

5/99

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE



المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
BIBLIOTHEQUE — المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
Ecole Nationale Polytechnique

Département du Génie de l'Environnement

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme  
D'Ingénieur d'Etat en Génie de l'Environnement

THEME

**Recherche et dosage des résidus de pesticides dans  
des cultures maraîchères de la région du Grand Alger**

Proposé et dirigé par :

Mme O. HAOUCHINE  
Mme K. M. MOUSSAOUI

Présenté par :

BENMAMI Mohamed

Soutenu le 11 Novembre 1999 devant le jury :

|              |               |                                 |
|--------------|---------------|---------------------------------|
| Président :  | N.BELHANECHÉ  | Maître de Conférences (E.N.P.)  |
| Examineurs : | D.DEMRI       | Maître de Conférences (E.N.P.)  |
|              | A.CHERGUI     | Chargé de Cours (E.N.P.)        |
| Rapporteurs  | O.HAOUCHINE   | Chargé de Cours (E.N.P.)        |
|              | K.M.MOUSSAOUI | Maître de Conférences (E.N.P.)  |
| Invité       | T.KASTALI     | Ingénieur Agronome (I.T.C.M.I.) |

## Résumé

L'étude porte sur les conséquences des traitements de deux produits agricoles de grande consommation : la laitue et la tomate, par deux insecticides très utilisés par les agriculteurs en Algérie : le Lannate ( Méthomyl ) et le Karate ( Lambda Cyhalothrine ). La recherche des résidus de ces pesticides est effectuée par H.P.L.C., après extraction liquide – liquide et purification sur gel de silice activé.

L'analyse des extraits purifiés montre la présence de résidus de Méthomyl dans 75% des échantillons traités, tout en restant inférieurs aux L.M.R..

De plus, les concentrations trouvées sont directement liées aux doses d'insecticide utilisées pour le traitement.

## Abstract

The aim of this work is to study the consequences of the treatments on two agricultural products of large consumption : lettuce and tomato, with two insecticides widely utilized by farmers in Algeria: Lannate ( Methomyl ) and Karate ( Lambda Cyhalothrine).

Investigations of those pesticide residues were conducted by H.P.L.C., after liquid–liquid extraction and clean-up on activated silicagel.

Results show the presence of Methomyl residues in 75 % of the treated samples, but remain under the M.L.R.s.

Furthermore, the concentrations found are directly correlated to the doses of the applied insecticide during the treatments.

## ملخص

هذا العمل يكمن في دراسة نتائج معالجة محصولين زراعيين ذوي استهلاك واسع : الخس و الطماطم، و ذلك باستعمال المبيدات الحشرية المستعملة بكثرة لدى المزارعين في الجزائر : اللانات (الميتوميل) و الكاراتي (لامبدا سيالوترين).

إن البحث عن بقايا هذا المبيد تم بـ H.P.L.C. ، بعد استخلاص سائل-سائل و تنقية على سيليكاجيل منشط.

إن التحاليل التي أجريت على المستخلصات النقية بينت وجود بقايا من الميتوميل في 75 % من العينات المعالجة، مع بقايا أصغر من L.M.R. ، بالإضافة إلى ذلك، التراكيز الموجودة مرتبطة مباشرة بالكميات المستعملة للمبيدات الحشرية.



**Mots clés** : pesticides, insecticides, cultures maraîchères, tomate, laitue,  
extraction, purification, H.P.L.C..

## DEDICACES

A la mémoire de mon grand-père que je n'ai pas eu la chance de connaître.

A mes grands-parents maternels qui ont toujours accordé la plus grande importance à la formation des enfants.

A mes très chers parents pour tous les efforts consentis, l'affection et le soutien dont ils ont fait preuve.

A mes beaux-parents pour la confiance qu'ils m'ont accordée.

A ma fiancée Wassila pour tout le soutien moral, l'attention et la compréhension dont elle m'a gratifié.

A ma sœur El Ghalia Khadidja à qui vont tous mes vœux de réussite scolaire.

A l'ensemble des enseignants de l'Ecole Nationale Polytechnique qui ont contribué à ma formation.

A tous mes amis en particulier : Salim, Fouad, Mohamed, Assia, Hakima, Salima, Mounia, Saïd, Kada, Mahindo, Djilali, Assira, Semcha, Hocine, Madame Dalila et Amel,

Je dédie ce mémoire

Mohamed

## REMERCIEMENTS

Je tiens avant tout à exprimer ma profonde gratitude à Mesdames K.M. Moussaoui, Maître de Conférences et O. Haouchine, Chargé de Cours à l'Ecole Nationale Polytechnique ( E.N.P.) pour avoir bien voulu m'accepter au sein de leur laboratoire du Génie de l'Environnement « Pesticides et Environnement », pour m'avoir proposé un sujet d'actualité et accordé tout leur soutien pédagogique et moral jusqu'au terme de ce travail.

Qu'il me soit donné de remercier Mme N. Belhaneche , Maître de Conférences à l'E.N.P., pour l'honneur qu'elle me fait de présider ce jury.

Mes remerciements s'adressent également à Madame D.Demri et Monsieur A. Chergui pour avoir accepté d'examiner mon travail.

Je remercie chaleureusement Madame Belhamou et son équipe pour m'avoir accueilli au sein de leur station à l'I.T.C.M.I., pour m'avoir prêté leur concours, manifesté toute leur disponibilité, et plus particulièrement Monsieur T. Kastali pour avoir assuré la direction des travaux agricoles pendant toute la période de plantation et des traitements des cultures.

Qu'il me soit donné de témoigner ici ma reconnaissance sans fin à Monsieur le Professeur H. Guermouche pour m'avoir ouvert les portes de son laboratoire à la Faculté Centrale d'Alger pour les analyses, sans oublier ses collaborateurs Nadia et Mohamed pour leur précieuse aide.

Mes sincères remerciements vont aussi au Professeur B. Alamir et ses collaborateurs du Centre antipoison de Bab El Oued. Que le Dr. Mechrouki trouve ici le témoignage de ma reconnaissance pour l'accueil et les conseils qu'il m'a prodigués.

Mes vifs remerciements s'adressent également à Mesdames Abda et Si Chaib, ingénieurs respectivement à l'I.N.P.V. et à MOUBYDAL pour leur aide, de même qu'à Mademoiselle J. Arrar et à Messieurs H.Lounici, A. Namane et H. Ghrib, enseignants à l'E.N.P..

A toutes et à tous, y compris celles et ceux qui ne sont pas expressément nommés et qui, d'une manière ou d'une autre, m'ont apporté leur contribution à ce travail, je garderai de vous un agréable souvenir.

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| INTRODUCTION GENERALE ..... | 01 |
|-----------------------------|----|

## PARTIE THEORIQUE

## CHAPITRE I : DONNEES GENERALES SUR LES PESTICIDES

|   |    |
|---|----|
| A-INTRODUCTION.....   | 03 |
| B-CLASSIFICATION .....  | 04 |
| B-1-Les Insecticides .....                                      | 04 |
| B-2-Les herbicides .....  | 07 |
| B-3-Les fongicides .....  | 07 |
| B-4-Les autres catégories de pesticides .....                   | 07 |
| C-MODES D' ACTION.....  | 08 |
| D-NECESSITE ET INTERET DE L'EMPLOI DES PESTICIDES .....         | 09 |
| E-MARCHE DES PESTICIDES .....                                   | 10 |
| F-TOXICITE DES PESTICIDES.....                                  | 15 |
| F-1-Dangers pour l'environnement .....                          | 15 |
| F-2-Ecotoxicité .....   | 16 |
| F-3-Toxicité pour l'homme .....                                 | 17 |
| F-4-Différents types d'intoxications .....                      | 17 |
| F-5-Réglementation et outils toxicologiques .....               | 19 |
| F-6-Comment prévenir les intoxications par les pesticides ..... | 21 |

## CHAPITRE II : LES RESIDUS DE PESTICIDES

|   |    |
|---|----|
| A- PROBLEME DES RESIDUS DE PESTICIDES DANS L'ALIMENTATION -----             | 22 |
| B-CAUSES DE CONTAMINATION DES DENREES ALIMENTAIRES-----                     | 23 |
| C-PROBLEMATIQUE DE LA PROTECTION DES VEGETAUX -----                         | 23 |
| C-1-Considérations générales -----  | 23 |
| C-2-Formation des dépôts de pesticides après traitement -----               | 24 |
| D-METHODES DE RECHERCHE ET DE DOSAGE DES RESIDUS DE PESTICIDES ---          | 25 |
| D-1-Extraction et purification des pesticides -----                         | 26 |
| D-2-Méthodes de dosage des résidus de pesticides dans les extraits purifiés | 30 |

## CHAPITRE III : LES METHODES CHROMATOGRAPHIQUES

|  |    |
|--|----|
| A-INTRODUCTION -----   | 32 |
| B-PRINCIPE -----   | 32 |
| C-PRINCIPAUX MECANISMES -----                                      | 33 |
| D-PRINCIPALES METHODES CHROMATOGRAPHIQUES-----                     | 34 |
| D-1-Chromatographie de surface (sur feuille et couche mince) ----- | 34 |
| D-2-Chromatographie en phase gazeuse -----                         | 35 |
| D-3-La chromatographie liquide de haute performance H.P.L.C. ----- | 42 |
| E-CONCLUSION -----   | 46 |

## PARTIE EXPERIMENTALE

**CHAPITRE IV : ENQUETES ET STATISTIQUES**

|  |    |
|--|----|
| A-INTRODUCTION -----                                     | 46 |
| B-CHOIX DES ALIMENTS A ANALYSER -----                    | 46 |
| C-PROBLEME DE L'ECHANTILLONNAGE -----                    | 47 |
| D-CHOIX DES PESTICIDES-----                              | 47 |
| E-STATISTIQUES DU CENTRE ANTIPOISON DE BAB EL OUED ----- | 49 |

**CHAPITRE V : PROTOCOLE EXPERIMENTAL DE LA PLANTATION**

|  |    |
|--|----|
| A-FICHES TECHNIQUES DES PESTICIDES RETENUS POUR LE TRAITEMENT -- | 57 |
| A-1-Le Méthomyl (Lannate) -----                                  | 57 |
| A-2-La Lambda Cyhalothrine (Karate) -----                        | 60 |
| B-CARACTERISTIQUE DES SUBSTRATS -----                            | 62 |
| C-METHODE EXPERIMENTALE -----                                    | 63 |
| D-TRAITEMENT PHYTOSANITAIRE-----                                 | 64 |
| E-DATES DES RECOLTES-----  | 65 |

**CHAPITRE VI : EXTRACTION ET PURIFICATION DES RESIDUS**

|                              |    |
|------------------------------|----|
| A-INTRODUCTION -----         | 66 |
| B-MATERIEL ET REACTIFS ----- | 67 |

|                      |    |
|----------------------|----|
| C-EXTRACTION -----   | 67 |
| D-PURIFICATION ----- | 69 |

## CHAPITRE VII :           DOSAGE DES RESIDUS DE PESTICIDES

|   |    |
|---|----|
| A-MATERIEL UTILISE -----  | 70 |
| B-RECHERCHE DES CONDITIONS OPERATOIRES -----                    | 70 |
| B-1-Choix de la phase mobile -----                              | 70 |
| B-2-Choix de la phase stationnaire -----                        | 71 |
| C-SPECTRE U.V. DU METHOMYL -----                                | 71 |
| D-COURBE D'ETALONNAGE -----                                     | 72 |
| E-TAUX DE RECUPERATION DE LA METHODE D'EXTRACTION -PURIFICATION | 73 |
| F-DOSAGE DES ECHANTILLONS- -----                                | 74 |
| G-EXPLOITATION DES RESULTATS-----                               | 77 |
| H-INTERPRETATIONS ET DISCUSSIONS-----                           | 79 |
| CONCLUSION GENERALE -----                                       | 82 |
| BIBLIOGRAPHIE   |    |
| LISTE DES TABLEAUX  |    |
| LISTE DES FIGURES   |    |

المدرسة الوطنية المتعددة التخصصات  
المكتبة — BIBLIOTHEQUE  
Ecole Nationale Polytechnique

# Introduction

# Générale

## INTRODUCTION GENERALE

L'augmentation des ressources alimentaires pour faire face aux besoins de l'humanité constitue le défi du prochain millénaire et, sa réussite dépend de la disponibilité en diverses ressources de base: terres non encore mises en valeur, mais aussi eau pour l'irrigation, énergie, fertilisants et pesticides pour intensifier la production agricole [1].

Quoique l'on puisse relever dans un lointain passé des recettes qui témoignent du désir de l'homme de protéger ses récoltes par une chimie primitive, ce n'est qu'au XIX<sup>ème</sup> siècle que la lutte chimique a pris naissance: emploi du soufre (1843), de la bouillie bordelaise (1885) pour la protection du vignoble, de dérivés arsenicaux contre le doryphore (1872).

Ainsi se créèrent une industrie et un commerce des produits antiparasitaires destinés à l'agriculture, ainsi qu'aux usages ménagers [1].

Avec l'évolution de l'agriculture, les techniques de lutte contre les ravageurs, les mauvaises herbes et les maladies des plantes cultivées ont connu une nette amélioration grâce au développement continu de substances chimiques de synthèse [2].

Malgré l'utilisation de ces produits, les pertes de récoltes occasionnées par les ennemis des cultures restent particulièrement graves. Elles sont évaluées de manière globale à 35 % de la production mondiale agricole. Ces pertes sont directement liées au niveau de maîtrise technologique des différents pays. C'est ainsi qu'on les évalue à :

- 15 % pour les pays occidentaux,
- 33 % pour l'Amérique latine,
- 40 % pour l'Afrique et l'Asie

Ceci prouve l'impérieuse nécessité d'une protection sanitaire accrue des cultures et des produits agricoles entreposés. Celle-ci fait appel aux traitements chimiques qui constituent actuellement le principal instrument de la protection phytosanitaire des cultures [2].

Durant ces dernières décades, de grandes quantités de pesticides ont été utilisées en agriculture. Cet usage intensif a eu un impact significatif sur l'environnement et par voie de conséquence sur les éléments de la chaîne alimentaire.

Suite à de nombreuses études, la toxicité de certains produits a été mise en évidence. Cette toxicité a amené les Etats à limiter, contrôler, voire même interdire, l'usage de ces produits.

Malgré ces dernières actions, la stabilité de ces produits est telle que l'on continue à les détecter dans l'environnement [3].

Le présent travail vise à étudier les concentrations en résidus de pesticides dans deux produits agricoles de large consommation en Algérie, à savoir la tomate et la laitue, comparer ces valeurs aux normes admissibles, et conclure si ces concentrations peuvent avoir des effets néfastes sur la santé des consommateurs.

Pour cela, nous avons mené des enquêtes préliminaires auprès des agriculteurs et des revendeurs de pesticides. Au terme de ces dernières, il est apparu que le **Lannate** ( nom commercial du **Méthomyl** ) et le **Karate** ( nom commercial de la **Lambda Cyhalothrine** ) étaient très utilisés en Algérie. Notre choix s'est donc porté sur ces deux insecticides : le premier est un carbamate, l'autre un pyréthrianoïde.

Nous avons, pour réaliser cette étude, effectué une plantation sur laquelle des traitements, selon un protocole expérimental bien déterminé, ont été appliqués. Cette plantation a été réalisée à la ferme expérimentale de Staoueli ( I.T.C.M.I. : Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles ).

L'extraction des résidus de pesticides à partir de leur matrice ainsi que la purification des extraits ont été ensuite nécessaires.

Le dosage des résidus obtenus a été effectué par **H.P.L.C.** en utilisant une colonne **C18**, et une phase mobile constituée d'un mélange acétonitrile / eau.

# Partie Théorique

## CHAPITRE I

### DONNEES GENERALES SUR LES PESTICIDES

#### A - INTRODUCTION

Le terme «pesticide» communément usité du grand public dérive de l'anglais « pest » qui désigne tout animal ou plante (virus, bactéries, champignons, mollusques, insectes et rongeurs), susceptible d'être nuisible à l'homme et à son environnement [4].

Il s'agit scientifiquement d'un produit agropharmaceutique dont les appellations varient selon les spécialistes qui gravitent autour de son utilisation. C'est ainsi que les agronomes parlent de produit phytosanitaire tandis que les juristes et les toxicologues le désignent par produit antiparasitaire [5].

D'une manière plus générale, par pesticide on définit toute substance chimique naturelle ou de synthèse à l'exclusion des produits pharmaceutiques et vétérinaires, éliminant des êtres vivants, animaux, végétaux ou autres, nuisibles à l'homme de manière directe ou indirecte [6], [7].

Pour l'Association Française de Normalisation ( **A.F.NOR.** ), le terme pesticide a pris une signification plus stricte et ne s'applique qu'aux produits à usage agricole. Il est défini comme substance agricole ou préparation permettant de lutter contre les ennemis des cultures et des produits récoltés [8].

L'usage des pesticides, devenu aujourd'hui incontournable, reste malheureusement confronté à la problématique des résidus ou restes du produit appliqué et de ses métabolites [9].

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé ( **O.M.S.** ) un résidu de pesticide est une substance chimique quelconque qui persiste un certain temps après le traitement dans un milieu donné, après qu'elle-même ou d'autres composés lui donnant naissance, aient été introduits, volontairement ou non, dans le dit milieu et dont la présence est de ce fait qualitativement ou quantitativement anormale [10].

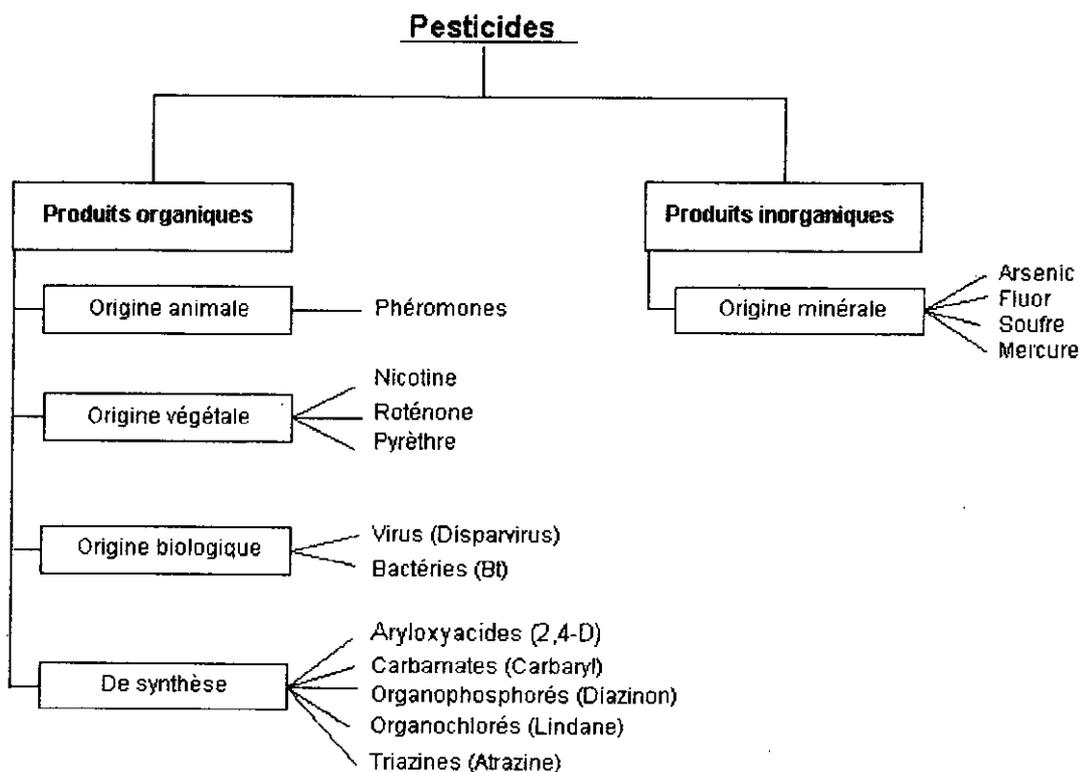
La quantité de matière active du pesticide ou des produits de transformation présente dans les parties consommables du végétal à la récolte, constitue le résidu dont l'importance (toxicité) dépend de certains facteurs dont :

- La configuration tridimensionnelle de la molécule.

- L'isomérisation de la molécule (en général l'isomère cis est plus toxique que l'isomère trans).
- Les propriétés physiques de la molécule pesticide.
- Les caractéristiques du végétal.
- Les conditions d'emploi des pesticides [11].

## **B - CLASSIFICATION**

Il existe de nombreuses classifications des pesticides en fonction de l'organisme visé, de la structure chimique du composé utilisé ou de la nature et de la gravité des risques correspondants pour la santé [12]. La figure 1 montre les différents regroupements :



**Figure 1 : Regroupements des pesticides [13].**

Nous nous intéresserons aux deux classifications les plus répandues, c'est à dire suivant l'organisme visé et suivant la famille chimique car elles sont liées.

### **B - 1 - Les insecticides**

C'est le plus grand groupe de pesticides. On définit par insecticide toute substance destinée à tuer les insectes et les espèces voisines comme les acariens (acaricides), les pucerons (aphicides), ainsi que toute substance qui perturbe le développement normal de ces espèces en empêchant l'éclosion des œufs (ovicides) et en tuant les larves

( larvicides ) [14], [15].

Les insecticides sont eux même divisés en plusieurs familles :

### **B - 1 - 1 - Les insecticides organochlorés**

Les substances de ce groupe ont des structures très variées mais possèdent toutes un ou plusieurs atomes de chlore [14].

Ils comprennent des dérivés de l'éthane, des cyclodiènes et de l'hexachlorocyclohexane [15].

Le mécanisme d'action responsable de la toxicité aiguë de ces substances est encore en partie inconnu. Diverses perturbations biochimiques ont été mises en évidence mais leur rôle dans l'intoxication n'est pas encore éclairci [14].

Les organochlorés sont plus rémanents que les organophosphorés et certains de leurs métabolites peuvent persister très longtemps dans le sol, les tissus végétaux et les graisses [7].

Ils ont fait leur apparition pendant la deuxième guerre mondiale. Le plus connu de cette famille est le **DDT**. Cet insecticide, très toxique, qui est interdit aujourd'hui, avait permis de mettre fin à une épidémie de typhus en Europe.

Parmi les plus toxiques on retrouve également le **Lindane**, le **Cyclodiène** et l'**Heptachlore** [15], [16].

### **B - 1 - 2 - Les insecticides organophosphorés**

Ce sont des esters de l'acide phosphorique (fig. 2) ou de l'acide thiophosphorique qui agissent sur les insectes en inhibant une enzyme, l'acétylcholinestérase. C'est surtout après la seconde guerre mondiale que l'intérêt pour l'action insecticide de ces corps commença à se manifester. On peut citer parmi les plus toxiques de cette famille le **Parathion** et le **Dichlorvos** [14], [15].

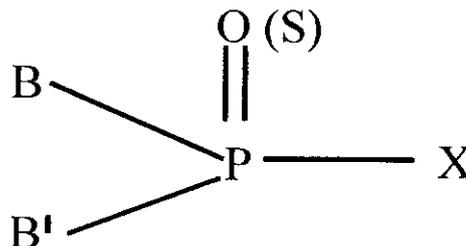


Figure 2 : Molécule d'un organophosphoré [14].

- B et B' groupements basiques.
- X groupement acide [14].

### **B - 1 - 3 - Les carbamates**

Ce sont des esters de l'acide N-méthylcarbamique [15], et des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, mais leur mécanisme d'action est similaire à celui des esters organophosphorés. Cependant le caractère irréversible de l'inhibition enzymatique est en général moins marqué avec les carbamates [14], et sont, de ce fait, plus sûrs que les organophosphorés.

Ils ont fait leur apparition en même temps que les organophosphorés en 1960. On peut citer parmi eux le **Propoxur** ( **Baygon** ) et le **Méthomyl** ( **Lannate** ) [15].

### **B - 1 - 4 - Pyrèthre et pyréthrinoïdes**

Le Pyrèthre ou poudre de chrysanthème séché, est un insecticide naturel connu depuis des siècles. De l'étude des composés actifs du Pyrèthre est née la série des pyréthrinoïdes de synthèse [7].

Chimiquement, les pyréthrinoïdes se définissent comme des esters composés d'un radical acide à un ou deux carbones asymétriques et d'un radical alcool avec ou sans carbone asymétrique [17].

Ils ont fait leur apparition en 1975. Leur toxicité pour les mammifères est faible car ils sont très rapidement métabolisés dans l'organisme [14].

Ces composés présentent donc le très grand avantage d'une action particulièrement différenciée entre insectes et mammifères que ne possèdent pas les autres insecticides.

Autrement dit, leur toxicité vis à vis des insectes est nettement plus importante que celle vis à vis des mammifères dont l'homme. De plus, leur très grande efficacité permet de très notables réductions des doses d'utilisation à l'hectare pour les traitements [7].

Les plus importants produits de cette famille sont la **Deltaméthrine** ( **Décis** ) qui, en 1990, représentait vingt pour cent du chiffre d'affaires mondial des pesticides [7], et la **Lambda Cyhalothrine** ( **Karate** ).

### **B - 1 - 5 - Insecticides végétaux et autres produits**

On trouve entre autres:

- La **Nicotine**, substance extraite du tabac qui est un toxique nerveux à toxicité aiguë élevée [15].
- La **Roténone**, extraite des racines d'une plante (*derris elliptica*) et qui présente une toxicité faible pour les mammifères mais beaucoup plus importante pour les insectes et les poissons [15].

## **B - 2 - Les herbicides**

Les pesticides de ce type détruisent les végétaux herbacés ou ligneux ou en limitent leur croissance par destruction de la racine, inhibition de la photosynthèse et arrêt de la biosynthèse des acides aminés essentiels. Les herbicides sont classés selon leur type d'action tel que, à titre d'exemples :

- Les **triazines**: qui agissent en bloquant la photosynthèse.
- Les **amides**: qui inhibent le développement de la cellule ou mitose.
- Les **carbamates** ou **uréthanes**: qui agissent en perturbant la division cellulaire.

Parmi eux, on peut citer le **Deltazone** et l'**Amitrole** [7], [13].

## **B - 3 - Les fongicides**

Ce sont les pesticides qui s'attaquent aux champignons parasites des cultures. Aussi, les fongicides sont utilisés pour le traitement des denrées entreposées, des semences, des sols et cultures telles que : céréales, betteraves sucrières, maïs etc [14].

Ces pesticides comprennent deux familles : les fongicides systémiques et les fongicides non systémiques.

Les systémiques agissent à distance, par pénétration dans la plante, grâce à la circulation de la sève. Tandis que les non systémiques ont une action de contact directe et localisée aux organes traités [7].

On retrouve dans cette catégorie de pesticides, les composés mercuriels (le **méthyl-** et **L'éthyl mercure**) qui sont des fongicides très puissants mais qui sont aussi très toxiques, de nombreux décès ayant été constatés à la suite de leur utilisation sur champs [15].

Parmi les fongicides les plus connus, on peut citer le **Manebe** et le **Benomyl**.

## **B - 4 - Les autres catégories de pesticides**

En plus de tous les pesticides ci-dessus énumérés, il en existe encore beaucoup d'autres, aux appellations les plus variées, intimement liées aux objectifs recherchés, comme :

- Les **nématocides** utilisés surtout dans le traitement des sols pour combattre les vers parasites.
- Les **rodenticides** et les **taupicides** qui s'adressent aux rongeurs et aux autres longuemorphes.
- Les **molluscicides** et les **hélicides** destinés à la lutte contre les limaces et les escargots.
- Les **corvicides** et les **corvifuges** qui détruisent ou éloignent l'ensemble des oiseaux

ravageurs des cultures.

- Les **produits répulsifs** destinés à éloigner les mammifères de taille plus importante (renards, sangliers et ours etc...).
- Les **chimiostérilisants** utilisés contre les volatiles en empêchant leur reproduction (pigeons en particulier).
- Les **phéromones** pulvérisées ou insérées dans des pièges, imitent les sécrétions glandulaires sexuelles des insectes et perturbent leur cycle de reproduction. Les phéromones sont très spécifiques aux espèces visées. (Ex phéromone de la tordeuse de la vigne) [13].
- Les **fumigants** sont des pesticides qui, comme leur nom l'indique, agissent par émission de gaz, provenant soit directement de la nature gazeuse du produit, soit par évaporation de liquides volatils soit par réaction chimique de composés solides. Ces pesticides servent à traiter les aires de stockage et le sol pour lutter contre les insectes, les rongeurs et les nématodes [15].
- Les **biopesticides** : comme les bactéries *Bacillus thuringensis* qui produisent une famille importante et variable de protéines pesticides dont beaucoup sont toxiques pour les ravageurs des cultures, spécialement les lépidoptères [18].

### C - MODES D'ACTION

Le mode d'action des pesticides varie selon la nature des organismes à détruire. On distingue plusieurs voies d'intoxication possibles pour les insectes :

– **l'ingestion**: dont l'action s'exerce sur les insectes brouteurs, par pénétration au niveau du tube digestif.

– **le contact**: mode d'intoxication qui permet d'atteindre de nombreux insectes non sensibles aux produits d'ingestion en raison de leur mode de vie (mouches des fruits, mouches domestiques, mouches du bétail, moustiques). L'intérêt de cette voie est que l'insecticide agit non seulement sur les insectes directement touchés par le toxique, mais aussi sur ceux qui viennent ultérieurement au contact des plantes traitées (pucerons, doryphores), des murs, des étables ou des habitations (mouches domestiques, moustiques).

– **l'inhalation**: au cours de laquelle les insecticides, appliqués sous forme de gaz ou de vapeurs, pénètrent dans l'organisme par le système respiratoire. Ils sont introduits dans des entrepôts de denrées stockées, dans des silos, dans des chambres de fumigation ou encore dans des espaces à diffusion lente tels que les sols.

– **la systémie**: qui permet aux produits systémiques de pénétrer dans les plantes à travers les tissus des feuilles, ou par les racines à partir du sol, et de circuler dans la plante,

où ils sont absorbés par les insectes piqueurs (pucerons, cicadelles, aleurodes) ou les acariens [1].

### **D - NECESSITE ET INTERET DE L'EMPLOI DES PESTICIDES**

Le développement de l'agriculture et son intégration dans la chaîne agro-alimentaire n'ont été possibles que grâce à une utilisation toujours croissante, du machinisme d'une part, et de traitements préventifs et curatifs des produits végétaux, d'autre part. Ces traitements s'opèrent à l'aide des pesticides [19].

L'importance du traitement des sols et des cultures peut être illustrée par le tableau 1 qui suit et qui résume les pertes de récoltes dans les pays où l'utilisation de pesticides n'est pas aussi répandue que dans les pays producteurs. Les pertes sont encore plus élevées et plus graves après la récolte, du fait des ravageurs qui s'attaquent aux produits entreposés [19].

**Tableau 1 : Pertes estimatives de rendements ( % en poids ) en agriculture [19].**

| CULTURE                 | AMERIQUE DU SUD | AFRIQUE | ASIE |
|-------------------------|-----------------|---------|------|
| Blé                     | 31              | 42      | 30   |
| Riz                     | 28              | 36      | 57   |
| Pomme de terre          | 44              | 62      | 49   |
| Légumes et légumineuses | 30              | 39      | 36   |

Les statistiques pour l'amélioration du rendement après usage des pesticides dans divers pays ou régions sont illustrées par le tableau 2 ci dessous.

**Tableau 2 : Utilisation des pesticides et rendement des principales cultures dans certains pays et régions [19].**

| PAYS OU REGIONS       | DOSE D'EMPLOI (kg/ha) | RANG MONDIAL (UTILISATION) | RENDEMENT ( tonne/ha ) | RANG MONDIAL (PRODUCTION) |
|-----------------------|-----------------------|----------------------------|------------------------|---------------------------|
| Japon                 | 10,8                  | 1                          | 5,5                    | 1                         |
| Europe                | 1,9                   | 2                          | 3,4                    | 2                         |
| Etats unis d'Amérique | 1,5                   | 3                          | 2,6                    | 3                         |
| Amérique latine       | 0,22                  | 4                          | 2                      | 4                         |
| Océanie               | 0,2                   | 5                          | 1,6                    | 5                         |
| Afrique               | 0,13                  | 6                          | 1,2                    | 6                         |

Ces chiffres montrent qu'il existe une corrélation entre les rendements agricoles et les quantités de pesticides utilisées [19].

En plus de l'amélioration des rendements qu'il procure, l'usage des pesticides minimise un grand nombre d'autres préjudices parmi lesquels on peut citer :

- Le préjudice diététique : les parasites entraînent des modifications dans la plante hôte comme la diminution de l'amidon dans les graines parasitées.
- Le préjudice sanitaire : transmission de virus par les pucerons.
- Le préjudice organoléptique : mauvais goût des farines issues de céréales parasitées.

En plus de leur apport à l'amélioration quantitative et qualitative de l'agriculture à travers la planète, il est important de signaler que l'utilisation des pesticides a contribué, parallèlement, à la concrétisation de certains programmes de santé publique. En effet, certaines maladies répandues dans les zones intertropicales sont transmises par des vecteurs ou des hôtes intermédiaires, par exemple des insectes ou des mollusques qu'il est possible d'éliminer au moyen d'insecticides ou de molluscicides [19].

## **E - MARCHE DES PESTICIDES**

### **E - 1 - Dans le monde**

Le marché des produits phytosanitaires s'est considérablement développé durant ces dernières décennies [20]. Son évolution chiffrée, entre 1960 et 1992 apparaît à travers les données du tableau 3 suivant :

**Tableau 3 : Evolution du marché mondial des produits phytosanitaires [21].**

| ANNEE                        | 1960 | 1970 | 1980  | 1990  | 1992  |
|------------------------------|------|------|-------|-------|-------|
| Valeurs en millions de \$ US | 850  | 2700 | 12000 | 26400 | 25200 |

Le marché mondial des pesticides se caractérise par la répartition suivante : l'Asie et l'Europe de l'Ouest représentent chacune 25 % des ventes, l'Amérique ( Nord et Sud ) 40 % et le reste du monde se partage environ 10 % des ventes [13]. ( figure 3)

Les USA et la Chine sont de très forts acheteurs selon la F.A.O., ce qui s'explique, entre autre, par les très grandes superficies agricoles des deux pays [13].

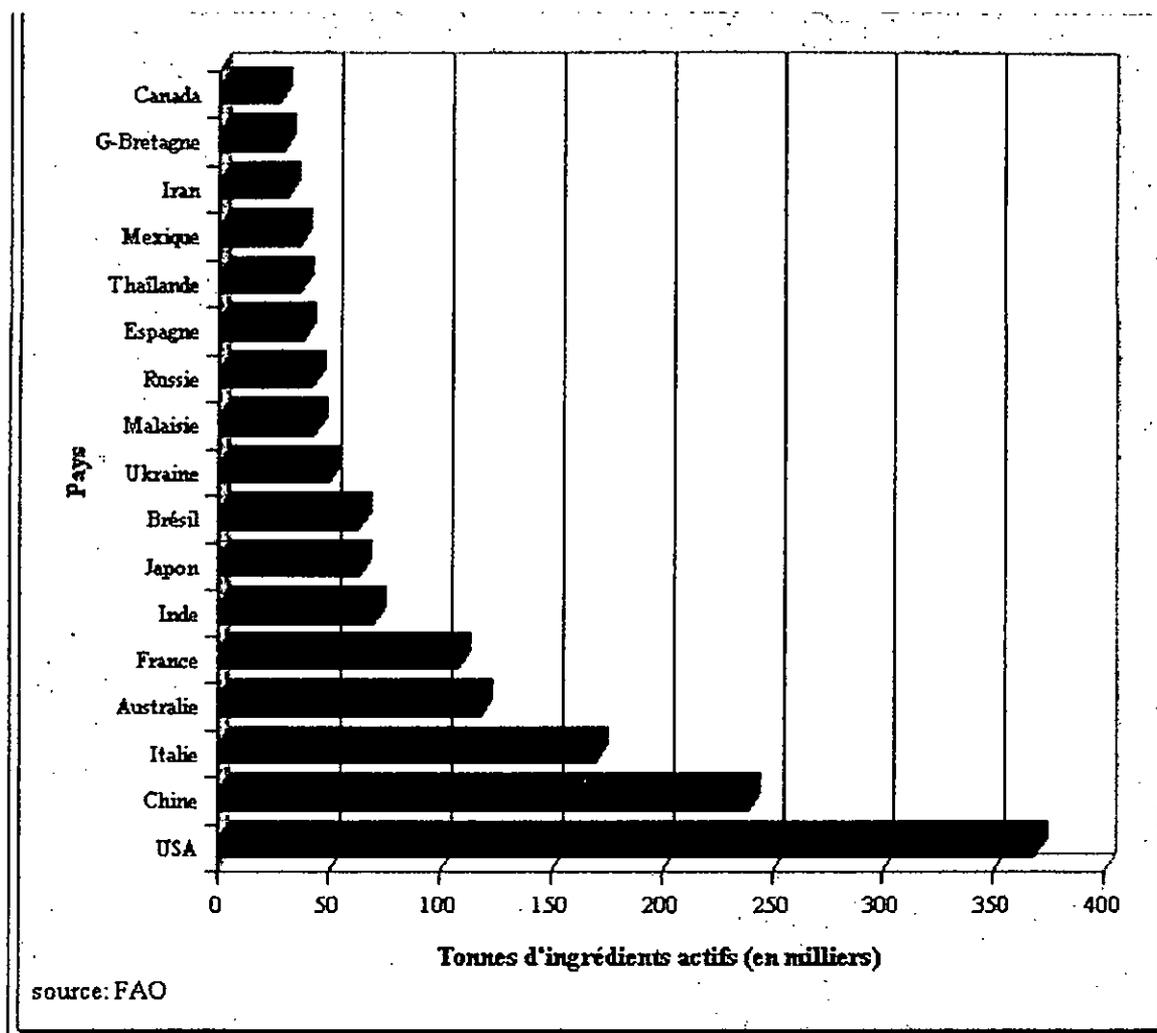


Figure 3 : Ventes des pesticides dans le monde en 1994 [13].

L'indice moyen d'utilisation (défini comme étant le poids en kg de matière active utilisée à l'hectare) donne un juste aperçu de la pression environnementale sur les utilisateurs de pesticides agricoles. Selon des données recueillies en 1990 par l'OCDE (**Organisation de coopération et de développement économique, Paris**), le Canada est un faible utilisateur de pesticides (0,81 kg matière active / hectare) comparativement à certains pays comme les Etats Unis (1,99), la France (4,51), l'Italie (7,66), le Japon (18,07) ou les Pays Bas (19,95). Par contre, certains pays scandinaves, qui ont adopté de sévères politiques restrictives quant à la consommation de pesticides, ont un ratio très faible [13].

Il est difficile de prévoir les évolutions de la consommation mondiale des pesticides pour les années à venir. Nous nous contenterons de présenter sur la figure 4 le cumulatif des ventes des dix matières actives les plus consommées.

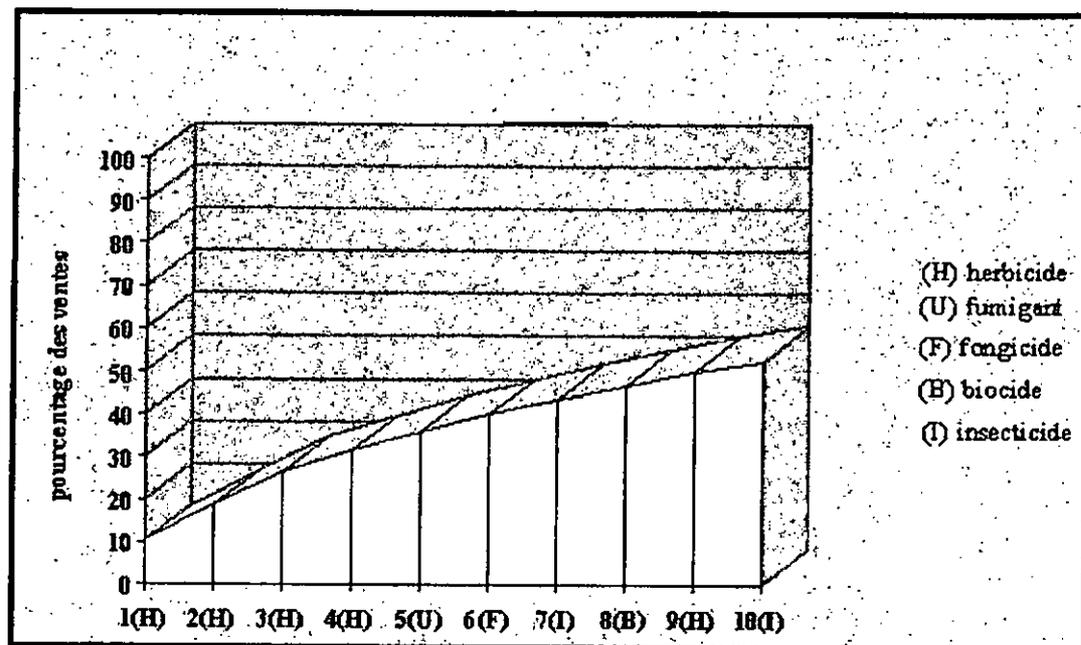


Figure 4 : Cumulatif des dix matières actives les plus vendues en 1996 [13].

Nous constatons que ce sont les herbicides qui occupent la part la plus importante avec plus de cinquante pour cent.

### E - 2 - En Algérie

La consommation des pesticides est exprimée à travers la quantité de produits commercialisés. La répartition de la commercialisation des pesticides par catégorie de produits de 1975 à 1993 est représentée dans le tableau 4.

D'une manière globale, la commercialisation des pesticides en Algérie, pour cette même période, est représentée par les données du tableau 5.

Tableau 5 : Commercialisation des pesticides en Algérie [22].

| ANNEES           | 75-79   | 80-84   | 85-89   | 90-93  | 94-97   |
|------------------|---------|---------|---------|--------|---------|
| Valeurs (tonnes) | 28270,2 | 22188,6 | 18064,6 | 8635,5 | 8328,48 |

De ce tableau, il ressort :

- Que la consommation quadriennale moyenne estimée a varié au cours des trente dernières années entre 8000 et 30000 tonnes [23].
- Que la commercialisation des produits phytosanitaires en Algérie a connu une chute vertigineuse [23].

Tableau 4 : Répartition de la commercialisation des pesticides en Algérie par catégorie de produits et en tonnes [23].

|       | ANNEES | Insecticides |       |         |        | Fongicides |        |         |        | Herbicides |       |       |       | Divers |        |        |       |       |        |
|-------|--------|--------------|-------|---------|--------|------------|--------|---------|--------|------------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|-------|-------|--------|
|       |        | TOTAL        | %     | MOY     | % MOY  | TOTAL      | %      | MOY     | % MOY  | TOTAL      | %     | MOY   | % MOY | TOTAL  | %      | MOY    | % MOY | TOTAL | MOY    |
| 75-79 | 1975   | 6719         | 28.28 | 7477.8  | 26.451 | 16068      | 67.618 | 19664.6 | 69.559 | 320        | 1.34  | 546.6 | 1.93  | 656    | 2.76   | 581.2  | 2.05  | 23763 | 28270  |
|       | 1976   | 7648         | 23.50 |         |        | 23772      | 73.037 |         |        | 570        | 1.75  |       |       | 558    | 1.71   |        |       | 32548 |        |
|       | 1977   | 7692         | 23.54 |         |        | 24087      | 73.71  |         |        | 481        | 1.47  |       |       | 418    | 1.27   |        |       | 32678 |        |
|       | 1978   | 7215         | 28.26 |         |        | 17194      | 67.264 |         |        | 677        | 2.64  |       |       | 476    | 1.86   |        |       | 25562 |        |
|       | 1979   | 8115         | 30.28 |         |        | 17202      | 64.187 |         |        | 685        | 2.55  |       |       | 798    | 2.97   |        |       | 26800 |        |
| 80-84 | 1980   | 7181         | 34.40 | 6534.4  | 29.449 | 12154      | 58.226 | 14132.2 | 63.691 | 726        | 3.47  | 745.4 | 3.35  | 813    | 3.89   | 276.6  | 3.50  | 20874 | 22189  |
|       | 1981   |              |       |         |        | 16745      | 68.238 |         |        | 654        | 2.66  |       |       | 853    | 3.47   |        |       | 24539 |        |
|       | 1982   |              |       |         |        | 15925      | 64.557 |         |        | 862        | 3.49  |       |       | 738    | 2.99   |        |       | 24668 |        |
|       | 1983   |              |       |         |        | 13668      | 64.621 |         |        | 560        | 2.64  |       |       | 800    | 3.78   |        |       | 21151 |        |
|       | 1984   |              |       |         |        | 12969      | 61.737 |         |        | 925        | 4.69  |       |       | 679    | 3.44   |        |       | 19711 |        |
| 85-89 | 1985   | 8905         | 30.59 | 6755.4  | 37.396 | 17097      | 58.734 | 9923.6  | 54.934 | 2407       | 8.26  | 785.6 | 4.34  | 700    | 2.40   | 600    | 3.32  | 29109 | 18085  |
|       | 1986   |              |       |         |        | 11836      | 61.428 |         |        | 562        | 2.91  |       |       | 629    | 3.26   |        |       | 19268 |        |
|       | 1987   |              |       |         |        | 8316       | 56.029 |         |        | 367        | 2.47  |       |       | 381    | 2.56   |        |       | 14846 |        |
|       | 1988   |              |       |         |        | 6817       | 51.998 |         |        | 102        | 0.77  |       |       | 431    | 3.28   |        |       | 13110 |        |
|       | 1989   |              |       |         |        | 5550       | 39.671 |         |        | 490        | 3.50  |       |       | 859    | 6.14   |        |       | 13990 |        |
| 90-93 | 1990   | 3625         | 37.33 | 3503.75 | 40.574 | 5459       | 56.22  | 4498.5  | 52.093 | 291        | 2.99  | 293.5 | 3.39  | 335    | 3.45   | 339.75 | 3.93  | 9710  | 8635.5 |
|       | 1991   | 6347         | 47.14 |         |        | 6188       | 45.96  |         |        | 381        | 2.82  |       |       | 548    | 4.070  |        |       | 13464 |        |
|       | 1992   | 2179         | 36.71 |         |        | 3164       | 53.311 |         |        | 205        | 3.45  |       |       | 387    | 6.52   |        |       | 5935  |        |
|       | 1993   | 1864         | 34.30 |         |        | 3183       | 58.586 |         |        | 297        | 5.466 |       |       | 89     | 1.6381 |        |       | 5935  |        |

Cette chute semble être vraisemblablement due à :

- L'introduction dans le marché algérien des pyréthrinoides de synthèse présentant l'avantage d'être utilisés à des doses « infimes » soit de l'ordre de quelques grammes de principe actif par hectare.
- La cherté des produits phytosanitaires.
- L'utilisation de pesticides périmés (donc non pris en charge par les statistiques officielles), est une triste réalité que l'on ne peut ignorer. Cette information émane de sources très fiables, obtenue lors des enquêtes menées auprès des agriculteurs.

### **E - 3 - Dispositions réglementaires algériennes**

La loi phytosanitaire n° 87-17 du premier août 1987 relative à la protection phytosanitaire instaure les procédures qui permettent une utilisation efficace des pesticides sans retombées néfastes. Cette loi précise tous les aspects relatifs à l'importation, la fabrication, la commercialisation, l'étiquetage, l'emballage et l'utilisation des pesticides.

Aucun pesticide à usage agricole ne peut être commercialisé ou utilisé s'il n'a pas été autorisé par le processus de l'homologation.

Le processus actuel d'homologation des pesticides à usage agricole se déroule selon trois étapes [24] :

#### **Etape 1 : Etude des dossiers**

Les dossiers de demande d'homologation sont déposés à l'I.N.P.V. [24].

#### **Etape 2 : Evaluation par le Comité Technique**

Les dossiers sont confiés au Comité d'Evaluation Biologique et au Comité de Toxicité pour évaluation [24].

#### **Etape 3 : Décisions de la commission des produits phytosanitaires à usage agricole**

La décision prise par le Comité Technique d'Evaluation peut être :

- Soit l'ajournement de l'homologation du produit en question .
- Soit l'homologation du produit.
- Soit le refus d'homologation [24].

## **F - TOXICITE DES PESTICIDES**

Les pesticides actuellement utilisés correspondent à une très large gamme de produits chimiques [19]. C'est le manque de sélectivité des pesticides utilisés vis-à-vis de leurs cibles qui provoque la plupart des effets nocifs pour l'environnement [25].

On estime qu'actuellement quatre millions de substances chimiques ont été isolées ou synthétisées, 60 000 d'entre elles sont employées, 4 000 sont des médicaments, 2 500 sont des additifs alimentaires et 1 800 sont des pesticides [4]. Ce dernier chiffre explique les différences importantes dans leur mode d'action, leur fixation par l'organisme, leur métabolisme et leur toxicité pour l'homme et l'environnement [19].

### **F - 1 - Dangers pour l'environnement**

Un pesticide, quel qu'il soit, provoque inéluctablement de profondes modifications dans l'ensemble de l'écosystème dans lequel on l'introduit. Son action, comme on l'a déjà mentionné, n'est jamais univoque. Cela tient à un ensemble de particularités écologiques, communes à l'ensemble de ces substances [26] :

- Elles présentent dans la plupart des cas un spectre de toxicité étendu tant pour les espèces animales que végétales.
- Leur toxicité pour les vertébrés à sang chaud et pour les poikilothermes est souvent élevée.
- Les quantités utilisées sont souvent nettement supérieures à celles qui seraient nécessaires pour éliminer les ravageurs, les surcharges volontaires étant considérées par les agriculteurs comme un gage d'assurance pour le traitement.
- Plusieurs d'entre elles peuvent persister dans les sols des mois ou même des années, comme le montre le tableau 6.

Dans les eaux, on évalue à une dizaine d'années la durée de demi-vie du **DDT** et à plus de 20 ans celle de la **Dieldrine** [26].

Les matières actives phytosanitaires sont appliquées le plus souvent sous la forme de liquide pulvérisé sur les plantes et/ou sur le sol, et dans certains cas, elles sont incorporées au sol, injectées ou déposées sous forme de granulés [25].

**Tableau 6 : Persistance des insecticides organochlorés dans les sols [26].**

| INSECTICIDES | % PERSISTANT APRES 14 ANS        |
|--------------|----------------------------------|
| Aldrine      | 40                               |
| Chlordane    | 40                               |
| Endrine      | 41                               |
| Heptachlore  | 16                               |
| HCH          | 10                               |
| Toxaphène    | 45                               |
|              | Après 15 ans (autre échantillon) |
| Aldrine      | 28                               |
| Dieldrine    | 31                               |
|              | Après 17 ans                     |
| DDT          | 39                               |

### F - 2 - Ecotoxicité

Bien que la plupart des traitements soient appliqués sur les parties aériennes des plantes, une partie importante des produits atteint toujours le sol où vivent des bactéries, des champignons, des algues, des vers de terre et des insectes. Par ailleurs, on doit faire particulièrement attention aux effets nocifs des pesticides sur la microflore du sol, laquelle est essentielle au maintien de la fertilité [25].

Les pesticides sont aussi nocifs pour les oiseaux qui constituent également un des éléments les plus appréciés de la faune sauvage. D'ailleurs, dès le début des années cinquante, une enquête réalisée au niveau des champs traités au **DDT** ou avec d'autres produits a permis de mettre en évidence une importante mortalité de ces derniers. Il s'agissait en fait, d'empoisonnement secondaire, les oiseaux ayant avalé des insectes handicapés par les effets de l'insecticide [25].

De la même manière, les pesticides peuvent provoquer des dégâts très importants dans la faune aquatique où la mortalité des poissons peut atteindre des dimensions catastrophiques. A titre illustratif, on estime qu'entre 1977 et 1987, aux Etats Unis, six à quatorze millions de poissons mouraient chaque année de suite de l'utilisation des pesticides.

On voit bien qu'il est difficile de mesurer l'écotoxicité d'une substance, car il

faudrait prendre en compte des milliers d'espèces d'êtres vivants qui, toutes, réagissent différemment face au polluant, qui lui, agit d'une seule manière [25].

### **F - 3 - Toxicité pour l'homme**

La gravité des effets nocifs éventuels résultant de l'exposition à un pesticide dépend de la dose, des modes d'exposition, du degré d'absorption, et des effets de la matière active et ses métabolites, ainsi que de l'accumulation et la persistance du produit dans l'organisme [19].

Pour l'homme, dans la majeure partie des cas, le toxique est ingéré sous forme de résidu présent dans la nourriture. Mais l'absorption peut également se faire par l'eau de boisson, l'air inhalé ou le contact de la peau avec le produit [25].

Par ailleurs, lorsqu'un pesticide atteint par erreur des zones non ciblées et que les populations environnantes sont prises au dépourvu, les conséquences de l'empoisonnement peuvent être dramatiques, tel que l'illustre l'estimation de un million d'intoxications accidentelles par pesticides dans le monde et par an. Vingt mille de ces cas se terminent par un décès (O.M.S., U.N.E.P. 1989).

Si l'on ajoute les cas d'intoxications volontaires par pesticides (il s'agit surtout de suicides) on atteint le chiffre effarant de trois millions d'empoisonnements dont deux cent vingt mille (220000) sont mortels dans le monde [25].

L'importance pour l'homme du risque toxique paraît difficilement chiffrable en raison de la difficulté d'estimer les effets à long terme et des actions mutagènes possibles des pesticides.

### **F - 4 - Différents types d'intoxications**

Une fois dans l'organisme, les pesticides sont le plus souvent éliminés dans l'air expiré, les fèces ou les urines. Auparavant, ils sont généralement, métabolisés spécialement dans le foie.

Si ces transformations aboutissent le plus souvent à des produits moins toxiques, plus hydrosolubles et donc plus facilement éliminés, il peut se former parfois des métabolites intermédiaires plus réactifs et plus toxiques que le produit initial (Ex : **Parathion – Paratox**).

Ces produits, et / ou les métabolites, peuvent être stockés et séjourner plus au moins longtemps avant d'être relégués dans certains organes ou tissus comme les tissus adipeux dans lesquels se concentrent les pesticides organochlorés par exemple [4].

On peut classer les intoxications en deux types :

### F - 4 - 1 - Les intoxications aiguës ou subaiguës

Elles surviennent lorsque la substance est administrée en une seule fois et où l'on constate l'apparition d'effets nocifs survenant dans un court laps de temps après son administration [4], [19].

Le tableau 7 résume les différentes constatations cliniques d'intoxications aiguës observées chez l'homme, classées suivant la famille de pesticides.

**Tableau 7 : Les différents diagnostics cliniques liés aux différentes familles de pesticides [14].**

| FAMILLE DE PESTICIDES | DIAGNOSTIC CLINIQUE  |
|-----------------------|--|
| Organochlorés         | - Troubles digestifs (diarrhées), neurologiques  |
| Organophosphorés      | - Troubles digestifs (crampes abdominales, nausées, vomissements, diarrhées)<br>- Troubles respiratoires (œdème pulmonaire)<br>- Troubles cardio-vasculaires (bradycardie)<br>- Troubles neuromusculaires (incontinence vésicale et rectale) |
| Pesticides divers     | - Troubles de la vision, salivation, coma, convulsion, anxiété et vertiges<br>- Dermite de contact et irritations<br>- Lésions cutanées.   |

### F - 4 - 2 - Les intoxications chroniques

C'est la manifestation d'effets toxiques, après administration ou application répétée, quotidienne ou fréquente, d'une ou de plusieurs quantités de pesticides sur une période très longue. Chez l'homme, elles sont surtout rencontrées dans les milieux professionnels : chez les fabricants et utilisateurs de pesticides [4].

La toxicité chronique se manifeste par des effets très divers car il a été démontré que les pesticides sont capables d'endommager le système immunitaire ou de perturber les régulations hormonales [25].

Parmi ces effets on retrouve :

- Les effets cancérogènes.
- Les atteintes neurologiques
- Les troubles rénaux.

- Les atteintes dermatologiques.
- Les atteintes respiratoires.
- Les effets de bioaccumulation [15].
- Les effets sur la reproduction – naissance de dix-huit bébés encéphalés (sans cerveau) sur deux mille venus au monde dans un hôpital hondurien [27].
- Les effets sur l'immunité.
- Les effets ophtalmologiques [19].

### **F - 5 - Réglementation et outils toxicologiques**

On retrouve une multitude de normes concernant les pesticides aussi bien pour leur emploi, leur stockage que leur vente. Celles qui nous intéressent restent sans aucun doute les normes qui permettent de déterminer la toxicité des pesticides.

Les principaux paramètres normatifs utilisés couramment pour exprimer la toxicité sont définis ci-après :

#### **Dose Létale 50 (D.L.<sub>50</sub>)**

C'est la dose d'une substance provoquant cinquante pour cent des décès chez une population déterminée après un temps d'application et une durée d'observation déterminée.

Elle s'exprime en général en mg / kg de poids vif et s'utilise pour exprimer la toxicité aiguë d'un produit [9].

Le tableau 8 classe les pesticides par degré de risque pour l'homme suivant la D.L.<sub>50</sub> [11].

**Tableau 8 : Classification O.M.S. des pesticides par degré de risque pour l'homme [19].**

| CLASSE DE RISQUE |                       | D.L. <sub>50</sub> (POUR LE RAT) (mg/kg DE POIDS CORPOREL) |          |                  |          |
|------------------|-----------------------|--|----------|------------------|----------|
|                  |                       | PAR VOIE ORALE   |          | PAR VOIE CUTANEE |          |
|                  |                       | SOLIDE   | LIQUIDE  | SOLIDE           | LIQUIDE  |
| Ia               | Extrêmement dangereux | < 5  | < 20     | < 10             | < 40     |
| Ib               | Très Dangereux        | 5-50   | 20-200   | 10-100           | 40-400   |
| II               | Modérément Dangereux  | 50-500   | 200-2000 | 100-1000         | 400-4000 |
| III              | Peu dangereux         | >500   | >2000    | >1000            | >4000    |

**Dose Sans Effet (D.S.E.)**

C'est la dose la plus élevée qui ne provoque encore aucun effet décelable chez les animaux soumis à un essai donné [9].

**Dose Journalière Admissible (D.J.A.)**

C'est la dose journalière acceptable ou admissible pour l'homme c'est à dire la dose exprimée en mg / kg de poids corporel qu'un homme peut absorber chaque jour pendant toute sa vie sans qu'il en résulte d'effets nocifs pour sa santé.

Elle s'exprime en mg / kg / jour et est déterminée à partir de la dose sans effet chez l'animal divisée par un facteur de sécurité variable selon les produits [9].

**Limite Maximale de Résidus (L.M.R.)**

Elle représente la concentration en résidus la plus élevée légalement acceptable pour que les denrées restent commercialisables.

Il existe pour chaque produit des L.M.R. nationales et des L.M.R. internationales ( C.E.E., O.M.S., F.A.O., Codex alimentarius ) qui sont utilisées lors des échanges internationaux des denrées.

Les L.M.R. sont fixées en tenant compte de la D.J.A., du panier de la ménagère, et des résidus retrouvés dans les conditions de la bonne pratique agricole [9].

**Concentration Létale 50 (C.L.<sub>50</sub>)**

C'est la concentration qui provoque la mort de cinquante pour cent des animaux. Elle s'exprime en mg / l ou mg / m<sup>3</sup> [9].

**Concentration Maximale Admissible (C.M.A.)**

Elle Indique la concentration maximale admissible dans l'atmosphère du lieu de travail [9].

**Dose Maximale Tolérée (D.M.T.) (ou Dose Maximale Tolérable) :**

C'est la dose calculée en tenant compte du rapport bénéfice/risque, elle est parfois préférée à la D.J.A. [9].

**Teneurs Indicatrices (T.I.)**

En l'absence de D.J.A. établie ou de L.M.R. on donne des teneurs indicatrices (mg/kg de produits frais) qu'il convient de ne pas dépasser [9].

Les travaux de la F.A.O./ O.M.S. ont établi les D.J.A. et les L.M.R. pour la quasitotalité des pesticides. Pour de nombreuses denrées alimentaires classées par groupes de produits, les L.M.R. sont informatisées à la F.A.O., ce qui permet d'informer régulièrement sur les acceptations de L.M.R. des produits individuels ou des groupes de produits, les pesticides et les pays [28].

### **F - 6 - Comment prévenir les intoxications par les pesticides**

Il ressort des estimations des chapitres précédents qu'un effort important s'impose pour prévenir les millions d'intoxications par pesticides recensées chaque année. Parmi ces intoxications, la proportion des tentatives de suicides aux pesticides a atteint un stade alarmant et pose le problème de la prévention dans toute son acuité. D'ores et déjà, il faudrait que la vente directe aux non-utilisateurs de pesticides, ne soit plus aussi simple qu'elle ne l'a été à ce jour [19].

Le fabricant et le responsable de la formulation, de l'étiquetage ou de l'homologation du produit auprès de l'autorité nationale compétente, doivent veiller à ce que le produit mis en vente porte une étiquette rédigée dans la langue utilisée dans la région avec les indications suivantes : précautions d'emploi, mise en garde au sujet des dangers potentiels, spécifications des matières actives ainsi que les autres ingrédients et directives en vue des premiers soins en cas d'intoxication y compris la désignation des antidotes [19].

La législation dans chaque pays doit imposer à l'importateur et à l'utilisateur de tout pesticide des conditions rigoureuses eu égard à ses effets toxicologiques et écologiques [19].

La mauvaise utilisation des pesticides est souvent le résultat de l'ignorance. Seules l'éducation et la formation peuvent y remédier. De nombreuses méthodes sont utilisées à cette fin : éducation et formation des personnels de santé et des travailleurs agricoles qui exercent un rôle d'animateur dans leur collectivité, émissions de sensibilisation radiodiffusée etc...

Une surveillance régulière des résidus de pesticides dans l'air, le sol, l'eau et les produits alimentaires s'impose [19].

## CHAPITRE II

### LES RESIDUS DE PESTICIDES

Avant d'aborder les différentes méthodes d'analyse des résidus de pesticides, nous allons, dans ce chapitre, étudier la sensible question de l'influence directe de leur usage sur l'homme et son environnement.

Cette influence se manifeste par ce qui a été défini précédemment comme résidus de pesticides que l'on retrouve aussi bien dans l'air ambiant que nous respirons que dans nos assiettes journalières.

C'est la question nodale que pose aujourd'hui l'usage inconsidéré des pesticides. Sources de préoccupations majeures de santé publique, les résidus de pesticides, dont la nocivité n'est plus à démontrer, sont particulièrement ciblés par la recherche scientifique avec pour objectif évident celui d'en limiter au maximum les dégâts.

Déceler, mesurer ou doser les résidus de pesticides est la problématique que nous allons aborder. Avant d'y parvenir, il est nécessaire de décrire les différentes étapes qu'implique l'utilisation des pesticides pour mieux cerner les causes fondamentales de contamination, autrement dit le pourquoi de la présence de résidus de pesticides.

#### **A - PROBLEMES DES RESIDUS DE PESTICIDES DANS L'ALIMENTATION**

Comme cela a été vu précédemment, face à la nécessité d'augmenter rapidement les rendements des cultures pour répondre à la croissance de la démographie planétaire, la protection des plantes s'est considérablement accélérée depuis une quarantaine d'années, notamment avec le développement de la lutte chimique qui a connu un essor très important en s'imposant comme alternative unique du fait de son faible prix de revient. Malheureusement, l'inconvénient majeur de la lutte chimique, qui cause un énorme problème, réside dans le fait que les concentrations d'un pesticide, après pulvérisation sur des plantes, doivent être suffisamment élevées pour que le produit soit efficace contre les ravageurs non seulement instantanément mais avec un certain différé dans le temps [19].

Le rapport de la concentration efficace à la concentration nocive pour l'homme est très important pour juger du danger encouru lors de l'exposition aux pesticides [19].

Chaque pesticide a sa propre durée d'action à respecter avant la récolte et le respect de ces délais fait partie des bonnes pratiques agricoles [19].

## **B - CAUSES DE CONTAMINATION DES DENREES ALIMENTAIRES**

Dans les pays en voie de développement en général, et en Algérie en particulier, les délais avant récolte ne sont généralement pas respectés. Les résultats d'une enquête menée auprès des agriculteurs en apportent la confirmation. Les pesticides sont souvent utilisés quelques jours seulement, pour ne pas dire quelques heures, avant la récolte. Ce cas se vérifie fréquemment pour la culture de tomate dont la maturité est souvent surprenante. Le risque de pourrissement très rapide oblige sa récolte immédiate, sans tenir compte de la durée d'action du traitement.

Les résidus qui subsistent peuvent alors entraîner une forte contamination si les légumes ou fruits sont consommés peu après la récolte [19].

Parallèlement à la contamination directe provoquée par l'épandage du pesticide, il existe d'autres types de contaminations:

- Lors de l'entreposage et du transport en vrac des denrées alimentaires, sans se préoccuper des quantités utilisées.
- Dans les rizières, ce qui provoque une contamination du poisson à des doses de résidus très importantes [19].

Pour appuyer toutes ces données, nous donnons les résultats du premier rapport de la Commission Européenne, sur les résidus de pesticides dans les fruits et légumes, réunie à Bruxelles le vingt quatre novembre 1998. Ce rapport a révélé que :

- Dans trois pour cent des échantillons prélevés, les résidus de pesticides dépassaient les limites maximales en résidus (L.M.R.) établies par les normes européennes.
- Des résidus de pesticides ont été trouvés dans quarante pour cent des échantillons.
- Sur cinq fruits et légumes contrôlés, la laitue contenait le plus grand nombre de résidus, suivie par le raisin, les fraises, les pommes et les tomates [29].

## **C - PROBLEMATIQUE DE LA PROTECTION DES VEGETAUX**

### **C - 1 - Considérations générales**

La protection phytosanitaire est complexe. Dans certains cas, on pulvérise le pesticide uniquement sur les parties aériennes des plantes. Par contre, dans d'autres cas, on l'applique sur le sol dépourvu de végétation ou pour traitement des denrées en vue de leur conservation (silos à grains, tubercules de pomme de terre etc...).

Dans tous les cas, ces traitements laisseront des dépôts [30].

## **C - 2 - Formation des dépôts de pesticides après traitement**

Dans la lutte phytosanitaire, on doit déposer le pesticide là où les parasites se trouvent ( lutte curative ). Ce dépôt doit rester disponible, en concentration suffisante aussi longtemps que le risque d'attaque persiste. Dans la constitution du dépôt, divers facteurs entrent en jeu [30]:

### **C - 2 - 1 - Type de formulation**

Un même pesticide peut être formulé sous différentes formes : produits pulvérulents pour poudrage, poudres mouillables, solutions émulsifiables, suspensions concentrées, cartouches fumigènes, granulés etc... Trop peu de recherches ont été réalisées pour définir, compte tenu des caractéristiques particulières de ces diverses formulations, celles qui assurent, pour une culture donnée, un dépôt minimum pour une efficacité maximale [30].

### **C - 2 - 2 - Type de culture**

Les surfaces végétales présentent des aspects très variés. Certaines sont difficiles à mouiller ( Ex. la feuille de chou et de poireau ), d'autres par contre se mouillent très facilement ( Ex. la feuille de haricot et de pomme de terre ). Certaines sont glabres ( Ex. La feuille de betterave ), d'autres velues ( Ex. la feuille de tabac ). Aussi, on conçoit aisément que la quantité de pesticide déposée dépendra de la morphologie des plantes [30].

### **C - 2 - 3 - Le mode de traitement**

Les modes de traitement ont une influence considérable sur le dépôt initial ou ce qui subsiste du produit appliqué sur le substrat immédiatement après application. Il est très différent selon le mode d'application ( épandage, pulvérisation etc... ) du pesticide qui devrait être choisi de façon à assurer une efficacité optimale en même temps qu'une contamination minimale des cultures et de l'environnement [30].

### **C - 2 - 4 - Dosage**

La quantité de pesticide appliquée ne devrait pas dépasser le minimum requis pour obtenir les résultats recherchés.

Le nombre de traitements devrait dépendre de l'efficacité recherchée et de la gravité de l'attaque [30].

### **C - 2 - 5 - Le moment de l'application**

Le traitement devrait être effectué de préférence au moment où les conditions climatiques et les pratiques culturales garantissent une efficacité maximale. Dans certain cas,

il peut cependant être nécessaire de prendre des mesures aussitôt après la détection du ravageur.

L'intervalle entre la dernière application et la récolte devrait être le plus long possible de façon à réduire au maximum les résidus sans perdre de vue l'importance du parasite, le degré de protection nécessaire pour une utilisation maximale du produit et la vulnérabilité de la culture traitée immédiatement avant la récolte. C'est pour cela qu'il a été fixé officiellement des intervalles pré-récoltes qui doivent être respectés [30].

Selon le cycle de développement du parasite à combattre, on fait appel soit à un traitement de protection à court terme (produits à faible rémanence) soit à un traitement à long terme (produits à longue rémanence) [30].

En conclusion, toute la problématique de la protection des végétaux se situe au niveau de l'inévitable formation de dépôts de pesticides et ce, quelle que soit la pondération des paramètres ci-dessus évoqués fut-elle la meilleure combinaison possible. Donc, nous pouvons dire que tout traitement laisse derrière lui un dépôt non seulement sur le substrat traité mais aussi en dehors de ce substrat. L'importance de ce dépôt en quantité peut varier en fonction des facteurs cités ci-dessus.

Il résulte donc, dans la pratique, que la protection phytosanitaire se doit de limiter les dépôts. Pour cela, elle doit être orientée vers la recherche de techniques capables, non pas d'éliminer complètement les parasites présents, mais de réduire leur population à un tel niveau que les dommages qu'ils causent soient économiquement supportables. En d'autres termes, on doit utiliser des doses de pesticides qui assurent une protection satisfaisante tout en limitant au maximum les dépôts correspondants [30].

#### **D-METHODES DE RECHERCHE ET DE DOSAGE DES RESIDUS DE PESTICIDES**

De ce qui précède, il ressort que l'efficacité recherchée du traitement sera meilleure si l'on dispose du maximum de renseignements sur les résidus du pesticide appliqué. Pour pouvoir disposer de ces informations il est évident que l'on devra recourir à des méthodes d'extraction pour pouvoir analyser les résidus de pesticides.

Une extraction idéale devrait permettre d'isoler complètement, en une seule fois, le produit à doser de la matière végétale où il a été déposé [30].

Parmi les méthodes d'extraction connues à ce jour, l'utilisation des solvants reste la plus répandue. Toutefois il est impossible d'extraire tous les pesticides avec un seul solvant.

Les solvants organiques généralement utilisés sont le dichlorométhane (qui permet l'extraction d'un maximum de pesticides), l'acétone, l'acétonitrile, l'hexane, l'acétate d'éthyle et le chloroforme.

Pour les composés non polaires et solubles dans les graisses, on peut utiliser à titre d'exemple l'hexane ou l'éther de pétrole soit seuls, soit mélangés avec l'acétone [30].

Pour les composés plus polaires tels que les organophosphorés et les carbamates, on emploie soit le méthanol, le dichlorométhane, le chloroforme, l'acétonitrile ou le benzène [30].

De plus, certains d'entre eux sont solubles dans l'eau, et de ce fait, sont parfois non extractibles avec les solvants organiques.

Il y a lieu de noter cependant que plus le solvant est polaire, plus grande est la matière étrangère coexistante avec les résidus. Ceci implique le passage obligé par une opération dite de purification [30].

Aussi, la technique la plus souvent rencontrée et utilisée consiste en deux phases bien distinctes qui sont l'extraction accompagnée de la purification suivies de la détection des résidus. Ces deux étapes importantes de l'opération sont présentées ci après, chacune dans ses détails les plus significatifs.

### **D - 1 - Extraction et purification des pesticides**

Cette étape de traitement de l'échantillon avant son analyse apparaît comme étant déterminante pour la fiabilité des résultats d'analyse, et l'extraction doit conduire à des taux de recouvrement  $R$  ( ou taux de récupération, ou rendement de l'extraction ) maximaux, avec  $R$  représentant le rapport de la masse mesurée d'un ajout de pesticide à la masse réelle de cet ajout.

De nombreuses méthodes d'extraction de résidus de pesticides de leurs substrats ont été mises au point et permettent la séparation et la concentration des produits à analyser.

Il n'existe pas actuellement de méthodes normalisées et chacune d'elles présente des avantages et des inconvénients. Le choix de la méthode dépend :

- Du ou des pesticides à analyser ( méthode à un seul résidu ou multirésidus ).
- Du matériel et des solvants disponibles.
- De sa facilité de mise en œuvre.
- Des considérations économiques.

On classe les différentes méthodes d'extraction existantes généralement selon l'état physique et la nature de l'extractant. On distingue :

- Extraction liquide-liquide (L-L ou L.L.E. : liquid-liquid extraction).
- Extraction liquide-solide (L-S ou S.P.E. : solide phase extraction) ;
- Extraction par fluide supercritique ( S.F.E. : supercritical fluide extraction ) ;

- Extraction par des méthodes immuno-enzymatiques (E.I.A.: Enzyme Immuno Assays ) [31].
- Extractions par micro-ondes.

### **D - 1 - 1 - La L.L.E.**

Si la L.L.E. est la méthode traditionnelle la plus ancienne, elle reste à l'heure actuelle, et ce malgré l'existence de méthodes autrement plus élaborées, très utilisée et est considérée encore comme celle donnant les résultats les plus fiables. Son principe est basé sur l'utilisation d'un solvant ou d'un mélange de solvants organiques pour extraire les résidus de la phase liquide, généralement aqueuse, de l'échantillon à analyser. Les deux phases ne doivent pas être miscibles entre elles et la phase organique est choisie de manière à avoir la meilleure solubilité possible des produits à analyser. L'extrait est ensuite concentré dans un évaporateur rotatif et / ou par un léger courant d'azote [31].

### **D - 1 - 2 - La S.P.E.**

Cette méthode, plus récente que la L.L.E., utilise des cartouches d'extraction commerciales contenant un support solide sur lequel sont adsorbés ou absorbés, selon le cas, les composés à analyser qui se trouvaient dans une phase liquide.

Les cartouches doivent, au préalable, être conditionnées par percolation à l'aide de solvants appropriés.

Les résidus de pesticides sont ensuite désorbés par élution à l'aide de solvants organiques puis l'extrait est concentré de la même manière que pour la L.L.E., ou bien élué directement par la phase mobile du chromatographe (H.P.L.C. High Performance Liquid Chromatography ou C.P.G. chromatographie en phase gazeuse).

Il existe différents types de supports solides que l'on choisit selon la nature des résidus du pesticide à analyser, de manière à obtenir le meilleur taux de recouvrement possible.

Les polarités du soluté, du support et des solvants sont déterminantes [31].

### **D - 1 - 3 - La S.F.E.**

Elle consiste en un extracteur supercritique couplé à un chromatographe en phase supercritique. L'extraction se fait donc grâce à un fluide supercritique, c'est à dire dans un état intermédiaire entre l'état liquide et l'état gazeux (le dioxyde de carbone CO<sub>2</sub>, en général, à 300-350 atm et 50-60°C). Les fluides supercritiques s'avèrent être d'excellents solvants d'extraction, aussi bien pour les résidus de pesticides polaires que non polaires, se trouvant dans divers produits alimentaires. La littérature récente traite de plus en plus de travaux

relatifs aux résidus de pesticides utilisant cette méthode. Sa mise en œuvre est, de plus, très simple, rapide, peu coûteuse et ne nécessite pas de solvants organiques.

Cependant cette méthode n'est pas normalisée pour le moment, car elle comporte encore certains facteurs limitants, mais elle continue à se développer [31].

Bien que beaucoup de méthodes aient été développées, la L.L.E. reste, comme nous l'avons dit précédemment, la plus utilisée par la majorité des laboratoires. On observe cependant de légères variantes du protocole en ce qui concerne le choix du solvant et de la méthode de purification comme peuvent l'illustrer les quelques exemples d'extractions purifications décrits ci dessous:

- La seule méthode que nous avons trouvée dans la littérature consultée, pour le **Méthomyl**, est une extraction à l'acétate d'éthyle suivie d'une purification à l'aide d'une partition liquide - liquide sans précision aucune [32].

Pour les autres pesticides pyréthrinoïdes, la bibliographie étant plus riche, on peut citer plusieurs méthodes d'extractions purifications :

- Une extraction des résidus de **Cyperméthrine**, du **Fenvalerate** et de la **Deltamethrine** dans le chou-fleur est réalisée avec un échantillon de 50 g de feuilles de chou-fleur qui est mélangé avec 100 ml d'acétonitrile. On agite pendant trois minutes, après quoi on filtre sur buchner. On refait la même opération avec le filtrat mais avec 50 ml d'acétonitrile. On obtient un extrait global de 150 ml qu'on dilue avec 600 ml d'une solution composée pour 10 % en volume d'une solution aqueuse de chlorure de sodium et 90 % d'hexane. Le mélange obtenu est séché sur sulfate de sodium anhydre, et après filtration, le tout est concentré à 5 ml avec un évaporateur rotatif. La purification s'effectue sur une colonne (30 cm de hauteur et 1,2 cm diamètre) remplie avec du silica gel activé pendant 2 heures à 130 °C et tassé en boue avec 100 ml d'hexane. On élue avec 150 ml de benzène ; les 30 premiers ml de l'éluat sont rejetés car ne contenant pas de résidus, tandis que le reste est récupéré et concentré à 5 ml et analysé par H.P.L.C. [33].
- Une extraction de résidus de **Phosalone** dans les pommes destinées à la nourriture pour bébés est réalisée avec un échantillon de 50 g de matière fraîche ou 10 g de matière sèche (pommes déshydratées). Cet échantillon est mélangé avec 200 ml

d'une solution composée de 80 % en volume d'acétate d'éthyle et de 20 % de dichlorométhane.

On agite le mélange pendant une heure. Après quoi, on filtre sur buchner et on concentre avec un évaporateur rotatif. La détection se fait par chromatographie en phase gazeuse (C.P.G.) couplée à un détecteur photomètre de flamme (F.I.D.) [34].

- On rencontre un autre exemple de mode d'extraction qui est celui du **2-4-5 T** dans plusieurs végétaux. L'opération se réalise avec de l'acétone et une solution de 100 g / l de chlorure de sodium. Après une première concentration, le **2-4-5 T** est extrait avec un mélange d'acétate d'éthyle et d'hexane (20 – 80 % en volume respectivement). Le tout est évaporé à sec, récupéré avec de l'acétonitrile et analysé par C.P.G. ou H.P.L.C. [35].

- Une extraction de résidus de **Deltaméthrine** et de **Fenvalerate** à partir du blé s'effectue avec de l'hexane en utilisant 5 g d'échantillon. L'extrait est concentré avec un jet d'azote liquide.

La purification s'effectue dans une pipette Pasteur (22,5 x 0,5 cm) remplie de 0,5 mg de florasil désactivé et complétée avec 0,5 g de sulfate de sodium anhydre. Le tout est activé avec 3 ml d'hexane. On fait passer l'extrait sur cette colonne de purification. Le résidu est élué avec 5 ml de benzène, recueilli et analysé par C.P.G. [36].

- Un autre mode d'extraction de la **Deltaméthrine** de certains aliments (carotte et tomate) s'effectue à l'aide de chloroforme. Après concentration, intervient la purification sur colonne chromatographique remplie de silica gel. Le résidu est alors élué avec du chlorure de méthylène qu'on fait passer une nouvelle fois sur évaporateur rotatif. Le résidu sec est repris avec de l'acétone et dosé par une méthode colorimétrique [37].
- Une méthode rapportée par plusieurs publications est celle de l'extraction de certains pyréthrinoïdes avec 150 ml d'hexane, suivie d'une purification sur colonne de silica gel en utilisant de l'acétonitrile comme éluant. L'échantillon est ensuite dosé par chromatographie H.P.L.C. ou C.P.G. [38].

- Cependant la méthode qui revient le plus souvent, à savoir celle dont s'inspire notre travail, est la méthode dite de Mills [39]. On citera l'exemple de l'extraction de résidus de l'**Endosulfan** à partir du piment, concombre et tomate cerise, pour lequel le protocole est le suivant :

100 g d'échantillon sont mélangés à 200 ml d'acétonitrile pendant 2 min et le tout est filtré sur buchner.

Le filtrat est transféré dans une ampoule à décanter d'un litre. On ajoute 100 ml d'éther de pétrole et on agite vigoureusement pendant 2 min. Après quoi, on rajoute 10 ml d'une solution de chlorure de sodium saturée et 600 ml d'eau distillée. On agite de nouveau et on laisse reposer.

On sépare les deux phases en gardant la phase organique. On rince l'ampoule avec deux portions de ( 2 x 100 ml ) d'eau distillée et on laisse décanter. On sépare les deux nouvelles phases, et la phase organique nouvellement obtenue est rajoutée à la précédente.

On rajoute à cette dernière, 10 g de sulfate de sodium anhydre et on filtre sur buchner. Le papier filtre est rincé avec 10 ml d'éther de pétrole qui est rajouté au filtrat. On concentre par la suite avec un évaporateur rotatif à 40°C jusqu'à 1 à 2 ml que l'on complète à 10ml avec de l'éther de pétrole. Ainsi, l'échantillon est prêt à être analysé par **C.P.G.** couplé à un détecteur à capture d'électron (**E.C.D.**) [39].

#### **D - 2 - Méthodes de dosage des résidus de pesticides dans les extraits purifiés**

Une fois l'extrait purifié obtenu, la phase finale de l'opération consiste à doser les résidus qu'il contient.

De nombreuses méthodes existent à cet effet, mais la disponibilité de l'appareillage nécessaire et adapté d'une part ainsi que le coût de l'opération d'autre part seront les principaux facteurs qui imposeront en fin de compte le choix définitif.

La pratique des méthodes disponibles montre que :

- La plus utilisée est la **C.P.G.** couplée à un détecteur qui peut être soit un **E.C.D.**, un **F.I.D.**, un catharomètre ou encore un détecteur azote phosphore [30], [34], [36], [38], [39]. Elle est très performante pour les substances apolaires, stables à la chaleur

et volatils. Quant aux autres substances, elles doivent subir préalablement une dérivaison (Ex. méthylation avec le diazométhane pour les acides chlorés) [31].

- La **H.P.L.C.** s'applique fréquemment pour la plupart des pesticides [33], [35]. Elle est devenue très populaire depuis la mise sur le marché de nouveaux pesticides polaires et/ou thermolabiles et qui ne peuvent pas être étudiés par **C.P.G.** sans dérivaison.

Pour cette méthode, les détecteurs peuvent être :

- Le spectrographe U.V. [31].
- La barrette de diode [31].
- La fluorescence (pour les pesticides fluorescents) [31].

L'analyse des résidus peut faire appel également à d'autres méthodes parmi lesquelles nous nous limiterons à citer la **C.P.G.** couplée à une spectrométrie de masse ou encore la méthode colorimétrique spécifique aux thiocyanates et cyanure [37].

Dans le prochain chapitre qui traitera des méthodes chromatographiques, nous nous attarderons sur la **C.P.G.** et la **H.P.L.C.** en précisant que cette dernière est celle qui a été retenue pour le dosage de résidus de pyréthriinoïdes et de carbamates et donc exploitée pour la partie expérimentale de notre étude.

## CHAPITRE III

### LES METHODES CHROMATOGRAPHIQUES

#### A - INTRODUCTION

Aucune définition de la chromatographie n'est parfaite car ce terme désigne un ensemble de méthodes de séparation basées sur différents principes physiques [40].

La chromatographie a bouleversé le domaine de l'analyse aussi bien qualitative que quantitative. Ce succès tient, dans une large mesure, du fait de l'association d'une méthode séparative rapide et performante et des détecteurs sensibles et variés permettant non seulement une quantification des espèces séparées, mais aussi, pour certains d'entre eux, une identification même des espèces [41].

De ce fait, la chromatographie se prête bien à l'analyse de mélanges complexes tels ceux que l'on peut rencontrer dans des domaines aussi différents que les produits pétroliers, les polymères ou les fluides biologiques et à l'analyse de traces dans des milieux aussi vastes que variés auxquels se consacre l'étude de l'environnement [41].

C'est d'ailleurs à ce dernier point particulier que s'intéresse notre étude intitulée "recherche de résidus de pesticides dans les aliments".

#### B - PRINCIPE

Dans toute méthode chromatographique, les séparations sont fondées sur la distribution des solutés entre deux phases non miscibles, l'une fixe, dite «phase stationnaire», l'autre en mouvement, dite «phase mobile». La figure 5 schématise un système chromatographique [41].

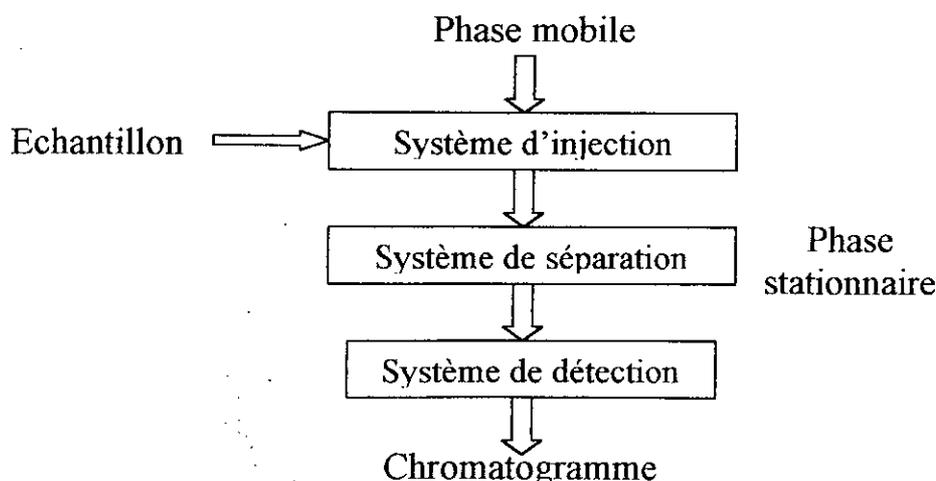


Figure 5 : Schéma d'un système chromatographique [41].

De la sorte, l'opération de partage des espèces à séparer entre les deux phases se trouve répétée automatiquement un très grand nombre de fois, pour chaque espèce, de manière continue, permettant ainsi l'exploitation de différences minimales du coefficient de distribution des espèces entre les deux phases [41]. Alors que la phase mobile tend à entraîner les espèces à séparer dans son mouvement, la phase stationnaire tend à les retenir, d'autant plus fortement que les interactions mises en jeu sont plus intenses, nombreuses et plus énergétiques. Il en résulte que les analytes ont, pour la plupart, des vitesses de déplacements différentes et inférieures à celle de la phase mobile, d'où la notion de «rétion» et la possibilité de «séparations » [41].

Couplé à un système d'injection des échantillons à analyser et à un système de détection en continu au sein d'un chromatographe, un tel système de séparation permet des analyses fines d'une grande qualité dans la mesure où les différents constituants des mélanges sont séparés avant de déterminer leurs quantités.

La phase stationnaire peut être disposée:

- Soit dans une colonne où la phase mobile percole à débit (ou pression) constant: c'est la **chromatographie sur colonne**.
- Soit en couche mince sur un support plan (plaque de verre, film plastique ...) et la phase mobile se déplace par capillarité : c'est la **chromatographie planaire**.

Dans le premier cas, on exploite les différences de vitesses de déplacement des différentes espèces.

Dans le second, on exploite ces mêmes différences en termes de distance parcourue par chaque espèce à temps de développement donné [41].

## **C - PRINCIPAUX MECANISMES**

Il existe cinq mécanismes de chromatographie (utilisés séparément ou en association) qui se distinguent, sur une base théorique, par la nature des forces agissant entre le support, la phase mobile et les molécules à séparer [40].

### **C - 1 - La chromatographie d'adsorption**

Elle est utilisée sur un support adsorbant qui fixe les molécules à séparer par des liaisons hydrophobes ou des forces de Van Der Waals. La grande surface d'échange fait que ces liaisons s'établissent facilement, et que les molécules fixées peuvent aussi être facilement libérées. L'intensité de la fixation dépend de la nature chimique des molécules adsorbées ou de la possibilité de leur fractionnement.

### **C - 2 - La chromatographie d'échange ionique**

Elle est basée sur la formation de liaisons ioniques ; le support ou échangeur d'ions est constitué de volumineuses molécules insolubles, hérissées de charges électriques toutes de même signe. Quand le support est chargé positivement il échange des anions et quand il est chargé négativement il échange des cations. Les ions fixés sont appelés ions inéchangeables et sont retenus avec une force plus ou moins grande suivant l'importance de leur charge et de leur nature chimique [40].

### **C - 3 - La chromatographie de filtration**

Elle est basée sur la taille des molécules. Elle utilise un support fait de grains d'une matière poreuse (un gel) qui ne laisse pénétrer que les petites molécules. Les grosses molécules sont alors exclues du gel et sont éliminées en premier, tandis que les petites molécules ne sortent du gel que plus tardivement [40].

### **C - 4 - La chromatographie de partage**

Elle utilise comme phase stationnaire un support imprégné avec un liquide convenable.

La séparation est fondée sur le partage des solutés entre la phase imprégnée et la phase mobile. Elle dépend des différences de solubilité des solutés dans les deux phases liquide-liquide ou liquide-gaz selon le type de chromatographie.

### **C - 5 - La chromatographie d'affinité**

Elle utilise des interactions spécifiques comme les liaisons enzyme – substrat ; l'un des deux membres du couple, par exemple, l'enzyme attachée à un support poreux, sert à adsorber spécifiquement l'autre à partir d'un mélange [40].

## **D - PRINCIPALES METHODES CHROMATOGRAPHIQUES**

Il existe trois principales méthodes chromatographiques dont nous allons définir les principes.

### **D - 1 - Chromatographie de surface** (sur feuille et couche mince)

Le dispositif séparateur comprend deux phases, l'une fixe et l'autre mobile. La phase fixe pulvérulente (chromatographie sur couche mince) ou fibreuse (chromatographie sur feuille) présente une affinité pour les substances chromatographiées ou solutés (phase active proprement dite ou phase active retenue par un support interne). L'autre phase appelée phase

mobile est un liquide approprié qui progresse par capillarité et provoque le déplacement des substances (élution) à des vitesses différentes, le long du dispositif séparateur et dans la direction de progression du solvant chromatographique (phase mobile ou éluant) [42].

### **D - 2 - Chromatographie en phase gazeuse**

La chromatographie en phase gazeuse (C.P.G.) est une méthode de séparation dont les principes généraux sont les mêmes que ceux énoncés pour la chromatographie en général, c'est à dire fondés sur la migration différentielle des constituants d'un mélange à analyser au travers d'un substrat choisi. La particularité du procédé est de travailler en totalité avec des produits volatils ou volatilisés, ce qui implique le maintien d'une température minimale convenable, sans qu'il y ait volatilisation du substrat, et de travailler en circuit étanche aux gaz [43].

La phase mobile est un gaz, dit gaz vecteur, et les solutés sont introduits dans la colonne directement s'il s'agit d'un échantillon gazeux ou après volatilisation dans la chambre d'injection chauffée s'il s'agit d'un échantillon liquide [41].

#### **D - 2 - 1 -Description d'un chromatographe en phase gazeuse**

Un chromatographe se compose fondamentalement des parties suivantes :

- L'injecteur qui permet d'introduire le mélange à analyser dans le circuit gazeux sans la rupture de celui-ci.
- La colonne dans laquelle est enfermée la phase stationnaire qui va engendrer le processus de migration différentiel des éléments du mélange à analyser. Ces éléments appelés solutés sont entraînés dans la colonne par la poussée du gaz vecteur. C'est donc la partie primordiale du chromatographe, puisque son choix est déterminant dans la qualité des séparations effectuées [43].
- Le détecteur qui permet de suivre en continu la séparation et de mesurer la concentration des solutés. Des signaux sont transmis à un enregistreur intégrateur qui permet de représenter le profil des courbes d'élution ou chromatogrammes [43].

#### **D - 2 - 2 - Grandeurs de rétention**

Les solutés introduits dans le flux du gaz porteur sont retenus par le matériau contenu dans la colonne. Il s'établit un équilibre, ou pseudoéquilibre, entre la concentration des molécules du soluté dans la phase fixe et la concentration des molécules du même soluté dans la phase gazeuse, ou phase mobile. Le rapport des deux s'appelle «**coefficient de partage K**»

Si les conditions d'équilibre thermodynamique sont remplies d'une façon idéale, les molécules du soluté se disperseront de façon gaussienne, et leur distribution à la sortie de la colonne peut être représentée par une courbe de **Gauss**, en forme de pic. On utilise des détecteurs dont le signal donne directement de tels pics sur l'enregistreur.

Comme les conditions d'équilibre thermodynamique ne sont que rarement idéales, les pics sont légèrement déformés, soit vers l'aval (traînée), soit vers l'amont (front diffus), comme le montre la figure 6 [42].

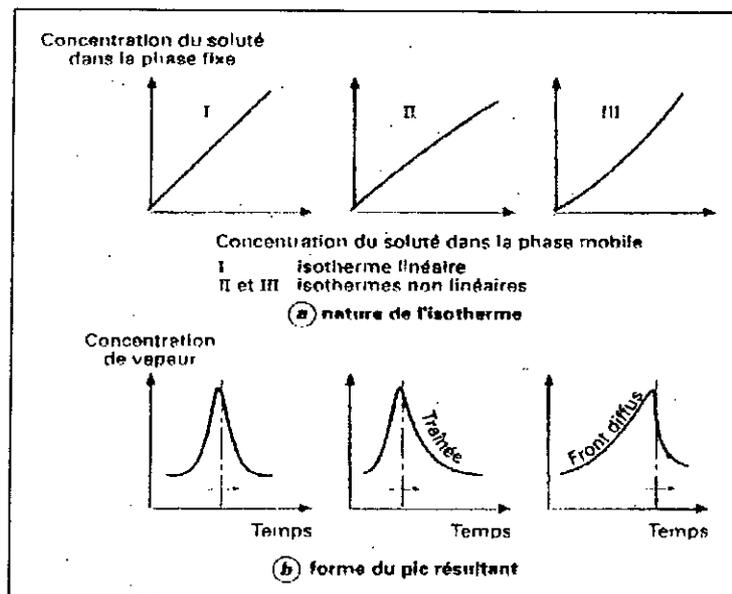


Figure 6 : Forme des pics suivant la forme de l'isotherme d'adsorption [43].

On appelle « **temps de rétention ( $t_R$ )** » celui qui s'écoule entre le moment de l'injection du soluté et le moment où le maximum de concentration du soluté sort de la colonne (sommet du pic). C'est le temps de séjour du produit concerné dans l'appareil.

Comme le papier se déroule avec un mouvement d'horlogerie avec une vitesse  $u_R$ , la distance mesurée sur le chromatogramme entre le point d'injection et le sommet du pic est proportionnelle à  $t_R$ . On l'appelle distance de rétention  $d_R$  et se calcule par la formule

$$d_R = u_R \times t_R \quad (1)$$

En chromatographie isotherme et isobare, le flux du gaz vecteur dans la colonne est constant et mesuré par son débit  $D_S$  à la sortie de la colonne. Au temps  $t_R$  est associé un

volume

de gaz porteur, le **volume de rétention**  $V_R$  tel que :

$$V_R = D_s \times t_R = D_s \times \left(\frac{d_R}{U_R}\right) \quad (2)$$

C'est le volume de gaz vecteur nécessaire pour que le soluté traverse tout l'appareil, compte tenu du freinage provoqué par les interactions entre le composé et le contenu de la colonne.

Notons que, si de telles interactions sont nulles, il faut quand même un certain temps  $t_m$  pour que le soluté parcourt tous les éléments du chromatographe, temps pendant lequel s'est écoulé un volume de gaz vecteur :

$$V_m = D_s \times t_m \quad (3)$$

$V_m$  représente la mesure du **volume mort** de l'appareil.

Un tel produit donne un pic de **distance de rétention**  $d_m$ . On l'appelle souvent **pic de l'air**, car dans un très grand nombre de cas, ni l'azote, ni l'oxygène ne sont retenus par les matériaux de remplissage de la colonne, et n'étant pas séparés, ils donnent un seul pic qui permet de calculer  $V_m$ . On peut être amené à choisir le méthane comme repère du volume mort quand le détecteur ne donne pas de signal au passage de l'air.

Si l'on soustrait  $V_m$  de  $V_R$ , on introduit une correction qui permet de calculer le volume de gaz vecteur lié à la rétention du soluté par le remplissage même de la colonne. C'est le **volume de rétention corrigé** (ou réduit)

$$V'_R = V_R - V_m \quad (4)$$

auquel on associe le **temps de rétention corrigé**

$$t'_R = t_R - t_m \quad (5)$$

et la **distance de rétention corrigée**

$$d'_R = d_R - d_m \quad (6)$$

On peut relier le volume de rétention au coefficient de partage  $K$  par l'équation

$$V_R = V_m + K \times V_f \quad (7)$$

où  $V_f$  représente le **volume du remplissage actif** de la colonne, c'est à dire :

$$V'_R = V_f \times K \quad (8)$$

Toutes ces grandeurs de rétention sont représentées sur la figure 7.

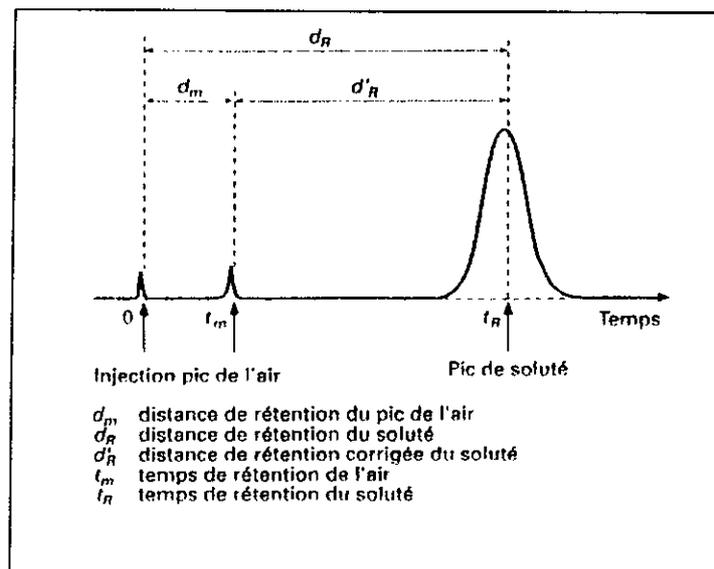


Figure 7 : Grandeurs de rétention brutes et réduites [43].

### D - 2 - 3 - Facteurs importants de la chromatographie en phase gazeuse

#### a - Types de colonne

La colonne chromatographique est le cœur du système, le lieu où se produit la migration différentielle des solutés conduisant à leur séparation. Le substrat est un produit solide ou liquide fixé sur un solide, introduit dans le tube nommé **colonne** [43].

On distingue les **colonnes à remplissage**, constituées d'une tubulure en verre, acier ou métal (les plus fréquentes sont en acier inoxydable), de dimensions courantes (diamètre intérieur : 2 à 6 mm ; longueur : 1 à 10 m), remplies d'un lit continu et homogène de **granulés** constituant soit un produit **adsorbant** soit un produit inactif appelé **support** imprégné d'un film mince d'un liquide lourd, à faible pression de vapeur, qui constituera la phase stationnaire [43].

Par ailleurs, on utilise de plus en plus fréquemment des **colonnes capillaires** en métal, en verre ou, surtout, en silice fondue, généralement gainées de polyamide pour leur conférer une meilleure résistance mécanique.

On distingue les colonnes microcapillaires dont le diamètre interne classique est 0,25 mm, mais qui peut être de 0,1 mm, et les colonnes macrocapillaires dont le diamètre interne est plus élevé à savoir 0,53 mm et parfois même 0,75 mm [43].

Les colonnes capillaires ont la caractéristique commune de présenter un canal largement ouvert, donc de ne générer qu'une faible perte de charge pour le passage du gaz

vecteur. L'intérêt de cette importante caractéristique offre la faculté d'allonger loiblement la dimension de la colonne. Mais, comme leur efficacité est élevée, on peut souvent se contenter de colonnes courtes (quelques mètres) permettant des analyses ultrarapides [43].

Des colonnes capillaires remplies de granulés de très petit diamètre (quelques micromètres) constituent une solution intermédiaire, avec une longueur généralement de quelques mètres au maximum [43].

La phase stationnaire peut être déposée sur un support à l'intérieur de la colonne ou bien greffée à la paroi de cette dernière [43].

De par leur constitution, les colonnes capillaires se sont avérées très efficaces pour les analyses de composés à l'état de traces comme pour les résidus de pesticides et leur rendement est nettement meilleur que celui des colonnes garnies.

La hauteur d'un plateau théorique  $\bar{H}$  est définie par le nombre de fois avec lequel se produisent les séparations entre les deux phases tout le long de la colonne. L'efficacité d'une colonne chromatographique, dont dépend l'étalement du pic, est mesurée pour chaque composé, par le nombre de plateaux théoriques  $N$  de la colonne. Pour une même hauteur de colonne, plus la hauteur du plateau est petite plus l'efficacité de la colonne est grande.

Une colonne de remplissage bien préparée peut atteindre une efficacité de l'ordre de mille cinq cents plateaux théoriques par mètre, soit  $\bar{H}$  ( hauteur d'un plateau = 0,66 mm ).

Avec des colonnes capillaires on atteint facilement deux mille à trois mille plateaux théoriques par mètre ( $\bar{H}$  comprise entre 0,33 et 0,5 mm), jusqu'à dix mille plateaux par mètre pour une colonne de diamètre interne 0,1 mm. En plus, elles offrent la possibilité d'analyse ultrarapide et une facilité accrue du couplage avec les techniques spectrométriques, raison pour laquelle on les trouve aujourd'hui utilisées intensivement dans la plupart des laboratoires.

### **b - Résolution des colonnes**

Pour deux pics voisins A et B dans un chromatogramme, il est intéressant de calculer la valeur suivante appelée «résolution », qui indique le degré de séparation de deux pics :

$$R = 2 \times \frac{(d_R)_A - (d_R)_B}{\omega_A + \omega_B} \quad (9)$$

avec :  $d_R$  distance de rétention,

$\omega$  largeur du pic à la base.

Deux pics sont totalement séparés si  $R \geq 1,5$  (résolution limite théorique).

S'ils se chevauchent légèrement, l'analyse quantitative précise est possible si  $1 \leq R \leq 1,5$  (résolution limite pratique).

La figure 8 nous montre ces différents cas :

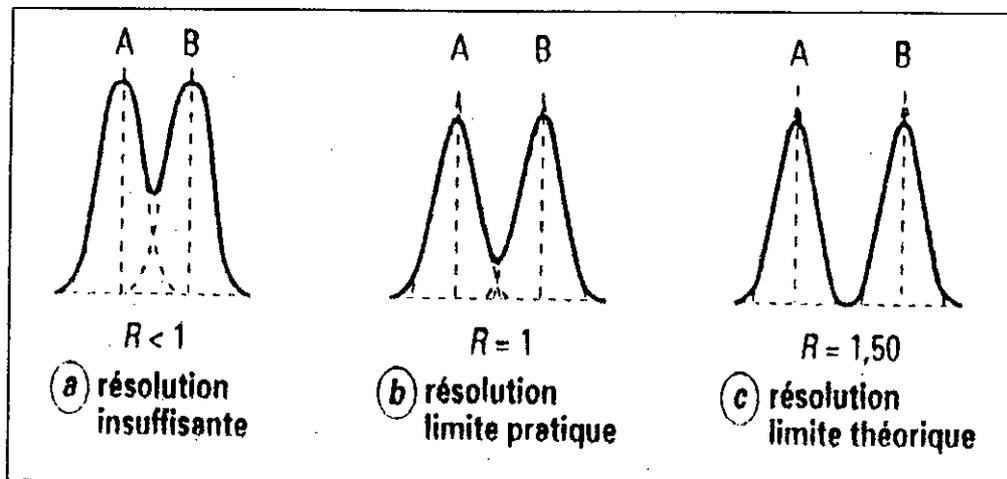


Figure 8 : Résolution  $R$  de deux pics voisins A et B [43].

#### D - 2 - 4 - Types d'analyse

##### a - Analyse qualitative (identification)

Les principes qui ont servi à expliquer la séparation chromatographique montrent que les valeurs de rétention peuvent permettre d'identifier les pics constituant le chromatogramme.

##### a - 1 - En chromatographie isotherme

Pour une phase stationnaire donnée, le volume de rétention spécifique est caractéristique du soluté concerné. Mais sa mesure précise est difficile. Elle n'est pas possible avec un chromatographe courant. C'est pourquoi on préfère avoir recours aux valeurs de rétention relatives, c'est à dire en rapportant la grandeur correspondante d'un soluté inconnu à celle d'un produit connu, injecté sur la même colonne dans les mêmes conditions.

Des tables ont été constituées pour différentes phases stationnaires et températures. Néanmoins, un certain nombre de contraintes existent au niveau du choix des étalons et on préfère souvent se référer à une échelle universelle (par exemple celle des indices de rétention proposée par Kovats en 1958) [43].

##### a - 2 - Température programmée

Les formules de calcul des indices de rétention ne sont plus valables, et des

formulations plus précises sont proposées avec l'emploi de logiciels plus ou moins complexes [43].

### **b - Analyse quantitative**

Une fois identifié, le (ou les) soluté(s) présentant un intérêt dans le chromatogramme, celui-ci permet l'analyse quantitative grâce à la relation :

$$m_i = K_i \times A_i \quad (10)$$

qui relie la masse  $m$  du soluté  $i$  injecté à l'aire du pic  $A_i$  représentant ce soluté, en raison de l'allure gaussienne des courbes différentielles tracées sur l'enregistreur. Il est donc nécessaire de mesurer les aires des pics et de déterminer, pour chaque soluté, le **coefficient de proportionnalité  $K_i$** . C'est le cas d'un mélange de substrats.

En définissant par aire du pic la portion de surface comprise entre la courbe elle-même et le prolongement de la ligne de base [43], les méthodes classiques pour la mesure de l'aire des pics sont les suivantes :

- La triangulation où on assimile le pic à un triangle et on calcule son aire.
- L'intégration qui se fait grâce à un intégrateur mécanique ou électronique intégré au chromatographe [43].

### **D - 2 - 5 - Elargissement des possibilités de la chromatographie en phase gazeuse**

Il est possible d'étendre les limites de cette technique en convertissant certains composés polaires solubles dans l'eau ou thermiquement instables en dérivés volatils et stables en utilisant des réactifs de dérivation qui peuvent être :

**a - L'alkylation**: ou substitution d'un groupement alkyl à l'hydrogène actif d'un composé. La méthylation fait partie des réactions d'alkylation. Le réactif de méthylation le plus utilisé est le diazométhane, produit gazeux à température ordinaire qui présente l'inconvénient d'être toxique et explosif [30].

**b - La silylation**: ou substitution d'un groupement triméthylsilyl à l'hydrogène actif d'un composé [30].

**c - L'acylation**: ou substitution d'un radical acyl à l'hydrogène actif d'un composé [30].

**d - L'hydrolyse**: ou certains composés donnent naissance par réaction

d'hydrolyse à des dérivés thermiquement stables [30].

**e - L'oxydation:** Ou certains composés donnent naissance par réaction d'oxydation à des dérivés fournissant une réponse reproductible en chromatographie en phase gazeuse [30].

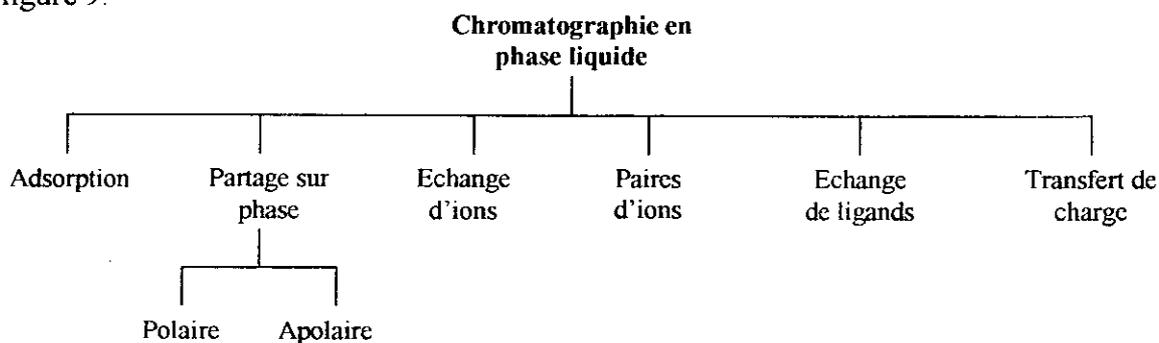
### **D - 3 - La chromatographie en phase liquide H.P.L.C.**

Les principes de séparation pour la H.P.L.C. sont les mêmes que pour toute autre méthode chromatographique. Sa particularité se situe dans la phase mobile qui est constituée d'un solvant pur ou le plus souvent d'un mélange plus au moins complexe de solvants de grande pureté (solvants pour H.P.L.C.) ainsi que dans l'échantillon à analyser qui est sous forme liquide [41].

La H.P.L.C. est une chromatographie sur colonne. C'est cette dernière qui contient la phase stationnaire (silice vierge ou greffée, polymère moléculaire ou échangeur d'ions) [44].

Chaque soluté injecté dans la colonne est soumis à deux effets antagonistes : un effet d'entraînement par la phase mobile dans laquelle il doit être très soluble et un effet de rétention par la phase stationnaire avec laquelle il interagit [44].

La H.P.L.C. met en œuvre différents mécanismes physiques qui sont représentés sur la figure 9.



**Figure 9 : Méthodes de séparation en chromatographie liquide [44].**

La H.P.L.C. sur colonne est devenue un outil analytique performant utilisé dans des domaines variés. Ce développement est dû à la fois à une meilleure compréhension des mécanismes d'interaction au demeurant, de plus en plus diversifiés, à la meilleure efficacité obtenue avec des phases stationnaires de plus en plus fines (3  $\mu\text{m}$ ) et enfin aux importants progrès réalisés dans le domaine de l'appareillage, en particulier pour la détection [44].

**D - 3 - 1 - Grandeurs de rétention**

On retrouve pratiquement toutes les grandeurs de rétention que nous avons précédemment définies pour la C.P.G.. Elles se résument dans les formules suivantes :

Le **volume de rétention**  $V_R$  est défini par :

$$V_R = D \times t_R = s \times u \times \varepsilon \times t_R \quad (11)$$

avec,  $s$ : section droite de la colonne,

$u$ : vitesse linéaire de la phase mobile,

$\varepsilon$ : porosité de la colonne.

Les espèces n'ayant aucune affinité pour la phase stationnaire, donc non retenues, apparaissent dans l'effluent après un temps  $t_0$  dit **temps de rétention nul** correspondant à l'écoulement du volume de phase mobile  $V_m$  contenu dans la colonne :

$$V_m = V_i + V_p \quad (12)$$

avec,  $V_i$ : volume interstitiel

$V_p$ : volume poreux.

Le volume de rétention est relié directement au coefficient de distribution  $K$  (de partage) par la relation

$$V_R = V_m + K \times V_s \quad (13)$$

avec,  $V_s$  : volume de la phase stationnaire.

Afin de s'affranchir des paramètres géométriques de la colonne, on utilise, pour caractériser la rétention d'un composé, le **facteur de capacité**  $k'$ , défini par le rapport de la quantité de soluté dans la phase stationnaire à la quantité du soluté dans la phase mobile :

$$\text{on a :} \quad k' = \frac{C_s \times V_s}{C_m \times V_m} = K \frac{V_s}{V_m} \quad (14)$$

avec,  $C_s$ : concentration du soluté dans la phase stationnaire.

$C_m$ : concentration du soluté dans la phase mobile.

$$\text{soit} \quad k' = \frac{V_R - V_m}{V_m} = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad (15)$$

il apparaît que le temps de rétention est ainsi lié au facteur de capacité par la relation :

$$t_R = t_0 \times (1 + k') \quad (16)$$

En H.P.L.C., la mesure de  $t_0$  (ou  $V_m$ ) ne peut se faire qu'en injectant un composé

dont on est sûr qu'il n'est effectivement pas retenu sur la colonne dans les conditions choisies. On injecte à cet effet une petite quantité ayant une force éluante inférieure à celle de la phase mobile [44].

### **D - 3 - 2 - Efficacité des colonnes**

Comme les pics d'éluion ont la forme de la courbe de **Gauss**, le nombre de plateaux théoriques d'une colonne s'exprime, pour un soluté donné, par la relation :

$$N = 16 \times \left( \frac{t_R}{\omega} \right)^2 = 5,54 \times \left( \frac{t_R}{\delta} \right)^2 \quad (17)$$

avec,  $\omega$ : largeur du pic à la base, définie comme la distance entre les points d'intersection des tangentes d'inflexion avec la ligne de base,

$\delta$ : largeur du pic à mi-hauteur.

Ce paramètre, qui rend compte de la cinétique de tous les mécanismes de partage du soluté entre les deux phases, dépend de la nature et de l'intensité de toutes les interactions mises en jeu et, par voie de conséquence, des conditions expérimentales et de la nature même du soluté.

En pratique, on mesure directement  $t_R$  et  $\delta$  (ou  $\omega$ ) sur le chromatogramme, préférant en général la mesure de  $\delta$  à celle de  $\omega$  pour des raisons de meilleure reproductibilité [44].

La hauteur d'un plateau théorique est liée au nombre de plateaux théoriques par la formule :

$$\bar{H} = \frac{L}{N} \quad (18)$$

avec, **L**: longueur de la colonne.

### **D - 3 - 3 - Facteurs importants de la chromatographie en phase liquide**

Une bonne séparation en **H.P.L.C.** implique :

- Que les divers constituants du mélange soient retenus dans la colonne, c'est à dire doivent avoir une affinité pour la phase stationnaire suffisante pour qu'ils apparaissent dans l'effluent après un volume supérieur au volume de la phase mobile contenue dans la colonne.
- Que les différents pics soient bien séparés, ce qui, pour deux pics consécutifs, implique que les bandes de solutés se séparent entre elles (sélectivité) plus vite qu'elles ne s'étalent (efficacité).
- Que l'analyse soit aussi rapide que possible [44].

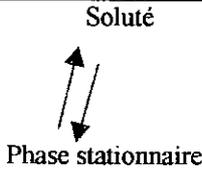
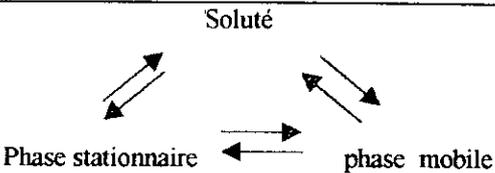
La **H.P.L.C.** se présente ainsi comme une méthode de séparation complémentaire de

la C.P.G. pour l'analyse des solutés peu volatils ou thermodégradables. Elle se distingue de la C.P.G. par la variété des phases stationnaires et partant des interactions mises en jeu et par une température moins élevée; ce qui accroît la force de ces interactions et augmente la sélectivité.

En revanche, la H.P.L.C. est une méthode de mise en œuvre plus délicate que la C.P.G. De plus, malgré les progrès récents, elle souffre encore de l'absence de détecteurs aussi sensibles et universels que la détection à ionisation de flamme de la C.P.G. [44].

Le tableau 9 montre les différences entre la H.P.L.C. et la C.P.G.

**Tableau 9 : Interactions et paramètres gouvernant la rétention des solutés et la sélectivité des méthodes chromatographiques [43].**

| METHODE CHROMATOGRAPHIQUE                           | C.P.G.   | H.P.L.C.   |
|---|--|--|
| Interactions  |                           |    |
| Paramètres régissant la rétention et la sélectivité | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Température</li> <li>• Nature de la phase stationnaire</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nature de la phase stationnaire</li> <li>• Composition de la phase mobile</li> <li>• (température)</li> </ul> |

## E-CONCLUSION

La partie théorique exposée jusqu'à présent, recueillie à partir de plusieurs publications et ouvrages disponibles, se veut être un éventail de données générales sur les pesticides et plus particulièrement de l'impact de leurs résidus sur la qualité de l'environnement et de leur nocivité sur la santé de l'individu.

Son objectif reste fondamentalement axé sur la problématique de ces résidus de pesticides pour lesquels la protection de l'environnement et la préservation de la santé humaine ont imposé la nécessité de pouvoir les mesurer c'est à dire les extraire et les doser pour minimiser les risques induits par l'usage des pesticides devenu incontournable.

Après avoir abordé les méthodes d'extraction et de purification, elle s'attarde sciemment sur la méthode de quantification ou chromatographie qui sera exploitée dans la partie expérimentale.

# Partie Expérimentale

## CHAPITRE IV

### ENQUETES ET STATISTIQUES

#### **A - INTRODUCTION**

Après avoir présenté les généralités sur les pesticides, la problématique de leurs résidus dans l'alimentation ainsi que les méthodes de leur détermination, nous allons, dans cette partie, essayer d'apporter une modeste contribution dans le domaine de la surveillance de la qualité des aliments.

Notre recherche bibliographique nous a amenés à certaines conclusions :

- Il existe des priorités aussi bien pour le type de produit alimentaire agricole que pour le type de pesticide à étudier.
- Les pesticides à rechercher sont choisis suivant le développement de leur commercialisation dans les différents pays. Ceux cités dans la littérature ne représentent donc pas nécessairement le bon choix en ce qui concerne l'Algérie.
- Il faut sélectionner les produits agricoles à contrôler suivant les risques spécifiques qu'ils posent à un environnement donné.
- Les méthodes d'analyses utilisées pour ce genre de contrôle sont principalement la H.P.L.C. et la C.P.G., couplées à différents détecteurs.

Aussi, nous avons commencé notre travail par des enquêtes préliminaires pour connaître les produits agricoles, provenant de cultures maraîchères, les plus consommés en Algérie, ainsi que ceux qui concentrent le plus les pesticides, puis les pesticides les plus utilisés en Algérie. Ces enquêtes nous ont permis de définir un certain nombre de couples produit agricole / pesticide à étudier prioritairement au vu des risques et nuisances qu'ils pouvaient engendrer.

#### **B - CHOIX DES ALIMENTS A ANALYSER**

Le choix des aliments à analyser est un point très délicat car plusieurs critères s'offrent à nous :

- Le choix des aliments les plus consommés en poids
- Les aliments présentant une contamination notoire et qui constituent une partie importante de la ration alimentaire.

- Les aliments se consommant aussi bien crus que cuits, ou seulement crus. Il est en effet connu que la cuisson dégrade souvent les pesticides thermodégradables .

Pour tenir compte de ces trois critères, notre choix s'est porté sur deux espèces très consommées en Algérie, surtout crues, et connues pour présenter une forte contamination [29]. Ce sont la tomate et la laitue.

### C - L'ECHANTILLONNAGE

On peut opter pour deux méthodes d'échantillonnage :

- Une méthode complètement aléatoire où le prélèvement se fait directement sur les lieux de vente ou chez les agriculteurs.
- Une méthode étudiée, où on réalise une plantation et on établit un protocole expérimental avec des doses bien précises de pesticides.

Notre choix s'est porté sur la deuxième solution, car c'est la méthode la plus rationnelle. En effet, cette méthode nous permet de limiter le nombre de pesticides à rechercher, ainsi que les quantités utilisées, d'autant plus qu'il nous été possible de réaliser ceci au niveau de l'I.T.C.M.I.

### D - CHOIX DES PESTICIDES

Les investigations que nous avons menées ont montré qu'il existe plusieurs centaines de pesticides sur le marché algérien et les produits alimentaires sont souvent d'origines locales très différentes. Il est donc nécessaire d'établir des couples aliment/pesticide pour savoir quelle sorte de pesticide rechercher sur un certain type de végétal. Pour ce faire, nous avons effectué des enquêtes auprès des agriculteurs, des grainetiers (importateurs), des revendeurs de produits phytosanitaires et de l'I.T.C.M.I. pour identifier les pesticides les plus vendus et les plus utilisés en Algérie [16].

Les résultats de ces enquêtes pour la région centre sont résumés dans le tableau 10 .

**Tableau 10 : Principaux pesticides utilisés dans la région centre.**

| TYPE DE PESTICIDES | INSECTICIDES | ACARICIDES | FONGICIDES | HERBICIDES       |
|--------------------|--------------|------------|------------|------------------|
| Noms commerciaux   | LANNATE      | OMITE      | RIPOST     | 2,4 ou DESORMONE |
|                    | KARATE       | APPOLO     | MANEBE     | SENCOR           |
|                    | CYMBUCHE     | MITAC      | BENOMILE   | ROUND UP         |
|                    | MALATOX      | DANITOL    | OMVIL      |                  |
|                    | ZOLONE       | PENNSTYL   | ATEMI      |                  |
|                    | CONFIDOR     | DICOFOL    |            |                  |

Nos enquêtes nous ont permis d'établir une liste de couples aliment/pesticide et de choisir parmi cette liste, les pesticides qui sont les plus utilisés sur nos deux espèces choisies à savoir la tomate et la laitue. Elles ont également mis en évidence le fait que parmi les pesticides, les insecticides sont les plus utilisés en Algérie, et qu'ils sont suivis par les fongicides, les herbicides puis les acaricides. Notre choix s'est porté finalement sur le **Lannate** et le **Karate**, qui sont deux insecticides très utilisés en Algérie, sous serres comme en plein champs. De plus, ces deux composés entraînent des risques élevés, comme le montrent les statistiques fournies par le Centre antipoison de Bab El Oued [45].

### **E - STATISTIQUES DU CENTRE ANTIPOISON DE BAB EL OUED**

Nous avons réuni les statistiques des cinq dernières années pour montrer l'ampleur du problème des intoxications par les pesticides en Algérie d'une part, et pour nous aider dans le choix du pesticide le plus toxique d'autre part. Nous utiliserons, dans ce qui suit, certaines abréviations qui sont les suivantes :

Nombre d'Intoxications : N.I.

Intoxications Accidentelles : I.A.

Intoxications Volontaire : I.V.

Intoxications Non Précisées : I.N.P.

Les statistiques sont classées par année, et pour chaque année, les données sont représentées sur deux figures : l'une est une représentation des données en histogramme et l'autre en galette.

#### **E - 1 - Statistiques de l'année 1994**

Les données sont classées par tranches d'âges et par type d'intoxication. Le tableau 11 donne la répartition des cas d'intoxications par tranches d'âges, selon les circonstances de l'intoxication pour 1994. La figure 10 représente ces valeurs sur un histogramme.

**Tableau 11 : Répartition des cas d'intoxications par les pesticides, par tranches d'âges, selon les circonstances de l'intoxication, pour l'année 1994 [45].**

|           | N.I. | I.A. | I.V. | I.N.P. |
|-----------|------|------|------|--------|
| 0-4 ans   | 123  | 115  | 0    | 8      |
| 5-9 ans   | 36   | 35   | 1    | 0      |
| 10-15 ans | 13   | 12   | 1    | 0      |
| 16-20 ans | 40   | 17   | 21   | 2      |
| 21-40 ans | 36   | 20   | 16   | 0      |
| >40 ans   | 20   | 15   | 5    | 0      |

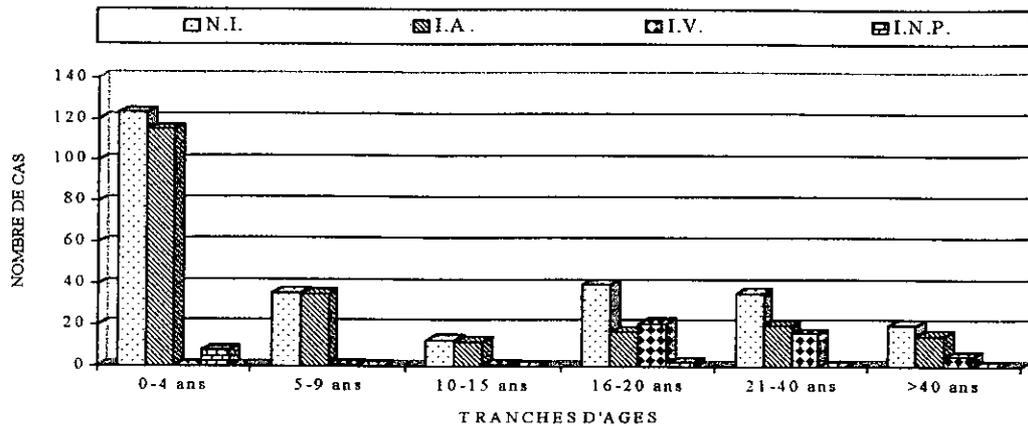


Figure 10 : Répartition graphique des cas d'intoxications par les pesticides par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1994 [45].

Pour l'année 1994, le tableau 11 montre que le nombre total de cas d'intoxications par les pesticides est de 268, soit 15,93 % des cas d'intoxications, le nombre total de ces derniers étant de 1682. Pour l'année 1994, on a recensé :

- 15 cas d'intoxications au Lannate (6 % des cas par pesticides) dont deux mortels.
- 129 cas par des insecticides.
- 33 cas par les organophosphorés.
- 26 cas par des pesticides non précisés.
- 42 cas par des raticides.
- 4 cas de décès, dont deux dans la tranche d'âges des moins de 4 ans.

La figure 11 donne le pourcentage des cas d'intoxications par pesticides et par tranches d'âges.

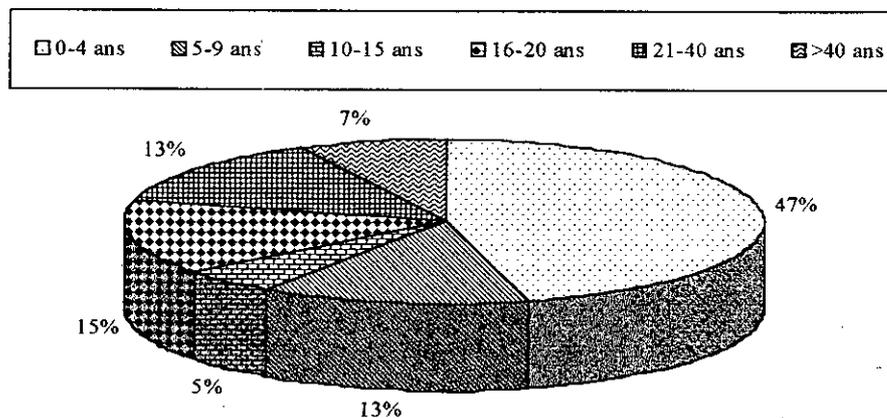


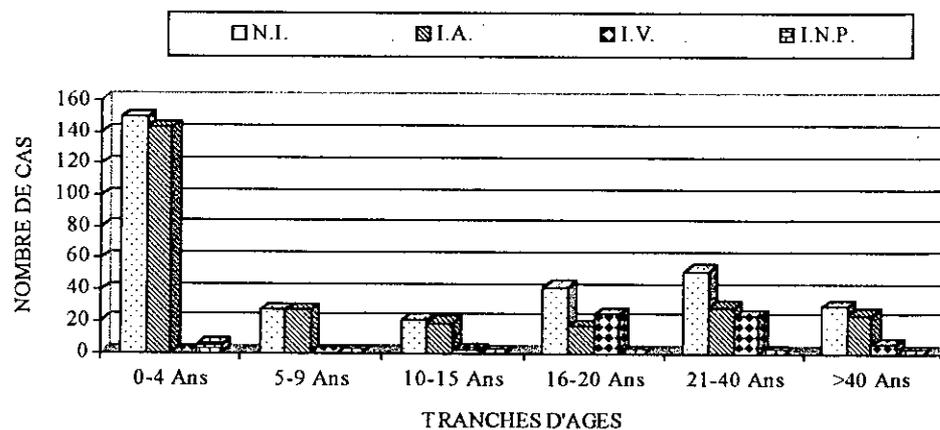
Figure 11 : Pourcentage des cas d'intoxications par les pesticides et par tranches d'âges pour l'année 1994 [45].

**E - 2 - Statistiques de l'année 1995**

Pour l'année 1995, 1641 cas d'intoxications dont 321 (soit 19,26 %) par les pesticides ont été recensés au Centre antipoison. La classification par tranches d'âges et par nature de l'intoxication est donnée dans le tableau 12. La figure 12 représente ces valeurs sur un histogramme.

**Tableau 12 : Répartition des cas d'intoxications par pesticides par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1995 [45].**

|           | N.I. | I.A. | I.V. | I.N.P. |
|-----------|------|------|------|--------|
| 0-4 Ans   | 149  | 143  | 0    | 5      |
| 5-9 Ans   | 27   | 27   | 0    | 0      |
| 10-15 Ans | 21   | 19   | 2    | 0      |
| 16-20 Ans | 42   | 17   | 25   | 0      |
| 21-40 Ans | 52   | 29   | 23   | 0      |
| >40 Ans   | 30   | 24   | 6    | 0      |



**Figure 12 : Répartition graphique des cas d'intoxications par les pesticides et par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1995 [45].**

Il a été recensé pour cette année :

- 30 cas d'intoxications au **Lannate** (13,88 %).
- 24 cas par les organophosphorés.
- 3 cas au **Karate**.
- 46 cas par des raticides.
- 153 par des insecticides non précisés.
- 11 cas de décès, dont 4 pour la tranche d'âges de moins de 4 ans.

La figure 13 donne le pourcentage des cas d'intoxications par tranches d'âges.

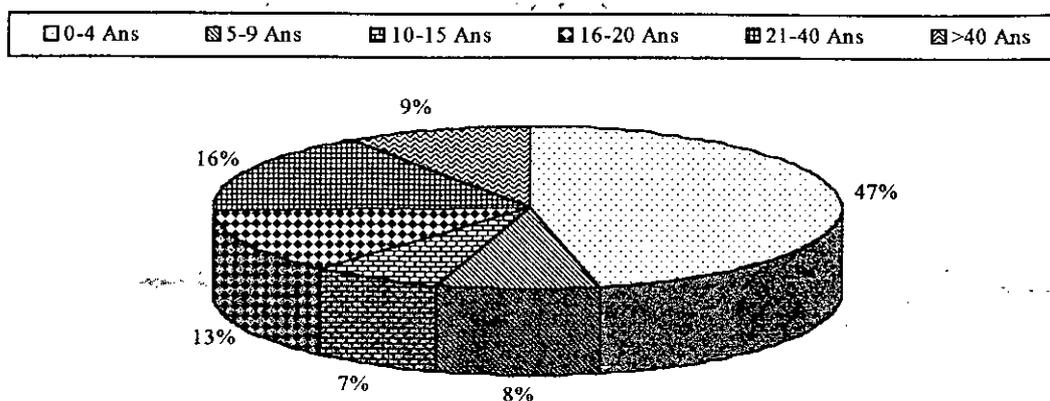


Figure 13 : Pourcentage des cas d'intoxications par les pesticides et par tranches d'âges pour l'année 1995 [45].

### E - 3 - Statistiques de l'année 1996

Pour l'année 1996, 1547 cas d'intoxications ont été enregistrés au Centre antipoison dont 261 par pesticides (soit 16,87 %). Les cas d'intoxications classés par tranches d'âges sont résumés dans le tableau 13. Ces valeurs sont représentées par un histogramme sur la figure 14.

Tableau 13 : Répartition des cas d'intoxications par les pesticides et par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1996 [45].

|           | N.I. | I.A. | I.V. | I.N.P. |
|-----------|------|------|------|--------|
| 0-4 Ans   | 107  | 99   | 1    | 7      |
| 5-9 Ans   | 19   | 18   | 1    | 0      |
| 10-15 Ans | 25   | 22   | 3    | 0      |
| 16-20 Ans | 43   | 13   | 30   | 0      |
| 21-40 Ans | 45   | 20   | 25   | 0      |
| >40 Ans   | 22   | 12   | 7    | 0      |

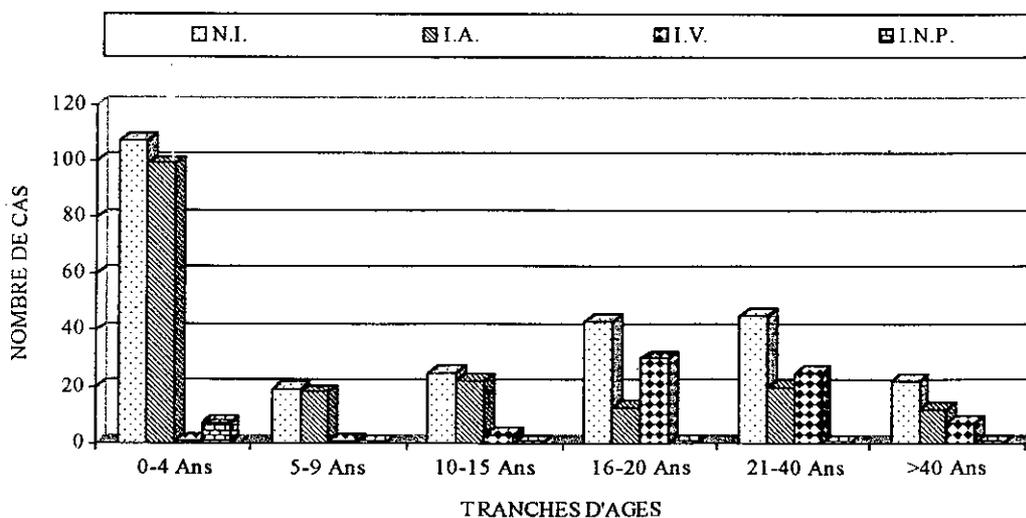


Figure 14 : Répartition graphique des cas d'intoxications par les pesticides et par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1996 [45].

Pour l'année 1996 il a été constaté :

- 22 cas d'intoxications au **Lannate** (soit 8,43 % des cas d'intoxications par pesticides).
- 3 cas d'intoxications au **Karate**.
- 55 cas d'intoxications par des raticides.
- 102 cas par des pesticides non précisés.
- 6 décès dont un cas au **Lannate**.

Le figure 15 donne le pourcentage des cas d'intoxications par pesticides et par tranches d'âges.

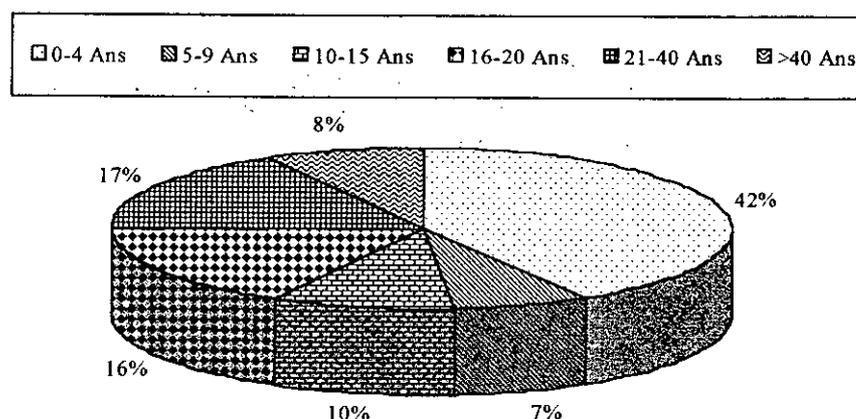


Figure 15 : Pourcentage des cas d'intoxications par les pesticides et par tranches d'âges pour l'année 1996 [45].

#### E - 4 - Statistiques de l'année 1997

Pour l'année 1997, 1869 cas d'intoxications ont été enregistrés dont 236 aux pesticides (soit 12,62 %). Les statistiques des cas d'intoxications par les pesticides et par tranches d'âges sont résumées dans le tableau 14. Ces valeurs sont représentées sous forme d'histogramme sur la figure 16.

Tableau 14 : Répartition des cas d'intoxications par les pesticides et par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1997 [45].

|           | N.I. | I.A. | I.V. | I.N.P. |
|-----------|------|------|------|--------|
| 0-4 Ans   | 91   | 88   | 0    | 3      |
| 5-9 Ans   | 20   | 20   | 0    | 0      |
| 10-15 Ans | 08   | 07   | 1    | 0      |
| 16-20 Ans | 49   | 18   | 31   | 0      |
| 21-40 Ans | 55   | 25   | 30   | 0      |
| >40 Ans   | 13   | 10   | 03   | 0      |

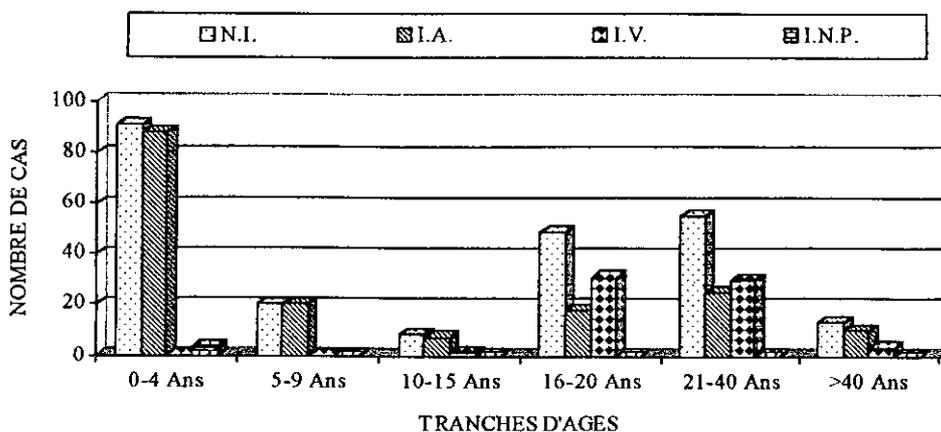


Figure 16 : Répartition graphique des cas d'intoxications par les pesticides et par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1997 [45].

Pour cette année il a été constaté :

- 33 cas d'intoxications au **Lannate** (13,98 %).
- 4 cas au **Karate**.
- 87 cas d'intoxications avec des insecticides.
- 25 cas par pesticides non précisés.
- 3 décès tous par insecticides.

La figure 17 donne le pourcentage des cas d'intoxications par les pesticides, classés par tranches d'âges.

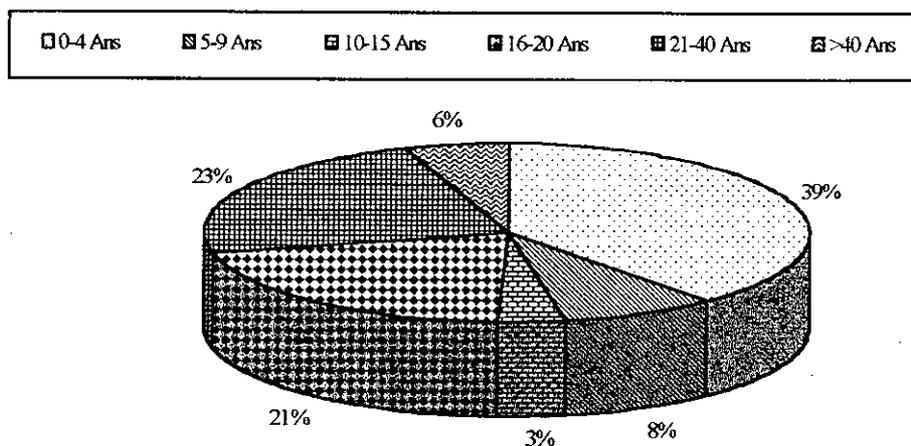


Figure 17 : Pourcentage des cas d'intoxications par les pesticides et par tranches d'âges pour l'année 1997 [45].

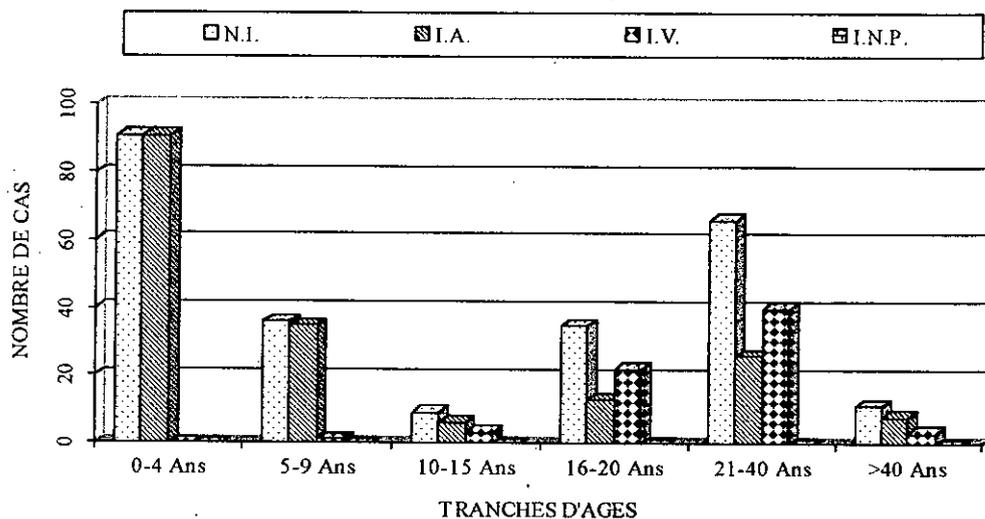
### E - 5 - Statistiques de l'année 1998

Pour cette année, le nombre d'intoxications est de 1993 dont 248 aux pesticides (soit 11,54 %). La répartition des cas d'intoxications par tranches d'âges est résumée dans le

tableau 15. Ces valeurs sont représentées sous forme d'histogramme sur la figure 18.

**Tableau 15 : Répartition des cas d'intoxications par les pesticides et par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1998 [45].**

|           | N.I. | I.A. | I.V. | I.N.P. |
|-----------|------|------|------|--------|
| 0-4 Ans   | 91   | 91   | 00   | 00     |
| 5-9 Ans   | 36   | 35   | 01   | 00     |
| 10-15 Ans | 09   | 06   | 03   | 00     |
| 16-20 Ans | 35   | 13   | 22   | 00     |
| 21-40 Ans | 66   | 26   | 40   | 00     |
| >40 Ans   | 11   | 08   | 03   | 00     |



**Figure 18 : Répartition graphique des cas d'intoxications par les pesticides et par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1998 [45].**

Il a été constaté pour cette année :

- 25 cas d'intoxications au **Lannate** (soit 10,8 %) dont deux se sont soldés par un décès.
- 38 cas d'intoxications par pesticides non précisés.
- 67 cas d'intoxications par insecticides.
- 7 cas au **Karate**.

La figure 19 donne le pourcentage des cas d'intoxications par les pesticides et par tranches d'âges.

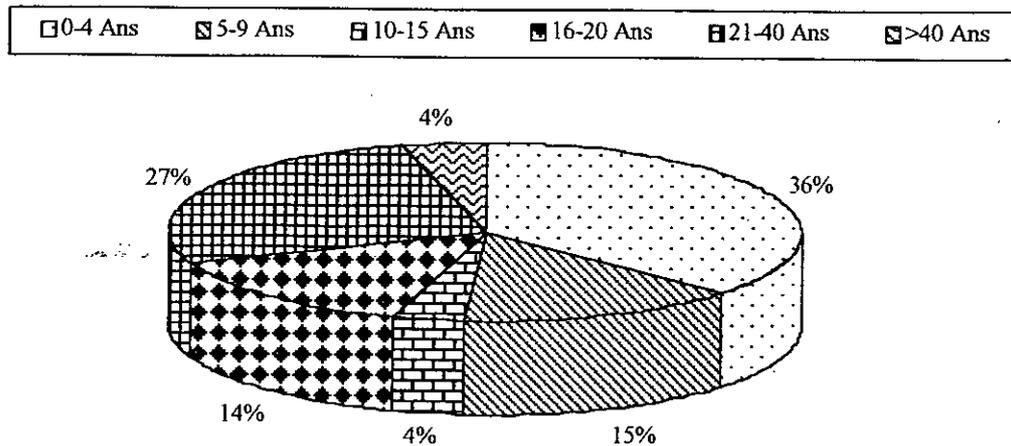


Figure 19 : Pourcentage des cas d'intoxications par les pesticides et par tranches d'âges pour l'année 1998 [45].

Après avoir donné un aperçu sur les cas d'intoxications pour les cinq dernières années nous allons réunir ces informations sur un même graphe pour voir leur évolution.

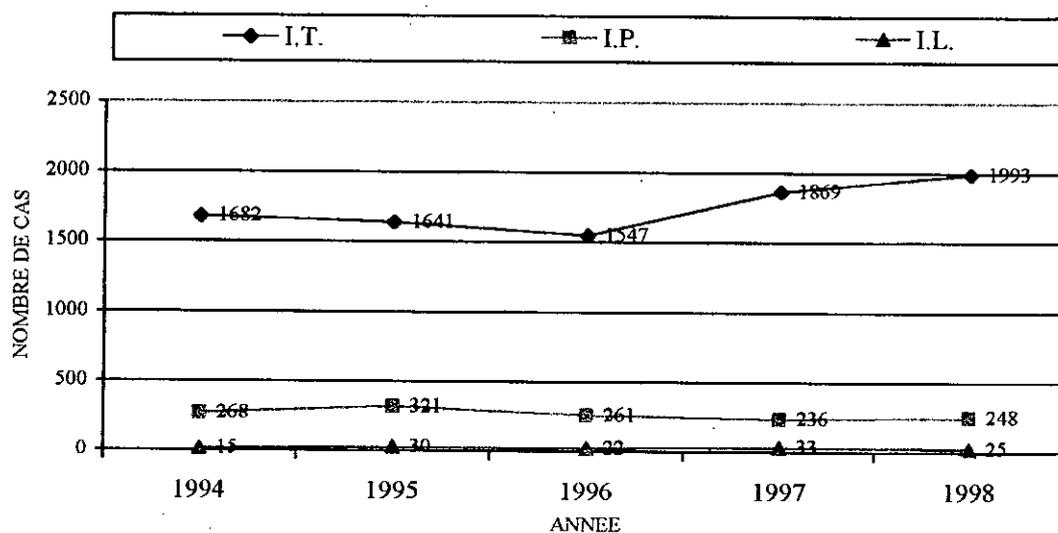


Figure 20 : Evolution des cas d'intoxications durant ces cinq dernières années [45].

I.T. : Intoxications Totales.

I.P. : Intoxications par pesticides.

I.L. : Intoxications au **Lannate**.

Nous constatons que le nombre d'intoxications par les pesticides est relativement élevé et la moyenne annuelle pour les cinq dernières années est de 1747 cas. Ils viennent en deuxième position après les médicaments, et représentent en moyenne 15 % des cas d'intoxications.

Les intoxications au **Lannate** représentent en moyenne 10 % des cas d'intoxications par les pesticides, ce qui est très élevé.

Le **Karate**, bien qu'à un degré moindre, contribue également aux intoxications par les pesticides. Sur les cinq années, on relève 17 cas d'intoxications au **Karate**.

Ces résultats justifient le choix de ces deux pesticides pour la suite de l'étude.

## CHAPITRE V

### PROTOCOLE EXPERIMENTAL DE LA PLANTATION

Notre expérimentation a été réalisée à l'I.T.C.M.I., sous serre, sur les deux cultures : tomate et laitue, et le traitement a été effectué avec les deux pesticides choisis à savoir, **Lannate** et **Karate**.

Nous avons été aidé, pour cela, par un ingénieur agronome de l'I.T.C.M.I., spécialiste des traitements des cultures par les pesticides.

#### A - FICHES TECHNIQUES DES PESTICIDES RETENUS POUR LE TRAITEMENT

##### A - 1 - Le Méthomyl (Lannate)

Le nom commercial est **Lannate** et le nom de la matière active est **Méthomyl**; c'est un insecticide de la famille des carbamates ; il a été synthétisé en 1965 [47].

Sa formule brute est :  $C_5H_{10}N_2O_2S$ , et son nom chimique selon l'I.U.P.A.C. est : S-méthyl N-(méthylcarbamoyloxy) thioacétamidatae [48]. Sa formule est développée sur la figure 21:

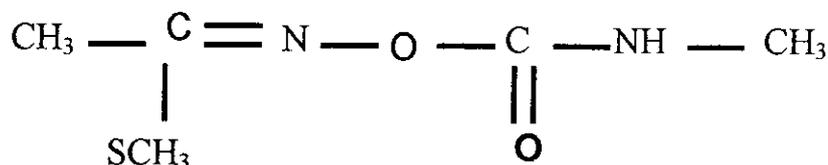


Figure 21: Formule développée de la molécule de Méthomyl [48].

##### A - 1 - 1 - Propriétés physico-chimiques

Il se présente sous forme de solide cristallin blanc de masse molaire 162,2, avec une légère odeur de soufre. Il est soluble dans l'eau à 58 g / l à 25°C ainsi que dans de nombreux solvants organiques :

- 1000 g/kg dans le méthanol [47].
- 730 g/kg dans l'acétone [49].
- 420 g/kg dans l'éthanol [47].

Il est stable pendant quatre ans sous forme solide. Les solutions aqueuses en milieux fermés se décomposent lentement. La ventilation, la lumière solaire, l'alcalinité et la haute température provoquent sa décomposition dans l'eau [49].

Il se décompose rapidement en produit non toxique dans les conditions pratiques d'utilisation; il est stable dans les solutions neutres ou légèrement acide ; un milieu plus acide favorise son hydrolyse [48].

### **A - 1 - 2 - Propriétés biologiques**

#### **A - 1 - 2 - 1 - Mode d'action**

Le **Méthomyl** agit par systémie, ingestion ou contact contre une très grande variété de ravageurs des cultures. Il cause leur mort par inhibition de l'action cholinestérasique [47].

#### **A - 1 - 2 - 2 - Efficacité**

Il a un large spectre d'action sur les insectes nuisibles mais il est particulièrement indiqué pour son action sur les lépidoptères (œufs et larves), ainsi que sur les insectes suceurs et les mineuses [47].

#### **A - 1 - 2 - 3 - Sélectivité**

Utilisée à des doses recommandées, le **Méthomyl** est parfaitement toléré par les végétaux traités, qu'il s'agisse de cultures légumières, fruitières, ornementales ou industrielles [47].

#### **A - 1 - 2 - 4 - Propriétés organoléptiques**

Le **Lannate** ne transmet aucun goût ni odeur aux cultures traitées [47].

#### **A - 1 - 2 - 5 - Résidus**

Les limites acceptables de résidus sont faibles par rapport a celles d'autres pesticides, signe d'une toxicité élevée. Les L.M.R. en p.p.m. établies par l'O.M.S. sont données dans le tableau 16.

**Tableau 16 : L.M.R. du Méthomyl dans certaines cultures [49].**

| CULTURES        | L.M.R. EN p.p.m. ( mg / kg ) |
|-----------------|------------------------------|
| Laitue          | 2                            |
| Tomates         | 1                            |
| Fruits à pépins | 1                            |
| Agrumes         | 0,5                          |
| Concombres      | 0,2                          |
| Cucurbites      | 0,2                          |
| Artichauts      | 0,2                          |

**A – 1 – 3 - Toxicité**

La toxicité chez les mammifères se manifeste essentiellement par voie orale ou par inhalation [47].

Le métabolisme du **Méthomyl** a été étudié dans le sol, l'animal et les plantes. Dans les trois cas, il est rapidement dégradé et on ne le retrouve pas dans la chaîne alimentaire.

De plus, il est métabolisé en substances non toxiques pour les mammifères [47]. Par contre, il est très toxique pour les poissons et les abeilles [49].

Le tableau 17 nous donne la  $DL_{50}$  pour des rongeurs soumis à différentes expositions.

**TABLEAU 17 : Différentes  $DL_{50}$  pour les rongeurs [49].**

| Type d'exposition      | $DL_{50}$               |
|------------------------|-------------------------|
| aiguë orale / Rat      | 17 mg / kg              |
| aiguë cutané / lapin   | > 1000 ou 1500 mg / kg  |
| aiguë inhalation / rat | 0,3 à 0,45 mg / l d'air |

Sa D.J.A. est de 0,03 mg / kg, et le délai minimum de traitement avant récolte est de sept jours [47].

## A - 2 - La Lambda Cyhalothrine (Karate)

Le nom commercial est le **Karate** et le nom de la matière active est **Lambda Cyhalothrine** [46].

Sa formule chimique brute est :  $C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$ , et son nom chimique : I.U.P.A.C. est :  $\alpha$  cyano-3-phénoxybenzyl-3 (2-chloro-3,3,3-trifluoropropenyl)-2,2-diméthyl cyclopropanecarboxylate.

C'est un insecticide de la famille des pyréthrinoïdes et sa formule est développée sur la figure 22.

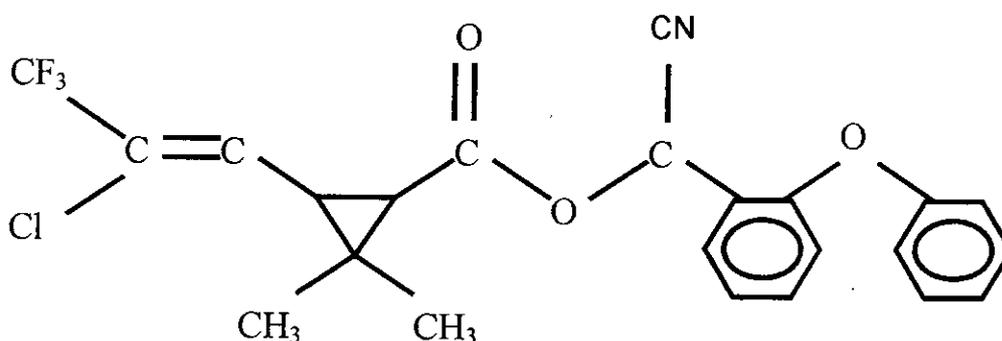


Figure 22: Formule développée de la molécule Lambda Cyhalothrine [51].

### A - 2 - 1 - Propriétés physico-chimiques

Il se présente sous la forme d'un solide blanc, de masse molaire 449,9, soluble dans la plupart des solvants organiques. Sa solubilité dans l'eau est de 0,003 mg / l à pH 6,5 et 20°C. Son point de fusion est de 49,2°C.

Il est stable pendant plus de six mois lorsqu'il est conservé entre 15 et 25°C [51].

### A - 2 - 2 - Propriétés biologiques

#### A - 2 - 2 - 1 - Mode d'action

Il agit par contact et ingestion sur un grand nombre d'insectes à des doses très faibles. Il présente une action frénatrice sur les acariens phytophages ainsi qu'une action ovicide sur les œufs de lépidoptères [49].

Grâce à sa tension de vapeur très basse ( $2 \cdot 10^{-10}$  kPa à 22°C), sa persistance d'action est de l'ordre de trois à quatre semaines, même en période chaude et ventée [49].

**A - 2 - 2 - 2 - Sélectivité**

Il a un large spectre d'action car on peut l'utiliser à des fins curatives ou préventives [49].

**A - 2 - 2 - 3 - Résidus**

Les limites de résidus acceptables de **Karate** dans certaines cultures sont très faibles, probablement du fait de sa toxicité ; c'est ce que traduisent les L.M.R. du tableau 18 :

**Tableau 18: L.M.R. du Karate dans certaines cultures [49].**

| TYPE DE CULTURE | L.M.R. (en p.p.m.) |
|-----------------|--------------------|
| Epinards        | 1                  |
| Salades         | 0,5                |
| Tomates         | 0,2                |
| Melons          | 0,2                |
| Fraises         | 0,2                |
| Céréales        | 0,01               |

**A - 2 - 3 - Toxicologie****A - 2 - 3 - 1 - Devenir dans l'environnement**

- **Dans les végétaux** : la **Lambda Cyhalothrine** entre en contact avec la surface des végétaux et est dégradée en produits hydrosolubles et moins toxiques que la **Lambda Cyhalothrine** elle-même [52].
- **Dans les sols** : la **Lambda Cyhalothrine** est rapidement et largement adsorbée et les quantités lessivées à travers le sol sont négligeables par la suite. Elle est dégradée, finalement en anhydride carbonique principalement par l'action microbienne [52].
- **Dans les eaux** : toute quantité de la **Lambda Cyhalothrine** qui est entrée dans les cours d'eau est rapidement éliminée par adsorption sur les végétaux, les matières en suspensions ou la boue du fond. Dans la boue, elle est dégradée en produits moins toxiques et finalement en anhydride carbonique [52].
- **Pour les abeilles et autres insectes utiles** : elle est toxique lors d'essais au laboratoire mais elle ne leur cause que peu ou pas de danger lorsqu'elle est employée dans la nature [52].
- **Pour les oiseaux et les mammifères** : la toxicité de la **Lambda Cyhalothrine** pour les oiseaux par voie orale est très faible et il est peu probable que son emploi dans la nature leur cause des problèmes. L'emploi de doses très faibles devrait assurer l'absence de danger

pour la faune sauvage et les animaux domestiques à la suite de son emploi [52].

- **Pour les poissons et autres espèces aquatiques** : il y a une différence notable entre la toxicité de la **Lambda Cyhalothrine** dans les conditions de laboratoire et sur les terrains.

Dans les conditions de laboratoire et dans l'eau propre, la **Lambda Cyhalothrine** est très toxique pour les poissons et certains invertébrés. Dans les milieux aquatiques naturels, sa toxicité est beaucoup plus réduite parce qu'elle est éliminée de l'eau par adsorption rapide sur la matière en suspension et la boue du fond [52].

Le tableau 19 nous donne la D.L.<sub>50</sub> pour certaines espèces animales.

**Tableau 19 : D.L.<sub>50</sub> de la Lambda Cyhalothrine pour certaines espèces [49].**

| TYPE D'EXPOSITION            | D.L. <sub>50</sub> (mg/kg) |
|------------------------------|----------------------------|
| aiguë par ingestion/ rat     | 25-54                      |
| aiguë cutanée/ rat           | 650                        |
| aiguë par ingestion/ oiseaux | 3,95                       |

Sa D.J.A. est de 0,02 mg/kg, et le délai minimum de traitement avant récolte est de trois jours [49].

Le tableau 20 donne les D.J.A. de certains pesticides, pour comparaison.

**Tableau 20 : Comparaison entre les D.J.A. de certains pesticides [50].**

| PESTICIDES          | DOSES D.J.A. mg/kg |
|---------------------|--------------------|
| Méthomyl            | 0,03               |
| Lambda Cyhalothrine | 0,02               |
| DDT                 | 0,02               |
| Lindane             | 0,008              |

## **B - CARACTERISTIQUES DES SUBSTRATS CHOISIS**

### **- Tomate**

Variété : KITI

Date de semis : le 08/02/1999

Date de plantation : le 17/03/1999

Distance de plantation : 0,40 m entre deux pieds identiques et 1 m entre deux billons [46].

**- Laitue**

Variété : variété espagnole

Date de semis : le 27/02/1999

Date de plantation : le 17/03/1999 [46].

Distance de plantation : identique à la tomate et alternée par rapport à celle-ci.

**C - METHODE EXPERIMENTALE**

On a adopté un dispositif aléatoire a trois répétitions, c'est à dire reproduire la même expérience trois fois pour vérifier la fiabilité de la méthode.

- Le nombre de pesticides est égal à deux (**Lannate** et **Karate**) en plus des produits utilisés pour le traitement préventif.
- Le nombre de traitements durant la culture est égal à trois pour chaque pesticide (**Lannate** et **Karate**).
- Le nombre de doses est de deux par traitement : dose double et dose simple, pour chaque produit (une dose simple est la dose prescrite par le fournisseur).
- La serre est divisée en quatre blocs expérimentaux, représentant chacun un type de produit (**Lannate** ou **Karate**) ainsi que sa dose (simple ou double). Chaque bloc sera divisé en quatre parcelles expérimentales et chaque parcelle reçoit un type de traitement.

On désignera par T une parcelle, en mettant un indice pour différencier entre chaque parcelle. Un schéma simplifié représentant la disposition des blocs dans la serre est donné sur la figure 23.

| Traitements avec doses doubles |                |                |                | Traitements avec doses simples |                |                |                |   |
|--------------------------------|----------------|----------------|----------------|--------------------------------|----------------|----------------|----------------|---|
| T <sub>4</sub>                 | T <sub>3</sub> | T <sub>2</sub> | T <sub>1</sub> | T <sub>4</sub>                 | T <sub>3</sub> | T <sub>2</sub> | T <sub>1</sub> | L<br>A<br>N<br>N<br>A<br>T<br>E<br><br>K<br>A<br>R<br>A<br>T<br>E |
| T <sub>4</sub>                 | T <sub>3</sub> | T <sub>2</sub> | T <sub>1</sub> | T <sub>4</sub>                 | T <sub>3</sub> | T <sub>2</sub> | T <sub>1</sub> |   |

Figure 23 : Schéma simplifié de la serre

- T<sub>1</sub> désigne la parcelle témoin, c'est à dire la partie qui ne subira aucun traitement.
- T<sub>2</sub> désigne le type de traitement de la parcelle, c'est à dire traitement avec Lannate ou Karate et avec dose simple ou dose double suivant le bloc. En dehors du traitement expérimental choisi, aucun autre traitement expérimental ne sera effectué. Pour la salade par exemple on distingue 4 blocs T<sub>2</sub> :
  - ◆ Bloc **Lannate** dose simple.
  - ◆ Bloc **Lannate** dose double.
  - ◆ Bloc **Karate** dose simple.
  - ◆ Bloc **Karate** dose double.

Le même schéma se répète pour la tomate.

- T<sub>3</sub> désigne la parcelle où, en plus du traitement expérimental avec l'insecticide étudié, on a effectué un traitement fongique. Celui-ci se fait en préventif ainsi qu'au moment du traitement expérimental.
- T<sub>4</sub> désigne la parcelle où on a effectué un traitement normal, c'est à dire comme le font les agriculteurs. C'est le même traitement pour tous les blocs et il comporte un traitement aux fongicides et un traitement avec plusieurs insecticides.
- Les blocs expérimentaux sont séparés par un billon intercalaire pour ne pas avoir d'interaction entre les différents billons [46].
- La salade est cultivée en alternance avec la tomate.

#### **D - TRAITEMENTS PHYTOSANITAIRES**

Pour le traitement phytosanitaire, il nous a été proposé d'effectuer des traitements préventifs bien avant le traitement expérimental mais sur une partie de la serre seulement. Le tableau 21 résume les différents produits utilisés en traitements préventifs sur les parcelles T<sub>3</sub> (fongiques seulement) et les parcelles T<sub>4</sub> (fongiques plus insecticides) avec les dates des traitements.

**Tableau 21 : Les différents pesticides utilisés sur T<sub>3</sub> et T<sub>4</sub> [46].**

| PESTICIDES UTILISES    | DOSES   | DATES    |
|------------------------|---------|----------|
| KARATE ( INSECTICIDE ) | 5ml/10l | 04/05/99 |
|                        |         | 16/05/99 |
|                        |         | 25/05/99 |
| ATEMI (FONGICIDE)      | 5ml/10l | 04/05/99 |
| OMVIL ( FONGICIDE )    | 10g/10l | 16/04/99 |
| BENOMIL ( FONGICIDE )  | 30g/10l | 25/05/99 |
| TOPAZE ( FONGICIDE )   | 5ml/10l | 29/05/99 |
| CHESS ( INSECTICIDE )  | 6g/10l  | 29/05/99 |

Les traitements expérimentaux sont effectués à l'approche de la récolte.

Le tableau 22 donne les doses et les dates pour le traitement expérimental.

**Tableau 22 : Doses et dates des traitements expérimentaux [46].**

| PESTICIDES | DOSES SIMPLES | DOSES DOUBLES | DATES    |
|------------|---------------|---------------|----------|
| LANNATE    | 15g/10l       | 30g/10l       | 29/05/99 |
|            |               |               | 05/06/99 |
|            |               |               | 12/06/99 |
| KARATE     | 5ml/10l       | 10ml/10l      | 29/05/99 |
|            |               |               | 05/06/99 |
|            |               |               | 12/06/99 |

### **E - DATES DES RECOLTES**

Les récoltes s'effectuent par rapport aux dates des traitements expérimentaux avec le Lannate ou le Karate. Nous avons retenu trois dates de récoltes :

- Première date : vingt quatre heures après application des insecticides.
- Deuxième date : quarante huit heures après application des insecticides.
- Troisième date : selon les délais avant récolte recommandés
  - ◆ **Karate**: trois jours après application des traitements.
  - ◆ **Lannate**: sept jours après application des traitements [46].

Une fois les traitements réalisés et la récolte effectuée, les échantillons de salade et de tomate sont prêts à subir les opérations d'extraction et de purification des résidus et de leur dosage.

## CHAPITRE VI

# EXTRACTION ET PURIFICATION DES RESIDUS

### A- INTRODUCTION

Pour que le prélèvement des échantillons soit le plus représentatif possible, nous avons suivi une procédure précise que nous avons relevée dans la littérature [30] :

- Le poids de la population d'où est prélevé notre échantillon ne doit pas être inférieur à 2 kg pour la salade et 1 kg pour la tomate, avec au moins 10 pièces.
- Le transport des échantillons doit se faire dans des sacs en papier pour éviter les interactions avec le pesticide.
- Le transport se fait tôt le matin pour éviter la dégradation par la chaleur .
- Une codification bien précise est inscrite sur chaque sac pour ne pas confondre les échantillons.
- Les extractions doivent se faire le jour même de la récolte, car les pesticides sont mieux conservés dans les solvants organiques que dans le végétal.

Une fois au laboratoire, les échantillons sont prêts pour l'extraction. Parmi les nombreuses méthodes citées dans la bibliographie, nous avons choisi une méthode très utilisée et qui a déjà fait ses preuves : il s'agit de celle utilisée par R. BOUSSAHEL dans le cadre de son magistère et qui est inspirée de la bibliographie [37], [39].

### B - MATERIEL ET REACTIFS

Le matériel et les réactifs suivants ont été utilisés :

- Verrerie courante de laboratoire.
- Broyeur.
- Dispositif buchner pour filtration sous vide.
- Pompe à vide.
- Burette de 60 cm de longueur et 1 cm de diamètre.
- Pipettes Pasteur.
- Graisse de silicone pour robinet de verrerie.

- Laine de verre.
- Papier filtre.
- Gel de silice, activé à 130°C pendant dix heures.
- Sulfate de sodium anhydre.
- Eau distillée.
- Chloroforme pour analyse.
- Dichlorométhane pour analyse.
- Hexane pour analyse.
- Acétonitrile pour analyse.
- Evaporateur rotatif.

### **C - EXTRACTION**

Une quantité de 500 grammes d'échantillon est broyée finement dans un mortier en porcelaine. On en prélève 25 grammes que l'on transfère dans un erlenmeyer de 150 ml contenant 20 grammes de sulfate de sodium anhydre ; on ajoute 100 ml de chloroforme et on agite pendant 5 minutes. On décante le solvant sur buchner en utilisant du papier filtre Millipore. On ajoute 50 ml de chloroforme à l'erlenmeyer et on agite pendant 5 minutes.

Le mélange dans l'erlenmeyer est filtré sur buchner avec le papier filtre comme précédemment. Après cela, un lavage avec deux portions de 15 ml de chloroforme est effectué sur l'erlenmeyer et sur le buchner avec le papier filtre pour extraire tous les restes éventuels. On transfère le filtrat sur une ampoule à décanter de 500 ml et l'erlenmeyer du buchner est lavé avec deux portions de 50 ml d'eau distillée que l'on rajoute à l'ampoule à décanter. On agite légèrement, on rejette la phase aqueuse et on garde la phase chloroformique que l'on sèche sur une burette en verre remplie avec 15 g de sulfate de sodium anhydre. On concentre ensuite cette phase chloroformique à 5 ml sur un évaporateur rotatif sous pression et à température ambiante, pour éviter la dégradation du résidu. L'extrait est ainsi prêt à être purifié.

Le choix du solvant est une opération délicate car on doit choisir un solvant, parmi ceux disponibles, dans lequel le pesticide est soluble. Comme le chloroforme répond aux deux critères, nous l'avons choisi, car de plus, il peut être utilisé pour les deux insecticides.

La figure 24 donne le résumé des différentes étapes de l'extraction.

Il faut noter que le manque de solvants nous a conduit à réduire le nombre d'échantillons. En effet, le dosage des échantillons T<sub>4</sub> et T<sub>3</sub> n'a pas pu être effectué et le

nombre de répétitions à été réduit. Nous avons retenu une répétition pour la salade et deux répétitions pour la tomate.

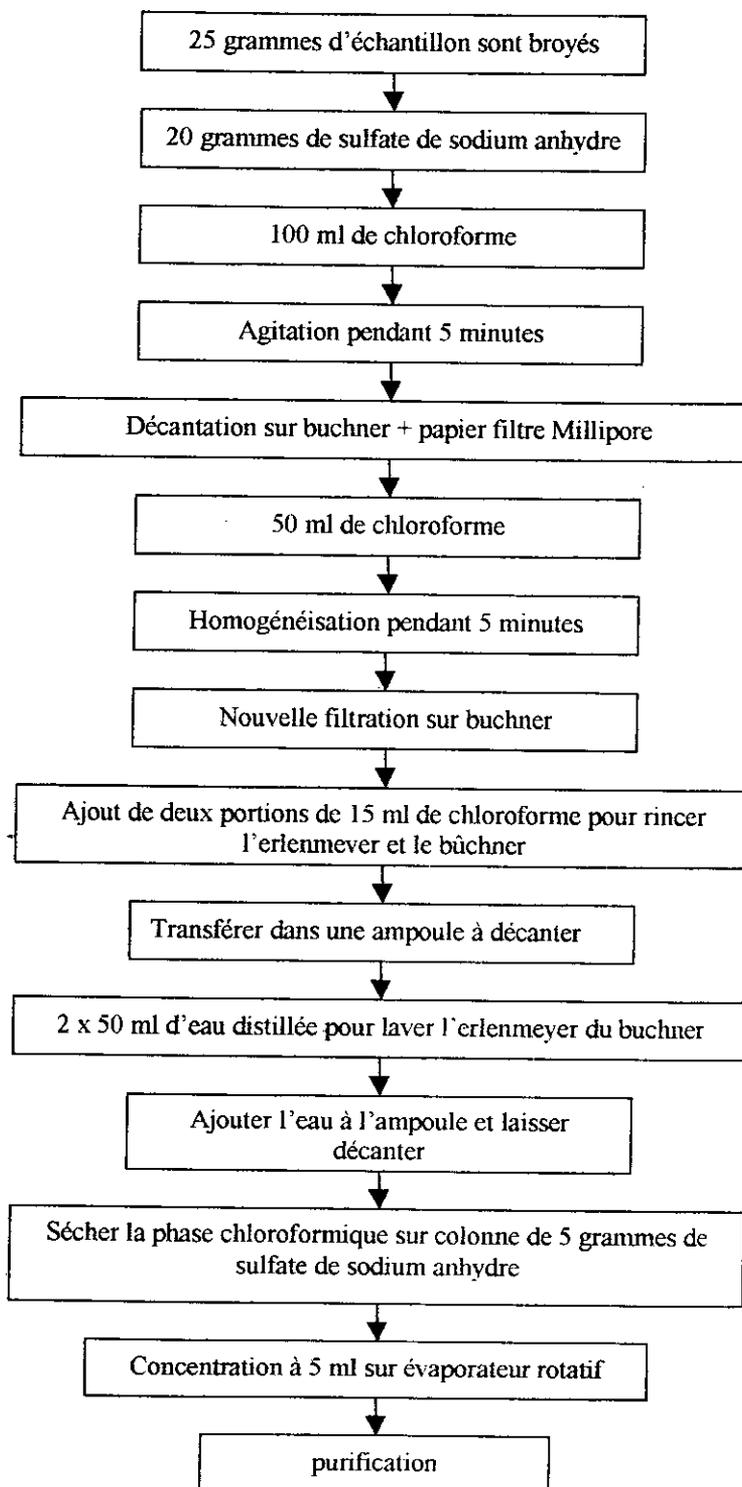
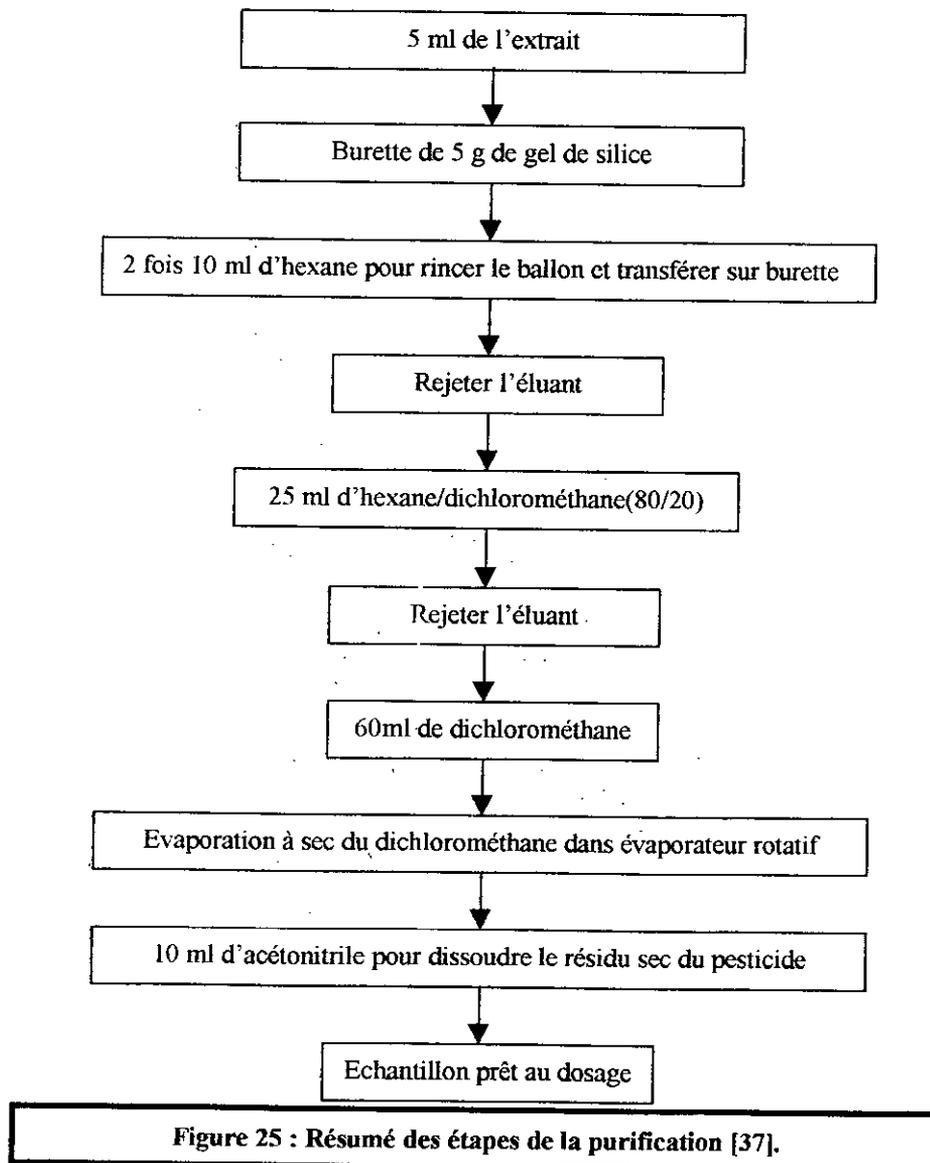


Figure 24 : Résumé des étapes de l'extraction [37].

## D - PURIFICATION

A l'aide d'une pipette Pasteur, on transfère l'extrait de chloroforme dans une burette en verre contenant 5g de gel de silice activé à 130°C pendant dix heures et tassé en boue avec de l'hexane. Le dispositif ainsi constitué représente une colonne chromatographique de purification. On laisse passer la solution à travers cette colonne. On rince le ballon de l'évaporateur rotatif avec deux portions de 10 ml d'hexane qu'on transfère également dans la burette et qu'on laisse passer; on rejette l'éluant. On répète l'opération avec 25 ml d'hexane / dichlorométhane (80/20 %) en volume respectivement ; on rejette l'éluant. On élue finalement la burette avec 60 ml de dichlorométhane qu'on recueille. On élimine le dichlorométhane par évaporation à sec dans l'évaporateur rotatif sous vide et à température ambiante. Le résidu sec est repris avec 10 ml d'acétonitrile. Il est alors prêt à être analysé soit par **H.P.L.C.** ou **C.P.G.**. La figure 25 résume les différentes étapes de la purification.



## CHAPITRE VII

### DOSAGE DES RESIDUS DE PESTICIDES

Parmi les différentes méthodes préconisées pour l'analyse des résidus de pesticides mentionnées précédemment, nous avons opté pour la H.P.L.C. couplée à un détecteur à barrette de diode, d'une part pour la grande sensibilité requise pour les faibles quantités à doser et d'autre part, pour des raisons de disponibilité de l'appareillage.

#### **A - MATERIEL UTILISE**

- Chromatographe en phase liquide de marque Waters.
- Pompe 600 Waters Controller.
- Dégazeur Waters in line degasseur.
- Détecteur à barrette de diode Waters ( Waters 996 Photodiode Array Detector ).
- Système d'acquisition de données Millenium 32 Waters sur digital PC 233 MMX.
- Injecteur Waters avec une boucle de 20  $\mu$ l.
- Colonnes pour H.P.L.C. : **Whatman ( Partisil 5 ODS )**
- Solvants pour H.P.L.C. (acétonitrile, méthanol) de marque Prolabo .

#### **B - RECHERCHE DES CONDITIONS OPERATOIRES**

La qualité d'une séparation dépend fondamentalement du choix de la phase mobile et de la phase stationnaire. Ce choix est donc important et dépend étroitement de la nature de l'échantillon à analyser.

##### **B - 1 - Choix de la phase mobile**

La sélectivité et la durée d'une séparation dépendent avant tout de la nature du solvant. Ce dernier doit par ailleurs être compatible avec le système de détection.

De nombreux solvants purs ou en mélanges peuvent être utilisés en respectant le principe "like dissolves like", selon lequel les solutés polaires sont solubles préférentiellement dans les solvants polaires et les solutés apolaires sont solubles préférentiellement dans les solvants apolaires [44]. Si la phase mobile est constituée par plusieurs solvants, ceux-ci

doivent être totalement miscibles entre eux et les solutés doivent y être solubles.

## **B - 2 - Choix de la phase stationnaire**

Ce choix dépend essentiellement de deux critères :

- La phase stationnaire doit être immiscible avec la phase mobile.
- Le soluté doit présenter des interactions avec la phase stationnaire pour avoir une rétention par adsorption par cette dernière.

L'étalon (Standard de **Méthomyl**) dont nous disposions s'étant avéré détérioré, nous avons travaillé avec un pesticide du commerce contenant 25 % en poids de matière active.

Nous avons effectué une extraction de la matière active du pesticide et nous avons préparé la solution mère à partir de cet extrait pour l'étalonnage.

Les premiers essais avec le mélange méthanol / eau comme phase mobile n'ont pas été concluants car le soluté était entraîné par la phase mobile et son pic était confondu avec le pic du solvant.

D'autres essais ont alors été effectués sur colonne **Whatman** (Partisil 5 ODS) et avec le mélange acétonitrile / eau. Ces essais nous ont permis de déterminer le débit optimal de la phase mobile ainsi que les proportions de chaque solvant dans la phase mobile donnant les meilleurs résultats. Le débit a finalement été fixé à 1 ml / mn et le pourcentage en volume d'acétonitrile et d'eau à 20 : 80, V/V.

## **C - SPECTRE U.V. DU METHOMYL**

L'obtention du spectre U.V. du composé est une étape incontournable car c'est elle qui nous permet de déterminer la longueur d'onde pour laquelle on a un maximum d'absorption, et c'est cette valeur qui sera retenue pour la détection.

En général, la détermination de cette longueur d'onde se fait à l'aide d'un spectrophotomètre U.V.-Visible qui nous permet de tracer un graphe représentant l'absorption en fonction de la longueur d'onde. Ce dernier détermine la longueur d'onde pour laquelle on a un maximum d'absorbance.

Dans notre cas, le chromatographe sur lequel nous avons travaillé est muni d'un détecteur à barrette de diode couplé à un système d'acquisition de données. Ce système nous permet, pour une seule injection, d'obtenir le chromatogramme du soluté à toutes les longueurs d'onde, ainsi que le spectre U.V. du composé à doser.

L'identification du soluté se fait alors grâce à deux paramètres : le temps de rétention et le spectre U.V..

La figure 26 donne le spectre U.V. obtenu pour le **Méthomyl**.

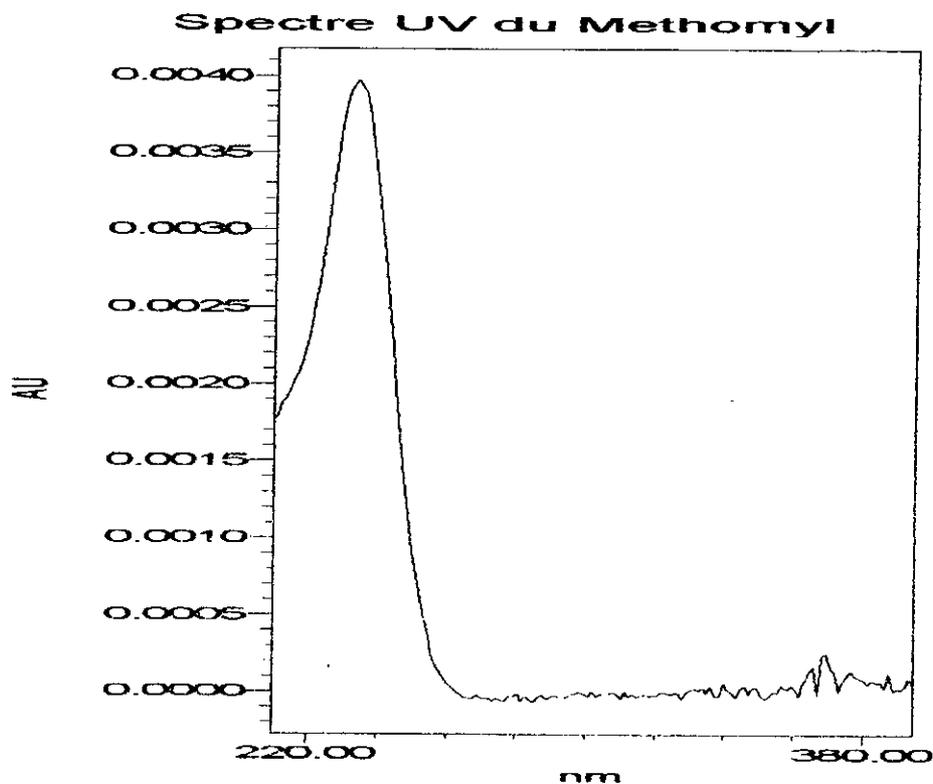


Figure 26 : Spectre U.V. du Méthomyl.

D'après ce spectre U.V., nous avons pu déterminer que l'absorbance maximale est obtenue pour une longueur d'onde de 233,7 nm.

En définitive, nous avons retenu les conditions d'analyse suivantes :

- Colonne : C 18 **Whatman** (Partisil 5 ODS).
- Phase mobile : acétonitrile / eau à 20 : 80 % (en volumes).
- Débit de la phase mobile : 1 ml / min.
- Longueur d'onde : 233,7 nm

Pour raison de non disponibilité de l'appareillage pour une période suffisamment longue, le nombre d'échantillons a dû être réduit et seuls les échantillons traités au **Lannate** ont pu être dosés.

De plus, nous n'avons pu faire qu'une seule injection par échantillon.

#### **D - COURBE D'ETALONNAGE**

La courbe d'étalonnage du **Méthomyl** a été réalisée à partir d'une gamme de solutions de **Méthomyl** dans de l'acétonitrile ( pour **H.P.L.C.** ) allant de 0,25 mg/l à 2 mg/l.

Pour que la quantité injectée soit toujours la même, l'injecteur est muni d'une boucle d'injection de 20 $\mu$ l. Ainsi, toutes les injections effectuées ont un volume identique de 20 $\mu$ l.

Comme le système est couplé à un ordinateur qui donne, grâce au logiciel Millenium, les surface du pic, nous avons tracé la courbe d'étalonnage qui donne directement la surface en fonction de la concentration. Elle est représentée sur la figure 27, R étant le coefficient de corrélation.

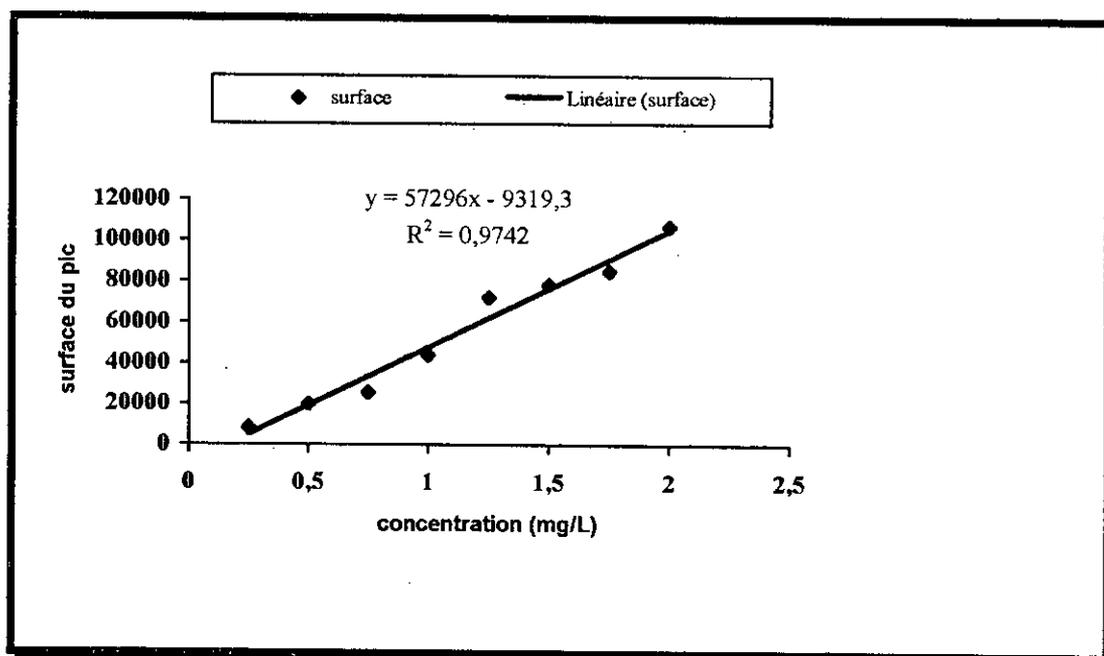


Figure 27 : Courbe d'étalonnage du Méthomyl

Le temps de rétention du Méthomyl a été déterminé grâce à la comparaison avec le spectre U.V. de la matière active pure, pour laquelle il est égal à  $t_R = 5,73$  min.

### E-TAUX DE RECUPERATION DE LA METHODE D'EXTRACTION -PURIFICATION

Pour déterminer le rendement de la méthode d'extraction-purification, nous avons retenu la méthode de la solution dopée qui consiste en la préparation d'une solution de concentration connue en pesticide dans un solvant donné à laquelle nous faisons subir toutes les étapes d'extraction purification.

Les quantités de **Lannate** et de **Karate** ajoutées sont de 2 p.p.m. (quantités qui se rapprochent de la dose d'utilisation préconisée par le fabricant pour la laitue qui est supérieure à celle de la tomate 1 p.p.m.).

La solution préparée à cet effet dans le chloroforme a une concentration initiale de 0,05 mg / 100 ml, ce qui correspond à la L.M.R. pour 25 g d'échantillon (0,05 mg / 25 g).

La concentration retrouvée après l'étape extraction-purification, puis injection est de

0,036 mg / 25 g, ce qui correspond à un taux de récupération (ou-taux de recouvrement) :

$R = 72\%$ . La figure 28 donne le chromatogramme de la solution dopée.

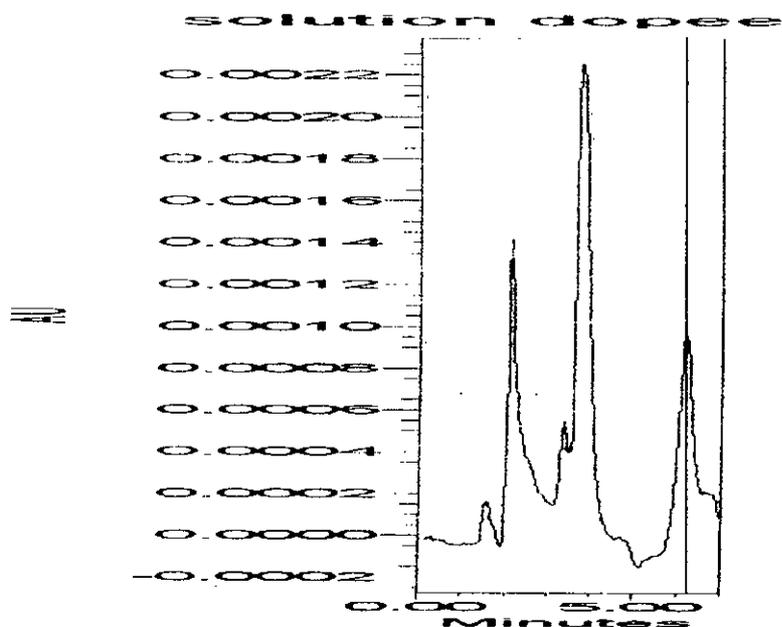
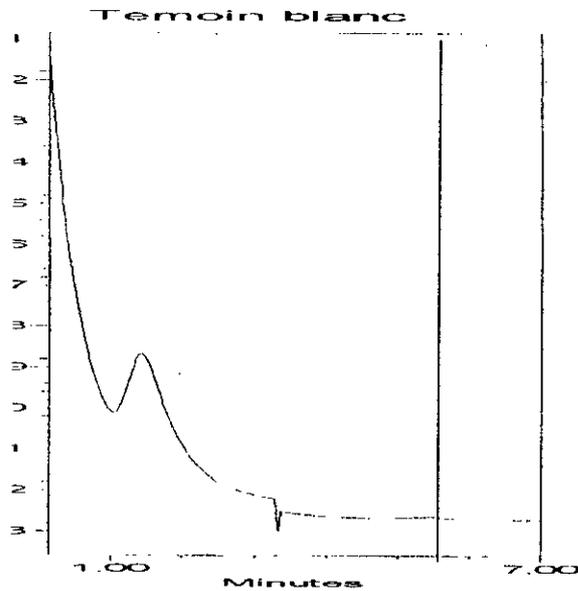


Figure 28 : Chromatogramme de la solution dopée obtenu par H.P.L.C. :  
Colonne C18 Whatman (partisil 5 ODS), détecteur à barrette de diode à 233,7 nm,  
Phase mobile : acétonitrile / eau (20 : 80, V / V), Débit 1 ml / min.

## **F- DOSAGE DES ECHANTILLONS**

Une fois les conditions opératoires de la méthode d'analyse mises au point, le dosage des résidus des pesticides a été possible dans la tomate et la laitue. Ainsi, le pic du **Méthomyl** a donc le même temps de rétention et le même profil du spectre U.V. et l'identification se fait grâce à ces deux paramètres.

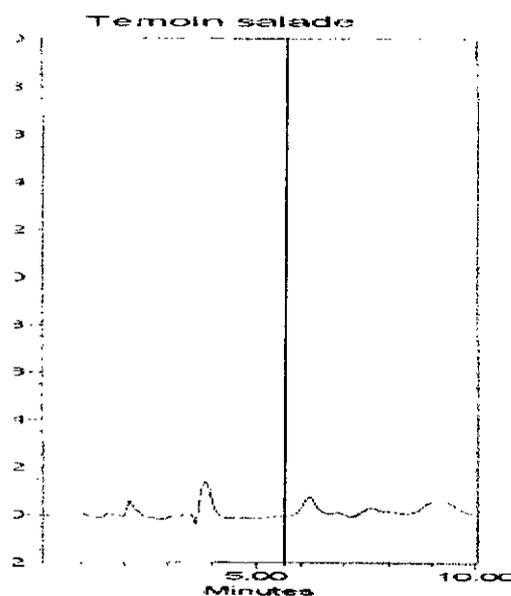
Le premier chromatogramme que nous donnons sur la figure 29 est celui de la solution de blanc, pour laquelle une extraction-purification avec les solvants seulement a été effectuée sans ajout de pesticides et sans produits végétaux.



**Figure 29 : Chromatogramme de la solution de blanc obtenu par H.P.L.C. :**  
 Colonne C18 Whatman (partisil 5 ODS), détecteur à barrette de diode à 233,7 nm,  
 Phase mobile : acétonitrile / eau (20 : 80, V / V), Débit 1 ml / min.

Ce chromatogramme montre que dans la zone des 5 min, on n'a pas de pic qui pourrait interférer avec le pic du **Méthomyl**.

Ensuite, nous avons injecté les échantillons correspondant aux deux témoins T<sub>1</sub> c'est à dire ceux ou aucun traitement n'a été effectué. Les deux chromatogrammes pour la salade et la tomate sont respectivement sur les figures 30 et 31.



**Figure 30 : Chromatogramme du témoin salade obtenu par H.P.L.C. :**  
 Colonne C18 Whatman (partisil 5 ODS), détecteur à barrette de diode à 233,7 nm,  
 Phase mobile : acétonitrile / eau (20 : 80, V / V), Débit 1 ml / min.

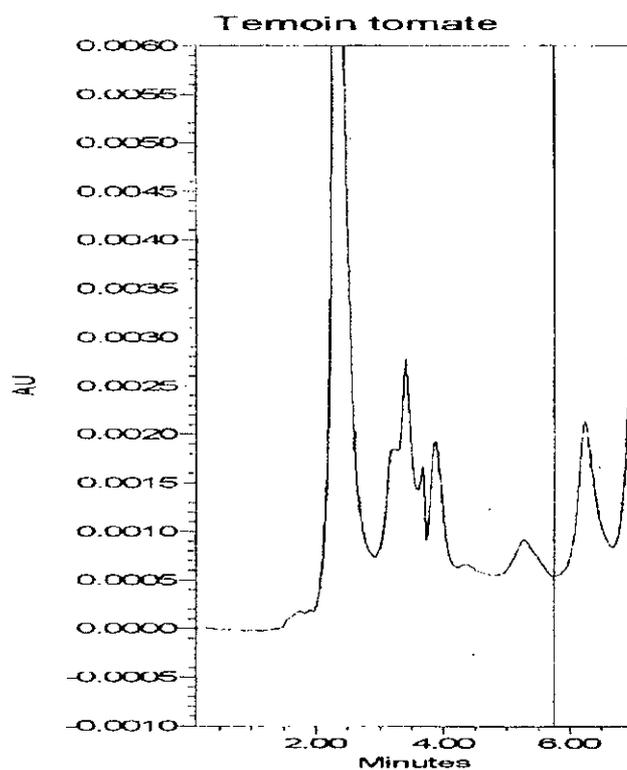


Figure 31 : Chromatogramme du témoin tomate obtenu par H.P.L.C. :  
Colonne C18 Whatman (partisil 5 ODS), détecteur à barrette de diode à 233,7 nm,  
Phase mobile : acétonitrile / eau (20 : 80, V / V), Débit 1 ml / min.

Les chromatogrammes les plus représentatifs pour les extraits de laitue et de tomate, sont donnés sur la figure 32 et 33 respectivement :

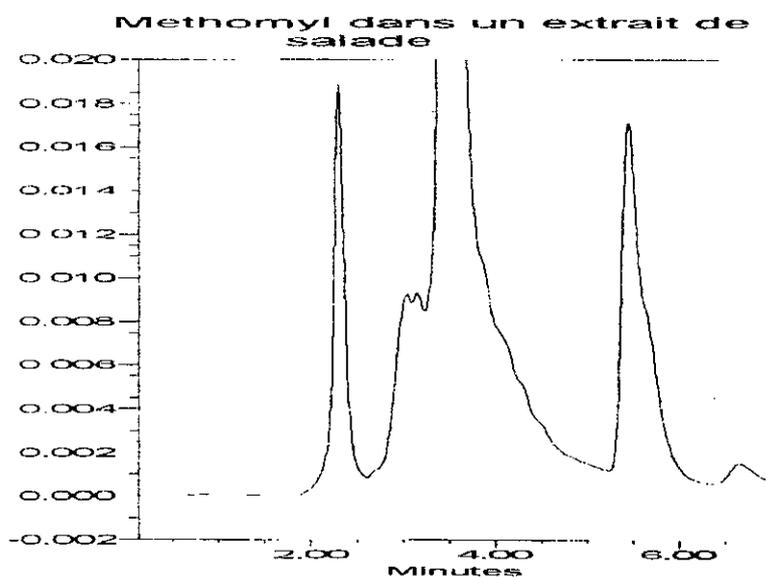


Figure 32 : Chromatogramme dans un extrait de laitue obtenu par H.P.L.C. :  
Colonne C18 Whatman (partisil 5 ODS), détecteur à barrette de diode à 233,7 nm,  
Phase mobile : acétonitrile / eau (20 : 80, V / V), Débit 1 ml / min.

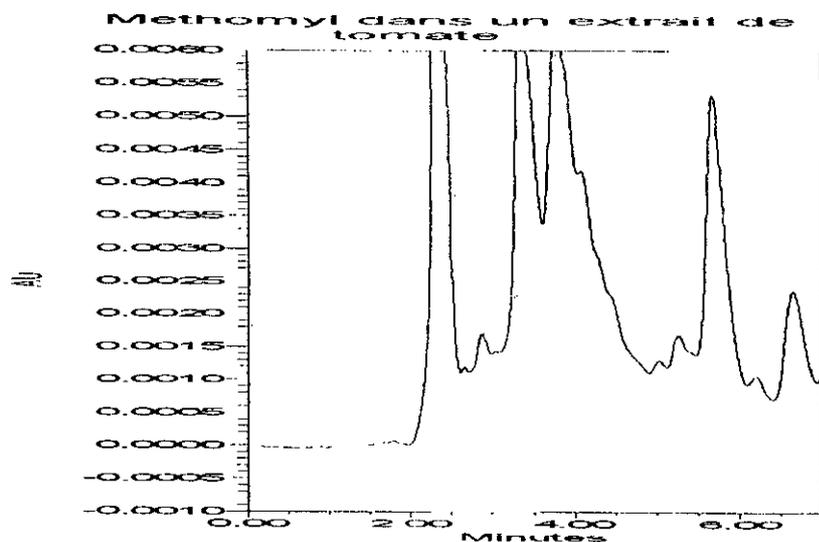


Figure 33 : Chromatogramme dans un extrait de tomate, obtenu par H.P.L.C. :  
 Colonne C18 Whatman (partisil 5 ODS), détecteur à barrette de diode à 233,7 nm,  
 Phase mobile : acétonitrile / eau (20 : 80, V / V), Débit 1 ml / min.

## G – EXPLOITATION DES RESULTATS

Une fois le chromatogramme obtenu, le calcul de la surface pour avoir la concentration devient très facile il se fait à l'aide de la formule suivante :

$$A_i = A'_i \times \frac{V}{25} \quad (19)$$

Où :

$A_i$  : Surface du composé qui sera lue sur la courbe d'étalonnage.

$A'_i$  : Surface du composé lue directement sur le chromatogramme.

$V$  : volume total de l'extrait.

25 : Correspond à la masse de l'échantillon ayant subi l'extraction.

Comme on a utilisé une boucle d'injection, donc le volume injecté est le même pour tous les échantillons. Le passage par la formule avec la quantité injectée n'est pas nécessaire car ce procédé nous permet de tracer directement la surface des pics en fonction de la concentration.

Nos échantillons ayant été conservés pendant quatre mois et plus, ils se sont tous

évaporés mais à des degrés différents. Ce qui nous a amenés à mesurer leurs volumes (V) avant l'injection, et ainsi pouvoir revenir à la concentration initiale par la formule 19. Les résultats des injections avec le volume de l'échantillon sont présentés dans le tableau 23

Tableau 23 : Surfaces des pics après l'injection.

|        |                | DOSE SIMPLE |         |         | DOSE DOUBLE |         |         |
|--------|----------------|-------------|---------|---------|-------------|---------|---------|
|        |                | 1 jour      | 2 jours | 7 jours | 1 jour      | 2 jours | 7 jours |
| Laitue | Volume ( ml )  | 2,3         | 2,0     | 0,5     | 1,8         | 1,2     | 2,2     |
|        | Surface du pic | 28461       | 20656   | 0,0     | 28057       | 99810   | 59650   |
| Tomate | Volume ( ml )  | 1,8         | 3,4     | 1,1     | 4,4         | 4,1     | 4,9     |
|        | Surface du pic | 44123       | 16341   | 0,0     | 18834       | 63263   | 0,0     |

Les résultats du tableau 24 représentent les valeurs des surfaces calculées à l'aide de la formule 19 ainsi que les concentrations en mg / kg ( p.p.m.),

Tableau 24 : Concentration des échantillons en (p.p.m.)

|        |                        | DOSE SIMPLE |         |         | DOSE DOUBLE |         |         |
|--------|------------------------|-------------|---------|---------|-------------|---------|---------|
|        |                        | 1 jour      | 2 jours | 7 jours | 1 jour      | 2 jours | 7 jours |
| Laitue | Surface calculée       | 2618        | 1652    | 0       | 20201       | 4791    | 5249    |
|        | Concentration (p.p.m.) | 0,29        | 0,26    | 0,00    | 0,72        | 0,35    | 0,35    |
| Tomate | Surface calculée       | 3176        | 2222    | 0       | 3314        | 10375   | 0       |
|        | Concentration (p.p.m.) | 0,30        | 0,27    | 0,00    | 0,30        | 0,47    | 0,00    |

Les résultats du dosage du **Lannate** dans la laitue et la tomate, corrigés par un facteur qui est le taux de récupération, sont représentés sur les figures 34 et 35 respectivement et permettent de mieux apprécier l'évolution de la concentration en fonction de la date de récolte après traitement..

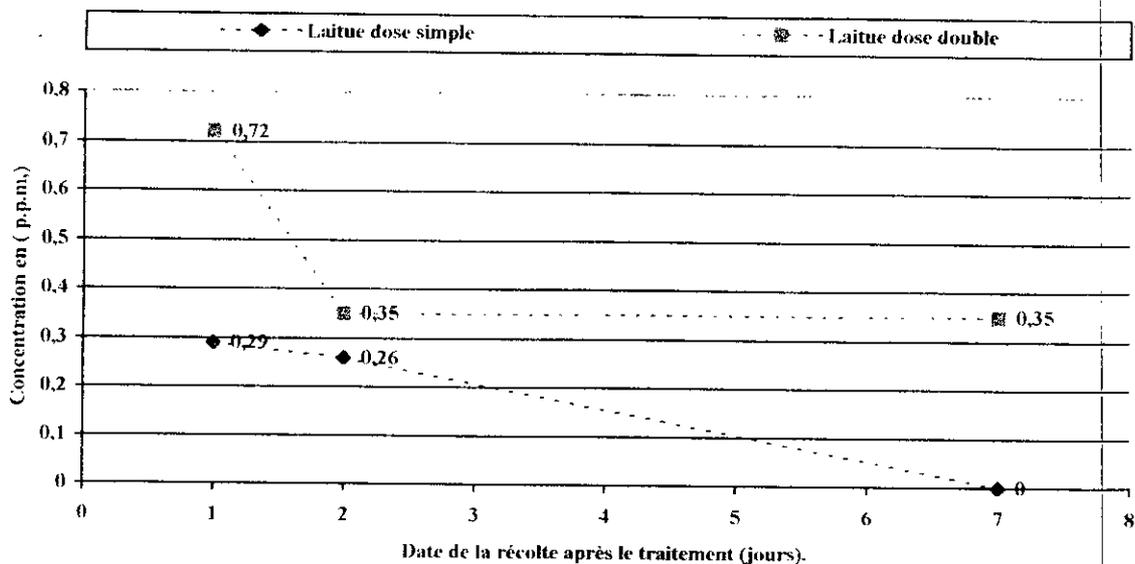


Figure 34 : Evolution de la concentration des résidus en fonction de la date après traitement pour la laitue.

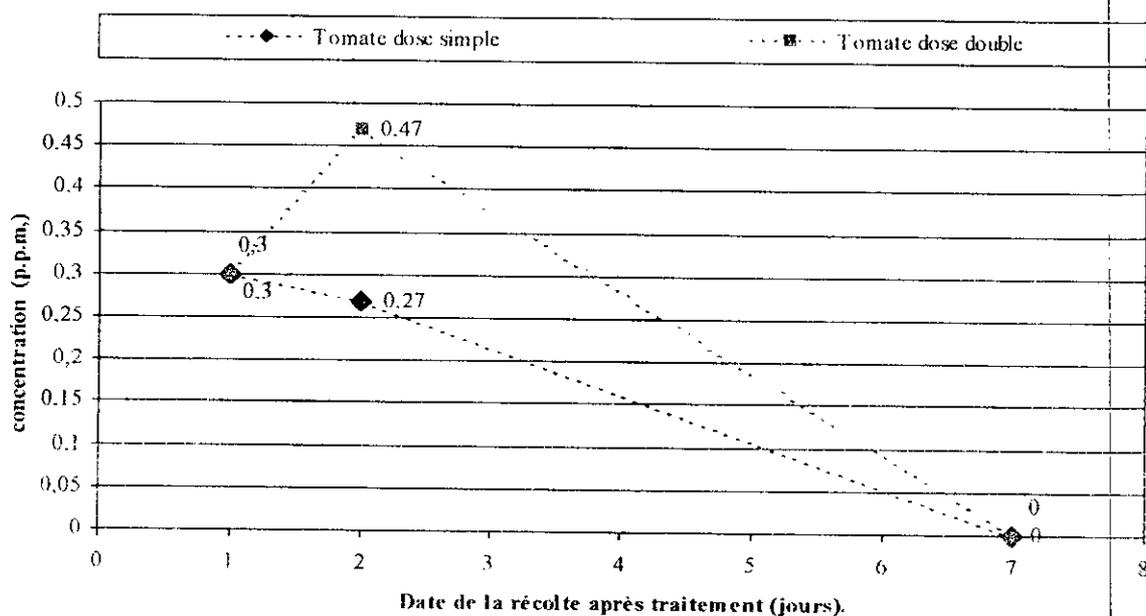


Figure 35: Evolution de la concentration des résidus en fonction de la date après traitement pour la tomate.

## H - INTERPRETATIONS ET DISCUSSIONS

Les résultats obtenus révèlent la présence de résidus de **Lannate** dans les trois quarts des échantillons de laitue et de tomate, traités aussi bien avec une dose simple qu'avec une dose double.

Dans les échantillons récoltés après sept jours et dans ceux non traités (témoins), on ne décele aucun résidu de pesticides.

Nous notons une certaine similitude entre les concentrations obtenues et les doses de traitements effectués. Les concentrations des échantillons à doses doubles restent supérieures

à celles des doses simples sans pour autant qu'il y ait une parfaite proportionnalité.

Dans tous les cas, la concentration de pesticide diminue quand la durée après traitement augmente et s'annule au bout de 7 jours, durée qui correspond au délai de traitement avant récolte [49].

Quant aux témoins, l'absence de résidus est une preuve qu'il n'existe pas d'interférence des produits entre les plants traités et ceux qui ne le sont pas : c'est à dire que le produit est localisé au niveau du plant traité. D'autant plus que, nous avons veillé à ce que l'emplacement des témoins soit aléatoire à l'intérieur de la serre, et que nous avons effectué un prélèvement de chaque billon pour l'analyse d'un seul échantillon témoin, aussi bien pour la tomate que pour la laitue.

Par ailleurs, nous avons remarqué une altération des plants non traités, ce qui prouve la nécessité des traitements par les pesticides.

Nous constatons que pour tous les échantillons, les concentrations retrouvées sont inférieures à la L.M.R., mais reste tous de même à une concentration non négligeable (25 % en moyenne de la L.M.R.).

Toutefois, ces concentrations sont inférieures à celles relevées dans d'autres travaux avec des pesticides différents. Ceci pourrait s'expliquer par ce qui suit :

- 1) La forte instabilité du **Lannate** à la lumière a pu causer sa photodégradation.
- 2) La relativement aisée thermodégradation du **Lannate**, a pu être accentuée par une conservation non idéale des échantillons.  
En effet, une température de 4°C est requise pour sa conservation et nous ne disposions que d'une glacière.
- 3) Le laps de temps écoulé entre la préparation des échantillons et leur analyse, a dépassé les délais recommandés de conservation de la matière active, du fait de la non disponibilité des équipements d'analyse.
- 4) La longue période de conservation des échantillons (4 mois), en plein été a par ailleurs provoqué une évaporation du solvant, et la possibilité d'une évaporation d'une partie de la matière active n'est pas à exclure.
- 5) Le chloroforme, meilleur solvant disponible au moment de l'extraction, n'est probablement pas le plus approprié.
- 6) Pour le cas du **Lannate**, les doses prescrites pour les traitements sont relativement faibles (30 g / 10 l), les résidus susceptibles de se retrouver dans les substrats le sont

donc également.

Comme l'analyse n'a pu être effectuée que par **H.P.L.C.**, et que seule une injection par échantillon n'a pu être faite, il est impossible de conclure que c'est la meilleure méthode pour le dosage des résidus de **Lannate**, malgré ses performances (il faut noter que nous avons toujours travaillé dans des limites de détection très basses).

Il serait donc souhaitable de confirmer nos résultats par chromatographie en phase gazeuse, méthode qui est la plus citée dans la littérature pour les résidus de pesticides.

# Conclusion Générale

## CONCLUSION GENERALE

L'utilisation des pesticides en agriculture est officiellement autorisée par le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche et par le ministère de la Santé et de la Population. Les prescriptions en la matière permettent une application efficace des pesticides et la présence d'une quantité de résidus acceptable d'un point de vue toxicologique, lors de la récolte des produits comestibles.

En vertu du principe d'une bonne pratique agricole, les pesticides sont uniquement autorisés pour lutter efficacement contre les ravageurs des cultures, les maladies et les épidémies et à condition que les normes de tolérance des résidus, basées sur des données toxicologiques, ne soient pas dépassées.

Par cette étude nous avons voulu vérifier, si les aliments d'origine végétale et de consommation courante en Algérie, en l'occurrence la tomate et la laitue, se situaient dans les normes de tolérance légales en matière de résidus, si les bonnes pratiques agricoles dictées par les fabricants des pesticides étaient respectées, et ensuite les comparer aux plantes ayant subi un traitement à des doses doubles, Il ressort au terme de notre étude que :

Seul le respect des prescriptions du Ministère de la Santé et de la Population et du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche ainsi que des directives du fabricant assurent des aliments ne comportant pas de résidus. Ceci qui est confirmé dans 100 % de nos échantillons concernant le respect des délais avant récolte et doses de traitement, et cela pour **Lannate** qui a fait l'objet de notre étude.

La concentration en résidus du **Lannate** sur les deux cultures s'est avéré étroitement liée aux doses de traitement et aux délais avant récolte, et l'efficacité de ce pesticide n'est plus à vérifier vu l'amélioration de l'état phytosanitaire des billons traités par rapport à ceux des témoins non traités.

La méthode d'extraction purification déjà utilisée s'est avérée efficace puisque un taux de recouvrement satisfaisant (72 %) a été retrouvé, ce qui confirme les résultats déjà obtenus lors des travaux précédents [53].

La méthode d'analyse doit être disponible au moment de l'extraction pour pouvoir effectuer le dosage immédiatement et éliminer l'hypothèse de la dégradation avec le temps et ses différents facteurs.

L'obtention des étalons doit se faire au niveau de la firme qui importe le pesticide, car elle seule pourra nous garantir sa pureté.

La toxicité aiguë du **Lannate** est réelle comme le montrent les statistiques du Centre antipoison de Bab El Oued, et la toxicité chronique n'est plus à écarter vu la présence de résidus dans les cultures, et l'utilisation importante de cet insecticide en Algérie.

Pour conclure, on peut dire que le contrôle des aliments est un domaine d'intérêt général et non pas uniquement du ressort du laboratoire du contrôle des fraudes ou du laboratoire de toxicologie. Seule la contribution de toutes les institutions peut aboutir à une garantie certaine de la qualité des aliments, et cela par un travail d'information et de contrôle.

# Bibliographie

**BIBLIOGRAPHIE**

- [01] - Encyclopaedia Universalis 99, pesticides , CD ROM
- [02] - Rapport sur les produits chimiques utilisés en agricultures, I.N.P.V., 1995.
- [03] - **S. Srebrnik-Friszman**, Analyse des résidus de pesticides et de PCB présents dans les produits composant le panier de la ménagère et dans l'alimentation globale, Recherche Internet.
- [04] - **R. Derrache**, Toxicité et sécurité des aliments, Ed. Lavoisier, Paris, 1986.
- [05] - **J. Fournier**, Chimie des pesticides, Cultures et Techniques, Agence de coopération culturelle, Ed. Lavoisier, 1988, pp. 251 - 266.
- [06] - Dictionnaire encyclopédique Quillet, librairie- A.Quillet, 1983.
- [07] - **R. Perrin, J. P. Schar**, Chimie industrielle, Tome 2, Ed. Masson, Paris-Milan-Barcelone, 1995, pp. 872 - 897.
- [08] - **A.F.NOR.**, Pesticides, Noms communs pour les pesticides, Norme T. 72, 1980.
- [09] - **Anonyme**, Outils toxicologiques.
- [10] - **F.A.O./O.M.S.**, Codex Alimentarius, 1975.
- [11] - **D. Mueller Beilschmidt**, Toxicology and Environmental Fate of Synthetic pyrèthroids, Journal of Pesticide Reform, Vol.10, n°3, 1990.
- [12] - **J. Missonier**, La lutte intégrée contre les ravageurs, principes généraux et obstacle à son application, phytoma, la défense des végétaux, n°435, 1992, pp. 22 - 25.
- [13] - Bilan des ventes des pesticides au Québec en 1996, Regroupement des pesticides, 1997, [http:// :www.mef.gouv.qc.ca](http://www.mef.gouv.qc.ca) .
- [14] - **R. R. Lauwerys**, Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles, 3<sup>ème</sup> édition Masson, Paris, 1992, pp.547 - 606.
- [15] - **C. Lu. Frank**, Toxicologie, données générales, Procédures d'évaluation, Organes ciblés, Ed Masson, Paris, 1992.
- [16] - **J. Tremolieres, Y. Serville**, Les aliments, Tome2, Ed. E.S.F, 1984, pp.474 - 477.
- [17] - **L. Richou-Bac, A. Venant**, Bull.Acad.vet. de France, n°58, 1985, pp.199 - 212.
- [18] - **O.M.S.**, Résistance des vecteurs aux pesticides, Quinzième rapport du comité O.M.S. d'expert de la biologie des vecteurs et de la lutte antivéctorielle, Série de rapports techniques, n° 818, Genève, 1998, pp. 36.
- [19] - **O.M.S.**, L'utilisation des pesticides en agriculture et sa conséquence pour la santé publique, Genève, 1991, pp.27.

- [20] - **Cramer**, pflanzenschutz nachrichten bayer, Vol.2, n°28, 1975, pp. 218 - 231.
- [21] - **F. Colliot, Le Roux**, Lutte contre les ravageurs, Evolution du marché mondial des produits. Troisième conférence internationale sur les ravageurs en agriculture, Tome 1, Ed. A.A.P.P., Paris, 1993, pp.1 - 9.
- [22] - **A. Moumen**, le contrôle des produits phytosanitaires, I.N.P.V., 1994 .
- [23] - **T. Nezzal**, Situation actuelle de la protection des végétaux et perspectives, protev, I.N.P.V., 1993.
- [24] - Conditions d'emploi des pesticides en Algérie, I.N.P.V., 1996.
- [25] - **M. Hayo, G. Van Der Werf**, Evaluer l'impact des pesticides sur l'environnement, Station d'agronomie, Courrier de l'environnement de l'I.N.R.A., n°31, 1997.
- [26] - **F. Ramade, Mc Graw Hill**, Eléments de biologie appliquée, 1982, pp.167 - 205.
- [27] - **M. L. Bouguerra**, Les pays du Sud rongés par les pesticides, Le monde diplomatique, Avril 1999.
- [28] - **F.A.O.,O.M.S.**, Codex Alimentarius, Vol.13, n°2, 1987.
- [29] - Premier rapport sur les résidus de pesticides dans les fruits et légumes, Europ, n°7349, Bruxelles, 24/11/1998.
- [30] - **M. Chbil**, Analyse des résidus de pesticides, I.N.P.V.
- [31] - **K. M. Moussaoui, R. Boussahel, D. Demri**, Pesticides et Environnement : Utilisation, Contrôle et Recherche des Résidus dans l'Eau et les Aliments, Bull. International de l'Eau et de l'Environnement, EDILINF-EAU, 1999, pp.5 - 12.
- [32] - **H. L. Pease, J. J. Kirkland**, Determination of Methomyl Residues Using Microcoulometric Gas Chromatography, agricultural and Chemistry, 1968, pp. 554 -557.
- [33] - **P. P. Singh et All**, Residues of Cypermethrin Fenvalerate and Deltamethrin on Cauliflower, Phytoparasitica, Vol.18, n°2, 1990, pp.153 - 158.
- [34] - **T. Mergnat et All**, Reduction in Phosalone Residues Levels During Industrial Dehydration of Apples, Food Additives and Contaminants, Vol.12, n° 6, 1995, pp.759 - 767.
- [35] - **T. Nagata**, Determination of Residual 2,4,5-T in Vegetables by High Performance Liquid Chromatography with Ultraviolet and Fluorometric Detection after Derivatization with 2-(2,3-Naphthalimino)ethyl Trifluoromethanesulfonate (NE-OTf), Pestic. Sci., n°51, 1997, pp.27-32.
- [36] - **B . S. Joiat**, Gaz Chromatographic Determination of Cypermethrin and Fenvalrate Residus in Wheat and Milled Fractions, Intern.J.EnviroAnal.Chem., Vol 21, 1985, pp,179 - 184.
- [37] - **A. Abdel-All**, Determination of Deltamethrin Residues on Tomato and Carrot and its

- Impact on Some of the Chemical Constituents of Treated Plants, Alex-Scie Exch Vol.19, n°3, 1989, pp.487 - 504.
- [38] - **N. Kaushik, S. Handa**, New Clean-Up Method for Gas Chromatography Analysis of Pyrethroid residues, Chromathographia, Vol.36, n° 3, 1997. pp.209 - 212.
- [39] - **A. Aguilera-Del Real et All**, Behaviour of Endosulfan Residues in Peppers, Cucumbers and Cherry Tomatoes Grown in Greenhouse : Evaluation by Declive Curves, Pestic. Sci., n°51, 1997, pp.194-200.
- [40] - **P. Kamoun**, Appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire, Edition Médecine-Sciences Flammarion, 1995, pp.135 - 197.
- [41] - **M. Caude, A. Jardy**, Méthodes chromatographiques. Techniques de l'ingénieur P.1445, 1996.
- [42] - **C.Bievre, R.Munier**, Chromatographie de surface en phase liquide, Techniques de l'ingénieur, P.1475, 1979.
- [43] - **J. Tranchant**, Chromatographie en phase gazeuse, Techniques de l'ingénieur, P.1485, 1996.
- [44] - **M. Caude, A. Jardy**, Chromatographie en phase liquide, Théorie et méthodes de séparation, Techniques de l'ingénieur, P.1455, 1994.
- [45] - Statistiques du Centre antipoison de Bab El Oued, 1999.
- [46] - **T. Kestali**, Contribution à l'étude des résidus de Lannate et du Karate sur la tomate et la laitue sous serre, I.T.C.M.I., Département Agrotéchnie, Service Défense des Cultures. Campagne : 98/99.
- [47]- **Dupont**, Lannate 20 L, Dossier technique, 1994.
- [48]- Dossier d'homologation Lannate. Ministère de la Santé et de la Population.
- [49]-**A.C.T.A.**, Index phytosanitaire, 35<sup>ème</sup> édition, 1999.
- [50]- **F.A.O.**, Normes, 1997.
- [51]-**I.C.I.**, Karate, Technical Data, Plant Protection Division, 1984.
- [52]-**I.C.I.**, La Lambda Cyhalothrine dans la santé publique son innocuité pour la santé humaine et l'environnement, Bull.Inf.Agronomique. 1988.
- [53]-**R.BOUSSAHEL**, Recherche et Dosage des Résidus de la Deltaméthrine dans Certains Aliments, Thèse de Magistère, E.N.P., 1996.

# Liste des Tableaux

**Tableau 1 : Pertes estimatives de rendements (%en poids) en agriculture, pp. 9.**

**Tableau 2 : Utilisation des pesticides et rendement des principales cultures dans certains pays et régions, pp. 9.**

**Tableau 3 : Evolution du marché mondial des produits phytosanitaires, pp. 10.**

**Tableau 4 : Répartition de la commercialisation des pesticides en Algérie par catégorie de produits et en tonnes, pp. 13.**

**Tableau 5 : Commercialisation des pesticides en Algérie, pp. 12.**

**Tableau 6 : Persistance des insecticides organochlorés dans les sols, pp. 16.**

**Tableau 7 : Les différents diagnostics cliniques liés aux différentes familles de pesticides. pp. 18.**

**Tableau 8 : Classification O.M.S. des pesticides par degré de risque pour l'homme, pp. 19.**

**Tableau 9: Interactions et paramètres gouvernant la rétention des solutés et la sélectivité des méthodes chromatographiques, pp. 45.**

**Tableau 10 : Principaux pesticides utilisés dans la région centre, pp. 47.**

**Tableau 11 : Répartition des cas d'intoxications par les pesticides, par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication, pour l'année 1994, pp. 48.**

**Tableau 12 : Répartition des cas d'intoxications par les pesticides , par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1995, pp. 50.**

**Tableau 13 : Répartition des cas d'intoxications par les pesticides, par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1996, pp. 51.**

**Tableau 14 : Répartition des cas d'intoxications par les pesticides, par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1997, pp. 52.**

**Tableau 15 : Répartition des cas d'intoxications par les pesticides, par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1998, pp. 54.**

**Tableau 16 : L.M.R. du Méthomyl dans certaines cultures, pp. 59.**

**Tableau 17 : Différentes D.L.<sub>50</sub> pour les rongeurs, pp. 59.**

**Tableau 18 : L.M.R. du Karate dans certaines cultures, pp. 61.**

**Tableau 19 : D.L.<sub>50</sub> de la Lambda Cyhalothrine pour certaines espèces, pp. 62.**

**Tableau 20 : Comparaison entre les D.J.A. de certains pesticides, pp. 62.**

**Tableau 21 : Les différents pesticides utilisés sur T<sub>3</sub> et T<sub>4</sub>, pp. 65.**

**Tableau 22 : Doses et dates des traitements expérimentaux, pp. 65.**

**Tableau 23 : Surfaces des pics après l'injection, pp. 78.**

**Tableau 24 : Concentration des échantillons en (p.p.m.), pp. 78.**

# Liste des Figures

**Figure 1 : Regroupements des pesticides, pp. 4.**

**Figure 2 : Molécule d'un organophosphoré, pp. 5.**

**Figure 3 : Ventés des pesticides dans le monde en 1994, pp. 11.**

**Figure 4 : Cumulatif des dix matières actives les plus vendues en 1996, pp. 12.**

**Figure 5 : Schéma d'un système chromatographique, pp. 32.**

**Figure 6 : Forme des pics suivant la forme de l'isotherme d'adsorption, pp. 36.**

**Figure 7 : Grandeurs de rétention brutes et réduites, pp. 38.**

**Figure 8 : Résolution R de deux pics voisins A et B, pp. 40.**

**Figure 9 : Méthodes de séparation en chromatographie liquide, pp.42**

**Figure 10 : Répartition graphique des cas d'intoxications par les pesticides, par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1994, pp. 49.**

**Figure 11 : Pourcentage des cas d'intoxications par les pesticides, par tranches d'âges pour l'année 1994, pp. 49.**

**Figure 12 : Répartition graphique des cas d'intoxications par les pesticides, par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1995, pp. 50.**

**Figure 13 : Pourcentage des cas d'intoxications par les pesticides, par tranches d'âges pour l'année 1995, pp. 51.**

**Figure 14 : Répartition graphique des cas d'intoxications par les pesticides, par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1996, pp. 51.**

**Figure 15 : Pourcentage des cas d'intoxications par les pesticides, par tranches d'âges pour l'année 1996, pp. 52.**

**Figure 16 : Répartition graphique des cas d'intoxications par les pesticides, par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1997, pp. 53.**

**Figure 17 : Pourcentage des cas d'intoxications par les pesticides, par tranches d'âges pour l'année 1997, pp. 53.**

**Figure 18 : Répartition graphique des cas d'intoxications par les pesticides, par tranches d'âges selon les circonstances de l'intoxication pour l'année 1998, pp. 54.**

**Figure 19 : Pourcentage des cas d'intoxications par les pesticides, par tranches d'âges pour l'année 1998, pp. 55.**

**Figure 20 : Evolution des cas d'intoxications durant ces cinq dernières années, pp. 55.**

**Figure 21: Formule développée de la molécule de Méthomyl, pp. 57.**

**Figure 22: Formule développée de la molécule Lambda Cyhalothrine, pp. 60.**

**Figure 23 : Schéma simplifié de la serre, pp. 63.**

**Figure 24 : Résumé des étapes de l'extraction, pp. 68.**

**Figure 25 : Résumé des étapes de la purification, pp. 69.**

**Figure 26 : Spectre U.V. du Méthomyl, pp. 72.**

**Figure 27 : Courbe d'étalonnage du Méthomyl, pp. 73.**

**Figure 28 : Chromatogramme de la solution dopée obtenu par H.P.L.C. : Colonne C18 Whatman (partisil 5 ODS), détecteur à barrette de diode à 233,7 nm, Phase mobile : acétonitrile / eau (20 : 80 V / V), Débit 1 ml / min, pp. 74.**

**Figure 29 : Chromatogramme de la solution blanc obtenu par H.P.L.C. : Colonne C18 Whatman (partisil 5 ODS), détecteur à barrette de diode à 233,7 nm, phase mobile : acétonitrile / eau (20 : 80 V / V), Débit 1 ml / min, pp. 75.**

**Figure 30 : Chromatogramme du témoin salade obtenu par H.P.L.C. : Colonne C18 Whatman (partisil 5 ODS), détecteur à barrette de diode à 233,7 nm, Phase mobile : acétonitrile / eau (20 : 80 V / V), Débit 1 ml / min, pp. 75.**

**Figure 31 : Chromatogramme du témoin tomate obtenu par H.P.L.C. : Colonne C18 Whatman (partisil 5 ODS), détecteur à barrette de diode à 233,7 nm, Phase mobile : acétonitrile / eau (20 : 80 V / V), Débit 1 ml / min, pp. 76.**

**Figure 32 : Chromatogramme dans un extrait de laitue obtenu par H.P.L.C. : Colonne C18 Whatman (partisil 5 ODS), détecteur à barrette de diode à 233,7 nm, Phase mobile : acétonitrile / eau (20 : 80 V / V), Débit 1 ml / min, pp. 76.**

**Figure 33 : Chromatogramme dans un extrait de tomate obtenu par H.P.L.C. : Colonne C18 Whatman (partisil 5 ODS), détecteur à barrette de diode à 233,7 nm, Phase mobile : acétonitrile / eau (20 : 80) V / V, Débit 1 ml / min, pp.77.**

**Figure 34 : Evolution de la concentration des résidus en fonction de la date après traitement pour la laitue, pp. 79.**

**Figure 35: Evolution de la concentration des résidus en fonction de la date après traitement pour la tomate, 79.**