise l'évaporation du CH₂Cl₂). On évapore la phase organique à l'évaporateur rotatif de marque BUCHI R-124 à une température inférieure à 50°C sans aller à sec, puis on ajoute 10ml d'hexane à la goutte restante, on évapore à nouveau à l'évaporateur rotatif sans aller à sec. Enfin on reprend le résidu sec par la solution de reprise (acétone/hexane) en ajustant le volume à 10ml. C'est l'extractum prêt à être injecté et lu sur GC-NPD ou GC-MS selon la molécule recherchée.

La GC-NPD utilisée est un appareil de Chromatographie en phase gazeuse équipé d'un détecteur spécifique (Azote-Phosphore) de marque « Perkin Elmer, model Clarus 500 » comprenant un injecteur capillaire Split-Splitless avec seringue d'injection de 5 µl, et un logiciel d'acquisition de données « Total Chrom ».

La GC-MS utilisée est un appareil de Chromatographie en phase gazeuse « Perkin Elmer, model Autosystem XL » couplé à une spectrométrie de masse model « Turbo Mass Gold », comprenant une source d'ionisation à impact électronique, un analyseur simple quadripôle, un injecteur capillaire Split-Splitless avec seringue d'injection de 5 µl, un logiciel d'acquisition de données « Turbo Mass » avec une librairie de spectre de masse englobant les données de trois différentes librairies (NIST, NBS et Pflieger).

- **Réalisation du blanc de procédure**

Afin de contrôler l'absence de contaminants au niveau du système (ensemble d'appareillage d'analyse), nous avons effectué une extraction en remplaçant la matrice par de l'eau distillée, puis la solution obtenue est analysée par GC-NPD et GC-MS.

- **Extraction des échantillons non traités des cultures étudiées**

Effectuée dans le but de confirmer que les parcelles étudiées que nous avons-nous-mêmes traitées n'étaient pas préalablement traitées avec les molécules étudiées et dans le but d'éviter des résultats par excès.

De plus les extractum obtenus vont servir par la suite pour la réalisation des gammes matrices.

- **Extraction des échantillons traités des cultures étudiées**

Nous avons procédé à l'extraction, séparément, des échantillons traités avec les pesticides en utilisant la méthode d'extraction préalablement définie, en évitant la contamination entre eux lors du passage d'un échantillon à un autre. Les extractum obtenus sont conservés dans un congélateur à -18°C à l'abri de la lumière jusqu'à analyse par GC.

- **Extraction des échantillons dopés (calcul des rendements d'extraction)**

Pour le calcul des rendements d'extraction de la méthode utilisée pour chaque molécule et pour chaque matrice nous avons dopé le blanc non traité de chaque matrice avant l'extraction avec la quantité suffisante des pesticides qui convient à la matrice (**Tab.13**) de telle sorte à avoir dans l'extractum final une concentration du pesticide de 500ppb.

L'étalon interne est ajouté avant injection à une concentration de 500ppb.

En parallèle nous avons préparé des solutions étalons avec ces mêmes pesticides à la même concentration (500ppb) pour comparer les surfaces des pics obtenus. Enfin nous faisons passer les extractums dopés avec les solutions étalons en GC.

Tab.13 : pesticides utilisés pour le dopage des matrices.

Matrice dopée	Pesticides de dopage	Méthode d'analyse
Courgette	Mercaptodimethur	GC-NPD
Tomate / Fraise	Chlorpyrifos	GC-NPD
	Bifenthrine	GC-MS

Le calcul du rendement d'extraction se fait de la manière suivante :

$$(\text{Rendement d'extraction}) = \frac{\text{surface du dopé} / \text{surface de l'etalon interne}}{\text{surface de l'etalon} / \text{surface de l'etalon interne}} * 100$$

II.6.2.2.2. Conditions opératoires

II.6.2.2.2.1. Analyses par la GC-NPD

Le Chlorpyrifos-ethyl et le Mercaptodimethur ont été analysés selon les conditions chromatographiques décrites comme suit :

Le volume injecté est de 1µl en mode Splitless à une température de 280°C. La Colonne est de type Elit 5 (5% diphenyle et 95% diméthyle polysiloxane) de 30m de longueur, un diamètre externe de 0,25mm et un diamètre interne de 0,25µm, le gaz vecteur est l'azote à un débit de 1,2 ml/min. Le programme thermique commence par une température initiale de 100°C maintenue pendant 2min, puis elle augmente de 25°C/min jusqu'à atteindre 200°C, puis on augmente de 10°C/min jusqu'à atteindre 280°C et elle est maintenue à 280°C pendant 5min. Le détecteur est un détecteur

spécifique azote phosphore avec une température de détection de 280°C. Le temps total d'analyse est de 19 minutes.

II.6.2.2.2. Analyses par la GC-MS

La Bifenthrine et la Fenprothrinine ont été analysées selon les conditions chromatographiques décrites comme suit :

Le volume injecté est de 1 µl en mode Splitless à une température de 250°C. La Colonne est de type Elit 5 (5% diphényle et 95% diméthyle polysiloxane) de 30m de longueur, un diamètre externe de 0,25mm et un diamètre interne de 0,25 µm, le gaz vecteur est l'Hélium à un débit de 1,2 ml/min. Le programme thermique commence par une température initiale de 70°C pendant 2min, puis elle augmente de 25°C/min jusqu'à atteindre 150°C, puis elle augmente de 3°C/min jusqu'à atteindre 200°C, puis elle augmente de 8°C/min jusqu'à atteindre 280°C et elle est maintenue à 280°C pendant 10min. Le détecteur est un détecteur de masse avec une température de la source de 230°C et une température de ligne de transfert de 280°C et un potentiel d'ionisation de 70 eV. Le temps total d'analyse est de 41,87 minutes.

II.6.2.3. Essai de validation

L'essai de validation a été fait sur la GC-NPD pour deux molécules, le mercaptodiméthur et le chlorpyrifos.

La démarche de validation statistique passe par une évaluation des performances analytiques de la méthode. Pour cela il convient d'étudier un certain nombre de paramètres tels que la spécificité, la linéarité, l'exactitude, la reproductibilité et les limites de détections et de quantifications (**NF-ISO 17025**).

II.6.2.3.1. Choix du domaine de linéarité

Après avoir déterminé les différents paramètres de chaque molécule nous avons commencé à définir le domaine de linéarité de chaque molécule.

Pour chacune des molécules étudiées nous avons préparé une première gamme étalon qui contient la molécule à des concentrations croissantes (50, 100, 200, 500,

800 et 1000 ppb, pour le chlorpyrifos et 38, 76, 152, 379, 606 et 758ppb, pour le mercaptodimrthur) et l'étalon interne (Fenthion) à une concentration constante (500ppb), puis nous avons dosé les différents points de la gamme par GC-NPD.

Par la suite, et sur la base de la première gamme étalon, nous avons préparé une deuxième gamme étalon pour chaque molécule en réduisant l'intervalle entre les concentrations choisies (100, 200, 300, 400, 500, 600 et 700 ppb pour le chlorpyrifos et 76, 152, 227, 303, 379, 455 et 530ppb, pour le mercaptodimrthur), avec l'étalon interne (Fenthion) à une concentration constante (500ppb), puis nous avons dosé les différents points de la gamme par GC-NPD. Ensuite, sur la base des LMRs de ces substances de pesticides fixées par le **Codex Alimentarius, 2010 et l'ACTA, 2009 (Tab.14)** pour les cultures choisies et à partir des deux gammes précédentes nous avons choisi les concentrations de la troisième gamme étalon comme suit : 100, 200, 300, 400 et 500 ppb pour le chlorpyrifos et 76, 152, 227, 303, 379ppb, pour le mercaptodimrthur, avec l'étalon interne (Fenthion) toujours à une concentration constante (500ppb), puis nous avons dosé les différents points de la gamme par GC-NPD.

Tab. 14 : LMRs (en µg/ kg) fixées par le Codex Alimentarius et l'ACTA 2009 pour les cultures choisies.

Substance	Source de la LMR	Cultures		
		Courgette	Fraise	Tomate
Mercaptodimethur	Codex-Alimentarius	-	-	-
	ACTA	100	-	-
Chlorpyrifos-ethyl	Codex-Alimentarius	-	300	500
	ACTA	-	200	50
Bifethrine	Codex-Alimentarius	-	1000	-
	ACTA	-	500	50

II.6.2.3.2. Etude des paramètres de validation

- **La spécificité**

Propriété d'une méthode d'analyse de convenir exclusivement à la substance analysée en présence d'autres composants, avec la garantie que le résultat de la méthode d'analyse ne provient que de l'analyte. Afin de la déterminer nous avons vérifié l'absence de pics, dans les chromatogrammes des échantillons non traités, au temps de rétention des deux molécules choisis (NF-ISO 17025).

- **La linéarité et l'exactitude**

La linéarité est la capacité d'une méthode d'analyse, à l'intérieur d'un certain intervalle, à fournir une réponse instrumentale ou des résultats proportionnels à la quantité en analyte à doser dans l'échantillon (NF-ISO 17025).

L'exactitude exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur de la méthode obtenue et la valeur de référence acceptée.

Afin de la déterminer nous avons préparé des gammes étalons avec les concentrations suivantes : 100, 200, 300, 400 et 500 ppb pour le chlorpyrifos et 76, 152, 227, 303, 379ppb, pour le mercaptodimrthur, sur 3jours consécutifs et analysés par GC-NPD.

De la même manière nous avons préparé des gammes matrices en diluant les molécules avec un mélange solvant matrice (matrice obtenue de l'extraction du blanc non traité).

Donc nous avons préparé trois gammes matrices (courgette, tomate et fraise) chacune trois fois (J1, J2 et J3), et nous les avons passées chaque fois par GC-NPD séparément durant trois jours.

- **La répétabilité**

C'est l'expression de la précision de l'analyse lorsque celle-ci est reprise dans les mêmes conditions de réalisation (même laboratoire, même opérateur utilisant le même équipement), après un court intervalle de temps (NF-ISO 17025).

Afin de la déterminer nous avons injecté le point 500ppb pour le chlorpyrifos et le point 379ppb, pour le mercaptodimrthur, de chaque gamme étalon six fois dans chaque jour.

- **Détermination des limites de détection et de quantification**

La limite de détection est la plus petite concentration d'analyte pouvant être détectée, mais non quantifiée. La limite de quantification est la plus petite concentration d'analyte pouvant être quantifiée dans l'échantillon avec une exactitude et une précision acceptable (SOBOLEVA *et* AMBRUS, 2004).

Pour la GC-NPD nous les avons calculées par l'approche graphique et pour la GC-MS nous les avons calculées par l'approche instrumentale.

II.6.2.3.3. Analyses statistiques

La réalisation des testes statistiques de linéarité, d'exactitude et de répétabilité ont été fait avec le logiciel statistique AVA Version 3.1 avec un guide de validation SFSTP1, 1992.

II.6.2.4. Quantification des résidus de pesticides recherchés dans les fruits et légumes étudiés

Après avoir fait l'extraction de tous les échantillons de fruits et légumes traités nous les avons analysés par GC-NPD ou par GC-MS, selon la molécule recherchée, en les faisons passer, à chaque fois, avec des gammes matrices qui vont servir pour la lecture des quantités de pesticides présentes dans les fruits et légumes analysés.

Pour certaines concentrations des échantillons analysés n'étant pas comprises dans la gamme matrice (c'est-à-dire ils n'ont pas des concentrations comprises les

intervalles choisis) nous les avons dilués afin de pouvoir les lire dans cette gamme puis ils sont repassés en GC.

II.6.2.4.1. GC-MS

Avant de passer à la quantification de la bifenthrine dans les échantillons traités, nous avons commencé à définir le domaine de linéarité de la cette dernière.

Sur la base des LMRs de cette substance fixées par le **Codex Alimentarius, 2010 et l'ACTA, 2009 (Tab.14)** nous avons choisi de préparer une gamme étalon avec les concentrations suivantes : 100, 200, 300, 400 et 500 ppb, avec la fenpropathrine comme étalon interne à une concentration constante (500ppb), puis nous avons préparé une gamme matrice de la même manière que la gamme étalon et nous les avons analysés par GC-MS.

II.6.2.4.2. GC-NPD

Nous avons utilisé les gammes matrices préparées lors de l'essai de validation pour les faire passer en même temps et ainsi procéder à la quantification des échantillons de fruits et légumes traités.

CHAPITRE III

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

III. RESULTATS ET INTERPRETATIONS

III.1. Caractéristiques chromatographiques des molécules étudiées

III.1.1. GC-NPD

Les temps de rétention des molécules analysées par GC-NPD sont mentionnés dans le **Tab.15**.

Tab.15: temps de rétention des molécules analysées par GC-NPD.

Molécule	Temps de Rétention (min)
Chlorpyrifos	10,96
Mercaptodimethur	11,30
Fenthion	11,51

Les **Fig. 15, 16 et 17** représentent les chromatogrammes du Chlorpyrifos, Mercaptodimethur et du Fenthion respectivement obtenus par GC-NPD. La **Fig. 18** est le chromatogramme issu de l'analyse d'une mixture des trois molécules par GC-NPD.

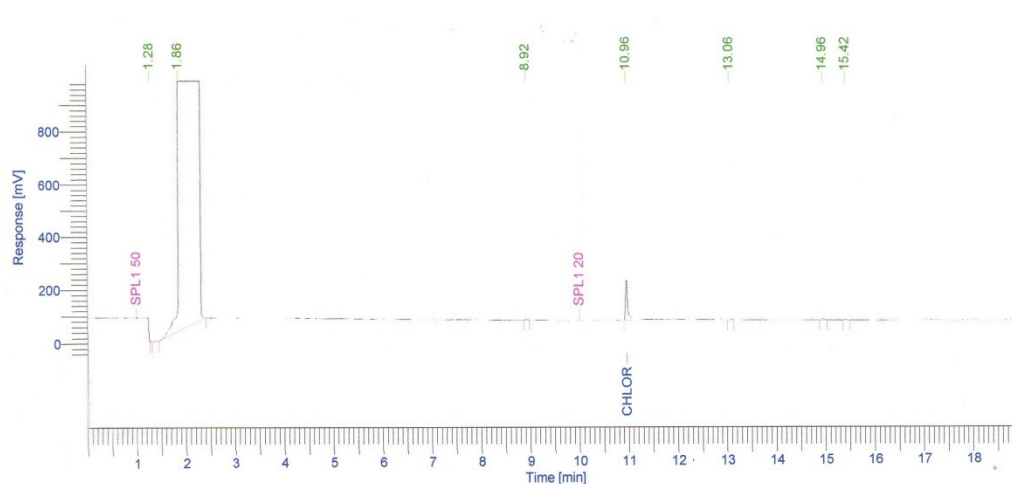


Fig.15 : chromatogramme du chlorpyrifos obtenu par GC-NPD.

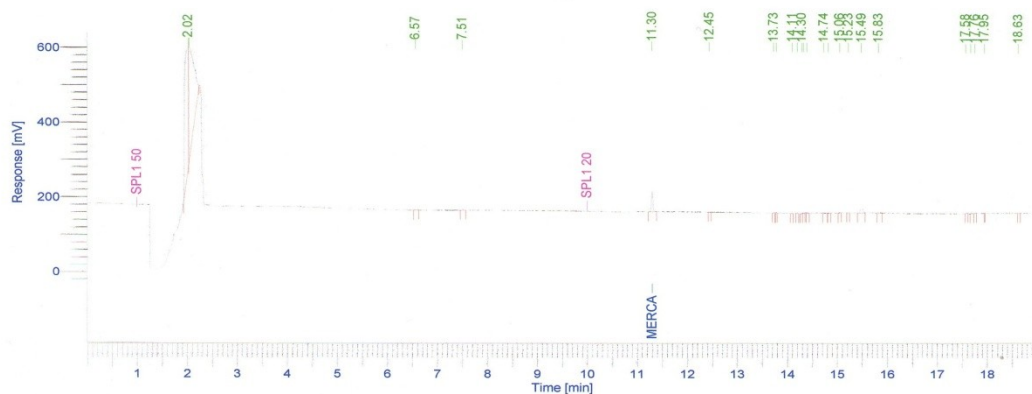


Fig.16 : chromatogramme du mercaptodimethur obtenu par GC-NPD.

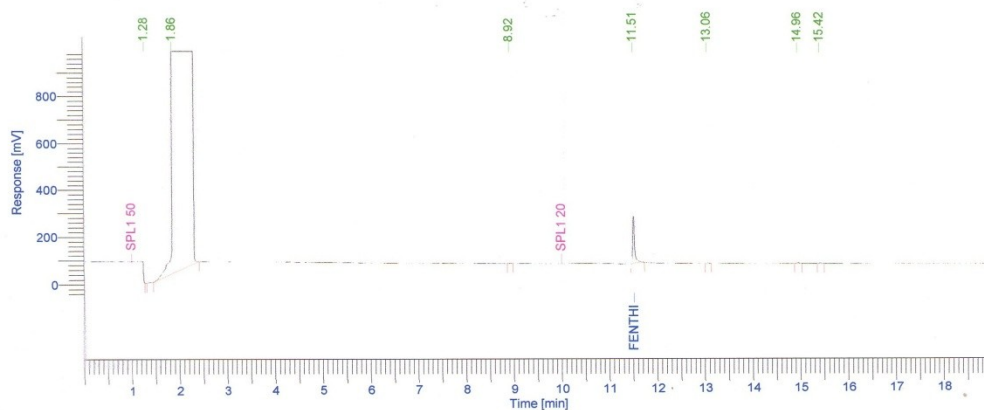


Fig.17 : chromatogramme du Fenthion obtenu par GC-NPD.

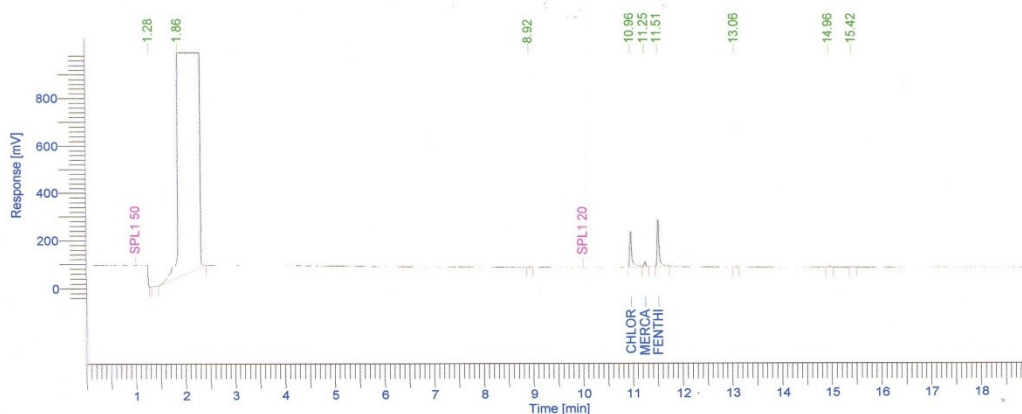


Fig.18 : chromatogramme de la mixture des trois molécules précédentes obtenu par GC-NPD.

Le **Tab.15** et les chromatogrammes ci-dessus (**Fig. 15, 16, 17 et 18**) montrent que nous avons obtenus des pics bien séparés à des temps de retentions différents et pas longs (10,96, 11,30 et 11,51 min pour le chlorpyrifos, le mercaptodiméthure et le fenthion respectivement), c'est-à-dire une bonne résolution des différents pics. Ce qui signifie que les conditions chromatographiques optimisés conviennent pour l'analyse de ces molécules par GC-NPD.

FENOLL et al., 2007 ont obtenu un temps de rétention de 19,23min pour le chlorpyrifos avec des conditions chromatographiques en GC-NPD proches de celles que nous avons utilisés.

III.1.1. GC-MS

Les temps de rétention des molécules analysées par GC-MS sont mentionnés dans le **Tab.16**.

Tab.16 : temps de rétention des molécules analysées par GC-MS.

Molécule	Temps de Rétention (min)
Bifenthrine	29,30
Fenpropathrine	29,47

Les **Fig. 19 et 20** représentent les chromatogrammes de la Bifenthrine et de la Fenpropathrine avec leurs spectres de masse respectivement obtenus par GC-MS. La **Fig. 21** est le chromatogramme issu de l'analyse d'une mixture des deux molécules par GC-MS.

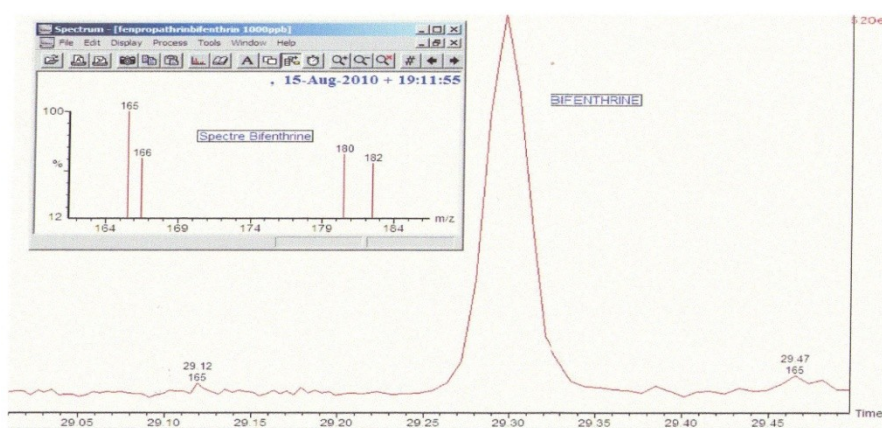


Fig. 19 : chromatogramme et spectre de masse de la Bifenthrine obtenus par GC-MS.

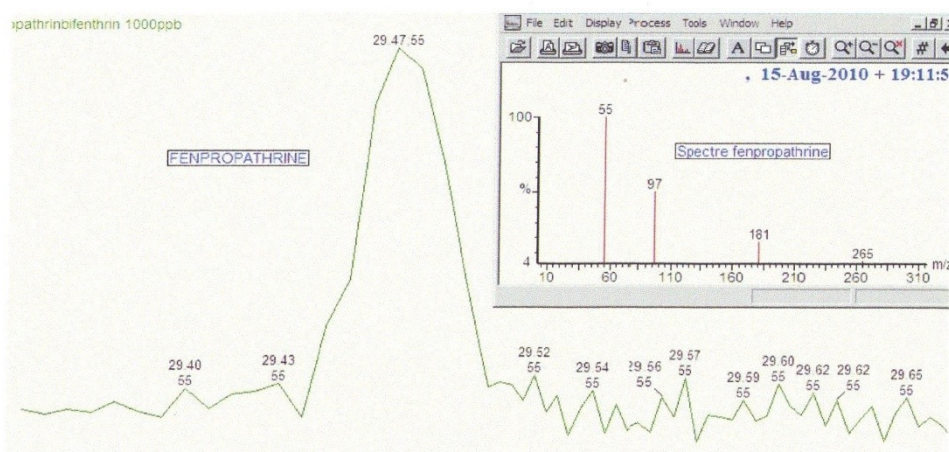


Fig. 20 : chromatogramme et spectre de masse de la Fenpropathrine obtenus par GC-MS.

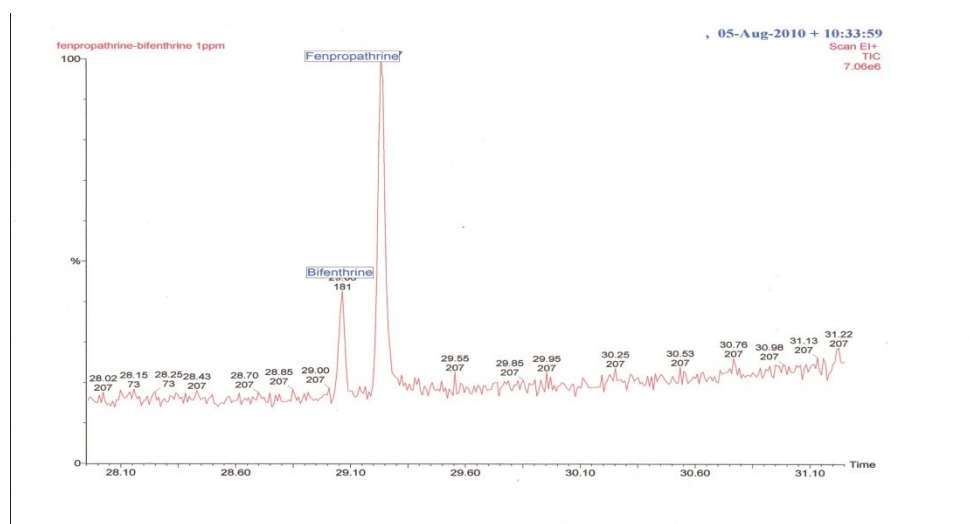


Fig. 21 : chromatogramme de la mixture de Bifenthrine et Fenpropathrine obtenu par GC-MS.

Le **Tab.16** et les chromatogrammes ci-dessus (**Fig. 19, 20 et 21**) montrent que nous avons obtenus des pics bien séparés à des temps de retentions différents et pas longs (29,30 et 29,47 minutes pour la Bifenthrine et Fenpropathrine respectivement), c'est-à-dire une bonne résolution des différents pics. Ce qui signifie que les conditions chromatographiques optimisés conviennent pour l'analyse de ces molécules par GC-MS.

NORLI *et al.*, 2010, en utilisant les mêmes conditions chromatographiques que celles utilisés dans notre étude, ont obtenu un temps de rétention de 28.78min pour la bifenthrine et 28.90min pour la fenpropathrine. Nous remarquons que ces temps de retentions sont très proches de celles obtenus durant notre étude. PANG *et al.*, 2006, en analysant 386 pesticides par GC-MS ont obtenu un temps de rétention de 28,57min pour la Bifenthrine avec des conditions chromatographiques proches de celles que nous avons utilisées.

Pour le mode SIR les quatre fragments de masse choisis à partir des spectres de masse obtenus pour chaque molécule sont mentionnés dans le **Tab. 17**.

Tab.17 : fragments de masse choisis

Molécule	Fragments de masse (m/z)
Bifenthrine	165, 166, 180, 182.
Fenpropathrine	55, 97, 181, 265.

Selon BERTHOIN, 2000 l'utilisation du mode SIR présente plusieurs intérêts, il permet de repérer des molécules dans un profil chromatographique très chargé en sélectionnant les ions caractéristiques des produits recherchés, la possibilité de détecter des traces faibles.

PANG *et al.*, 2006, ont sélectionné les deux fragments 165 et 166 pour l'analyse de la Bifenthrine.

Les Fig. 22 et 23 représentent les spectres de masse théoriques (obtenus de la bibliothèque) et pratiques (issus de l'analyse des étalons préparés) de la Bifenthrine et de la Fenpropathrine respectivement. Nous constatons une différence entre les spectres de masse théoriques et pratiques pour une même molécule, à cause des conditions opératoires qui ne sont pas les mêmes, ainsi les étalons utilisés durant notre analyse diffèrent de ceux analysés pour l'élaboration de la bibliothèque.

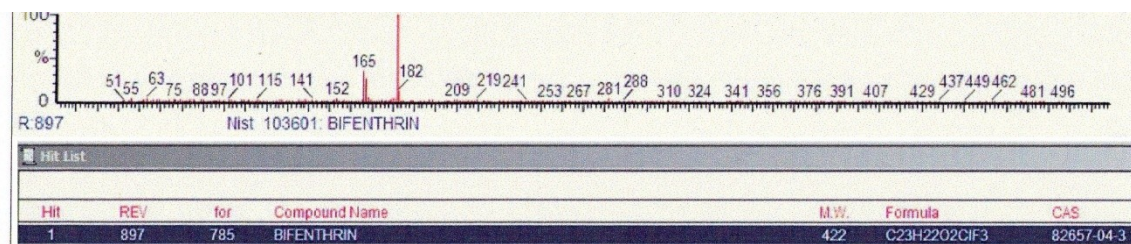


Fig. 22(a) Spectre de masse théorique de la Bifenthrine

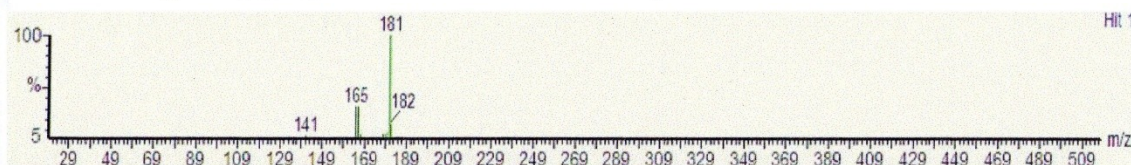


Fig. 22 (b) Spectre de masse pratique de la Bifenthrine

Fig. 22 : Spectres de masse de la Bifenthrine.

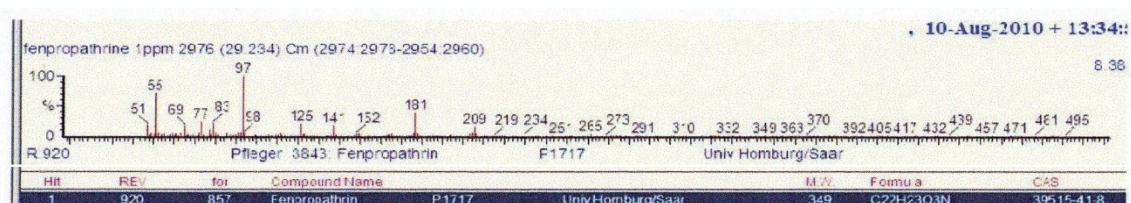


Fig. 23 (a): Spectre de masse théorique de la Fenpropathrine

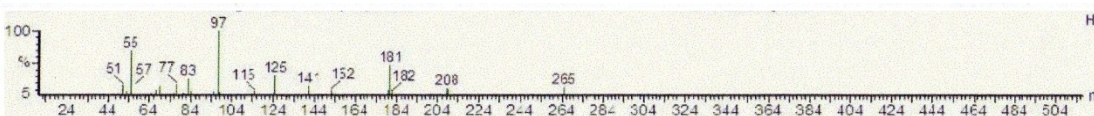


Fig. 23 (b) : Spectre de masse pratique de la Fenpropathrine

Fig. 23 : Spectres de masse de la Fenpropathrine.

III.2. Analyse des extractum obtenus

III.2.1. Blanc de procédure

Les Fig. 24 et 25 sont les chromatogrammes de l'analyse des extractum du blanc de procédure par GC-NPD et GC-MS respectivement. Nous remarquons qu'il n'y a pas de pics aux temps de rétentions des molécules étudiées ce qui signifie que l'ensemble de l'appareillage et de l'équipement utilisés pour l'extraction et le dosage de ces substances ne contient pas au préalable ces molécules, donc la méthode d'analyse utilisée est spécifique aux substances dosées.

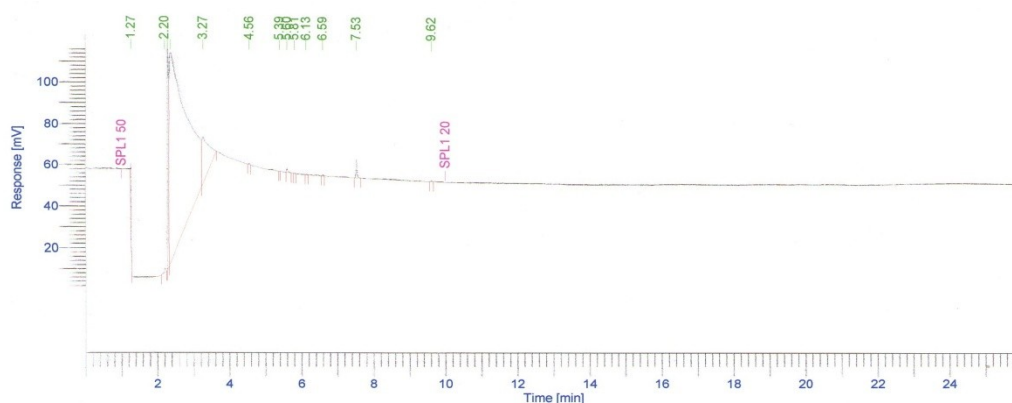


Fig. 24 : chromatogramme du blanc de procédure obtenu par GC-NPD.

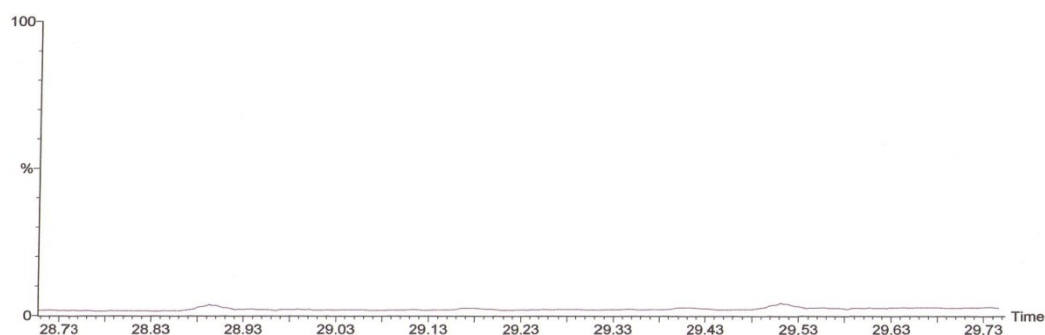


Fig. 25 : chromatogramme du blanc de procédure obtenu par GC-MS.

III.2.2. Echantillons de cultures non traités :

Les **Fig. 26, 27 et 28** sont les chromatogrammes de l'analyse des extractum des échantillons de courgette, de fraise et de tomate non traités, obtenus par GC-NPD, respectivement et les figures 29 et 30 représentent les chromatogrammes de l'analyse des extractum des échantillons de fraise et de tomate non traités, obtenus par GC-MS, respectivement. Nous remarquons qu'il n'y a pas de pics aux temps de rétentions des molécules étudiées ce qui veut dire que ces molécules n'étaient pas présentes au préalable dans les échantillons de fruits et légumes, donc les molécules dosés dans les échantillons traités et les blancs dopés proviennent seulement des traitements que nous avons nous-mêmes appliqués et des solutions de dopage que nous avons administrés respectivement.

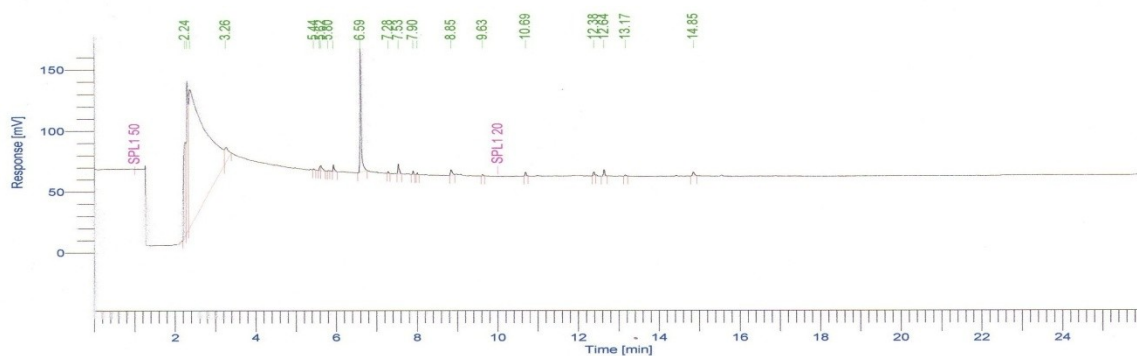


Fig. 26 : Chromatogramme d'échantillon de la courgette non traitée obtenu par GC-NPD.

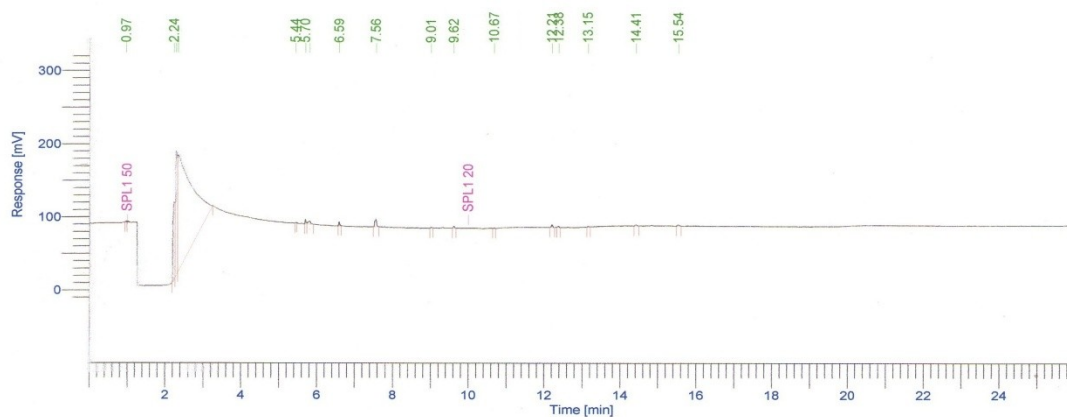


Fig. 27 : Chromatogramme d'échantillon de la fraise non traitée obtenu par GC-NPD.

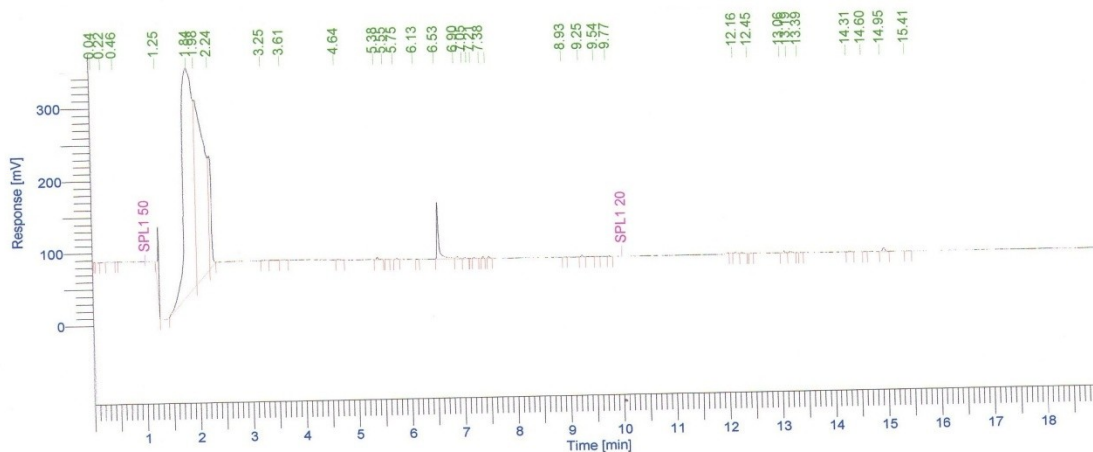


Fig. 28 : Chromatogramme d'échantillon de la tomate non traitée obtenu par GC-NPD.



Fig. 29 : Chromatogramme d'échantillon de la fraise non traitée obtenu par GC-MS.

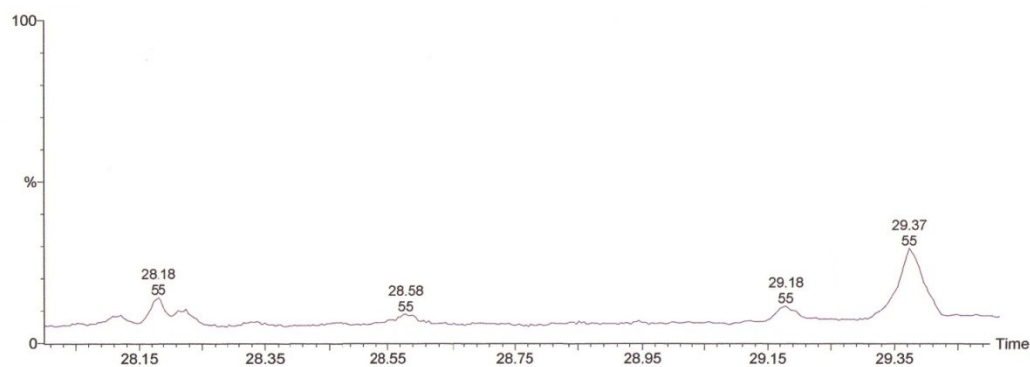


Fig. 30 : Chromatogramme d'échantillon de la tomate non traitée obtenu par GC-MS.

III.2.2. Echantillons dopés (rendements d'extractions)

Les rendements obtenus de la méthode d'extraction utilisée pour chaque molécule et chaque matrice étudiées sont assemblés dans le **Tab.18**.

Nous constatons que ces rendements sont compris entre 78 et 120%. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **FENOLL et al., 2007** (de 71,6–120,2% pour la tomate) en utilisant une méthode d'extraction liquide-liquide et une détection par GC-NPD et ceux obtenus par **PIHLSTRÖM et al., 2007** (entre 60 et 115%)

Nous remarquons aussi que tous les rendements obtenus sont compris entre 70–120% comme recommander par **SANCO Guideline** (Commission des Communautés Européennes, 2010)

Tab.18 : Rendements obtenus par la méthode d'extraction utilisée.

Molécules	Matrices	Rendements (%)
Mercaptodimethur	Courgette	105,20
Chlorpyrifos	Fraise	92,87
Chlorpyrifos	Tomate	78,31
Bifenthrine	Fraise	89,28
Bifenthrine	Tomate	119,72

Les chromatogrammes des échantillons dopés et des solutions étalons sont dans l'annexe 3.

III.3. Essai de validation :

III.3.1. Domaine de linéarité :

Le chlorpyrifos et le mercaptodimethur ont été choisis pour l'essai de validation en GC-NPD.

Les **Fig. 31** et **32** sont des courbes représentant la variation des rapports des surfaces des pics du mercaptodimethur et du chlorpyrifos respectivement sur les surfaces des pics du fenthion en fonction des concentrations du mercaptodimethur (entre 0,038 et 0,758ppm) et du chlorpyrifos (entre 50 et 1000ppb).

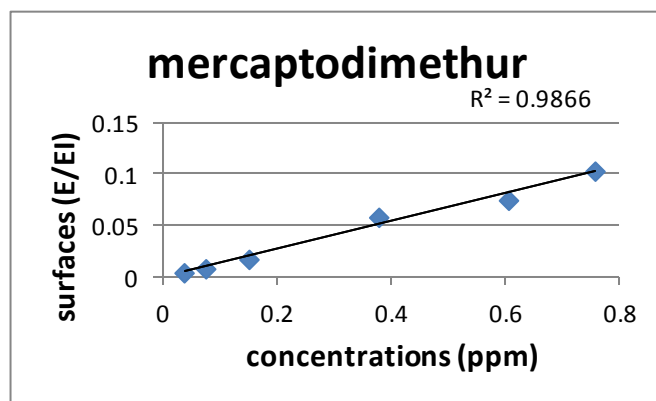


Fig. 31 : variation des rapports des surfaces des pics en fonction des concentration du mercaptodimethur allant de 0,038 à 0,758ppm.

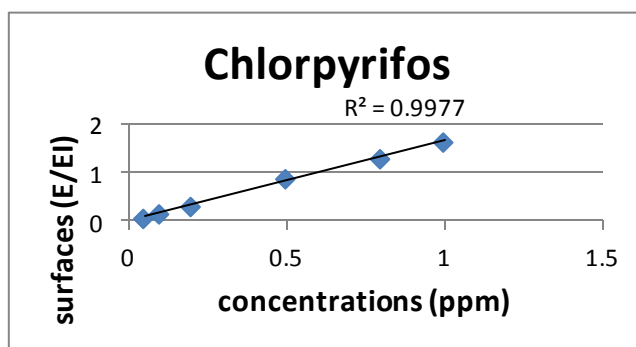


Fig. 32 : variation des rapports des surfaces des pics en fonction des concentration du chlorpyrifos allant de 0,05 à 1ppm.

Nous remarquons que les rapports des surfaces des pics des etalons sur leurs etalons internes augmentent lineairement avec l'augmentation de leurs concentrations ($R^2=0,9866$ et $R^2=0,9977$ pour le mercaptodimethur et le chlorpyrifos, respectivement).

Les **Fig. 33** et **34** sont les courbes représentant la variation des rapports des surfaces des pics du mercaptodimethur et du chlorpyrifos respectivement sur les surfaces des pics du fenthion en fonction des concentrations du mercaptodimethur (entre 76 et 530ppb) et du chlorpyrifos (entre 100 et 700ppb).

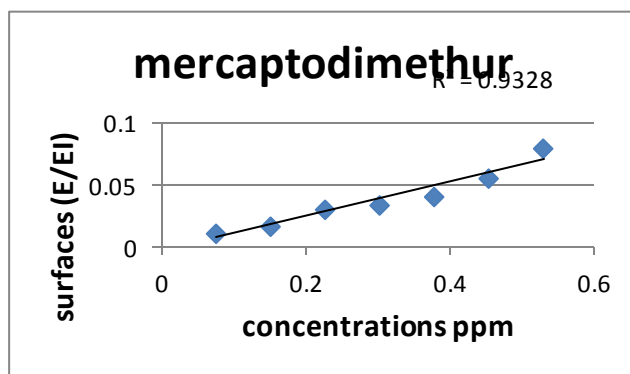


Fig. 33 : variation des rapports des surfaces des pics en fonction des concentration du mercaptodimethur allant de 0,076 à 0,53ppm.

Nous remarquons que la relation entre les surfaces obtenues et les concentration n'est pas parfaitement lineaire ($R^2= 0,9328$), mais les cinq premiers point de la courbe presente une certaine linearité.

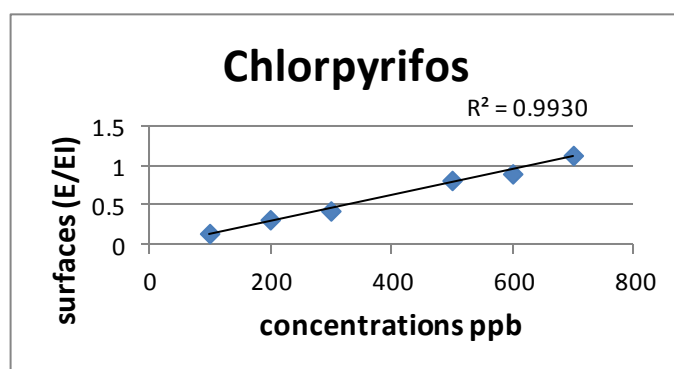


Fig. 34 : variation des rapports des surfaces des pics en fonction des concentration du chlorpyrifos allant de 100 à 700ppb.

Pour le chlorpyrifos en éliminant le point 400 nous avons toujours une relation lineaire ($R^2= 0,993$).

Les **Fig. 35** et **36** sont les courbes représentant la variation des rapports des surfaces des pics du mercaptodimethur et du chlorpyrifos respectivement sur les surfaces des pics du fenthion en fonction des concentrations du mercaptodimethur (entre 76 et 379ppb) et du chlorpyrifos (entre 100 et 500ppb)

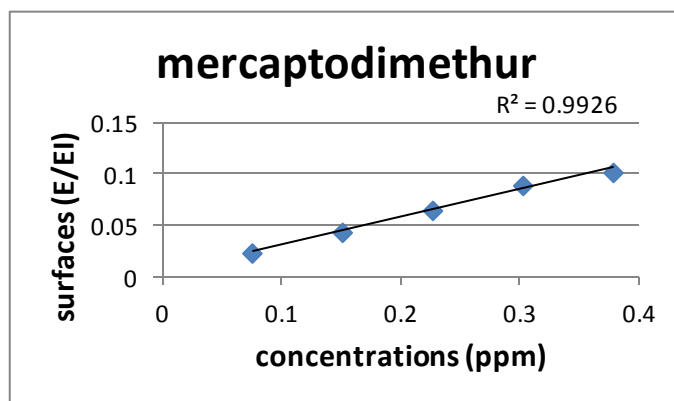


Fig. 35 : variation des rapports des surfaces des pics en fonction des concentration du mercaptodimethur allant de 0,076 à 0,379ppm.

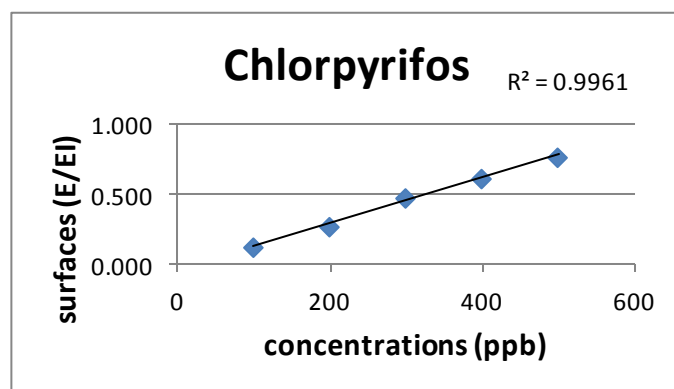


Fig. 36 : Variation des rapports des surfaces des pics en fonction des concentration du chlorpyrifos allant de 100 à 500ppb.

Nous remarquons que les rapports des surfaces augmentent linéairement avec l'augmentation des concentrations du chlorpyrifos et du mercaptodimethur dans ces intervalles de concentrations ($R^2=0,9926$ et $R^2=0,9961$, pour le mercaptodimethur et le chlorpyrifos, respectivement). Donc la méthode d'analyse établie pour le dosage de ces substances est linéaire pour les intervalles étudiés. Donc les gammes étalons et matrices vont être préparés dans ces intervalles.

LACINA *et al.*, 2010, ont quantifié 212 pesticides dont le chlorpyrifos et le methiocarbe par ultra-HPLC-MS dans les tomates, les fraises, les épinards et les pommes. Leur méthode est linéaire dans un intervalle compris entre 20 et 450ppb.

III.3.2. Paramètres de validation

III.3.2.1. Spécificité

Les chromatogrammes des échantillons non traités (**Fig.** 26, 27 et 28) ne contiennent pas de pics aux temps de rétention des molécules recherchées, donc la méthode est spécifique au dosage des résidus de pesticides recherchés (mercaptodimethur et chlorpyrifos).

III.3.2.2. Linéarité

III.3.2.2.1. Mercaptodimethur

Les **Fig.** 37, 38 et 39 sont les courbes des gammes étalons et les **Fig.** 40, 41 et 42 sont les courbes des gammes matrices courgette préparées en J1,J2,et J3 respectivement qui représentent la variation des rapports de surface des pics du mercaptodimethur sur les surfaces des pics du fenthion en fonction des concentrations du mercaptodimethur.

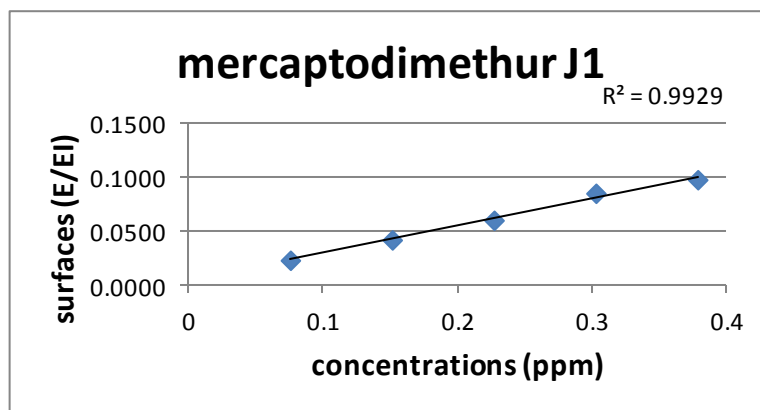


Fig. 37 : Gamme étalon de mercaptodimethur préparée en J1.

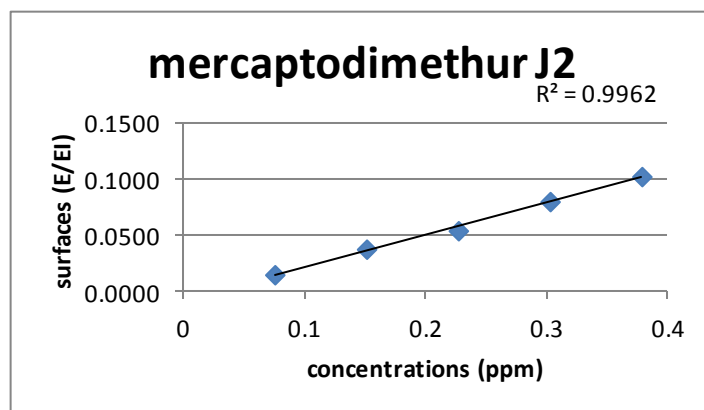


Fig. 38 : gamme étalon de mercaptodimethur préparée en J2.

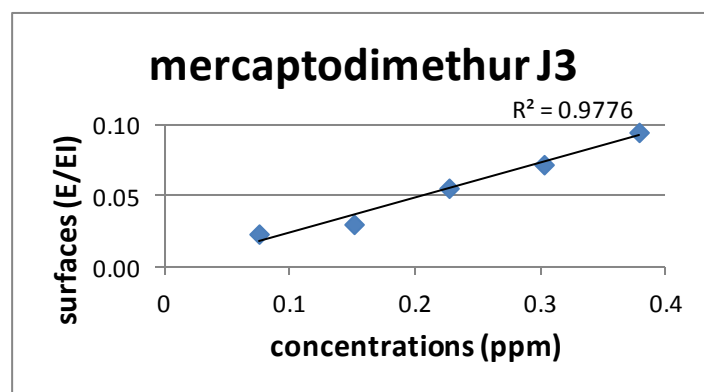


Fig. 39 : gamme étalon de mercaptodimethur préparée en J3.

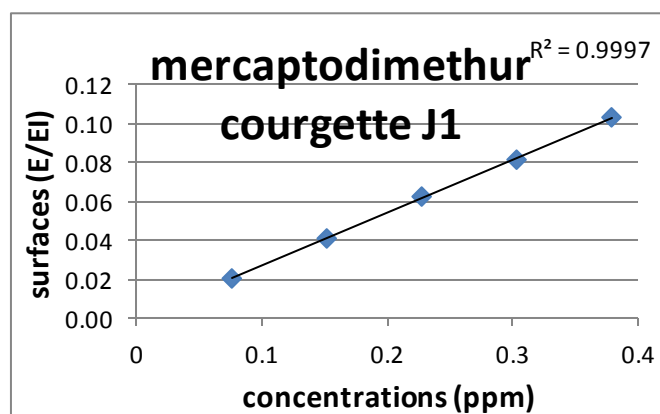


Fig. 40 : gamme matrice courgette de mercaptodimethur préparée en J1.

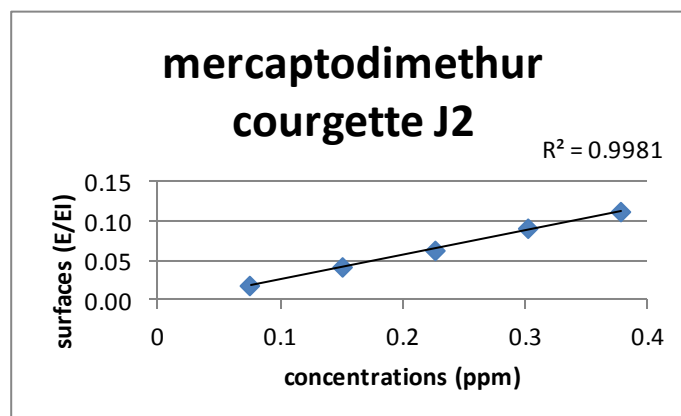


Fig. 41 : gamme matrice courgette de mercaptodiméthure préparée en J2.

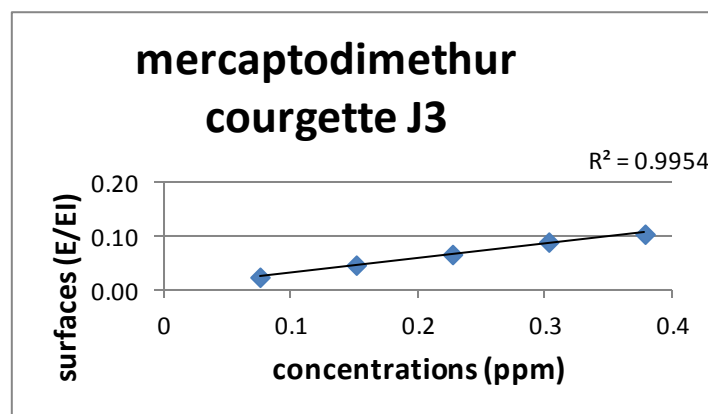


Fig. 42 : gamme matrice courgette de mercaptodiméthure préparée en J3.

Nous remarquons que toutes les courbes étalons et matrice sont linéaires avec des coefficients de déterminations $R^2 > 0,99$ à l'exception de la gamme étalon préparée en J3 avec $R^2=0,9776$.

Selon VIDAL et al., 2002, pour pouvoir procéder à une validation d'une méthode d'analyse il faut avoir des courbes des gammes étalons et matrices avec un $R^2 > 0,9$, la chose qui est respectée dans notre cas.

Le **Tab.19** résume les différents tests statistiques effectués pour l'évaluation de la linéarité du mercaptodiméthure pour la matrice courgette.

Tab.19: récapitulatif des résultats des tests statistiques de linéarité du mercaptodiméthure.

	fruit	pesticide
Pente	0.000284	0.000261
Ordonnée à l'origine	0.000357	-0.000512
Coef. corr.	0.994208	0.987822
Compar. ordonnée orig. avec 0 (t)	0.167688 (NS)	0.179842 (NS)
Homog. variances	0.395403 (NS)	0.350564 (NS)
Existence pente (FISHER)	1112.505792 (HS)	524.00063 (HS)
Validité droite (FISHER)	0.406767 (NS)	0.472975 (NS)
Compar. ordonnées à l'origine (t)		0.244 (NS)
Compar. pentes (t)		1.612 (NS)

Selon le **Guide SFSTP1, 1992**, pour que le paramètre de linéarité soit validé tous les tests mentionnés dans le tableau ci-dessus doivent être non significatives sauf le test d'existence de la pente qui doit être significative.

Donc d'après les résultats mentionnés dans le **Tab.24** le paramètre de linéarité pour le mercaptodiméthure dans la matrice courgette est validé avec absence d'effet matrice pour le seuil définie.

III.3.2.2.2. Chlorpyrifos :

- **Fraise :**

Les **Fig. 43, 44 et 45** sont les courbes des gammes étalons et les **Fig. 46, 47 et 48** sont les courbes des gammes matrices fraise préparées en J1, J2 et J3 respectivement qui représentent la variation des rapports de surface des pics du

chlorpyrifos sur les surfaces des pics du fenthion en fonction des concentrations du chlorpyrifos de 100ppb à 500ppb.

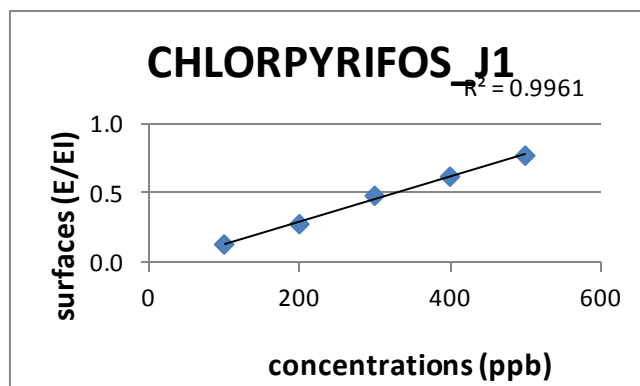


Fig. 43 : gamme étalon de chlorpyrifos préparée en J1.

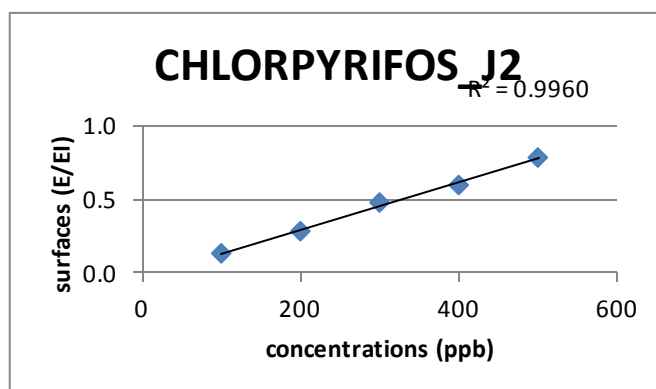


Fig. 44 : gamme étalon de chlorpyrifos préparée en J2.

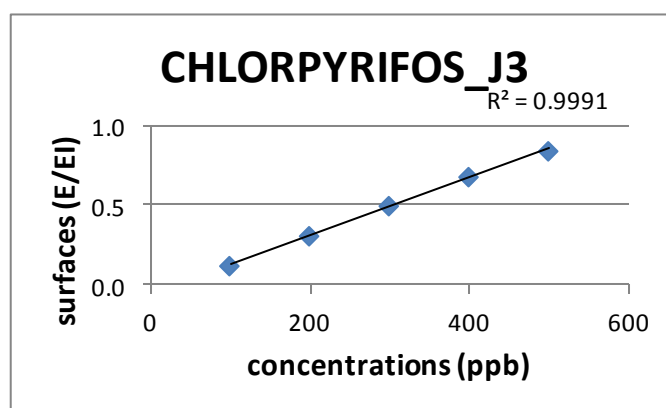


Fig. 45 : gamme étalon de chlorpyrifos préparée en J3.

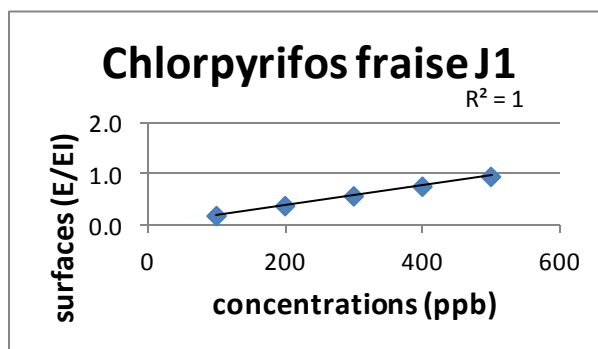


Fig. 46 : gamme matrice fraise de chlorpyrifos préparée en J1.

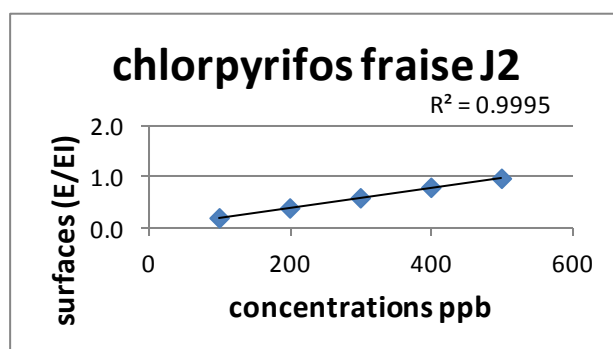


Fig. 47 : gamme matrice fraise de chlorpyrifos préparée en J2.

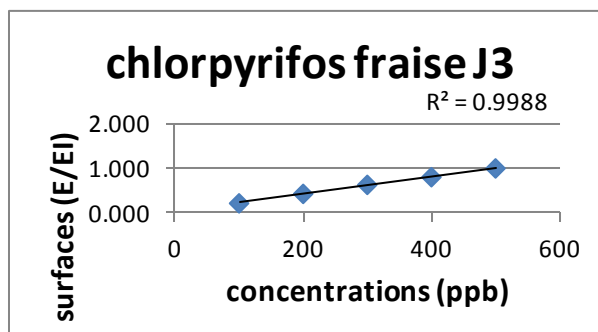


Fig. 48 : gamme matrice fraise de chlorpyrifos préparée en J3.

Nous remarquons que toutes les courbes sont linéaires avec des coefficients de déterminations $R^2 > 0,99$. Donc Selon VIDAL *et al.*, 2002, ces courbes sont acceptables pour la validation.

Le **Tab.20** résume les différents tests statistiques effectués pour l'évaluation de la linéarité du chlorpyrifos pour la matrice fraise.

Tab.20: Récapitulatif des résultats des tests statistiques de linéarité du chlorpyrifos pour la matrice fraise.

	fruit	pesticide
Pente	0.001926	0.001679
Ordonnée à l'origine	0.0147	-0.037267
Coef. corr.	0.999227	0.993891
Compar. ordonnée orig. avec 0 (t)	2.109312 (NS)	2.173315 (S)
Homog. variances	0.398655 (NS)	0.475548 (NS)
Existence pente (FISHER)	8398.507075 (HS)	1054.206789 (HS)
Validité droite (FISHER)	0.527578 (NS)	0.51147 (NS)
Compar. ordonnées à l'origine (t)		2.807 (S)
Compar. pentes (t)		4.425 (S)

Du tableau ci-dessus on observe que les pentes des gammes étalons et matrices sont significativement différentes au seuil considéré. Les ordonnées à l'origine des gammes étalons et matrices sont significativement différentes de 0 au seuil considéré.

Donc le paramètre de linéarité pour le chlorpyrifos dans la matrice fraise n'est pas validé ce qui implique qu'il y a présence d'effet de la matrice.

- **Tomate :**

Les gammes étalons utilisées pour l'essai de validation de la matrice tomate sont celles utilisées pour la fraise (**Fig. 43, 44 et 45**).

Les **Fig. 49, 50 et 51** sont les courbes des gammes matrices tomate préparées en J1, J2 et J3 respectivement qui représentent la variation des rapports de surface des pics du chlorpyrifos sur les surfaces des pics du fenthion en fonction des concentrations du chlorpyrifos de 100ppb à 500ppb.

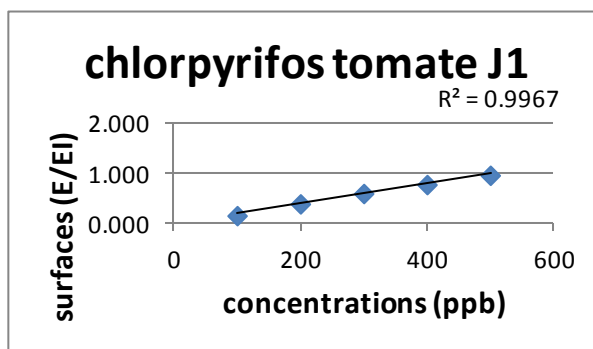


Fig. 49 : gamme matrice tomate de chlorpyrifos préparée en J1.

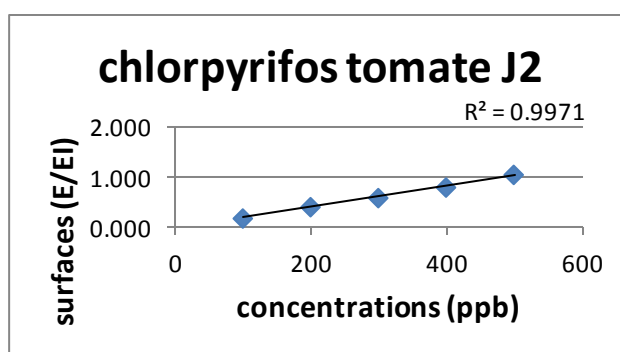


Fig. 50 : gamme matrice tomate de chlorpyrifos préparée en J2.

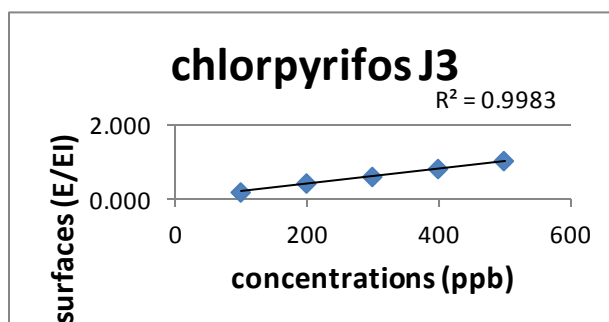


Fig. 51 : gamme matrice tomate de chlorpyrifos préparée en J3.

Nous remarquons que toutes les courbes sont linéaires avec des coefficients de déterminations $R^2 > 0,99$. Donc Selon VIDAL et al., 2002, ces courbes sont largement acceptables pour la validation.

Le Tab.21 résume les différents tests statistiques effectués pour l'évaluation de la linéarité du chlorpyrifos pour la matrice tomate.

Tab.21: Récapitulatif des résultats des tests statistiques de linéarité du chlorpyrifos pour la matrice tomate.

	pesticide	fruit
Pente	0.002057	0.001687
Ordonnée à l'origine	-0.016533	-0.037067
Coef. corr.	0.997651	0.99365
Compar. ordonnée orig. avec 0 (t)	1.272796 (NS)	2.10902 (NS)
Homog. variances	0.831713 (HS)	0.451847 (NS)
Existence pente (FISHER)	2757.509249 (HS)	1013.885253 (HS)
Validité droite (FISHER)	1.006141 (NS)	0.689145 (NS)
Compar. ordonnées à l'origine (t)		0.939 (NS)
Compar. pentes (t)		5.604 (S)

Du tableau ci-dessus on observe que les pentes des gammes étalons et matrices sont significativement différentes au seuil considéré. Les variances des gammes matrices ne sont pas homogènes.

Donc le paramètre de linéarité pour le chlorpyrifos dans la matrice tomate n'est pas validé avec la présence d'effet de la matrice.

III.3.2.3. Exactitude :

III.3.2.2.1. Mercaptodimethur:

Tab. 22 : Récapitulatif des résultats du test d'exactitude du Mercaptodimethur dans la courgette.

Moyenne des recouvrements	Intervalle de confiance (0.95)
114.31545	[108.81276 ; 119.81814]

Selon le **Guide SFSTP1, 1992** pour pouvoir dire que ce test est validé, l'intervalle de confiance du recouvrement moyen devrait contenir la valeur 100%.

Selon le **Guide SFSTP1, 1992** et puisque l'intervalle de confiance du recouvrement moyen ne contient pas la valeur 100%, le test d'exactitude pour le mercaptodimethur dans la courgette n'est pas validé au seuil considéré.

III.3.2.2.2. Chlorpyrifos :

- **Fraise :**

Tab. 23 : Récapitulatif des résultats du test d'exactitude du chlorpyrifos dans la fraise.

Moyenne des recouvrements	Intervalle de confiance (0.95)
119.21002	[114.81505 ; 123.60499]

Puisque l'intervalle de confiance du recouvrement moyen ne contient pas la valeur 100% et Selon le **Guide SFSTP1, 1992**, le test d'exactitude pour le chlorpyrifos dans la fraise n'est pas validé au seuil considéré.

- **Tomate :**

Tab.24 : Récapitulatif des résultats du test d'exactitude du chlorpyrifos dans la tomate.

Moyenne des recouvrements	Intervalle de confiance (0.95)
118.35814	[115.59981 ; 121.11648]

Puisque L'intervalle de confiance du recouvrement moyen ne contient pas la valeur 100%, le test d'exactitude pour le chlorpyrifos dans la tomate n'est pas validé au seuil considéré.

CHUNG et al., 2010, ont obtenu des valeurs moyennes de recouvrements comprises entre 70 et 120%, lors de la validation d'une méthode d'analyse multi-résidus pour 98 pesticides avec une variation relative de 20%.

III.3.2.4. Répétabilité :

III.3.2.4.1. Mercaptodimethur :

Tab. 25 : Récapitulatif des résultats du test de répétabilité du mercaptodimethur dans la courgette.

Paramètre calculé	Symbole	Formule de calcul	Valeur (%)
Coef. de variation de répétabilité	CVR	100.Sr/M	6.6959
Coef. de variation de fidélité intermédiaire	CVR	100.SR/M	13.908

Selon le **Guide SFSTP1, 1992** pour valider ce test il faut que le CV soit inférieure ou égale à 5%. Les CVr (répétabilité pour le même jour) et CVR (répétabilité entre les jours) sont tous les deux supérieurs à 5, donc ce paramètre n'est pas validé au seuil considéré.

III.3.2.4.2. Chlorpyrifos :

- **Fraise :**

Tab. 26 : Récapitulatif des résultats du test de répétabilité du chlorpyrifos dans la fraise.

Paramètre calculé	Symbole	Formule de calcul	Valeur (%)
Coef. de variation de répétabilité	CVr	$100.Sr/M$	2.256
Coef. de variation de fidélité intermédiaire	CVR	$100.SR/M$	5.7519

Le CVr (répétabilité pour le même jour) est inférieur à 5 alors que le CVR (répétabilité entre les jours) est pratiquement égale à 5, donc ce paramètre est validé au seuil considéré.

- **Tomate :**

Tab. 27 : Récapitulatif des résultats du test de répétabilité du chlorpyrifos dans la tomate.

Paramètre calculé	Symbole	Formule de calcul	Valeur (%)
Coef. de variation de répétabilité	CVr	$100.Sr/M$	2.0898
Coef. de variation de fidélité intermédiaire	CVR	$100.SR/M$	2.9576

Les CVr (répétabilité pour le même jour) et CVR (répétabilité entre les jours) sont tous les deux inférieurs à 5, donc ce paramètre est validé au seuil considéré.

FILHO et al., 2010, ont obtenu des CVr compris entre 4 et 17% et des CVR entre 7 et 22% lors de la validation d'une nouvelle méthode d'analyse des résidus de 14 pesticides.

Le **Tab.28** résume les différents paramètres étudiés dans l'essai de validation.

Tab.28: résumé des différents paramètres étudiés dans l'essai de validation pour chaque molécule dans chaque matrice.

Paramètres testés	Chlorpyrifos		Mercaptodimethur
	Fraise	Tomate	Courgette
spécificité	Validé	Validé	Validé
Linéarité	Non validé + Effet de la matrice	Non validé + Effet de la matrice	Validé + absence d'effet de la matrice
Exactitude	Non validé	Non validé	Non validé
Répétabilité pour le même jour	validé	Validé	Non validé
Répétabilité pour les trois jours	Validé	Validé	Non validé

La non validité de tous les paramètres peut être due principalement au type d'étalon de pesticides utilisés dans l'analyse (matière première et pas des étalons certifiés), les erreurs commises par le manipulateur lors de manipulation à lesquelles s'ajoute certains erreurs d'ordre instrumentales.

Donc pour faire face au problème de l'effet de la matrice lors de la quantification des résidus de pesticides dans les échantillons nous avons fait passer à chaque fois avec les échantillons à doser des gammes matrices pour la lecture des résultats.

III.3.2.5. Limites de détection et de quantification :

Les limites de détection et de quantification des différentes molécules analysées sont illustrées dans le **Tab.29**.

Tab.29: Limites de détection et de quantification des différentes molécules analysées.

Molécule	Technique d'analyse	Limite de détection ($\mu\text{g/kg}$)	Limite de quantification ($\mu\text{g/kg}$)
Mercaptodiméthur	GC-NPD	4,14	13,8
Chlorpyrifos	GC-NPD	0,64	2,13
Bifenthrine	GC-MS	11,39	37,97

Les limites de détection et de quantification obtenues sont très inférieures aux LMRs des pesticides étudiés dans les fruits et légumes choisis (**Tab.14**).

FENOLL *et al.*, 2007 ont obtenu une limite de détection pour le chlorpyrifos de 0,4 ($\mu\text{g/kg}$) et une limite de quantification de 1,4 ($\mu\text{g/kg}$) par GC-NPD. **PAGLIUCA *et al.*, 2005**, ont trouvé des limites de détections et de quantifications de 1 et 5 ($\mu\text{g/kg}$) respectivement par GC-NPD. **KOLBERG *et al.*, 2011**, ont obtenu une limite de détection de 2,5 ($\mu\text{g/kg}$) et une limite de quantification de 5 ($\mu\text{g/kg}$) par GC-MS. **DELGADO *et al.*, 2001**, ont trouvé des limites de détections et de quantifications de 6 et 30 ($\mu\text{g/kg}$) respectivement par GC-NPD.

III.4. Quantification des résidus de pesticides dans les fruits et légumes :

III.4.1. GC-MS :

Les **Fig. 52, 53 et 54** sont les gammes étalon et matrices fraise et tomate respectivement qui représentent la variation des rapports de surface des pics de la Bifenthrine sur les surfaces des pics de la Fenproprinate en fonction des concentrations de la Bifenthrine de 100ppb à 500ppb.

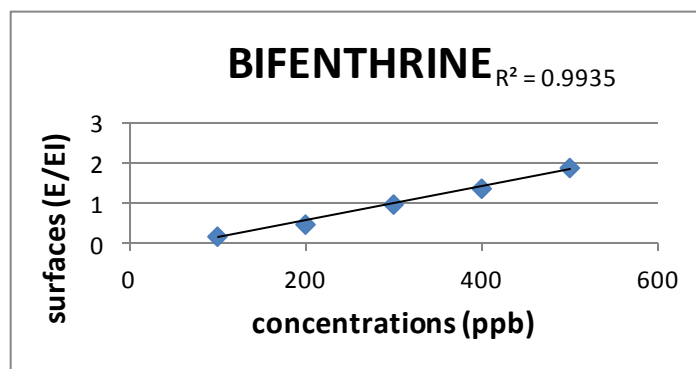


Fig. 52 : gamme étalon de la bifenthrine.

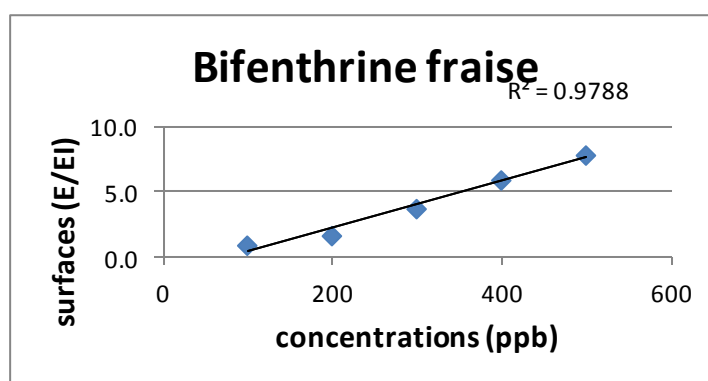


Fig. 53 : gamme matrice fraise de la Bifenthrine.

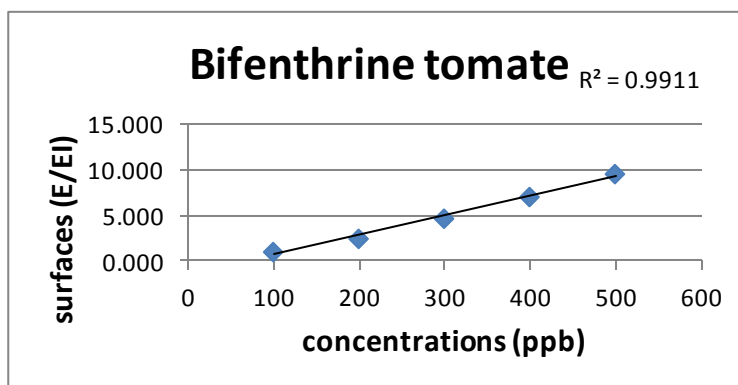


Fig. 54 : gamme matrice tomate de la Bifenthrine.

Nous constatons que dans l'intervalle des concentrations choisi (de 100ppb à 500ppb) les différentes gammes étalon et matrices sont linéaires c'est-à-dire que les surfaces des pics augmentent linéairement avec l'augmentation des concentrations de

la Bifenthrine. **FILHO et al., 2010**, ont obtenu des courbes linéaires pour la Bifenthrine dans un intervalle compris entre 6.66 et 1665ppb.

Les teneurs en résidus de la Bifenthrine dans la fraise et la tomate sont résumées dans le **Tab.30**.

Tab.30: teneurs en résidus de Bifenthrine dans la fraise et tomate.

Echantillons	Teneurs en résidus de Bifenthrine	
	Fraise ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Tomate ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Echant1	284,22	47,49
Echant2	314,12	101,83
Echant3	252,90	101,20

Nous constatons du **Tab.24** que les teneurs en résidus de bifenthrine dans la fraise sont inférieures à la LMR selon **ACTA 2009**.

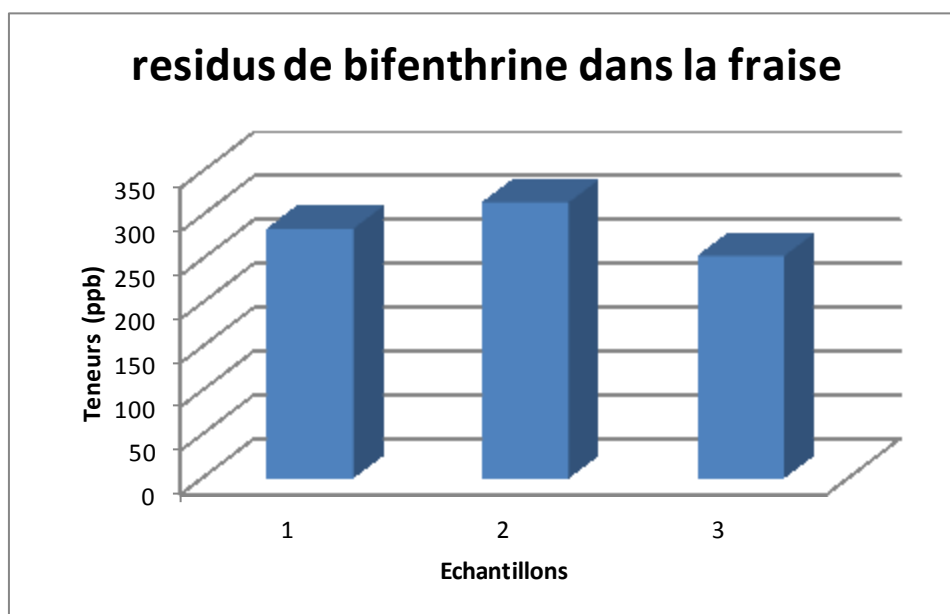


Fig.55 : Evolution des teneurs en résidu de Bifenthrine dans la fraise.

La **Fig. 55** nous montre l'évolution des teneurs en résidus de la bifenthrine en fonction du nombre de traitement appliqué dans la fraise, lors du passage du premier échantillon au deuxième il y a une augmentation dans la teneur en résidus de bifenthrine sachant que la durée qui sépare deux échantillonnages successifs est de 7 jours, cela est probablement dû à l'accumulation des deux traitements successifs, puis cette teneur dans le troisième échantillon est proche de celle du premier échantillon.

Nous remarquons à partir du **Tab.30** que la teneur en résidu de bifenthrine dans la tomate pour le premier échantillon est légèrement inférieure à la LMR, alors que pour les deux autres échantillons cette teneur est plus que le double de la LMR.

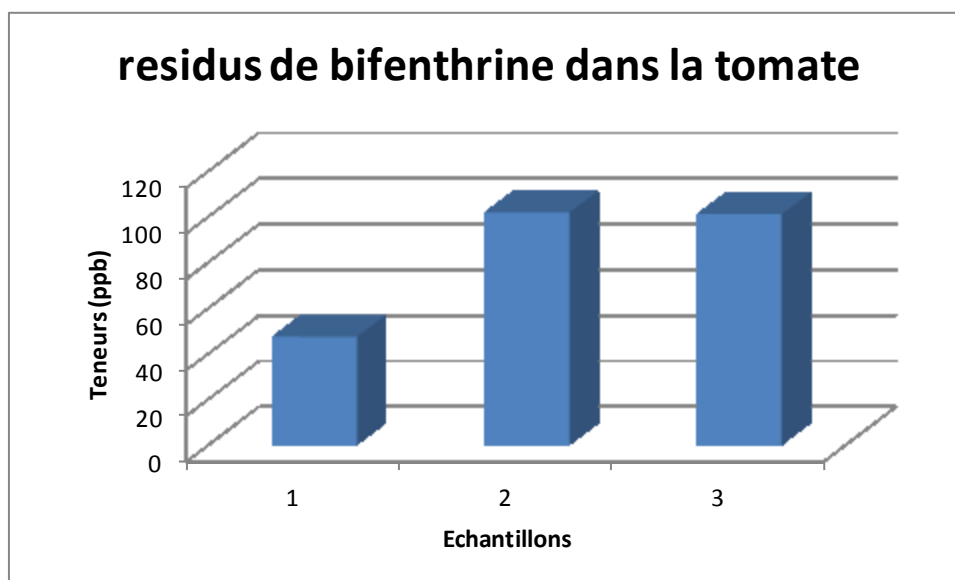


Fig.56 : Evolution des teneurs en résidu de bifenthrine dans la tomate.

De la **Fig.56** nous pouvons dire que la teneur en résidu de bifenthrine dans le deuxième échantillon de tomate représente le double de celle du premier échantillon ce qui est probablement dû à un cumul des deux traitements successifs et cette teneur dans le troisième échantillon est égale à celle du deuxième échantillon c'est-à-dire qu'elle s'est maintenue est n'a pas diminué, probablement aussi par le fait du cumul.

Les gammes matrices de fraise et tomate utilisées pour les lectures des teneurs en résidus de Bifenthrine dans les échantillons traités sont présentes dans l'annexe 1.

III.4.2. GC-NPD :

- **Mercaptodimethur :**

Les teneurs en résidus du Mercaptodimethur dans la courgette sont résumées dans le **Tab.31**.

Tab.31: teneurs en résidus de Mercaptodimethur dans la courgette.

Echantillons	Teneurs ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Echant1	238,14
Echant2	588,71
Echant3	171,73
Echant4	57,29

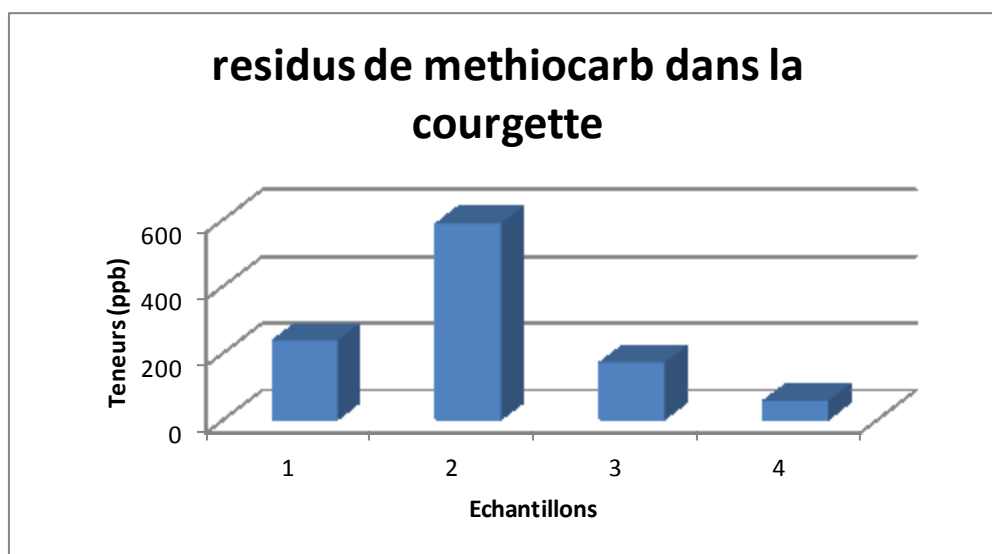


Fig.57 : Evolution des teneurs en résidu de Mercaptodimethur dans la courgette.

Les teneurs en résidus de mercaptodimethur mentionnés dans le **Tab.31**, sont toutes supérieures aux LMRs sauf celle du quatrième échantillon, car nous n'avons pas respecté le DAR qui est de 15 jours, nous remarquons aussi pour le quatrième

échantillon, qui a subit un seul traitement et récolté après 11 jours de ce traitement, que sa teneur est inférieure à la LMR même si nous n'avons pas encore atteint le DAR, ce qui signifie que le délai de 15 jours, lors de l'application d'un seul traitement de mercaptodiméthure, est largement suffisant pour permettre la diminution de la teneur du mercaptodiméthure au-dessous de la LMR.

La Fig. 57 nous permet de dire que la teneur en résidu de mercaptodiméthure dans le deuxième échantillon représente environ le double de celle du premier échantillon ce qui est probablement dû à un cumul des deux traitements successifs et cette teneur dans le troisième échantillon est inférieure à celle du premier échantillon par-ce-que la durée attendue après le troisième traitement est de 5 jours et pas trois jours comme pour les deux échantillons précédents, nous remarquons aussi que le troisième et le quatrième échantillon sont récoltés au même jour c'est-à-dire après 11 jours du premier traitement mais la teneur en résidu de mercaptodiméthure dans le troisième échantillon est trois fois plus importante que celle du quatrième échantillon, ce qui peut s'expliquer aussi par le cumul des trois traitements successifs dans la courgette.

Les gammes matrices courgette utilisées pour la lecture des teneurs en résidus de Mercaptodiméthure dans les échantillons traités sont présentes dans l'annexe 1.

- **Chlorpyrifos :**

Les teneurs en résidus de chlorpyrifos dans la fraise et la tomate sont résumées dans le Tab.32.

Tab.32: teneurs en résidus de chlorpyrifos dans la fraise et la tomate.

Echantillons	Teneurs en résidus du chlorpyrifos ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	
	Fraise	Tomate
Echant1	757,62	669,30
Echant2	1186,67	956,96
Echant3	848,75	984,78

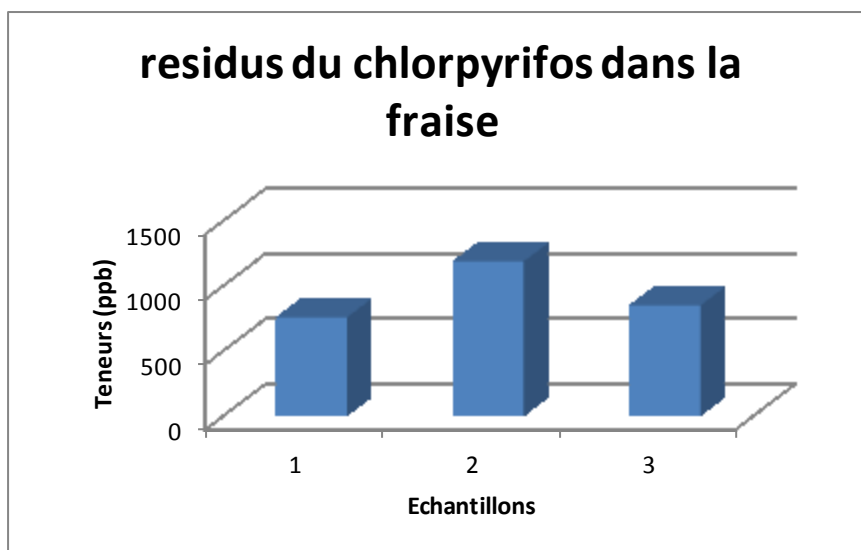


Fig.58 : Evolution des teneurs en résidu du chlorpyrifos dans la fraise.

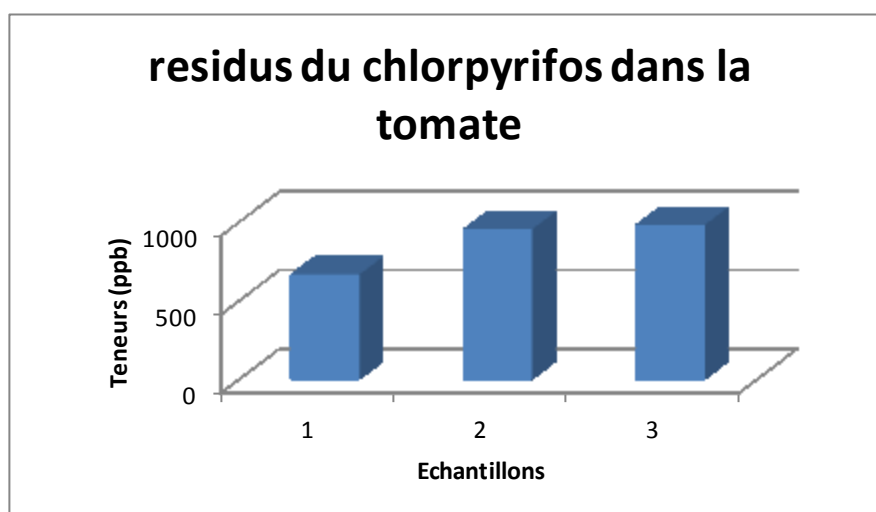


Fig.59: Evolution des teneurs en résidu du chlorpyrifos dans la tomate.

Du **Tab.32** nous remarquons que les teneurs en résidu de chlorpyrifos dans la tomate et dans la fraise sont tous supérieures aux LMRs, malgré que nous avons respecté le DAR.

La **Fig. 58** nous montre l'évolution des teneurs en résidus de chlorpyrifos en fonction du nombre de traitement appliqué dans la fraise. Lors du passage du premier échantillon au deuxième il y a une augmentation dans la teneur en résidus de

chlorpyrifos sachant que la durée qui sépare deux échantillonnages successifs est de sept jours, cela est probablement dû à l'accumulation des deux traitements successifs, puis cette teneur dans le troisième échantillon est inférieure à celle du deuxième échantillon mais reste toujours supérieure à celle du premier échantillon, cela aussi est probablement dû au cumul du chlorpyrifos dans la fraise.

La **Fig. 59** nous montre l'évolution des teneurs en résidus de chlorpyrifos en fonction du nombre de traitements appliqués dans la tomate. Nous constatons qu'en passant du premier échantillon au second puis au troisième cette teneur est toujours en augmentation ce qui est aussi explicable par le fait du cumul du chlorpyrifos dans la tomate à cause des trois traitements successifs.

Les gammes matrices de fraise et tomate respectivement utilisées pour la lecture des teneurs en résidus de chlorpyrifos dans les échantillons traités sont présentes dans l'annexe 1.

MUKHERJEE et al., 2010, ont étudié la cinétique de dégradation de la Bifenthrine dans le pois-chiche et le pois d'Angole. Ils ont trouvé des concentrations de 0,98 et 0,68 mg/kg dans ces cultures respectivement après 7 jours de l'application d'un traitement avec ce pesticide et des concentrations de 0,53 et 0,23 mg/kg dans ces cultures respectivement après 10 jours de l'application de ce traitement.

TEWARY et al. 2005, ont étudié la cinétique de dégradation de la Bifenthrine dans les feuilles du thé durant la saison humide et la saison sèche. Après 7 jours du traitement avec la bifenthrine, les concentrations dans les thés de la saison humide et sèche ont été de 0,32 et 0,13 mg/kg respectivement.

ZHANG et al., 2007, ont suivi la dégradation du chlorpyrifos dans les épinards qui ont subi un seul traitement et d'autres 4 traitements successifs. Ils ont trouvé une concentration de 0,124 mg/kg pour les échantillons qui ont subi un seul traitement après 6 jours de l'application et une concentration de 0,284 mg/kg pour les échantillons qui ont subi 4 traitements après 6 jours de l'application du dernier traitement, cette différence est expliquée par le cumul de ces traitements successifs.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE :

Dans Ce travail nous avons étudié trois insecticides, le mercaptodimethur (carbamate), le chlorpyrifos (organophosphoré) et la bifenthrine (pyréthrianoïde de synthèse) dans trois cultures différentes (la courgette, la tomate et la fraise).

Les conditions chromatographiques optimisés pour l'analyse des molécules étudiées en GC-MS et en GC-NPD ont donné une bonne résolution des différents pics de ces molécules.

Les fragments de masse sélectionnés pour la quantification de la bifenthrine par GC-MS sont en accord avec ceux indiqués en littérature.

Le système d'analyse et les cultures étudiées n'étaient pas préalablement contaminés par les produits recherchés.

La méthode d'extraction a donnée des bons rendements compris dans l'intervalle préconisé par la commission de la communauté européenne, entre 70 et 120%.

La quasi-totalité des paramètres testés lors de l'essai de validation du chlorpyrifos et du mercaptodimethur par GC-NPD ont été validés, la spécificité pour les deux molécules dans les trois matrices sont validés, la linéarité pour le mercaptodimethur dans la courgette et la reproductibilité pour le chlorpyrifos dans la tomate et la fraise sont aussi validés.

Les limites de détections et de quantifications des molécules recherchés sont en accord avec ceux trouvés en littérature.

Les teneurs en résidus d'insecticides dosés sont inférieurs aux LMRs fixés par le ACTA, 2009, pour la bifenthrine dans la fraise et dans le premier échantillon de la tomate, alors que ces teneurs représentent le doubles des LMRs pour le deuxième et le troisième échantillons de la tomate.

Les teneurs en résidus d'insecticides sont plus élevés que les LMRs fixés par le ACTA, 2009, pour le chlorpyrifos dans la fraise et la tomate malgré le respect des DAR préconisés et des doses de traitements homologués pour ces produits dans les cultures étudiées.

Le non respect du DAR dans le cas de la courgette nous a amené à l'obtention des teneurs supérieures aux LMRs fixées sauf celle du quatrième échantillon, qui a subi un seul traitement, où elle est inférieure à la LMR, ce qui signifie que le délai de 15 jours, lors de l'application d'un seul traitement de mercaptodiméthure, est largement suffisant pour permettre sa diminution au dessous de la LMR.

Pour toutes les molécules dans toutes les matrices nous avons remarqué un cumul des teneurs en résidus d'insecticides par le fait de la succession de plusieurs traitements par une même molécule pour une même culture.

Donc l'application de plusieurs traitements successifs d'insecticide sur une culture de fruit ou légume peut engendrer le cumul de cet insecticide dans le fruit ou légume traités ce qui peut se manifester par le dépassement des LMRs fixés pour ces insecticides dans ces fruits et légumes malgré le respect des délais d'application avant récolte et doses de traitement homologuées pour ces insecticides dans ces cultures de fruits et légumes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. **AFNOR, NF EN ISO/CEI 17025, 2000.** Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais, Ed. Afnor, Paris, 29p.
2. **AGUILAR F., 2005.** Seuil de préoccupation toxicologique pour l'analyse de risque sanitaire des substances chimiques dans les aliments, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), Val-de-Marne, France, 44p.
3. **AIZEL L., 2004.** Traitement des eaux contaminées par la métribuzine par couplage : électrocoagulation-rayons UV. Mémoire de Magister, Ecole Nationale Polytechnique d'El-Harrach. Algérie, 104p.
4. **AMINE L., 2009.** Danger sur la santé : Des pesticides dans vos assiettes, Le Quotidien d'Oran p. 2.
5. **ANASTASSIADES M., LEHOTAY S. J., STAJNBAHER D., SCHENCK F. J., 2003.** Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solidphase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. J. AOAC Int. 86: 412–431.
6. **Anonyme , 2003.** Gulf war and health: insecticides and solvents, comité de la guerre du golf et santé vol. 2, the national academies press, Washington, USA, 600p.
7. **Anonyme, 1992.** Guide SFSTP1, 120p.
8. **Anonyme, 2000.** INPV, Les produits phytosanitaires à usage agricole. Institut National de Protection des Végétaux. El-Harrach, Algérie, 26 p.
9. **Anonyme, 2002.** DIRECTIVE 2002/63/CE DE LA COMMISSION du 11 juillet 2002 fixant des méthodes communautaires de prélèvement d'échantillons pour le contrôle officiel des résidus de pesticides sur et dans les produits d'origine végétale et animale et abrogeant la directive 79/700/CEE, Journal officiel des Communautés européennes, 14p.

10. **Anonyme, 2004.** Guide de bonne pratique phytosanitaire, Partie générale, Comite régional PHYTO (CRP), Ministère de la Région Wallonne, Direction du Développement et de la Vulgarisation, 71p.
11. **Anonyme, 2005.** International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides, FAO, Rome, Italie, 36p.
12. **Anonyme, 2010.** Directive SANCO/10684/2009, Method validation and quality control procedures for pesticides residues analysis in food and feed, Commission of the European Communities, Directorate of General Health and Consumer Protection, Brussels, Belgium, 30p.
13. **Anonyme, 2006.** Plan de surveillance des fruits et légumes 04 de la DGCCRF, DGCCRF, IFEN, Institut français de l'alimentation 236p.
14. **Anonyme, 2006.** Rapport sur la situation du secteur agricole, MADR, 77p.
15. **Anonyme, 2006.** Updating the Principles and Methods of Risk Assessment: MRLs for Pesticides and Veterinary Drug, FAO/OMS, Rome, 47p.
16. **Anonyme, 2008.** Recensement agricole de 2008, MADR, 69 p.
17. **Anonyme, 2009.** Index phytosanitaire, ACTA, 804p.
18. **Anonyme, 2009.** Recueil de textes relatifs à la protection des végétaux (publiés au JORA), MADR, 9 p.
19. **Anonyme, 2010.** FAOSTAT, <http://www.faostat.fao.org>. 15/09/2010.
20. **Anonyme, 2010.** LMR de pesticides dans les fruits et légumes, Codex Alimentarius, 34p.
21. **ARVANITTOYANNIS I. S., 2008.** Food contaminants and residue analysis: international regulations on food contaminants and residues vol. 51, (Wilson & Wilson's comprehensive analytical chemistry), Ed. YOLANDA PICO, Valencia, Spain, p. 29-73.

22. **BARCELO D. and HENNION C., 2003.** Trace determination of pesticide and their degradation products in water, Ed. Elsevier science B. V., Amsterdam, Holland, 542p.
23. **BERTHOIN K., 2000.** Etude de la toxicité hépatique de la cocaïne associée à de l'alcool : effets de l'éthanol sur le métabolisme de la cocaïne dans les hépatocytes de rat en suspension et dans un modèle enzymatique humain, thèse de doctorat, Faculté de Pharmacie de l'Université Joseph Fourier - Grenoble I, Université Claude Bernard - Lyon I, France, 153p.
24. **BHANTI M. and TANEJA A., 2007.** Contamination of vegetables of different seasons with organophosphorous pesticides and related health risk assessment in northern India, *Chemosphere*, 69: p. 63–68.
25. **BJØRLING-POULSEN M., ANDERSEN H. R. AND GRANDJEAN P., 2008.** Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe, *Environmental Health*, 7: (50), 22p. <http://www.ehjournal.net/content/7/1/50>.
26. **BLASCO C., FONT G. and PICO Y., 2005.** Analysis of pesticides in fruits by pressurized liquid extraction and liquid chromatography–ion trap–triple stage mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1098 : 37–43.
27. **BOHLEN P. J., 2002.** Earthworms, *Encyclopedia of Soil Science*, p. 370-373.
28. **BOLOGNESI C. and MORASSO G., 2000.** Genotoxicity of pesticides: potential risk for consumers, *Trends in Food Science & Technology*, 11: 182-187.
29. **CALDERON-SEGURA M. E., GOMEZ-ARROYO S., MOLINA-ALVAREZ B., VILLALOBOS-PIETRINI R., CALDERON-EZQUERRO C., CORTES-ESLAVA J., VALENCIA-QUINTANA P. R., LOPEZ-GONZALEZ L., ZUNIGA-REYES R. and SANCHEZ-RINCON J., 2007.** Metabolic activation of herbicide products by *Vicia faba* detected in human

- peripheral lymphocytes using alkaline single cell gel electrophoresis ». *Toxicology in Vitro*, 21: p. 1143-1154.
30. **CARVALHO F. P., 2006.** Agriculture, pesticides, food security and food safety. *Environmental science and policy*, 9: 685-692.
31. **CHAFFEY C. E. A and DOBOZY V. A., 2004.** Pesticide Toxicology and International Regulation: Regulation under NAFTA , Ed. Timothy C. Marrs and Bryan Ballantyne, (John Wiley & Sons), West Sussex, England, p.513-524.
32. **CHUNG S., W., C., CHAN B., T., P., 2010.** Validation and use of a fast sample preparation method and liquid chromatography–tandem mass spectrometry in analysis of ultra-trace levels of 98 organophosphorus pesticide and carbamate residues in a total diet study involving diversified food types, *Journal of Chromatography A*, 1217 : 4815–4824.
33. **CLAVER A., ORMAD P., RODRIGUEZ L. and OVELLEIRO J. L., 2006.** Study of the presence of pesticides in surface waters in the Ebro river basin (Spain), *Chemosphere*, 64: 1437-1443.
34. **CLUZEAU S., PATUNELLE M. C. and LHOUTELLIER C., 2000.** Index phytosanitaire, Association de coordination technique agricole, ACTA, Paris, 644 p.
35. **COUTRELIS N., 2009.** La réglementation communautaire sur les pesticides- la mise en marché des produits phytopharmaceutiques, *ERA Forum*, 10: p231–240.
36. **DECOURTYE A., TISSEUR M., REGAULT-ROGER C., FABRES G. and PHILOGENE J. R., 2005.** Toxicité et risques liés à l'emploi de pesticides chez les pollinisateurs : cas de l'abeille domestique. Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Paris, Ed. Tec & Doc Lavoisier, p. 225-241.

37. **DELGADO M. J. S., BARROSO S. R., FERNANDEZ-TOSTADO G. T. AND POLO-DIEZ L.M., 2001.** Stability studies of carbamate pesticides and analysis by gas chromatography with flame ionization and nitrogen–phosphorus detection, *Journal of Chromatography A*, 921: 287–296.
38. **DERACHE R., 1986.** Toxicologie et sécurité des aliments. Ed. Tec & Doc Lavoisier, Aparia, Paris, p. 105-321.
39. **FENOLL J., HELLIN P., MARTINEZ C. M., MIGUEL M. and FLORES P., 2007.** Multiresidue method for analysis of pesticides in pepper and tomato by gas chromatography with nitrogen–phosphorus detection, *Food Chemistry*, 105: 711–719.
40. **FILHO A., M., DOS SANTOS F., N., DE PAULA PEREIRA P., A., 2010.** Development, validation and application of a methodology based on solid phase micro extraction followed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (SPME/GC–MS) for the determination of pesticide residues in mangoes, *Talanta*, 81 : 346–354.
41. **FOURNIER J., 2009.** Pesticides : fonctions et premiers développements, *techniques d'ingénieurs*, 10p.
42. **FUJIMORI K., 2004.** Pesticide Toxicology and International Regulation: The Regulatory System in Japan, Ed. Timothy C. Marrs and Bryan Ballantyne, (John Wiley & Sons), West Sussex, England, p.527-534.
43. **GABALDON J. A., MAQUIEIRA A. and PUCHADES R., 2007.** Development of a simple extraction procedure for chlorpyrifos determination in food samples by immunoassay, *Talanta*, 71 : p.1001–1010.
44. **GIGLEUX S., 2010.** Modélisation du transfert des pesticides du sol jusqu'à l'aquifère, Etude par approches de complexité croissante - site de Montreuil-sur-Epte (95), thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Marseille, France, 243p.

45. **GOUDA A. A., AMIN A. S., EL SHEIKH R. and AKL M. A., 2010.** Sensitive spectrophotometric Methods for determination of some organophosphorus pesticides in vegetable samples. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*, 16 (1): 11–18.
46. **GRANBY K., ANDERSEN J. H. and CHRISTENSEN H. B., 2004.** Analysis of pesticides in fruit, vegetables and cereals using methanolic extraction and detection by liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 520: p.165–176.
47. **HANS-PETER T., and Hans Z., 1987.** Manual of pesticide residue analysis, Vol. I, DFG, Dt. Forschungsgemeinschaft, Pesticides Comm. Ed. Weinheim; New York, 429p.
48. **HANS-PETER T., and KIRCHHOFF J., 1992.** Manual of pesticide residue analysis, Vol. II, DFG, Dt. Forschungsgemeinschaft, Pesticides Comm. Ed. Weinheim; New York, 481p.
49. **HARFORD A. J., O'HALLORAN K., 2005.** The effects of in vitro pesticide exposures on the phagocytic function of four native Australian freshwater fish. *Aquatic Toxicology*, 75(4):330-342.
50. **HAYO M.G. and WERF V. D., 1996.** Assessing the impact of pesticides on the environment, *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 60:81-96.
51. **HUSSEY D. J., BELL G., M., 2004.** Pesticide Toxicology and International Regulation: Regulation of Pesticides and Biocides in the European Union, Ed. Timothy C. Marrs and Bryan Ballantyne, (John Wiley & Sons), West Sussex, England, p.501-511.
52. **JANSSON C., PIHLSTRÖM T., ÖSTERDAHL B. G. and MARKIDES K. E., 2004.** A new multi-residue method for analysis of pesticide residues in fruit and vegetables using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection, *Journal of Chromatography A*, 1023: 93–104.

53. **JAWICH D., 2006.** Etude de la toxicité de pesticides vis-à-vis de deux genres de levures : approche cinétique et moléculaire, thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France, 134p.
54. **KESAVACHANDRAN C., N., FAREED M., PATHAK M., K., BIHARI V., MATHUR N. and SRIVASTAVA A., K., 2009.** Reviews of Environmental Contamination and Toxicology: Adverse Health Effects of Pesticides in Agrarian Populations of Developing Countries, Ed. D.M. Whitacre 200:33-52.
55. **KOLBERG D. I., PRESTES O. D., ADAIME M. B. and ZANELLA R., 2011.** Development of a fast multiresidue method for the determination of pesticides in dry samples (wheat grains, flour and bran) using QuEChERS based method and GC-MS, Food Chemistry 125: p.1436-1442.
56. **KRISTENSON E. M., HAVERKATE E. G.J., SLOOTEN C. J., RAMOS L., VREULS R. J.J. and BRINKMAN U. A.T., 2001.** Miniaturized automated matrix solid-phase dispersion extraction of pesticides in fruit followed by gas chromatographic-mass spectrometric analysis. *Journal of Chromatography A*, 917 : 277-286.
57. **LACINA O., URBANOVA J., POUSTKA J., HAJŠLOVA J., 2010.** Identification/quantification of multiple pesticide residues in food plants by ultra-high performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1217: 648-659.
58. **LEHOTAY S. J., 2006.** Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe Approach for Determining Pesticide Residues. *Pesticide Protocols: Methods in Biotechnology*, 19: 239-261.
59. **LEHOTAY S. J., HIEMSTRA M., VAN BODEGRAVEN P. and DE KOK A., 2005a.** Validation of a fast and easy method for the determination of more than 200 pesticide residues in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection. *J. AOAC Int.* 88: 595-614.

60. **LEHOTAY S. J., MASTOVSKÁ K. and LIGHTFIELD, A. R., 2005b.** Use of buffering to improve results of problematic pesticides in a fast and easy method for residue analysis of fruits and vegetables. *J. AOAC Int.* 88:615–629.
61. **LEHOTAY S. J., SON K. A., KWON H., KOESUKWIWAT U., FU W., MASTOVSKA K., HOH E. and LEEPIPATPIBOON N, 2010.** Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 13p.
62. **LESUEUR C., KNITTL P., GARTNER M., MENTLER A. and FUERHACKER M., 2008.** Analysis of 140 pesticides from conventional farming foodstuff samples after extraction with the modified QuEChERS method, *Food Control*, 19: 906–914.
63. **MCKINLAY R., PLANT J.A., BELL J.N.B. and VOULVOULIS N., 2008.** Endocrine disrupting pesticides: Implications for risk assessment, *Environment International*, 34: 168–183.
64. **MEREDITH S.S. CURREN and JERRY W. KING, 2002.** Comprehensive Analytical Chemistry: Sampling and sample preparation for food analysis, Vol.37, Ed. Pawliszyn J., pp.869-894.
65. **MORETTO A., 2004.** Pesticide Toxicology and International Regulation: Occupational Aspects of Pesticide Toxicity in Humans, Ed. Timothy C. Marrs and Bryan Ballantyne, (John Wiley & Sons), West Sussex, England, p.431-458.
66. **MOROZOVA V. S., LEVASHOVA A. I. and EREMIN S. A., 2005.** Determination of Pesticides by Enzyme Immunoassay, *Journal of Analytical Chemistry*, 60 (3): 202–217.
67. **MOUSSAOUI K.M., BOUSSAHEL R., TCHOULAK Y., HAOUCHINE O., BENMAMI M. and DALACHI N., 2005.** Utilisation, évaluation et

- impacts des pesticides en Algérie, Ecole Nationale Polytechnique, Alger, Algérie, 31p.
68. **MUKHERJEE I., SINGH R., GOVIL J., N., 2010**, Risk Assessment of a Synthetic Pyrethroid, Bifenthrin on Pulses, *Bull Environ Contam Toxicol*, 84:294–300.
69. **NGUYEN T. D., YU J. E., LEE D. M. and LEE G., 2008**. A multiresidue method for the determination of 107 pesticides in cabbage and radish using QuEChERS sample preparation method and gas chromatography mass spectrometry. *Food Chemistry*, 110 :207–213.
70. **NORLI H. R., CHRISTIANSEN A. and HOLEN B., 2010**. Independent evaluation of a commercial deconvolution reporting software for gas chromatography mass spectrometry analysis of pesticide residues in fruits and vegetables, *Journal of Chromatography A*, 18p.
71. **ONIL S., GAETAN C. and LYSE L., 2007**. Atteinte de systèmes consécutive à une exposition aux insecticides organophosphorés ou carbamates, Institut national de santé publique du Québec, Canada, 42p.
72. **OULD KANKOU M. O.-S.-A., 2004**. Vulnérabilité des eaux et des sols de la rive droite du fleuve Sénégal en Mauritanie : étude en laboratoire du comportement de deux pesticides. Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences et Techniques, Université de Limoges. France. 159p.
73. **PAGLIUCA G., GAZZOTTI T., ZIRONI E. and STICCA P., 2005**. Residue analysis of organophosphorus pesticides in animal matrices by dual column capillary gas chromatography with nitrogen–phosphorus detection, *Journal of Chromatography A*, 1071: 67–70.
74. **PANG G., CAO Y., ZHANG J., FAN C., LIU Y., LI X., JIA G., LI Z., SHI Y., WU Y. AND GUO T., 2006**. Validation study on 660 pesticide residues in animal tissues by gel permeation chromatography cleanup/gas

- chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1125: 1-30.
75. **PAULINO DE PINHO G., NEVES A. A., RIBEIRO DE QUEIROZ M. E. L. and SILVERIO F. O., 2010.** Pesticide determination in tomatoes by solid–liquid extraction with purification at low temperature and gas chromatography, *Food Chemistry*, 121: 251–256.
76. **PAYÁ P., ANASTASSIADES M., MACK D., SIGALOVA I., TASDELEN B., OLIVA J. and BARBA A., 2007.** Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection, *Anal. Bioanal. Chem.* 389 :1697–1714.
77. **PHILOGENE, B. J. R., 2005.** Effets non intentionnels des pesticides organiques de synthèse : impact sur les écosystèmes et la faune. Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Ed. Lavoisier R.-R. C. Paris, 1013p.
78. **PIHLSTRÖM T., BLOMKVIST G., FRIMAN P., PAGARD U. and ÖSTERDAH B., 2007.** Analysis of pesticide residues in fruit and vegetables with ethyl acetate extraction using gas and liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection, *Anal. Bioanal. Chem.*, 389: 1773–1789.
79. **POLYRAKIS T., I., 2009.** Predictive Modeling and Risk Assessment: Environmental Pollution from Pesticides, Ed. Rui Costa and Kristberg Kristbergsson, New York, USA, 4: 201-224.
80. **REMILLER J., 2009.** Fruits et légumes : les nouveaux enjeux en 2009. Rapport de Jacques REMILLER Député de l'Isère Parlementaire en Mission auprès du Premier Ministre français, 16p.

81. **RUPA D., REDDY P. and REDDY O., 1991.** Reproductive performance in population exposed to pesticides in cotton fields in India. *Environ. Res.* 55 : 23 – 126.
82. **SAIBA A, 2008.** Étude de l'adsorption d'un herbicide-la métribuzine- sur un sol cultivé, mémoire de magister, ENP Alger, 67p.
83. **SAMANTHA J., J., 2003.** Pesticide Residues in Surface Waters of North Carolina Rural and Urban Watersheds: Studies to Determine and Reduce Residues in Drinking Water, these de Doctorat, North Carolina State University, USA, 283 p.
84. **SCHENCK F. J. and HOBBS J. E., 2004.** Evaluation of the Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe (QuEChERS) Approach to Pesticide Residue Analysis, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 73: 24–30.
85. **SCHENCK F. J., WONG J. W., 2008.** Analysis of Pesticides in Food and Environmental Samples: Determination of Pesticides in Food of Vegetal Origin. Ed. Taylor & Francis Group, New York, USA, p.151-166.
86. **SHAW I., 2005.** Is it Safe to Eat? Enjoy Eating and Minimize Food Risks: Agrochemical Residues in Food, Ed. Springer Berlin Heidelberg, New York, p.151-190.
87. **SINGH S. K., TRIPATHI P. K., 2004.** Toxicity of Malathion and Carbaryl Pesticides: Effects on Some Biochemical Profiles of the Freshwater Fish *Colisa fasciatus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 72(3): 592-599.
88. **SOBOLEVA E., AMBRUS A., 2004.** Application of a system suitability test for quality assurance and performance optimisation of a gas chromatographic system for pesticide residue analysis. *Journal of Chromatography A*, 1027: 55-65.

89. **STARK J. D. and BANKS J. E., 2003.** Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. *Annual Review of Entomology*, 48: 505-519.
90. **SUNDERLAND K. D., 1992.** Effects of pesticides on the population ecology of polyphagous predators. *Aspects of Applied Biology*, 31: 19-28.
91. **Tewary D., K., Kumar V., Ravindranath S., D., Shanker A., 2005.** Dissipation behavior of bifenthrin residues in tea and its brew, *Food Control* 16 : 231–237.
92. **TURIEL E. and MARTIN-ESTEBAN A. 2008.** Analysis of Pesticides in Food and Environmental Samples: Sample Handling of Pesticides in Food and Environmental Samples, Ed. Taylor & Francis Group, New York, USA, p.35-58.
93. **VERGUCHT, S., DE VOGHEL, S., MISSON, C., VRANCKEN, C., CALLEBAUT, K., STEURBAUT, W., PUSSEMIER, L., MAROT, J., MARAITE, H. and VANHAECKE, P., 2006.** Report from the contract AP/02/05A between the Health and environmental effects of pesticides and type 18 biocides (HEEPEBI). Belgian Science Policy and Department of Crop Protection Chemistry, Ghent University, Veterinary and Agrochemical Research Centre (VAR), Tervuren; Unite de Phytopathologie, Université catholique de Louvain (UCL) and Environmental Consultancy & Assistance (Ecolas), 448p.
94. **VICKIE A. V and ELIZABETH W. C., 2008.** Essentials of Food Science part II: vegetables and Fruits, *Chemistry and Materials Science*, p.107-141.
95. **VIDAL J. L. M., ARREBOLA J. and MATEU-SDNCHEZ M., 2002.** Multi-Residue Method for Determination of Pesticides in Vegetable Samples by GC-MS-MS, *Chromatographia*, 56: 475-481.
96. **WADSWORTH R. A., CAREY P. D., 2003.** A Review of research into the Environmental and Socio-Economics Impacts of Contemporary and

- Alternative Arable Cropping Systems.UK, Centre for Ecology and Hydrology, Natural Environment Research Council, p. 91.
97. **WERNER I., GEISTA J., 2002.** Effects of dietary exposure to the pyrethroid pesticide esfenvalerate on medaka (*Oryzias latipes*). *Marine Environmental Research*, 54: 609-614.
98. **WILSON N., 1993.** Soil water and Ground Water Sampling, Ed. Lewis, Boca Raton, FL, 15p.
99. **ZHANG Z., Y., LIU X., YU X., ZHANG C., HONG X., 2007.** Pesticide residues in the spring cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata) grown in open field, *Food Control*, 18: 723–730.

Annexe

Annexe 1:

Courbes des gammes matrices utilisées pour la lecture des teneurs de résidus de pesticides dans les fruits et légumes.

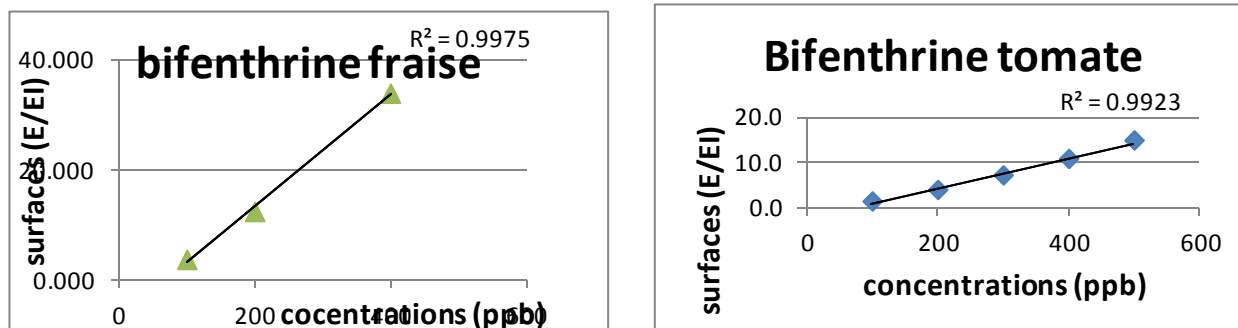


Fig. 1 : gamme matrice fraise et tomate utilisées pour la lecture des concentrations de la bifenthrine.

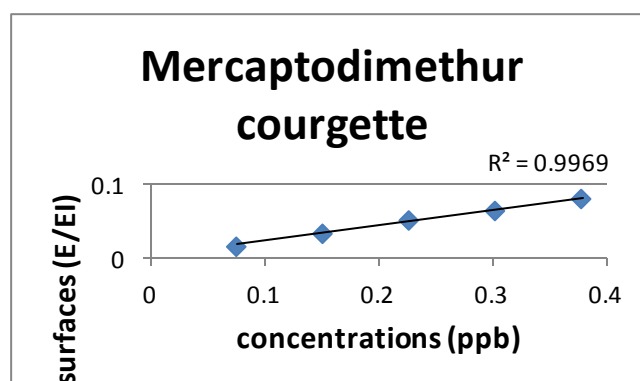


Fig. 2: gamme matrice courgette utilisée pour la lecture des concentrations de Mercaptodimethur.

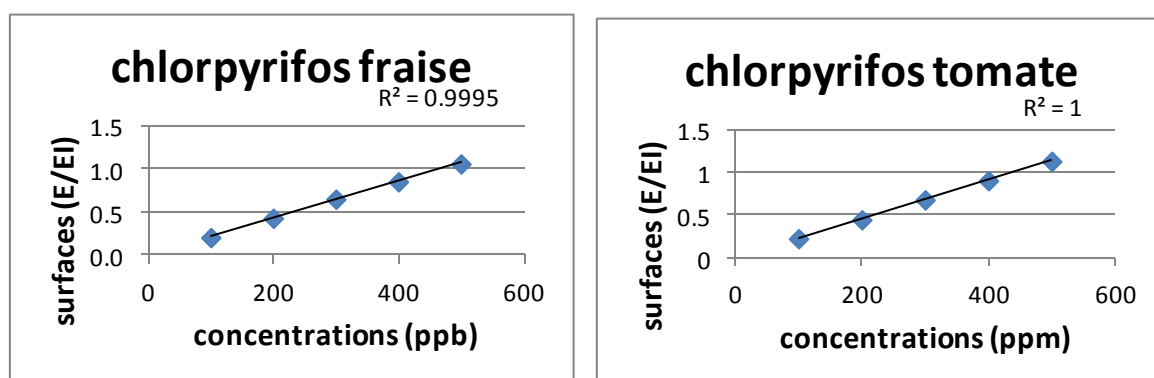


Fig. 3 : gamme matrice fraise et tomate utilisées pour la lecture des concentrations du chlorpyrifos.

Annexe 2 :

Chromatogrammes des échantillons analysés pour la quantification des teneurs en résidus de pesticides dans les fruits et légumes.

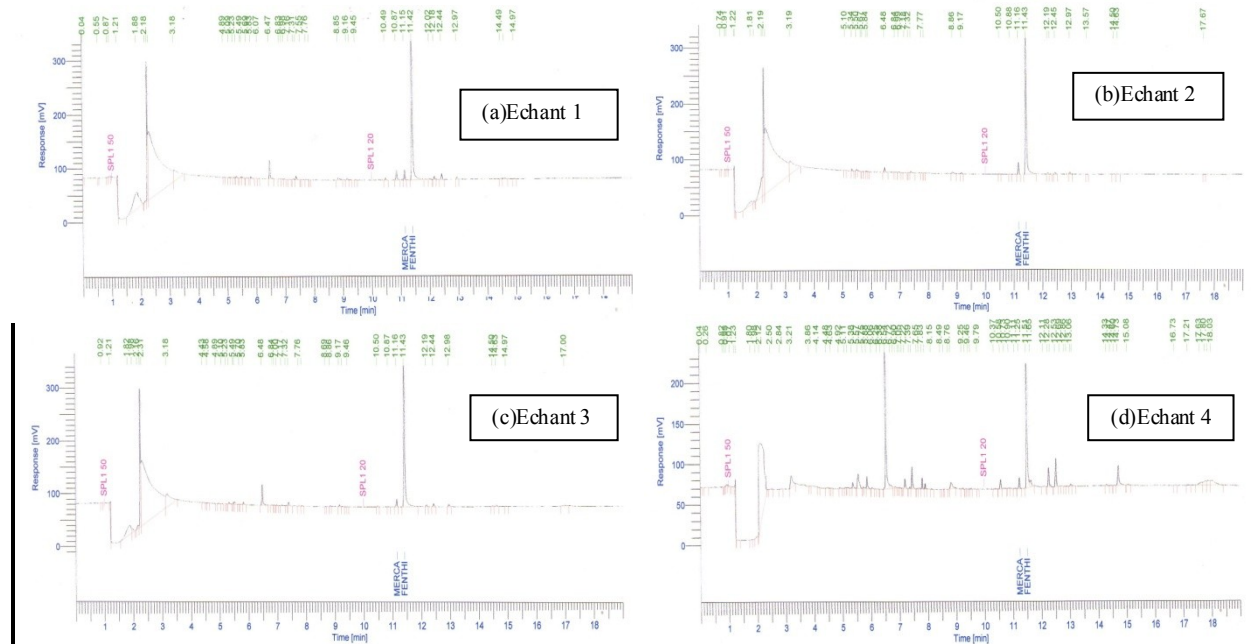


Fig.1 : Chromatogrammes : a, b, c et d des Echantillons 1, 2, 3, et 4 de courgette par GC-NPD.

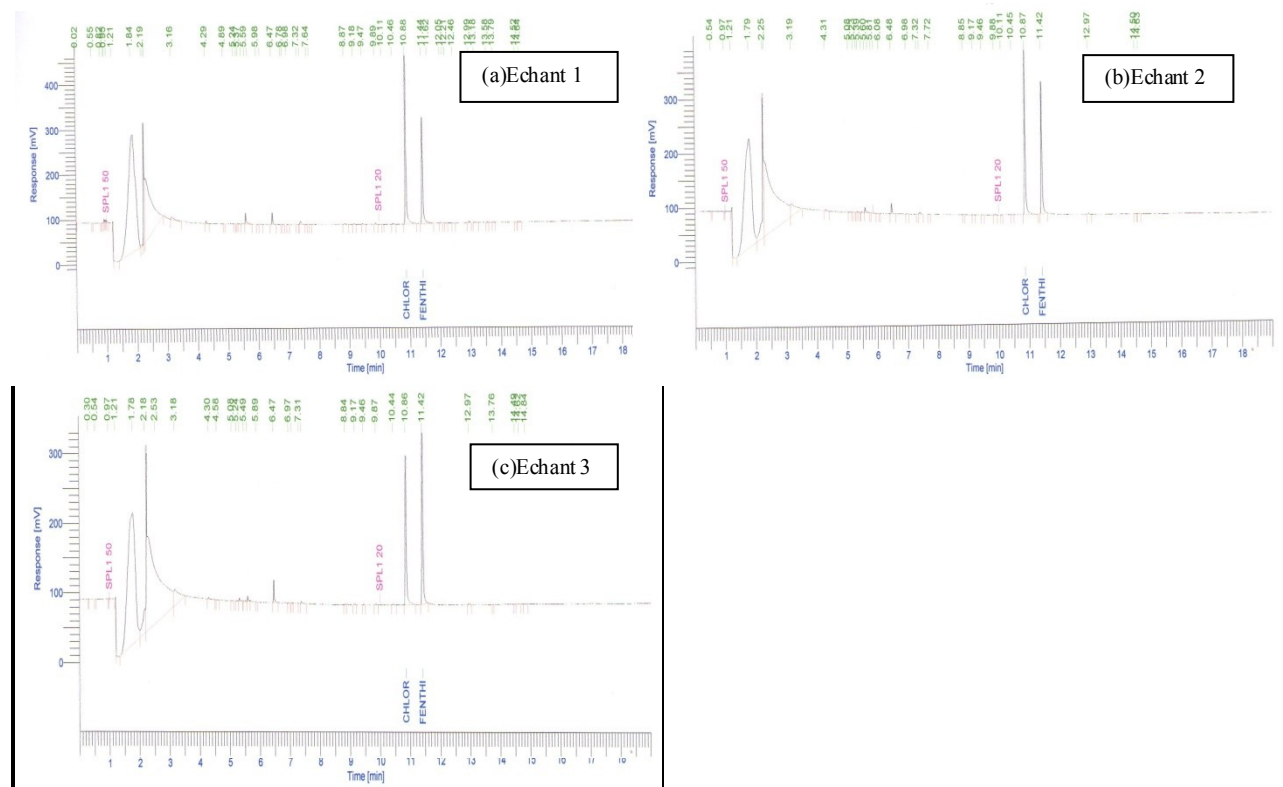


Fig.2 : Chromatogrammes : a, b et c des Echantillons 1, 2, et 3 de fraise par GC-NPD.

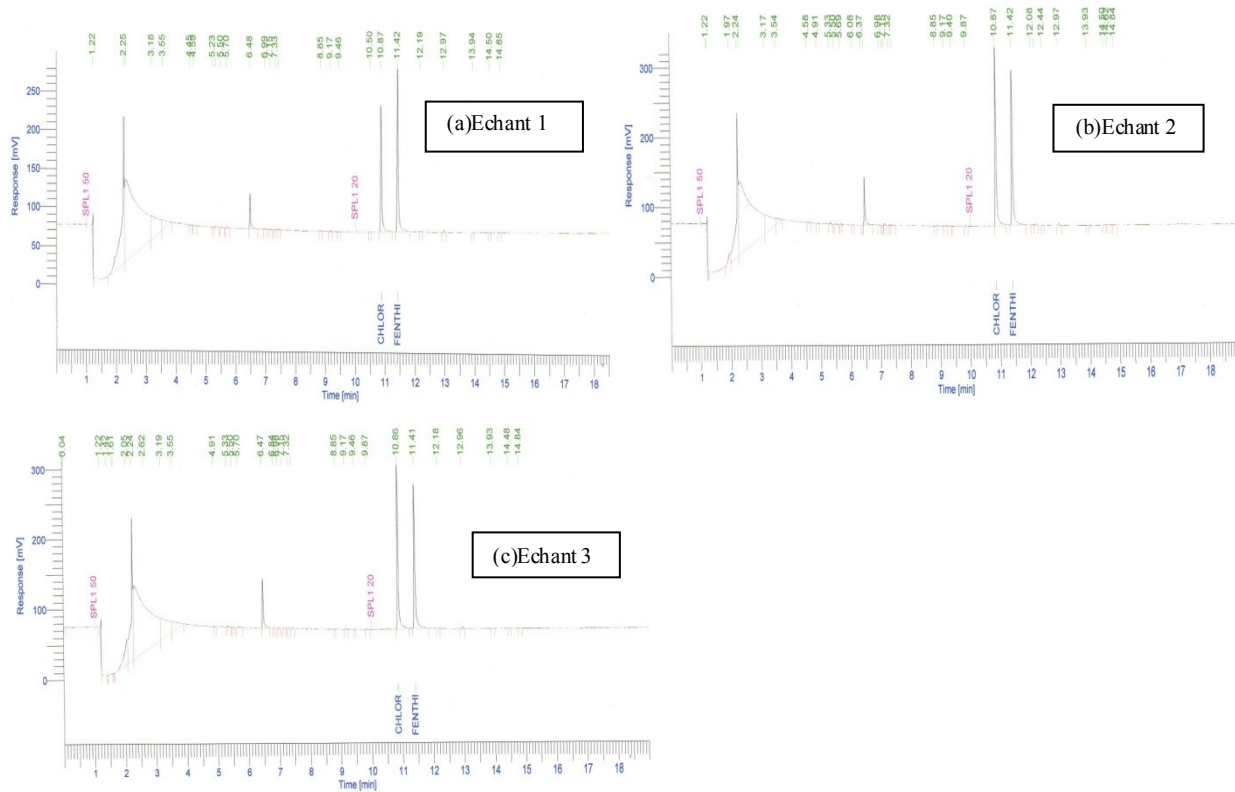


Fig.3 : Chromatogrammes : a, b et c des Echantillons 1, 2, et 3 de tomate par GC-NPD.

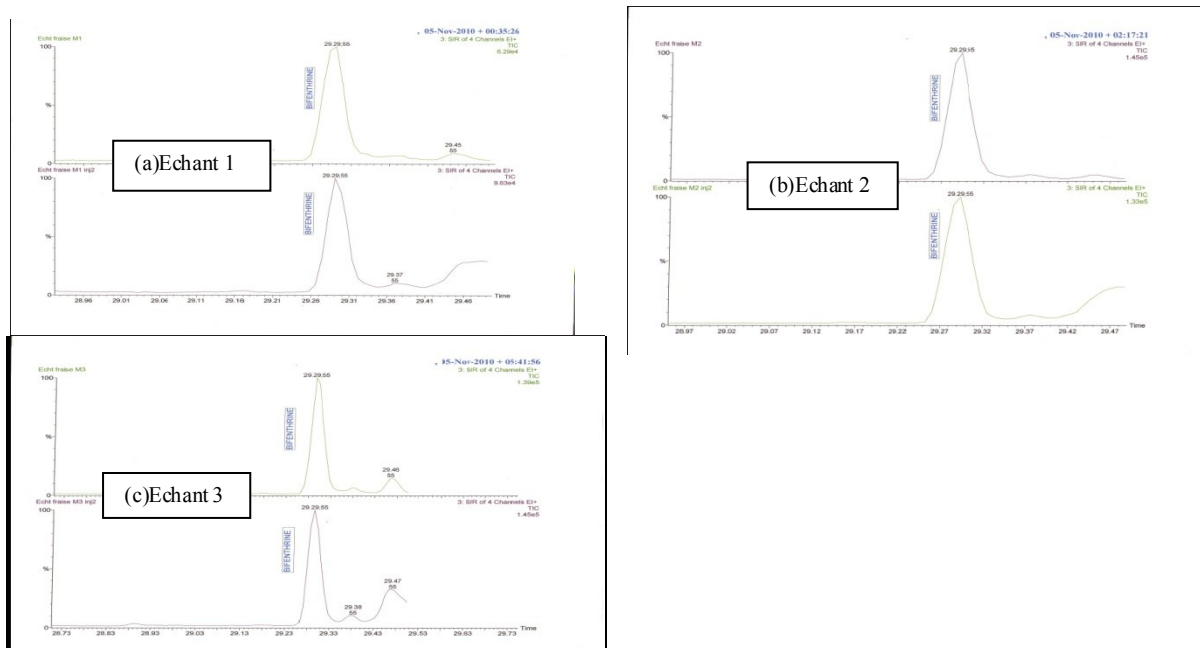


Fig.4 : Chromatogrammes : a, b et c des Echantillons 1, 2, et 3 de fraise par GC-MS.

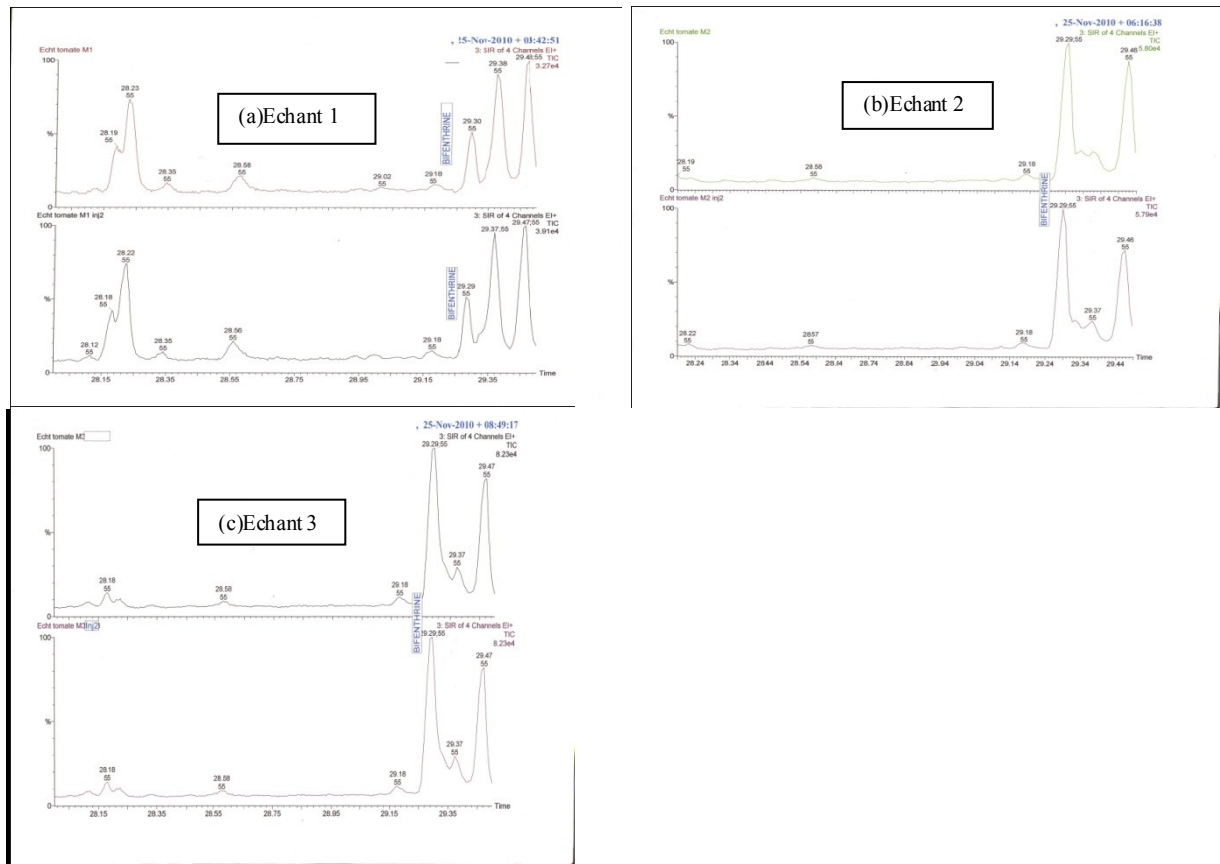


Fig.5 : Chromatogrammes : a, b et c des Echantillons 1, 2, et 3 de tomate par GC-MS.

Annexe 3 :

Chromatogrammes des échantillons analysés pour le calcul des rendements d'extraction.

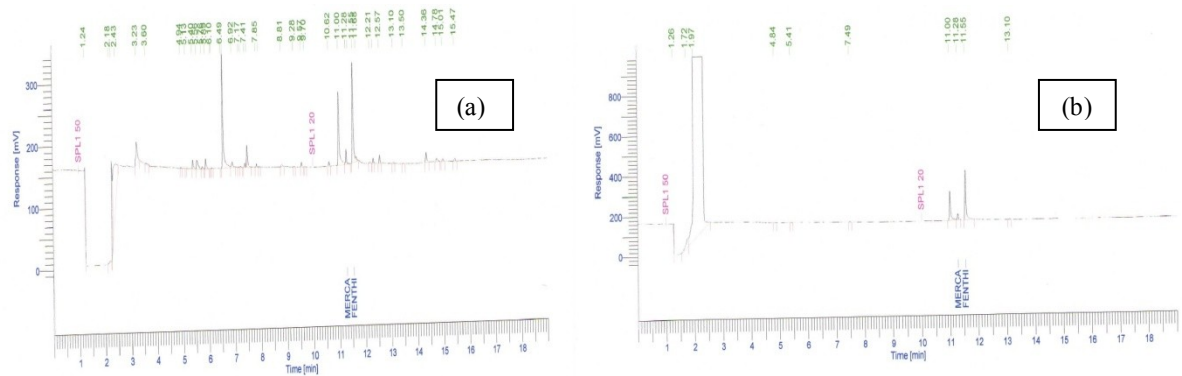


Fig.1 : Chromatogrammes : a et b d'Échantillon dopé et de solution étalon respectivement de courgette par GC-NPD.

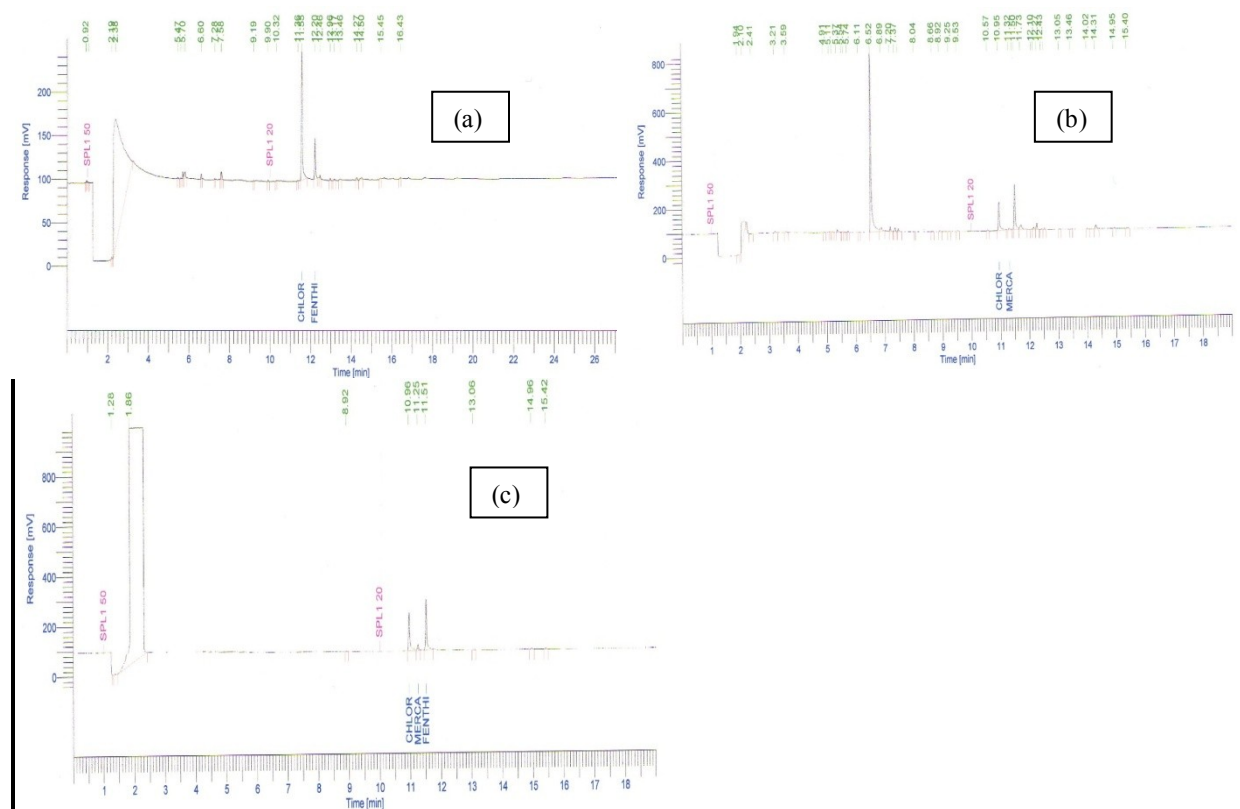


Fig.2 : Chromatogrammes : a, b et c d'Échantillon dopé de fraise et tomate et de solution étalon respectivement par GC-NPD.

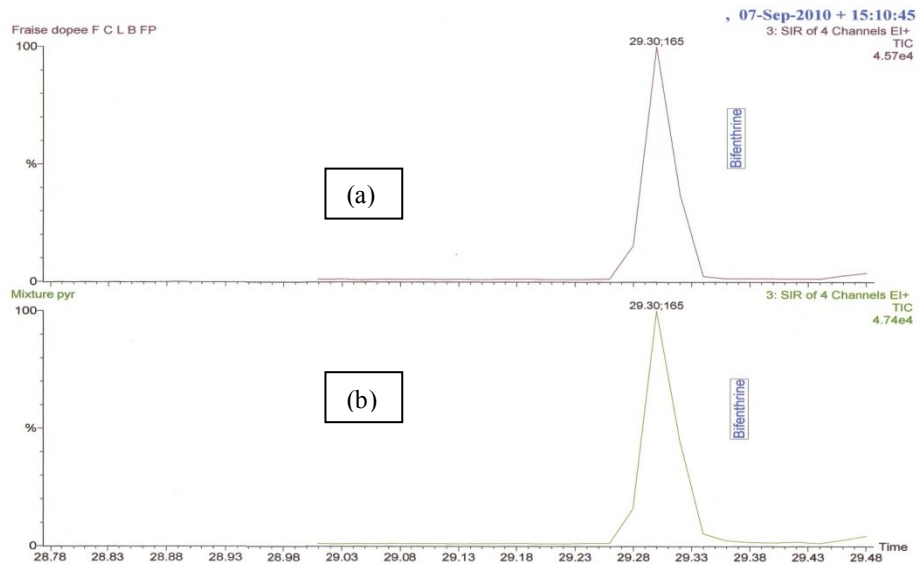


Fig.3 : Chromatogrammes : a et b d'Echantillon dopé et de solution étalon respectivement de fraise par GC-MS.

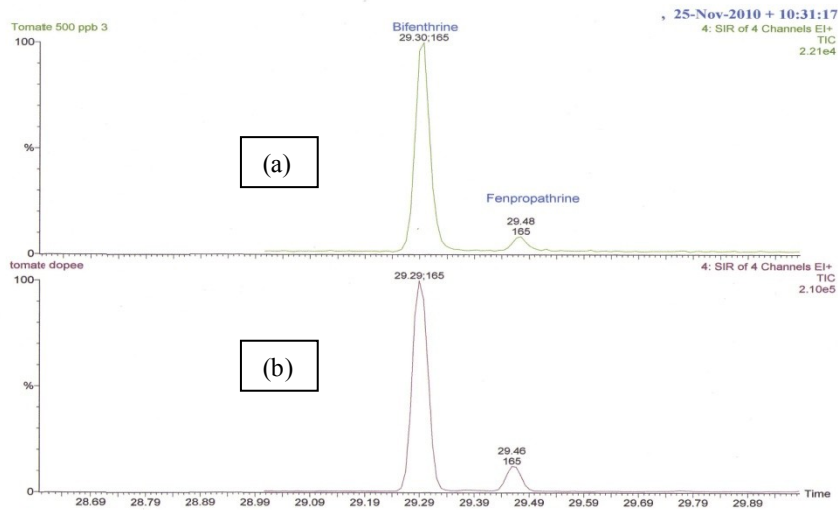


Fig.4 : Chromatogrammes : a et b d'Echantillon dopé et de solution étalon respectivement de tomate par GC-MS.