



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique  
جامعة زيان عاشور- الجلفة  
Université Ziane Achour –Djelfa  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
قسم العلوم الفلاحية والبيطرية  
Département des Sciences Agronomiques et Vétérinaires

## Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Spécialité : Agroalimentaire et contrôle de qualité

### Thème

**Mise en evidence et dosage des pesticides par GC-MS dans le  
lait consommé en Algérie**

Présenté par:

**Belkhirat Houssame  
Tamri Nadir**

Devant le jury composé de :

|                  |                                  |                   |                             |
|------------------|----------------------------------|-------------------|-----------------------------|
| <b>Président</b> | <b>: Mr. Lahrech M.B</b>         | <b>Professeur</b> | <b>Université de Djelfa</b> |
| <b>Examineur</b> | <b>: Mr.Azzouz M.</b>            | <b>M.A.A</b>      | <b>Université de Djelfa</b> |
| <b>Encadreur</b> | <b>: Mr Kacimi El Hassani M.</b> | <b>M.A.A</b>      | <b>Université de Djelfa</b> |

**Année universitaire : 2021/2022**

## Remerciements

*Au terme de ce travail, nous exprimons toute notre reconnaissance à notre encadreur Mr Kacimi El Hassani M. pour sa modestie, son aide, ses précieux conseils, et sa disponibilité à chaque fois où on l'a sollicité.*

*Nos respectueux remerciements aux membres du jury : Mr Lahrech M.B , et Mr Azzouz M. qui nous ont fait l'honneur de participer à l'évaluation de ce modeste travail .*

*Nous remercions aussi Mr Boumehras qui nous a apporté son aide pour réaliser ce travail.*

*Enfin nos vifs remerciements à tous nos enseignants qui nous ont accompagné durant tout notre cursus universitaire*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à mon cher père qui était là pour moi chaque fois que j'en avais besoin, celui qui m'a rendu la vie beaucoup plus facile sur tous les aspects.*

*Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité*

*A ma chère mère bien-aimée qui a prié jour et nuit pour que je sois l'homme que je suis aujourd'hui et à ma sœur aînée qui a été le soutien émotionnel tout au long de ma carrière.*

*A tous mes enseignants*

*A tous mes amis, et en particulier mon meilleur ami Mohamed Haouassi et à son frère El haouas . Enfin à mon cher ami et collègue Tamri nadir*

*Houssame*

*À la maman et mes frères*

*A mon père bien-aimé mon cher*

*A mon soutien et ma force après Dieu mes amis*

*A tous mes enseignants du primaire au master*

*A tous mes amis dans le Club d'Eco-Vert*

*A toute personne qui considère moi comme un frère*

*Nadir*

## Résumé

Ce travail a pour objectif de voir l'impact des résidus des pesticides dans notre alimentation. Notre choix s'est fait sur le lait pour mener notre étude, car c'est un produit alimentaire à large consommation. Des échantillons de lait ont été analysés en utilisant la méthode Quechers . Cette technique très efficace, qui fait une extraction multi résidus dans une matrice alimentaire a été suivie par une chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse. L'interprétation des résultats a montré la présence de composés organiques

**Mot clés :** Lait, Pesticides, Quechers, Chromatographie.

## Abstract

This work aims to see the impact of pesticide residues in our food. Our choice was made on milk to conduct our study, because it is a widely consumed food product. Milk samples were analyzed using the Quechers method. This very effective technique, which performs a multi-residue extraction in a food matrix, was followed by gas phase chromatography coupled with a mass spectrometer. The interpretation of the results showed the presence of organic compounds

**Keywords :** Milk, Pesticides, Quechers, Chromatography.

## ملخص

يهدف هذا العمل إلى معرفة تأثير بقايا المبيدات في طعامنا. اخترنا الحليب لدراستنا لكونه منتج غذائي مستهلك على نطاق واسع. تم تحليل عينات من الحليب باستخدام طريقة Quechers هذه التقنية الفعالة للغاية، والتي تقوم باستخراج بقايا متعددة في مصفوفة غذائية، تبعها كروماتوغرافيا الطور الغازي المقترن بمطياف الكتلة . أظهر تفسير النتائج وجود مركبات عضوية .

**الكلمات المفتاحية:** الحليب، مبيدات، Quechers، الكروماتوغرافيا.

## SOMMAIRE

|                                                                                                                                        |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Introduction générale.....</b>                                                                                                      | <b>1</b>  |
| <b>Chapitre 1 : Généralités sur les pesticides.....</b>                                                                                | <b>4</b>  |
| <b>Définitions .....</b>                                                                                                               | <b>4</b>  |
| <b>1.2. Les pesticides et l'environnement .....</b>                                                                                    | <b>4</b>  |
| <b>1.3. Utilisation des pesticides .....</b>                                                                                           | <b>4</b>  |
| <b>1.4. Classification des pesticides.....</b>                                                                                         | <b>5</b>  |
| <b>1.4. 1. Les familles de pesticides .....</b>                                                                                        | <b>5</b>  |
| 1.4.1.1 Les fongicides .....                                                                                                           | 5         |
| 1.4.1.2 Les herbicides .....                                                                                                           | 5         |
| 1.4.1.3 Les insecticides .....                                                                                                         | 5         |
| <b>1.4.2 Modes de classification des pesticides.....</b>                                                                               | <b>6</b>  |
| 1.4.2.1. Classification selon le mode d'entrée .....                                                                                   | 6         |
| 1.4.2.2 Classification selon l'action des pesticides et des organismes qu'ils tuent.....                                               | 7         |
| 1.4.2.3. Classification basée sur la composition chimique des pesticides .....                                                         | 10        |
| 1.4.2.3.1 Classification des fongicides selon leur structure chimique .....                                                            | 10        |
| 1.4.2.3.1.1 Les fongicides minéraux : .....                                                                                            | 10        |
| 1.4.2.3.1.2 Les fongicides Organiques :.....                                                                                           | 11        |
| 1.4.2.3.2.1 Les organochlorés .....                                                                                                    | 11        |
| 1.4.2.3.2.2 Les organophosphorés.....                                                                                                  | 12        |
| 1.4.2.3.2.3 Les carbamates .....                                                                                                       | 12        |
| 1.4.2.3.2.4. Les pyréthrinoïdes de synthèse : .....                                                                                    | 12        |
| 1.4.2.3.3. Classification des herbicides selon leur structure chimique.....                                                            | 13        |
| 1.4.2.3.3.1. Herbicides minéraux .....                                                                                                 | 14        |
| 1.4.2.3.3.2. Herbicides organiques.....                                                                                                | 14        |
| 1.4.2.4. Classification basée sur la toxicité des pesticides (Selon l'OMS) .....                                                       | 17        |
| <b>Conclusion.....</b>                                                                                                                 | <b>17</b> |
| <br>                                                                                                                                   |           |
| <b>Chapitre 2 : L'impact de l'utilisation des pesticides sur la santé humaine et l'environnement et les normes réglementaires.....</b> | <b>18</b> |
| 2.1.2 Les résidus des pesticides .....                                                                                                 | 20        |
| 2.1.2.1 La notion de limite maximale des résidus (LMR) : .....                                                                         | 20        |
| 2.1.2.1.1 Définition.....                                                                                                              | 20        |
| 2.1.2.1.2 Etablissement de la LMR .....                                                                                                | 20        |
| 2.1.2.2: Résidus et toxicité .....                                                                                                     | 21        |
| 2.1.2.2.1 La toxicité aigüe.....                                                                                                       | 21        |

|                                                                                          |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.1.2.2.2 La toxicité chronique et la dose sans effet.....                               | 21        |
| 2.1.2.2.3 La dose journalière admissible (DJA).....                                      | 21        |
| 2.1.2.2.4 L'Acute Reference Dose (ARfD) ( ou dose de référence aiguë) .....              | 22        |
| 2.1.2.2.5 L'apport journalier maximum théorique (AJMT) .....                             | 22        |
| 2.1.3 Les pathologies dues à des intoxications chroniques.....                           | 23        |
| 2.1.3.1 : Les cancers .....                                                              | 24        |
| 2.1.3.1.1 : Lymphome malins non hodgkiniens .....                                        | 24        |
| 2.1.3.1.3 Les leucémies .....                                                            | 24        |
| 2.1.3.1.4 Le cancer de prostate .....                                                    | 25        |
| 2.1.3.1.5 Le cancer de la peau.....                                                      | 25        |
| 2.1.3.1.6 Le cancer de l'estomac .....                                                   | 25        |
| 2.1.3.1.7 Le cancer du cerveau :.....                                                    | 25        |
| 2.1.3.2. Les pathologies neurologiques .....                                             | 26        |
| 2.1.3.2.1 La maladie de Parkinson .....                                                  | 26        |
| 2.1.3.2.2 La maladie d'Alzheimer .....                                                   | 26        |
| 2.1.3.2.3 Les troubles cognitifs et anxiodépressifs .....                                | 27        |
| 2.1.3.3. Pathologies liées aux troubles de la fertilité et de la reproduction .....      | 27        |
| 2.1.3.4 Pesticides et perturbateurs endocriniens .....                                   | 27        |
| 2.1.3.5 Pesticides et maladies métaboliques .....                                        | 28        |
| 2.2 Impact des pesticides sur l'environnement.....                                       | 28        |
| 2.2.1 La pollution des eaux.....                                                         | 29        |
| 2.2.2 Le devenir des pesticides dans le sol .....                                        | 29        |
| 2.2.2 La pollution de l'atmosphère par les pesticides (la volatilisation) .....          | 30        |
| 2.3. L'utilisation des pesticides et les normes réglementaires .....                     | 30        |
| 2.3.1. Les normes FAO/OMS .....                                                          | 31        |
| 2.3.1.1 La commission du codex Alimentarius .....                                        | 31        |
| 2.3.1.2 Le Comité du Codex sur les Résidus de Pesticides (CCRP) .....                    | 31        |
| 2.3.1.3 Réunion conjointe FAO/OMS sur les résidus de pesticides (JMPR) .....             | 31        |
| 2.3.2 Les normes de l'union européenne.....                                              | 32        |
| 2.3.3 La législation algérienne .....                                                    | 32        |
| Conclusion.....                                                                          | 33        |
| <b>Chapitre 3 : Recherche des pesticides dans le lait et évaluation des risques.....</b> | <b>35</b> |
| Introduction .....                                                                       | 35        |
| 3.2 Composition du lait .....                                                            | 36        |
| 3.3 Qualité du lait .....                                                                | 37        |
| 3.3.1 Qualité technologique.....                                                         | 37        |
| 3.3.2 Qualité sanitaire.....                                                             | 37        |
| 3.4. Les caractéristiques physicochimiques du lait .....                                 | 38        |

|                                                                                                 |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.4.1 La masse volumique .....                                                                  | 38        |
| 3.4.2 La densité.....                                                                           | 38        |
| 3.4.3. Le point de congélation .....                                                            | 38        |
| 3.4.4 Le point d'ébullition .....                                                               | 38        |
| 3.4.5 Le PH .....                                                                               | 38        |
| 3.4.6 L'acidité.....                                                                            | 39        |
| 3.4.7 La matière grasse.....                                                                    | 39        |
| 3.6.1 Préparation de l'échantillon .....                                                        | 40        |
| 3.6.2 Présentation de la méthode Quechers.....                                                  | 41        |
| 3.6.2.1 Définition .....                                                                        | 41        |
| 3.6.2.2 Caractéristiques .....                                                                  | 41        |
| 3.6.2.3 Principe général .....                                                                  | 42        |
| 3.6.3 Analyse des pesticides.....                                                               | 43        |
| 3.6.3.1 La chromatographie en phase gazeuse .....                                               | 44        |
| 3.6.3.2 La chromatographie en phase liquide.....                                                | 47        |
| 3.6.4 Quelques applications de la méthode Quechers pour des matrices (autres que le lait) ..... | 48        |
| <b>Chapitre 4 Matériel et méthodes.....</b>                                                     | <b>50</b> |
| <b>Introduction .....</b>                                                                       | <b>50</b> |
| <b>4.1 Matériel et méthodes utilisés .....</b>                                                  | <b>50</b> |
| <b>4.1.1 Pour les propriétés physico-chimiques du lait de vache .....</b>                       | <b>50</b> |
| 4.1.1.1 Pour la densité.....                                                                    | 50        |
| 4.1.1.1 Pour l'acidité .....                                                                    | 51        |
| 4.1.1.3 Pour le PH.....                                                                         | 52        |
| 4.1.1.4 Pour la teneur en matière grasse .....                                                  | 52        |
| 4.1.1.5 Pour la matière sèche.....                                                              | 53        |
| <b>4.2. Pour l'extraction des pesticides dans les échantillons de lait .....</b>                | <b>54</b> |
| <b>Chapitre 5 Résultats et discussion.....</b>                                                  | <b>57</b> |
| <b>Introduction .....</b>                                                                       | <b>57</b> |
| <b>5.1 Les résultats des mesures pour les propriétés physico chimiques du lait .....</b>        | <b>57</b> |
| <b>5.2 Analyse chromatographique des pesticides dans le lait : .....</b>                        | <b>58</b> |
| <b>5.3 Discussion.....</b>                                                                      | <b>60</b> |
| <b>Conclusion générale.....</b>                                                                 | <b>61</b> |
| <b>Références bibliographiques.....</b>                                                         | <b>62</b> |
| <b>Webographie.....</b>                                                                         | <b>69</b> |

## Liste des tableaux

|                                                                                                                      |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tableau 1.1 : Classification des pesticides par ravageurs ciblés .....</b>                                        | <b>8</b>  |
| <b>Tableau 1.2 : Classification des pesticides selon l’OMS.....</b>                                                  | <b>17</b> |
| <b>Tableau 3.1: Application de la méthode Quechers pour quelques matrices alimentaires (autres que le lait).....</b> | <b>49</b> |
| <b>Tableau 5.1 Les résultats obtenus .....</b>                                                                       | <b>57</b> |
| <b>Tableau 5.2 Des normes pour quelques propriétés physicochimiques.....</b>                                         | <b>57</b> |
| <b>Tableau 5.3 Des résultats antérieurs pour quelques propriétés physico-chimiques.....</b>                          | <b>57</b> |

## Liste des figures

|                                                                                                                  |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Figure 1.1 : Une classification chimique des insecticides .....</b>                                           | <b>13</b> |
| <b>Figure 2.1 : les modes de pénétration et le devenir des pesticides dans l’organisme.....</b>                  | <b>19</b> |
| <b>Figure 2.2 : Effets des pesticides sur l’environnement .....</b>                                              | <b>30</b> |
| <b>Figure 3.6. Principales étapes de la méthode QuEChERS.....</b>                                                | <b>43</b> |
| <b>Figure 3.7 Schéma d’un chromatographe .....</b>                                                               | <b>44</b> |
| <b>Figure 3.8 Schéma d’un injecteur.....</b>                                                                     | <b>45</b> |
| <b>Figure 3.9 Schéma (en coupe) d’une colonne remplie (à gauche) et d’une colonne capillaire (à droite).....</b> | <b>46</b> |
| <b>Figure 4.1 Echantillon introduit dans un cylindre gradué et avec un thermomètre .....</b>                     | <b>51</b> |
| <b>Figure 4.2 Le phénolphtaléine et le dosage du NaOH .....</b>                                                  | <b>51</b> |
| <b>Figure 4.3 Un PH-mètre avec la valeur trouvée.....</b>                                                        | <b>52</b> |
| <b>Figure 4.4 : Un butyromètre (Utilisation de la méthode Gerber).....</b>                                       | <b>53</b> |
| <b>Figure 4.5 Four pour extraire la matière sèche.....</b>                                                       | <b>53</b> |
| <b>Figure 4.6 Matériel utilisé .....</b>                                                                         | <b>54</b> |
| <b>Figure 4.7 Le MgSo4 heptahydraté et le Nacl .....</b>                                                         | <b>55</b> |
| <b>Figure 4.8 le processus de séchage du MgS04 heptahydraté .....</b>                                            | <b>55</b> |
| <b>Figure 5.1 Chromatogramme de l'analyse des pesticides dans le lait ovin.....</b>                              | <b>58</b> |
| <b>Figure 5.2 exemple d'un composé séparé et identifié par GC-MS .....</b>                                       | <b>59</b> |
| <b>Figure 5.3 Exemple d'un composé séparé par GC-MS .....</b>                                                    | <b>59</b> |

## Liste des abréviations

**FAO : Food and Agriculture Organization**

**AFNOR : Association française de normalisation**

**OMS : Organisation mondiale de la santé**

**DL50 :Dose létale 50**

**CL50 :concentration létale médiane**

**LMR : Limite maximale des résidus**

**DJA : La dose journalière admissible**

**ARfD :L'Acute Reference Dose**

**AJMT : L'apport journalier maximum théorique**

**AJE : L'apport journalier estimé**

**CMR<sub>i</sub>= la concentration moyenne en résidu d'une denrée i**

**DSE :Dose sans effet**

**CMJ<sub>i</sub>= la consommation moyenne journalière d'une denrée i par personne**

**JO : Journal officiel**

**PH : Potentiel hydrogène**

**Quechers : Quick, Easy, Cheap, Efficient, Rugged and Safe**

**GC-MS :Gaz chromatography -Mass spectrometry**

**LC-MS : Gaz chromatography -Mass spectrometry**

**HPLC : High performance liquid chromatography**

**MG : Matière grasse**

**MS : Matière sèche**

## Introduction générale

Les humains ont commencé à planter leur nourriture il y a de nombreux siècles et c'était et c'est toujours le moyen le plus utilisé pour produire de la nourriture pour nous les humains et pour élever des animaux. Mais l'agriculture est souvent confrontée aux stress biotiques exercés par différents bioagresseurs (insectes ravageurs, maladies fongiques, bactériennes et virales, mauvaises herbes ...etc.). Ces bioagresseurs occasionnent des pertes considérables engendrées par les baisses de rendements, la détérioration de la qualité de produits végétaux à la récolte et au stockage.

A travers l'histoire, ces agresseurs ont causé des catastrophes et on peut citer à titre d'exemple :

- La grande famine (Irlande) de 1846-1852 causée par un champignon qui s'est attaqué à la pomme de terre, connu sous le nom de mildiou de la pomme de terre (*phythophtora infestans*) et qui a détruit presque toute la production de l'année 1846 et la même pour l'année 1848, sachant que la consommation de pomme de terre en Irlande à l'époque était d'environ 4 à 5 kilos par jour par homme adulte ce qui met l'accent sur l'importance qu'avait la pomme de terre pour l'économie irlandaise [1]
- En 1971, aux États-Unis d'Amérique plus de 11 millions de poulets sont morts, ce qui a coûté plus de 26 millions de dollars. L'organisme nuisible qui a causé la maladie de Newcastle (l'insecte *Trogoderma granarium* Everts) a causé environ 11 millions de dollars de pertes rien qu'en Californie [2].

Pour faire face à ces maladies, tout en assurant une alimentation suffisante pour la population qui ne cesse de croître, l'agriculture mondiale fait souvent appel à la lutte phytosanitaire par l'utilisation des pesticides qui permettent une meilleure optimisation des rendements.

La consommation mondiale de pesticides est en constante augmentation depuis les années 40.

D'après des statistiques de 2004, l'Amérique du nord est considérée comme le premier utilisateur des produits phytosanitaires dans le monde. (29% des ventes mondiales), suivie de l'Europe de l'Ouest (24%), de l'Asie (22%), de l'Amérique Latine (16%), le reste du monde (5%), l'Europe de l'Est (4%) [3].

L'Algérie est classée parmi les pays africains qui utilisent la plus grande quantité de pesticides. Récemment dans notre pays, avec l'intensification agricole, l'usage des pesticides ne cesse de se multiplier dans de nombreux domaines et en grandes quantités. Ainsi environ 400 produits phytosanitaires sont homologués en Algérie dont une quarantaine de variétés sont largement utilisées par les agriculteurs [4].

Malgré leurs avantages, les pesticides ont aussi leurs propres inconvénients : par leur effet toxique, ils ont un effet néfaste sur la santé humaine. Ils causent aussi une contamination des sols et des cours d'eaux, une pollution des nappes phréatiques...etc.

Pour la santé humaine, trois voies d'exposition sont à considérer : respiratoire, cutanée et orale. Plusieurs études épidémiologiques tenues avaient pour objectif de vérifier la relation entre l'exposition aux pesticides et la survenue de certaines pathologies tels que cancers, et autres maladies.

L'objectif de ce mémoire est de connaître l'état de contamination d'un aliment très vital pour notre nutrition et à large consommation. L'algérien est le plus grand consommateur de lait au Maghreb avec plus de 110 litres consommés par individu et par an. Au niveau africain, l'Algérie est classée 6<sup>ème</sup> en termes de production laitière (3.2 milliards de litres), mais aussi le 3<sup>ème</sup> importateur de lait au niveau mondial avec 1 milliard USD.

Le choix de cette matrice alimentaire s'est fait vu la place qu'occupe ce produit alimentaire dans notre menu quotidien, lait et tous ses dérivés.

Ce mémoire est structuré en 4 chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à une synthèse portant des généralités sur les pesticides
- Dans le deuxième chapitre, nous présenterons l'impact de l'utilisation des pesticides sur l'environnement et la santé humaine.
- Au cours du troisième chapitre nous allons présenter notre matrice (le lait), donner ses propriétés physico-chimiques et toutes les procédures analytiques pour extraire et déterminer les résidus dans certains échantillons du lait.
- Le matériel et les méthodes utilisés sont présentés au quatrième chapitre.

- Enfin, dans le cinquième chapitre, nous exposerons les résultats d'analyse obtenus et une discussion en comparaison avec les normes et les travaux antérieurs.

## **Chapitre 1 : Généralités sur les pesticides**

### **Définitions**

Le terme pesticide, dérivé du mot anglais Pest (ravageur), désigne une substance active ou une préparation (produit) utilisée pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes jugés indésirables, quel que soit son usage : agricole, domestique, espaces verts [5]

Les pesticides sont aussi définis comme un type de produits chimiques ou de substances toxiques qui consistent en un mélange composé d'agents biologiques ou chimiques qui sont intentionnellement rejetés dans l'environnement pour prévenir ou contrôler ou peut-être même éliminer les parasites : plantes ou animaux qui mettent en danger notre alimentation, notre santé et/ou notre confort" tels que les rongeurs, les insectes, les mauvaises herbes, les champignons ou d'autres plantes nuisibles qui peuvent nuire aux cultures que nous plantons. [6]

La FAO, définit un pesticide comme une substance utilisée pour neutraliser ou détruire un ravageur, un vecteur de maladie humaine ou animale, une espèce végétale ou animale nocive ou gênante au cours de la production ou de l'entreposage de produits agricoles.

### **1.2. Les pesticides et l'environnement**

Une distance de 64 kilomètres est la distance parcourue par une gouttelette de pesticides dans l'air. Ceci a été vérifié par une étude effectuée dans les montagnes côtières de l'Oregon à 64 kilomètres de la limite ouest d'une région agricole. Des échantillons ont été prélevés et analysés et on y a trouvé des traces de pesticides à ladite distance. [7]

### **1.3. Utilisation des pesticides**

L'utilisation de pesticides a augmenté plusieurs fois au cours des dernières décennies. On estime que 5,2 milliards de livres "2,35 milliards de kilogrammes" sont utilisés dans le monde chaque année. C'est une pratique qui est devenue courante dans le monde entier. Leur utilisation ne se limite pas seulement aux champs agricoles, mais elles sont également employées dans les maisons sous forme de sprays, de poisons et de poudres pour contrôler les insectes (cafards, moustiques, rats, puces...etc.). Ils sont utilisés dans plusieurs domaines. On peut en citer :

- L'agriculture (Combattre les ennemis des cultures afin de conserver les cultures saines),
- La sylviculture (lors de la production du bois pour limiter l'action des insectes et champignons lors du désherbage pour préparer le terrain forestier),
- Le désherbage des zones non cultivées (voies ferrées, clôtures, lignes de transport d'énergie, etc.)
- Le traitement (bâtiments d'élevage, matériel de stockage et transport des animaux, matériel de laiterie...etc.)
- Le contrôle de la santé humaine mondiale (lutte contre les vecteurs de maladies tel que la malaria, le typhus ou autres épidémies).
- l'horticulture (limiter l'action des ravageurs)

## **1.4. Classification des pesticides**

### **1.4. 1. Les familles de pesticides**

Il existe 3 grandes familles :

**1.4.1.1 Les fongicides** : Ils assurent une excellente protection contre le développement des champignons parasites (moisissures, mildiou, etc...) et permettent l'obtention de plantes saines.

**1.4.1.2 Les herbicides** : destinés à lutter contre certains végétaux (les « mauvaises herbes »), qui entrent en concurrence avec les plantes à protéger en ralentissant leur croissance

**1.4.1.3 Les insecticides** : destinés à lutter contre les insectes. Ils interviennent en tuant ou en empêchant la reproduction des insectes.

### 1.4.2 Modes de classification des pesticides

Actuellement, il existe trois méthodes largement répandues de classification des pesticides recommandées par Drum [8].

- Le mode d'entrée
- L'action des pesticides et des organismes qu'ils tuent
- La structure chimique du pesticide

L'OMS (L'organisation mondiale de la santé) ajoute un autre critère de classification en fonction du de leur niveau de danger comme suit : légèrement dangereux, modérément dangereux, très dangereux et extrêmement dangereux

#### 1.4.2.1. Classification selon le mode d'entrée

C'est la manière dont un pesticide entre en contact avec sa cible ou la manière dont il pénètre dans le site/l'organisme nuisible ciblé. Les voies d'exposition impliquent un poison systémique, l'ingestion (absorption) de toxines gastriques, l'exposition par contact, les fumigants (évaporateurs) et les répulsifs. [9]

➤ **Poison systémique** : Ce sont ceux qui sont absorbés par les plantes ou les animaux et transférés dans les tissus non traités. L'herbicide systémique se déplace vers les feuilles, les tiges ou les racines. Ces pesticides sont capables de tuer les mauvaises herbes ou les plantes indésirables qui peuvent affecter la culture et sont poursuivis par la pulvérisation de couverture. Et ils peuvent également se déplacer très efficacement dans le système vasculaire d'une plante pour attaquer les ravageurs ciblés. Certains de ces types peuvent monter ou descendre à l'intérieur de la plante, ce qui signifie que certains d'entre eux peuvent être pulvérisés sur les feuilles, puis se déplacer vers les racines pour affecter toute la plante, et certains ne peuvent être pulvérisés que dans les racines et remonter vers les feuilles et tige, tandis que d'autres peuvent se déplacer dans plusieurs directions.

Exemple : 2, 4 Acide dichlorophénoxyacétique (2, 4-D)

➤ **Exposition par contact** : les pesticides de contact également appelés non systémiques et ils agissent en étant en contact physique avec le ravageur, ils pénètrent dans le corps de ce

ravageur via l'épiderme puis provoquent la mort par empoisonnement. Exemples : le paraquat et le di-bromure de diquat.

➤ **Toxines gastriques (empoisonnement de l'estomac) :** Ils pénètrent dans le corps des ravageurs par la bouche et le système digestif, puis provoquent la mort par empoisonnement. Ils sont appliqués sur les feuilles et les autres parties de la plante. Ils sont aussi appliqués sur l'eau où les moustiques filtreurs ou les larves de mouches noires consommeront le poison, ces insecticides tuent ces ravageurs en détruisant « l'estomac » de l'intestin moyen. Exemple : Malathion.

➤ **Les fumigants (évaporateurs) :** Ils tuent les ravageurs en produisant des vapeurs, ces pesticides forment des gaz toxiques après l'application, qui pénètrent dans le corps du ravageur par le système trachéal "respiratoire" et provoquent la mort. Ils sont très utiles pour contrôler les parasites dans le sol. Exemple : Phosphine

➤ **Les pesticides répulsifs :** Ce sont ceux qui ne tuent pas les parasites mais ils les éloignent en rendant les parasites désagréables, utilisés pour éloigner les insectes d'une zone traitée. Ils interfèrent également avec la capacité du ravageur à localiser les emplacements de la culture.

#### 1.4.2.2 Classification selon l'action des pesticides et des organismes qu'ils tuent

Selon cette méthode de classification, les pesticides sont classés en plusieurs types qui portent le nom de leurs cibles, dont la plupart ont leurs noms se terminant par le mot latin « cide » qui se traduit par : tuer ou tueur. Et avec le suffixe qui fait référence aux pesticides qu'ils tuent (Voir tableau 1). Certains autres pesticides sont également classés en fonction de la fonction qu'ils remplissent [9]. Par exemple :

- Les régulateurs de croissance, qui stimulent la croissance ou parfois ils la retardent.
- Les défoliants, qui font tomber les feuilles de la plante.
- Les desséchants, qui accélèrent le séchage des plantes pour la récolte mécanique ou peut même provoquer la mort et le dessèchement des insectes.
- Les attractifs, qui attirent les parasites habituellement utilisés dans les pièges.

**Remarque** : Nous avons dit dans les paragraphes précédents qu'il existe 3 grandes familles de pesticides (fongicides, insecticides, herbicides), mais si on prend en compte le critère 'Ravageur ciblé' la classification devient **plus explicite**. (Voir tableau 1)

**Tableau 1.1 : Classification des pesticides par ravageurs ciblés [10]**

| Type de pesticide | Exemple                               | Ravageurs ciblés/Fonction                                                                |
|-------------------|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| Avicide           | Avitrol (aminopyridine)               | Tue les oiseaux                                                                          |
| Acaricide         | Bifénazate acaricide                  | Tue les acariens qui se nourrissent de plantes et d'animaux                              |
| Attractif         | Phéromones                            | Attire une large gamme de parasites                                                      |
| Algicide          | Sulfate de cuivre                     | Contrôle ou tue la croissance des algues                                                 |
| Bactéricides      | Complexes de cuivre                   | Tue les bactéries ou agit contre les bactéries                                           |
| Biopesticide      | <i>Bacillus thuringiensis</i>         | Large gamme d'organismes                                                                 |
| Appât             | Anticoagulants                        | Large gamme d'organismes                                                                 |
| Déshydratant      | Acide borique                         | Agit sur les plantes en séchant leurs tissus                                             |
| Défoliant         | Tribufos                              | Enlève le feuillage des plantes                                                          |
| Fongicides        | Azoxystrobine,<br>Chlorothalonil      | Tue les champignons (y compris les brûlures, les moisissures et les rouilles)            |
| Fumigant          | Phosphure d'aluminium                 | Large gamme d'organismes                                                                 |
| Herbicide         | Atrazine, glyphosate,<br>2,4-D        | Tue les mauvaises herbes et autres plantes qui poussent là où elles ne sont pas désirées |
| Insecticide       | Aldicarbe, Carbaryl,<br>imidaclopride | Tue les insectes et autres arthropodes                                                   |

| Type de pesticide                     | Exemple                    | Ravageurs ciblés/Fonction                                                                                                    |
|---------------------------------------|----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Régulateur de croissance des insectes | Diflubenzuron              | Insectes                                                                                                                     |
| Lampricide                            | Tri fluor méthyle          | Cible les larves de lamproies qui sont des poissons sans mâchoires qui s'accrochent aux poissons vertébrés dans les rivières |
| Larvicide                             | Méthoprène                 | Inhibe la croissance des larves                                                                                              |
| Molluscicides                         | Métaldéhyde                | Inhibe ou tue les mollusques, c'est-à-dire les escargots qui perturbent généralement la croissance des plantes               |
| Boule à mites                         | Di chlorobenzène           | Arrête tout dommage aux tissus par les larves de mites ou les moisissures                                                    |
| Nématicides                           | Aldicarbe, Éthoprop        | Tue les nématodes qui agissent comme des parasites des plantes                                                               |
| Ovicide                               | Benzoxazine                | Inhibe la croissance des œufs d'insectes et d'acariens                                                                       |
| Piscicide                             | Roténone                   | Agit contre les poissons                                                                                                     |
| Régulateur de croissance des plantes  | Acide gibbérellique, 2,4-D | Régule la croissance des plantes                                                                                             |
| Prédacide                             | Strychnine                 | Prédateurs de mammifères                                                                                                     |
| Répulsif                              | Méthiocarbe                | Repousse les nuisibles par son goût ou son odeur, les vertébrés et les invertébrés                                           |
| Rodenticide                           | Warfarine                  | Contrôle les souris et autres rongeurs                                                                                       |

| Type de pesticide | Exemple     | Ravageurs ciblés/Fonction |
|-------------------|-------------|---------------------------|
| Termicide         | Fipronil    | Tue les termites          |
| Virucide          | Scytovirine | Agit contre les virus     |

**Remarque :** Il existe également des cas de pesticides qui affectent plus d'une classe d'organismes nuisibles et peuvent être considérés dans plus d'une classe d'organismes nuisibles et pourraient être considérés dans plusieurs classes. Exemple : L'aldicarbe, utilisé dans la production peut être considéré comme un acaricide, un insecticide ou un nématicide, car il contrôle les acariens, les insectes et les nématodes. Autre exemple : le 2,4-D. qui est utilisé comme herbicide dans le cas du contrôle des mauvaises herbes à feuilles larges, mais c'est un régulateur de croissance des plantes à faible taux. Et les attractifs et répulsifs sont considérés comme une forme d'insecticide. [9]

#### 1.4.2.3. Classification basée sur la composition chimique des pesticides

La méthode la plus courante et la plus utile de la classification des pesticides est basée sur leur composition chimique et nature des ingrédients actifs. C'est ce genre de classement qui donne l'indice sur l'efficacité physique et les propriétés chimiques respectives pesticides. Les informations sur les produits chimiques et caractéristiques physiques des pesticides est très utile pour déterminer le mode d'application, les précautions à prendre lors de l'application et les taux d'application [11]. On va voir ci-dessous la classification des fongicides, herbicides et insecticides selon leur structure chimique

##### 1.4.2.3.1 Classification des fongicides selon leur structure chimique

###### 1.4.2.3.1.1 Les fongicides minéraux : On en trouve [12] :

- Les fongicides à base de cuivre : Ce sont les plus nombreux et les plus fréquents.

Les sels de cuivre agissent sur un très grand nombre de champignons qui sont responsables des tavelures, des mildious, chancres, pourriture grise...

- Les fongicides à base de soufre : Il existe 3 types de fongicides soufrés : les soufres triturés utilisés sous forme de poudre, les soufres sublimés obtenus par condensation des vapeurs et employés en poudrage et les soufres mouillables utilisés en pulvérisations qui contiennent 80% de soufres à l'état pur et qui sont rendus miscibles à l'eau par l'adjonction d'agents mouillants.
- Les fongicides à base de permanganate de potassium : Ils agissent à titre curatif sur les oïdiums ou la maladie du blanc, une maladie cryptogamique causée par la forme asexuée de certains champignons ascomycètes appartenant à la famille des érysiphacées, qui la détruisent par contact.

**1.4.2.3.1.2 Les fongicides Organiques :** Ils sont très efficaces. On peut en citer :

- Les carbamates (les dérivés de l'acide carbamique et benzimidazolés, les dérivés de l'acide thiocarbamique et dithiocarbamique)
- Les dérivés du phénol : groupe très restreint. son principal représentant est le dinocap
- Les dicarboximides (les phtalimides, les imides cycliques)
- Les amides et amines (les anilides, les phénylamides)
- Les inhibiteurs de la biosynthèse des stéroïdes
- Les anilinopyrimidines
- Les méthoxyacrylate et fongicides apparentés

### **1.4.2.3.2 Classification des insecticides selon leur structure chimique**

#### **1.4.2.3.2.1 Les organochlorés**

Les organochlorés sont des insecticides qui contiennent du carbone, de l'hydrogène et des atomes de chlore. Ce sont des insecticides les plus anciens même s'il persiste actuellement peu de substances actives encore autorisées.

Dans cette famille on trouve :

- Les diphenyls aromatiques : le DDT, le DDD, le dicofol et le méthoxychlore, le lindane...etc sont des exemples. Le DDT par exemple a beaucoup servi dans le contrôle des vecteurs de certaines maladies comme la malaria du typhus ou du choléra.

➤ Les cyclodiènes : Ils bloquent les récepteurs GABA (acide gamma-aminobutyrique) et empêchent alors l'entrée des ions chlorures au niveau neuronal. Le chlordane, l'aldrine, la dieldrine, l'heptachlore ou l'endosulfan sont des exemples.

➤ Les polychloroterpènes : Son mode d'action est proche des cyclodiènes. Le toxaphène est un exemple.

#### **1.4.2.3.2.2 Les organophosphorés**

A base de phosphore. Ils sont très toxiques. Ils ont soit une action de surface et ne sont pas véhiculés dans la plante, soit un effet systémique et diffusent dans la plante. il y'a 3 groupes :

- Les aliphatiques (ex : Le malathion, le diméthoate ou le dichlorvos)
- Les dérivés phényles (ex : le parathion, le méthylparathion ou le profenofos)
- Les heterocycles(ex : chlorpyriphos, le méthidathion ou le phosmet )

**1.4.2.3.2.3 Les carbamates** Ils sont dérivés de l'acide carbamique. Ce sont des composés organiques inhibant l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase . Le carbaryl, le carbofuran, l'aldicarbe, le carbosulfan sont des exemples.

**1.4.2.3.2.4. Les pyréthrinoïdes de synthèse :** Ce sont des pesticides organiques qui peuvent être fabriqués à partir de la duplication de la structure de la pyréthrine. Relativement, ils sont beaucoup plus stables avec des effets résiduels plus longs que la pyréthrine naturelle. Ils agissent sur le système nerveux central et périphérique des insectes en provoquant une excitation nerveuse.

La figure 1.1 donne un classement des insecticides selon [13]

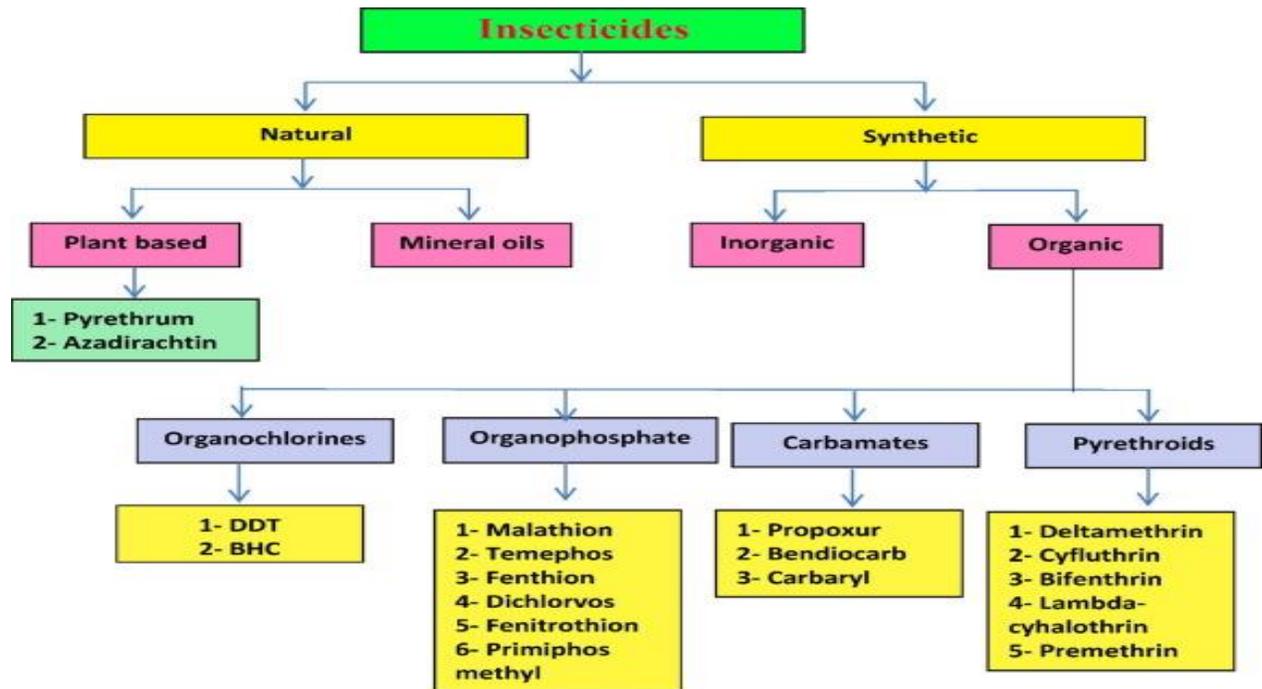


Figure 1.1 : Une classification chimique des insecticides

#### 1.4.2.3.3. Classification des herbicides selon leur structure chimique

Avant de parler de la classification chimique des herbicides, nous présentons les différents types des herbicides :

##### a) Selon la pénétration de l'herbicide :

- Herbicide foliaire : herbicide pulvérisé sur les feuilles et absorbé par celles-ci.
- Herbicide racinaire : herbicide appliqué sur le sol et absorbé par les racines. La pénétration s'effectue par les organes souterrains, entre la germination de l'adventice et sa levée.

**b) Selon la migration de l'herbicide :**

- Herbicide de contact : l'herbicide détruit les surfaces de la plante avec lesquels il entre en contact, il n'est pas véhiculé par la sève,
- Herbicide systémique : herbicide de prélevée ou de post-levée qui migre dans la plante par le bois ou le liber, depuis les points de pénétration (racine ou feuille) jusqu'au site d'action. Cette locution est souvent utilisée dans un sens plus restrictif pour désigner les herbicides de post levée véhiculés dans la plante par la sève.

**c) Selon sa sélectivité :**

- Herbicide sélectif : herbicide que peut tolérer une espèce cultivée dans des conditions d'emploi définies. Si ces conditions d'emploi ne sont pas respectées, il peut devenir non sélectif. Un herbicide sélectif n'est généralement efficace que sur certaines adventices,
- Herbicide total : herbicide efficace sur l'ensemble des adventices et aussi des espèces cultivées.

Nous aborderons maintenant la classification chimique :

**1.4.2.3.3.1. Herbicides minéraux**

Ils furent surtout utilisés au début du vingtième siècle. Les plus utilisés actuellement sont :

- Le cyanure de calcium (ça (CN)<sub>2</sub>) : Il rentre par les racines et pénètre la sève brute pour ensuite s'accumuler dans les feuilles ;
- Le sulfate de fer (FeSO<sub>4</sub>) : C'est un herbicide de contact utilisé pour lutter contre les mousses et qui accélère de plus l'humification des déchets végétaux.
- Le chlorate de sodium (NaClO<sub>3</sub>) : Il détruit les plantes à fort enracinement. Il pénètre principalement par les racines et est transporté par la sève brute vers les feuilles. Il est peu

**1.4.2.3.3.2. Herbicides organiques**

**a) Herbicides racinaires :** On en trouve :

➤ Les dinitroanilines (toluidines) : Non solubles dans l'eau. Ce sont donc des produits à incorporer dans le sol avant la mise en place de la culture. Ils stoppent la croissance des plantules peu après leur germination. Leur toxicité est faible

Exemples : benfluraline, butraline, fluchloraline, nitraline, oryzalin, pendiméthaline.

➤ Les urées substituées (NH<sub>2</sub>-CO-NH<sub>2</sub>) : Leur absorption est essentiellement racinaire. Véhiculés par la sève brute, ils s'accumulent dans les feuilles où ils inhibent la photosynthèse. Leur toxicité est quasiment nulle.

Exemples : chlortoluron, chloroxuron, cycluron, diuron, éthidimuron, fénuron, isoproturon, linuron, monolinuron, méthabenzthiazuron, métobromuron, métoxuron, monuron, tebuthiuron, thiazafluron, siduron, néburon.

➤ Les triazines : Ils pénètrent par absorption racinaire et sont véhiculés par la sève brute. Ils sont appliqués directement sur le sol. Le maïs est une plante très tolérante à ces composés, en particulier à l'atrazine. Le sorgho est également tolérant mais le blé et le soja y sont sensibles. Leur toxicité est faible et leur sélectivité souvent bonne.

**Exemples** : atrazine, cyanazine, méthoprotryne, propazine, terbuthylazine, simazine, simétryne, sebumeton, terbuméton, amétryne, desmétryne, prométryne, terbutryne...

#### d) Herbicides foliaires :

➤ Les phytohormones de synthèse : Ils sont absorbés par le feuillage et véhiculés par la sève. Il en existe 2 grands groupes :

- Le 1<sup>er</sup> groupe est constitué d'auxines synthétiques. Elles entraînent une croissance anormale de la plante (dicotylédones), débouchant sur la mort.

Exemple : Le 2,4-D (acide dichloro 2,4 phénoxyacétique

- Le 2<sup>ème</sup> groupe sont des composés dérivant des acides propionique et butyrique. Ils sont absorbés par le feuillage et s'accumulent dans les zones à division cellulaire intense (méristèmes, bourgeons, racines) Exemples : 2,4-D, 2,4-MCPA, et ses esters, 2,4-DP (dichlorprop)

- Colorants nitrés (dérivés du phénol, dinitrophénol) : Dérivé du benzène, ce groupe comprend des molécules toxiques pour les animaux (insecticide) et les végétaux.

Exemples : DNBP (dinosèbe), DNOC (dinitro-Oortho-crésol).

- Carbamates : Pour la destruction des graminées, ces herbicides se subdivisent en 4 groupes. Ils agissent sur la division cellulaire (groupe 1), inhibent la synthèse des lipides (groupe 2), empêchent la germination (groupe 3), et enfin empêchent la photosynthèse (groupe 4). Ils ont une faible toxicité.

Exemples : Asulame (groupe carbamate), butylate (groupe Thiocarbamates), métam sodium (groupe dithiocarbamates), desméthiphame (groupe biscarbamates)

- Ammoniums quaternaires (bipyridiles) : Ce sont des produits de contact. Ils provoquent également la dégradation des acides gras insaturés. Ils sont très toxiques pour l'homme et les animaux. Exemples : diquat, paraquat, difenzoquat.

- Fop/Dime et pinoxaden : Ce sont des herbicides antigraminées. Ils modifient l'enzyme chez la plante. Exemples : aloxydime-sodium, clodinafop-propargyl.

- Glyphosate : C'est un désherbant total. Il agit en bloquant un enzyme. C'est un produit irritant et toxique, surtout connu sous la marque Roundup.

### **c) Herbicides racinaires et foliaires :**

- Imidazolinones : Ils empêchent la plante de croître en bloquant l'activité de l'enzyme AHAS indispensable à la synthèse de 3 acides aminés. Ils ont une faible toxicité à l'égard des animaux et de l'homme. Exemples : imazaméthabenz, imazapyr...

- Sulfonylurées : Même agissement comme les imidazolinones.

Exemples : amidosulfuron, azimsulfuron, chlorsulfuron, thifensulfuron...

- Les diphenyls-éthers : Ils ont un effet inhibiteur sur la croissance des méristèmes. Leur toxicité est faible. Exemples : acifluorène-sodium, aclonifen, bifénox

#### 1.4.2.4. Classification basée sur la toxicité des pesticides (Selon l’OMS)

L'organisation mondiale de la santé a classé les pesticides en quatre classes en fonction de leur toxicité, basée sur des expériences sur des rats pour déterminer la DL50 (Dose létale 50) [9]. (Voir tableau 2). La CL50 ou concentration létale médiane (CL50), est un indicateur quantitatif de la toxicité d'une substance. Cet indicateur mesure la dose de substance causant la mort de 50 % d'une population animale donnée (souvent des souris ou des rats) dans des conditions d'expérimentation précises

**Tableau 1.2 : Classification des pesticides selon l’OMS**

| La classe OMS | Degré de toxicité                                                  | LD <sub>50</sub> pour le rat (mg/kg de poids corporel) |          | Exemples                    |
|---------------|--------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|----------|-----------------------------|
|               |                                                                    | Oral                                                   | Dermique |                             |
| Classe Ia     | Extrêmement dangereux                                              | <5                                                     | <50      | Parathion, Dieldrin         |
| Classe Ib     | Très dangereux                                                     | 5-50                                                   | 50-200   | Eldrin, Dichlorvos          |
| Classe II     | Modérément dangereux                                               | 50-2000                                                | 200-2000 | DDT, Chlordane              |
| Classe III    | Légèrement dangereux                                               | >2000                                                  | >2000    | Malathion                   |
| Classe IV     | Peu susceptible de présenter un danger aigu en utilisation normale | >=5000                                                 |          | Carbétamide, Cycloprothrine |

#### Conclusion

Dans ce chapitre on a passé en revue les grandes familles de pesticides : fongicides, herbicides, et insecticides. Chaque famille a été expliquée en détail puis différents types de classement ont été mis en évidence.

Les pesticides peuvent être classés selon leur mode d’entrée, les organismes qu’ils tuent (ravageurs ciblés), leur structure chimique, et enfin selon leur toxicité.

Chaque classement a un but spécifique, et peut être exploité selon les besoins.

## **Chapitre 2 : L'impact de l'utilisation des pesticides sur la santé humaine et l'environnement et les normes réglementaires**

### **Introduction**

Il y'a une forte demande des consommateurs pour les produits alimentaires. Afin d'améliorer les rendements pour les produits agricoles, on utilise les pesticides à grande échelle. Ceci a pour effet positif l'élimination des espèces visées (insectes, champignons, plantes indésirables...etc.).

Cependant, cet usage intensif a aussi ses aspects négatifs. Il pose d'une part de grosses inquiétudes pour les manipulateurs de ces produits (les agriculteurs entre d'autres), et les consommateurs. En effet ces pesticides sont à l'origine de pathologies très graves tel que les

pathologies neurologiques, métaboliques et certains cancers. D'autre part l'utilisation des pesticides dans les cultures, les forêts et d'autres usages leur donne une présence dans l'environnement. Cette présence entraine différents types de pollution et qui peuvent avoir des effets négatifs sur les organismes vivants

Dans ce chapitre on va donner les impacts de l'usage des pesticides sur la santé humaine et quelques effets négatifs sur l'environnement. Nous présenterons aussi ce que prévoit la législation dans le domaine de l'utilisation des pesticides.

### **2.1. Impact des pesticides sur la santé**

#### **2.1.1. Les modes de pénétration des pesticides dans l'organisme et leur devenir**

Les pesticides peuvent se retrouver dans l'organisme humain directement par ingestion, inhalation ou pénétration cutanée ou indirectement par l'intermédiaire des sols, des poussières, d'eau ou d'aliments contaminés. Une fois dans l'organisme, ils ont la propriété de provoquer des dommages en altérant les fonctions normales. Leurs effets peuvent se manifester immédiatement ou quelques heures après l'intoxication (intoxication aigue) ou sur le long terme (intoxication chronique).

Toute substance étrangère à l'organisme (appelée xénobiotique), qu'il s'agisse d'un médicament ou d'un contaminant, suivent le même cheminement dès qu'ils ont pénétré, et ce sont les mêmes phénomènes physico-chimiques, biochimiques ou biologiques qui vont présider à leur devenir. Le sigle ADME désigne le sort d'une substance dans un organisme.

A = Absorption à partir des diverses voies de pénétration.

D = Distribution aux différents organes et tissus par les courants sanguins et lymphatiques.

M = Métabolisation par des réactions biochimiques se déroulant dans certains organes (foie) qui transforment la substance initiale en métabolites plus faciles à éliminer mais parfois aussi plus toxiques.

E = Elimination dans les liquides biologiques surtout l'urine mais aussi la sueur, le lait, etc.....

Le schéma ci-dessous résume les modes de pénétration et le devenir des pesticides dans l'organisme [14].

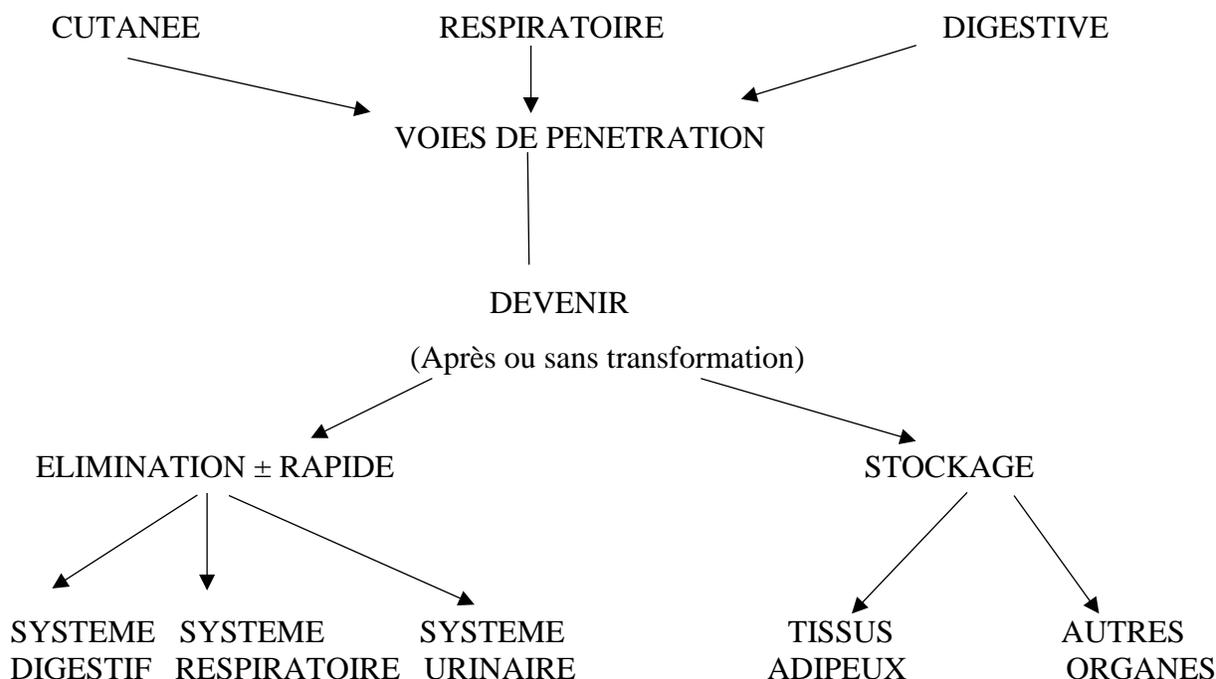


Figure 2.1 : les modes de pénétration et le devenir des pesticides dans l'organisme

## **2.1.2 Les résidus des pesticides**

Les résidus de pesticides sont des substances chimiques, ou des mélanges de substances, présentant des risques de toxicité, qui peuvent rester dans les aliments destinés à l'homme ou aux animaux par suite de traitements phytosanitaires intervenus soit en période de culture soit après la récolte. De nombreuses méthodes hautement sophistiquées ont été mises au point pour détecter, identifier et mesurer les multi-résidus contaminant des matrices de différentes natures.

### **2.1.2.1 La notion de limite maximale des résidus (LMR) :**

#### **2.1.2.1.1 Définition**

Dans le domaine de l'alimentation, une limite maximale de résidus (LMR) est un seuil réglementaire de concentration de résidus de produits pesticides, biocides ou de médicaments vétérinaires, au-delà duquel la commercialisation d'un produit alimentaire n'est plus autorisée, qu'il s'agisse de denrées destinées à l'alimentation humaine ou à l'alimentation animale. [Web 01]

#### **2.1.2.1.2 Etablissement de la LMR**

Les LMR sont établies après une évaluation des risques. Cependant ces LMR varient d'un pays à un autre malgré que des efforts sont faits au niveau international pour une harmonisation.

La LMR peut être définie comme la concentration en résidus la plus élevée légalement acceptable pour que les denrées alimentaires restent commercialisables, elle s'exprime en milligramme de résidus par kilogramme de produit alimentaire [15].

Une bonne pratique agricole (BPA) conduit à une concentration en résidus inférieure à la LMR. Et certains facteurs interviennent dans ça, tel que le respect du délai avant récolte, le respect de la dose par hectare indiquée par le fabricant, et le respect au nombre d'applications par saison. Donc comme on le voit, La LMR est une norme plutôt agronomique que toxicologique.

### 2.1.2.2: Résidus et toxicité

#### 2.1.2.2.1 La toxicité aigüe

Elle désigne la quantité maximum de substance active (exprimée en mg de substance active par kg de poids corporel) qui peut être ingérée par le consommateur pendant une journée ou moins, dans la nourriture ou l'eau de boisson, sans effet dangereux pour sa santé.

#### 2.1.2.2.2 La toxicité chronique et la dose sans effet

Elle est le résultat de l'exposition répétée à plus ou moins faible dose à un produit dont les effets néfastes ne se feront sentir que quelques mois à quelques années voire dizaines d'années plus tard.

La toxicité chronique ne se propose pas de déterminer un seuil de mortalité mais plutôt la dose quotidienne administrée en dessous de laquelle n'apparaissent pas d'effets sur la santé, c'est-à-dire la dose sans effet (DSE) ou NOAEL (Non Observable Adverse Effect Level)

#### 2.1.2.2.3 La dose journalière admissible (DJA)

Elle est obtenue à partir de la DSE et divisée par un facteur de sécurité (Ex :  $DJA = DSE/100$ ). La DJA est la quantité d'une substance qu'un individu peut théoriquement ingérer quotidiennement, sans prendre de risque pour sa santé. Elle est habituellement exprimée en mg par kg de poids corporel.

**Exemple** : Si un homme a un poids de 70 kg. Si La DJA pour une substance donnée est 0.4 mg/kg. Alors la quantité de résidus admissible par jour pour cet homme est  $70 \times 0.4 = 28$  mg/jour

La notion de DJA découle du premier principe de toxicologie défini par PARCELSUS (médecin suisse du XVIème siècle considéré comme le fondateur de la toxicologie)

**‘ Tout peut être poison, c'est la dose qui fait la différence entre un poison et un remède ‘.**

C'est-à-dire que toute substance absorbée en trop grande quantité peut être nocive pour l'organisme. Il existe une relation entre La DJA et la LMR de la façon suivante : **[web 02]**

$$\text{DJA} = (\text{consommation journalière de l'aliment 1} \times \text{LMR fixée pour "aliment 1"}) + (\text{consommation journalière de l'aliment 2} \times \text{LMR fixée pour l'aliment 2} + \dots)$$

**Exemple :** Si le régime alimentaire est de 120 g de pomme de terre, 80g de carotte, 70 g de pomme, 60 g de fraise...etc. On multiplie chaque quantité par la LMR de l'aliment et on fait la somme.

Il existe aussi une relation entre la LMR, la DJA, le poids corporel, et la ration alimentaire journalière pour un aliment donné :

$$\text{LMR} = (\text{DJA} \times \text{Poids corporel}) / \text{ration journalière}$$

**Exemple :** Si un homme a un poids corporel de 70 kg, et qui consomme 500 g de l'aliment alors :  $\text{LMR} = (\text{DJA} \times 70) / 0.5$

#### 2.1.2.2.4 L'Acute Reference Dose (ARfD) ( ou dose de référence aiguë)

Elle désigne la quantité maximale de substance active qui peut être ingérée par le consommateur pendant une courte période (c'est-à-dire au cours d'un repas ou d'un jour, dans la nourriture ou l'eau de boisson), sans effet dangereux pour sa santé. Elle s'exprime en milligrammes de substance active par kilogramme de poids corporel. Elle est calculée à partir d'une dose sans effet observé (DSE) et d'un facteur de sécurité.

#### 2.1.2.2.5 L'apport journalier maximum théorique (AJMT)

C'est la quantité maximum de résidus qu'un individu est susceptible d'ingérer quotidiennement dans son alimentation à partir des teneurs en résidus par culture (en mg/kg) et de la part de la denrée considérée dans la ration alimentaire journalière (en g/jour) Il peut être résumé par l'équation suivante :

$$\text{AJMT (mg/kg/j)} = \sum (\text{consommation moyenne journalière} \times \text{LMR}_{\text{produit}}) / \text{poids corporel}$$

#### 2.1.2.2.6 L'apport journalier estimé (AJE)

Le calcul de l'AJMT suppose que le pesticide est utilisé sur toutes les cultures sur lesquelles il est autorisé, les teneurs en résidus prises en compte sont celles mesurées à la récolte, et enfin les LMR sont en général fixées pour le produit entier, et non uniquement sur la partie comestible. Ces hypothèses ne sont pas toujours vérifiées, et donc la notion d'AJE est retenue car elle est plus proche de la réalité [16]. Elle est calculée comme suit :

$AJE = \sum CMR_i * CMJ_i / PC$  avec :  $CMR_i$  = la concentration moyenne en résidu dans une denrée donnée (mg/kg)

$CMJ_i$  = la consommation moyenne journalière de cette denrée par personne (kg/jour)

$PC$  = Poids corporel

#### 2.1.3 Les pathologies dues à des intoxications chroniques

Les risques sanitaires liés aux pesticides diffèrent selon la nature et la chronicité de l'exposition. Les expositions professionnelles concernent les agriculteurs ainsi que les travailleurs dans l'industrie chimique de fabrication de ces substances. La population générale est, selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), principalement exposée via l'alimentation [17]. L'intoxication chronique survient après des expositions répétées à faibles doses de pesticides. Le délai avant l'apparition des symptômes peut être parfois très long, dans certains cas il s'agit de plusieurs dizaines d'années. La détermination des pathologies liées à l'exposition à des pesticides se fait après des études épidémiologiques qui sont parfois très longues.

Les principales pathologies suspectées comme découlant de l'utilisation des pesticides sont les cancers, des troubles neurodégénératifs, et des troubles de la fertilité [18]. Les perturbations endocriniennes, et les maladies métaboliques font aussi partie de ces pathologies suspectées.

### **2.1.3.1 : Les cancers**

Le cancer est considéré comme le plus grand risque lié à l'utilisation des pesticides. En effet, les pesticides ont été identifiés comme une cause de nombreux types de cancers : des cancers de la vessie, du cerveau, de l'os, du foie, de la prostate, du pancréas et leucémie [19]

#### **2.1.3.1.1 : Lymphome malins non hodgkiniens**

Les lymphomes malins non Hodgkiniens (LMNH) constituent un groupe hétérogène de tumeurs liées à une multiplication anormale et maligne des cellules lymphoïdes de lignée B ou plus rarement T. Les pesticides ont été largement suggérés comme facteurs de risque de développement des LMNH, sur la base des résultats d'études épidémiologiques portant sur des agriculteurs, utilisateurs et fabricants de pesticides. Dans [21] on a montré que dans la seconde moitié du 20<sup>ème</sup> siècle, il eu augmentation de l'usage des pesticides, et aussi une augmentation de la LMNH

#### **2.1.3.1.2 La Maladie de Hodgkin**

La maladie de Hodgkin (MH) est un type de lymphome caractérisé par la prolifération de grandes cellules atypiques, les cellules de Sternberg. Un certain nombre d'études tel que [22] a montré un excès de MH chez les agriculteurs et applicateurs de pesticides

#### **2.1.3.1.3 Les leucémies**

La leucémie est un cancer des cellules de la moelle osseuse. Elle est caractérisée par une prolifération anormale et excessive de précurseurs des globules blancs, bloqués à un stade de différenciation, qui finissent par envahir complètement la moelle osseuse puis le sang. Une étude a montré une augmentation du risque de développer une leucémie chez les agriculteurs, exposés principalement aux insecticides [23].

#### **2.1.3.1.4 Le cancer de prostate**

Dans [24], l'étude a montré qu'il y'a un grand risque pour les personnes exposées à certains pesticides et au bromure de méthyle, surtout les sujets âgés de plus de 50 ans. Une autre étude présentée dans [25] a aussi montré une augmentation significative du cancer de prostate pour les populations exposées aux pesticides dans un milieu professionnel

#### **2.1.3.1.5 Le cancer de la peau**

Le cancer de la peau est en nette progression. Il augmente de 5 à 7% par an. Ses causes sont multiples en particulier les rayons UV qui sont produits par le soleil et qui provoquent des changements dans les cellules de la peau. Il n'y'a pas beaucoup d'études qui montrent une relation entre l'utilisation des pesticides et le cancer de la peau. Dans [26] on a montré que les produits à base d'arsenic présentent un grand risque qui peut mener à un cancer de la peau.

#### **2.1.3.1.6 Le cancer de l'estomac**

Le cancer de l'estomac a lui aussi une grande cause de mortalité dans le monde. Ses causes sont aussi variées. Néanmoins certaines études tel que celle qui est donnée dans [27] montre que les cancers de l'estomac ont augmenté de manière significative chez les agriculteurs ayant > 10 ans d'expérience et plus particulièrement chez ceux qui ont utilisé les produits phytosanitaires.

#### **2.1.3.1.7 Le cancer du cerveau :**

Les tumeurs du système nerveux central sont des maladies relativement rares, mais leur fréquence a augmenté au cours des dernières décennies dans la plupart des pays industrialisés. Certaines études ont montré un petit lien entre le cancer du cerveau et les personnes exposées aux pesticides.

Dans l'étude qui a été faite dans [28], et après 8 ans d'analyse et de suivi, les premières analyses ont permis de confirmer l'excès de tumeurs du système nerveux central observé chez les agriculteurs et ont mis en évidence de fortes variations de risque selon les cultures et les élevages.

### **2.1.3.2. Les pathologies neurologiques**

Des études ont démontré l'existence d'un lien entre exposition professionnelle et non professionnelle aux pesticides et certaines pathologies neurologiques [29]. Les pathologies concernées (avec des présomptions d'association plus ou moins forte) sont :

- La maladie de Parkinson
- La maladie d'Alzheimer
- Les troubles cognitifs (mémoire, concentration,) et anxiodépressifs (souffrance, suicide)

#### **2.1.3.2.1 La maladie de Parkinson**

La maladie de Parkinson est la maladie neurodégénérative la plus fréquente, elle se produit lorsque les cellules nerveuses du cerveau sont endommagées de sorte qu'elles ne produisent plus de dopamine, ce qui aide à contrôler le mouvement musculaire [web 03]. La dégénérescence de ces neurones explique plusieurs symptômes caractérisant la maladie comme l'instabilité posturale et les tremblements. D'après une étude faite en [30], l'exposition aux pesticides augmenterait le risque de Parkinson de 70%. Les molécules toxiques s'accumulent à l'intérieur du neurone produisant un dysfonctionnement de celui-ci, et entraînent une dégénérescence de ces neurones.

#### **2.1.3.2.2 La maladie d'Alzheimer**

La maladie d'Alzheimer est une maladie dégénérative qui engendre un déclin progressif des facultés cognitives et de la mémoire. Peu à peu, une destruction des cellules nerveuses se produit dans les régions du cerveau liées à la mémoire et au langage. Avec le temps, la personne atteinte a de plus en plus de difficulté à mémoriser les événements, à reconnaître les objets et les visages, à se rappeler la signification des mots et à exercer son jugement [web 04].

Pour le lien entre exposition aux pesticides et la maladie d'Alzheimer, les études ne sont pas nombreuses et certaines n'ont pas donné de résultats significatifs. Cependant dans [31], les auteurs ont montré que l'exposition aux pesticides peut augmenter le risque de démence, et la survenue de la maladie d'Alzheimer ultérieurement, notamment suite à une exposition aux organophosphorés.

### **2.1.3.2.3 Les troubles cognitifs et anxiodépressifs**

Dans [32] on a montré que l'exposition professionnelle aux pesticides, notamment aux insecticides organochlorés et organophosphorés, amène à l'apparition de troubles psychiatriques comportementaux tels que l'anxiété, la dépression, les difficultés de concentration et troubles de la mémoire. Dans cette étude, ils ont comparé les performances neuropsychologiques de 146 éleveurs ovins exposés aux organophosphorés à celles de 143 non exposés (témoins). Les agriculteurs ont obtenu des résultats significativement moins bons que les témoins dans les tests pour évaluer l'attention soutenue et la vitesse de traitement de l'information.

### **2.1.3.3. Pathologies liées aux troubles de la fertilité et de la reproduction**

La reproduction concerne l'ensemble des étapes allant de la production des gamètes conditionnant la fertilité, jusqu'à la maturité sexuelle d'un individu, en passant par la fécondation, la nidation de l'œuf, puis le développement embryonnaire et fœtal. Toutes ces étapes sont sujettes à de nombreuses divisions cellulaires, extrêmement sensibles aux agents environnementaux [33].

Concernant la relation entre les risques de certains pesticides sur la fertilité ou la fonction de reproduction, un pesticide bien particulier a montré sa dangerosité. Il s'agit d'un nématocide nommé dibromochloropropane (DBCP). Le danger a été découvert en 1977 aux états unis, puisque plusieurs ouvriers qui produisent le DBCP ont été atteints d'infertilité [34]. Le produit a été par la suite retiré du marché.

Dans la même année, un autre insecticide organochloré (la chlordécone) a montré son effet toxique et une atteinte à la fertilité [35].

### **2.1.3.4 Pesticides et perturbateurs endocriniens**

Plusieurs pesticides ou leurs métabolites sont considérés comme des perturbateurs endocriniens (PEE), c'est-à-dire, selon la définition de l'OMS, des « molécules chimiques d'origine naturelle ou artificielle étrangères à l'organisme qui peuvent interférer avec le fonctionnement du système endocrinien et induire des effets délétères sur cet organisme ou sur ses descendants » [36]. Des herbicides tels que l'alachlore ou l'atrazine, des fongicides tels que la vinchlozoline et des insecticides tels que le DTT, la chlordécone ou l'endosulfan en font partie.

Les perturbations endocriniennes liées à une exposition aux pesticides sont caractérisées par des effets à faibles doses qui suivent une relation non linéaire [37]. Les effets seront d'autant plus marqués que la fonction endocrine ciblée est immature au moment de l'exposition. La période fœtale et néonatale est, de fait, la plus critique.

#### **2.1.3.5 Pesticides et maladies métaboliques**

Plusieurs études ont montré une association positive entre obésité et exposition aux pesticides organochlorés. Il a été montré que les niveaux plasmatiques de certains pesticides ou de leurs métabolites (dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE), hexachlorobenzène) sont plus élevés chez des sujets obèses que chez des sujets présentant un indice de masse corporelle (IMC) normal [38].

Certains travaux ont également montré une association entre le diabète de type 2 et l'exposition aux pesticides organochlorés, tel que le DDT, ou l'Oxychlorane [39].

## **2.2 Impact des pesticides sur l'environnement**

Les matières actives phytosanitaires sont appliquées le plus souvent sous la forme de liquides pulvérisés sur les plantes et/ou sur le sol. Dans certains cas, elles sont incorporées au sol ou y sont injectées ou sont déposées sous forme de granulés, ou encore les graines en sont enrobées. Lors des traitements par aéronef, jusqu'à la moitié du produit peut être entraîné par le vent en dehors de la zone à traiter [40].

Dès qu'ils ont atteint le sol ou la plante, les pesticides commencent à disparaître : ils sont dégradés ou sont dispersés. Les matières actives peuvent se volatiliser, ruisseler ou être lessivées et atteindre les eaux de surface ou souterraines, être absorbées par des plantes ou des organismes du sol ou rester dans le sol.

### 2.2.1 La pollution des eaux

La dispersion des pesticides dans les eaux peut engendrer des nuisances aussi bien au niveau de leur potabilisation que de leurs richesses écologiques. Cette pollution diffuse est liée à l'entraînement de ces produits par transfert en surface ou en profondeur des eaux d'irrigation et des pluies vers les fleuves, les lacs, les nappes phréatiques ou encore les mers et les océans. La pollution des eaux par les pesticides selon 3 voies :

- Le lavage des feuilles
- Le ruissellement (transfert horizontal) : il contribue à la pollution des eaux de surface. Il peut être défini comme le mouvement à la surface du sol de l'eau et des matières dissoutes et suspendues qu'elle contient éventuellement [41].
- La lixiviation (Transfert vertical) : Le transfert par lixiviation peut causer la pollution des eaux souterraines. L'importance de cette pollution dépendra entre autres des propriétés du pesticide, de celles du sol, de la vitesse d'infiltration et de l'épaisseur de la zone non saturée. On considère aussi que la mobilité des pesticides est une caractéristique essentielle pour l'évaluation du risque de pollution des eaux souterraines.

### 2.2.2 Le devenir des pesticides dans le sol

Les processus suivants déterminent le comportement des pesticides dans les sols :

- Dégradation par les micro-organismes ;
- Dégradation chimique (p. ex. par hydrolyse) ;
- Rétention par des composants organiques et minéraux ;
- Absorption par les racines des plantes ;
- Effet de dilution par les mouvements de l'eau.

Les pertes de pesticides dans le sol du fait de micro-organismes ou de réactions chimiques sont confondues sous le vocable de dégradation. Le taux de dégradation

augmente généralement avec la température et avec la teneur en eau du sol [42]. La persistance des matières actives peut être très longue dans un sol sec.

### 2.2.2 La pollution de l'atmosphère par les pesticides (la volatilisation)

La volatilisation est l'une des causes principales de fuites de pesticides hors de la zone cible, notamment quand les traitements visent la surface du sol ou celle des végétaux. Elle est beaucoup plus importante que la dégradation chimique, le ruissellement et la lixiviation [43]. le transport et le dépôt aérien sont les principaux responsables de la dispersion des pesticides sur la terre

La figure 2.2 résume les effets des pesticides sur l'environnement

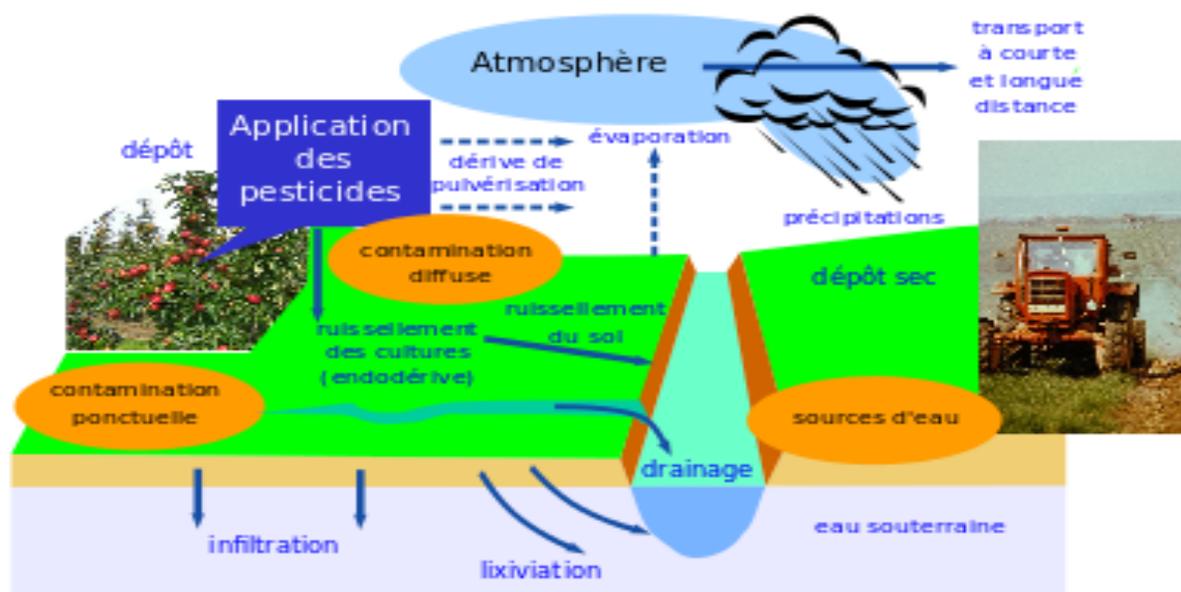


Figure 2.2 : Effets des pesticides sur l'environnement

### 2.3. L'utilisation des pesticides et les normes réglementaires

La réglementation qui régit l'utilisation des pesticides évolue depuis plusieurs années pour une protection plus rigoureuse. La mise sur le marché d'un produit phytosanitaire doit avoir l'aval des organismes concernés dans chaque pays. Il ne devient homologué que s'il satisfait les critères

de toxicité sanitaire et environnementale. Il existe plusieurs normes qui régissent l'usage des pesticides.

### **2.3.1. Les normes FAO/OMS**

#### **2.3.1.1 La commission du codex Alimentarius**

Le Codex Alimentarius, ou « Code alimentaire », est un ensemble de normes, de lignes directrices et de codes d'usages adoptés par la Commission du Codex Alimentarius. La Commission a été créée par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) afin de protéger la santé des consommateurs et de promouvoir des pratiques loyales en matière de commerce de denrées alimentaires. Le Codex Alimentarius est un recueil de normes alimentaires et textes apparentés internationalement adoptés et présentés de manière uniforme. [Web 05]

#### **2.3.1.2 Le Comité du Codex sur les Résidus de Pesticides (CCRP)**

C'est un organisme intergouvernemental qui conseille la Commission du Codex Alimentarius sur toutes les questions relatives aux résidus de pesticides. Son principal objectif est de faire adopter les limites maximales de résidus (LMR) du Codex pour faciliter le commerce international tout en protégeant la santé des consommateurs [web 05] [web 06].

La LMR du Codex est définie comme la concentration maximale d'un résidu de pesticide, résultant de l'utilisation de ce pesticide conformément à de bonnes pratiques agricoles, qui est reconnue par la commission du Codex Alimentarius comme légalement autorisée ou qui est reconnue comme acceptable dans ou sur un produit alimentaire, un produit agricole, ou un produit destiné à l'alimentation animale.

#### **2.3.1.3 Réunion conjointe FAO/OMS sur les résidus de pesticides (JMPR)**

Le JMPR est le titre abrégé de la réunion conjointe du groupe FAO d'experts des résidus de pesticides dans les produits alimentaires et l'environnement et d'un groupe OMS d'experts des résidus de pesticides. Ces réunions ont lieu normalement chaque année. Le groupe d'experts de la

FAO est chargé d'examiner les conditions d'emploi des pesticides (bonnes pratiques agricoles), les données concernant la chimie et la composition des pesticides et les méthodes d'analyse des résidus de ces produits, ainsi que d'estimer les doses maximales de résidus qui peuvent résulter de l'utilisation d'un pesticide conformément à de bonnes pratiques agricoles. Le groupe d'experts de l'OMS est chargé de passer en revue les données toxicologiques et autres renseignements connexes concernant les pesticides ainsi que d'établir, chaque fois que cela est possible, une DJA pour l'homme applicable à ces pesticides.

### **2.3.2 Les normes de l'union européenne**

La mise sur le marché européen de pesticides est régie par le règlement sur les produits phytopharmaceutiques [web 07] adopté en 2009, et le règlement sur les produits biocides [web 08], adopté en 2012.

Ces règlements ont un double objectif : "assurer un niveau élevé de protection de la santé humaine et animale et de l'environnement" et "améliorer le fonctionnement du marché intérieur par l'harmonisation des règles concernant la mise sur le marché des produits" phytopharmaceutiques et biocides. Les produits subissent un double agrément : au niveau de l'UE puis au niveau des états membres. Ils sont autorisés principalement au niveau des États membres.

Un règlement de 2005 sur les limites maximales de résidus [web 09] établit des règles harmonisées à l'échelle de l'Union européenne sur les limites permises de résidus de produits phytopharmaceutiques dans les aliments.

### **2.3.3 La législation algérienne**

L'utilisation des pesticides en Algérie date de l'époque coloniale, la réglementation régissant les pesticides en Algérie était celle de l'administration française. Après l'indépendance, l'Algérie s'est basée des textes législatifs français en l'occurrence (Le décret n° 46-652 du 11 avril 1946, Le décret du 11 mai 1937)

L'Algérie a établi après l'indépendance plusieurs lois. Il s'agit de :

-L'ordonnance n° 67-238 du 09 Novembre 1967 : Contrôle des produits phytosanitaires

-Le décret n° 68-182 du 23 Mai 1968 : Homologation des produits phytosanitaires

-La loi 87-17 du 1er Aout 1987 : mécanismes qui permettent une utilisation efficace des pesticides (JO 1987). Cette loi a permis d'édicter les mesures relatives à la fabrication, l'étiquetage, l'entreposage, la distribution, la commercialisation et l'utilisation des produits phytosanitaires à usage agricole

-Le décret exécutif n° 95-405 du 02 décembre 1995 : Contrôle des produits phytosanitaires (JO 1995)

-L'arrêté du 13mars 2000 : Le contenu des mentions et indications d'emballage des produits phytosanitaires (JO 2000)

-Le décret exécutif n° 10-69 du 31 janvier 2010 : Mesures applicables lors de l'importation et l'exportation des produits phytosanitaires (JO 2010)

-Le décret exécutif n° 14-366 du 15 décembre 2014 : Conditions et les modalités

## **Conclusion**

Dans ce chapitre on a commencé par citer tous les modes de pénétration des pesticides dans l'organisme humain, puis on a défini certains seuils tolérés lors de l'exposition à des pesticides. Par la suite on a passé en revue tous les effets négatifs des produits phytosanitaires, les différentes pathologies qui peuvent en découler. Les études citées ont montré que ces pathologies sont très variées.

L'impact des pesticides sur l'environnement (eau, sol, atmosphère...) a aussi son importance, car les êtres humains vivent dans cet environnement. On a montré comment les pesticides influent sur l'environnement.

La fin du chapitre a été consacrée à la présentation des différentes normes réglementaires au niveau international et national qui permettent une protection rigoureuse

## Chapitre 3 : Recherche des pesticides dans le lait et évaluation des risques

### Introduction

Le lait est le premier aliment de l'homme. Il est le seul à pouvoir revendiquer en tout temps et tous lieux le statut d'aliment universel, au moins pour la première partie de la vie de l'être humain. C'est un aliment complet en raison de son extraordinaire valeur nutritionnelle. Il garantit un apport non négligeable en protéines, en lipides et en sels minéraux notamment en calcium, en phosphore et en vitamines [44]

L'Algérie est le premier consommateur du lait au Maghreb avec des besoins de 4.5 à 5 milliards de litres par an environ.

La consommation du lait et des produits laitiers exige un respect des recommandations nutritionnelles pour protéger contre les maladies chroniques les plus répandues. Cependant, des pratiques agricoles, vétérinaires et hygiéniques/industrielles inadéquates peuvent conduire à des quantités de produits chimiques et de leurs résidus dans notre approvisionnement en lait, et par la suite, entraîner un risque potentiel pour la santé humaine.

Les résidus de pesticides dans les aliments ont reçu une grande attention du fait qu'ils constituent un important élément dans la sécurité alimentaire, par conséquent, les législations nationales et internationales sont devenues plus strictes quant au respect de LMRs (Limite maximale des résidus).

La surveillance des niveaux de résidus dans les aliments exige des méthodes d'analyses fiables. Néanmoins, les pesticides sont, en général, présents à des concentrations très faibles dans l'environnement et dans les aliments. Leur nombre est élevé, et ils sont de nature physicochimique différente. La recherche et la quantification de leurs résidus constituent un défi permanent et exige la mise en œuvre de méthodes d'analyse multi résidus très sensibles et fiables.

Dans ce chapitre, après que nous présenterons ce produit vital pour notre alimentation et toutes ses propriétés physico-chimiques, nous allons donner les procédures analytiques pour l'extraction des molécules

### 3.1. Définition du lait

Le lait est une sécrétion mammaire normale d'animaux de traite, obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites sans y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur [45]. Le lait est un liquide sécrété par les glandes mammaires des femelles mammifères après la naissance du jeune. La fonction naturelle du lait est d'être un aliment exclusif des jeunes mammifères pendant la période critique de leur existence, après la naissance où la croissance est rapide.

### 3.2 Composition du lait

La composition du lait varie d'une espèce de mammifère à une autre car elle est adaptée aux besoins de chacune d'elle. Cependant, on retrouve des caractéristiques communes aux différents laits à savoir la richesse en calcium, la qualité protéique appréciable, le lactose comme sucre prédominant et une richesse en vitamines notamment du groupe B. Cependant plusieurs facteurs peuvent influencer sur la composition du lait. Les principaux constituants du lait par ordre croissant selon [46] sont :

- L'eau, très majoritaire.
- Les glucides principalement représentés par le lactose.
- Les lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras.
- Les sels minéraux à l'état ionique et moléculaire.
- Les protéines, caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles.
- Les éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes, vitamines et oligoéléments.

### **3.3 Qualité du lait**

Le lait est un aliment équilibré et sain. Cependant, la qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique du produit est l'affaire de toute une filière. Aujourd'hui, les consommateurs demandent de plus en plus que les éleveurs produisent un lait de qualité. De nombreux plans de maîtrise se sont développés.

#### **3.3.1 Qualité technologique**

Elle caractérise l'existence ou le risque d'altération du lait. Cette qualité est jugée insuffisante pour le produit qui contient un nombre de micro-organismes d'altération suffisant pour diminuer sensiblement la qualité organoleptique du produit avant sa date limite de consommation [47].

#### **3.3.2 Qualité sanitaire**

Elle caractérise le risque pour la santé du consommateur. Cette qualité est jugée défailante si le produit contient une quantité de toxines ou de microorganismes pathogènes suffisante pour rendre le produit dangereux à consommer. Les risques pour la santé humaine sont liés à l'existence de trois types de danger : le danger physique, biologique et chimique [47].

- Le danger physique : L'utilisation de certains produits ou matériels peut être à l'origine de corps étrangers indésirables dans le lait et les produits transformés.
- Le danger chimique : Polluants de l'environnement et résidus de pesticides
- Le danger biologique : Les agents infectieux présents dans les aliments peuvent provenir de plusieurs sources : les animaux, l'environnement et le matériel du personnel de l'unité de production

#### **3.3.3 Qualité Organoleptique**

Elle regroupe la couleur, l'odeur, la saveur, et la viscosité.

### **3.4. Les caractéristiques physicochimiques du lait**

#### **3.4.1 La masse volumique**

Le lait contient différents éléments dispersés qui peuvent être séparés selon leur masse volumique. La masse volumique d'un liquide est définie par le quotient de la masse d'une certaine quantité de ce liquide divisée par son volume. La masse volumique, le plus souvent exprimée en gramme par millilitre ou en kilogramme par litre, est une propriété physique

#### **3.4.2 La densité**

La densité du lait d'une espèce donnée n'est pas une valeur constante. Elle varie, d'une part, proportionnellement avec la concentration des éléments dissous et en suspension et, d'autre part, avec la proportion de la matière grasse. La densité du lait augmente avec l'écémage et diminue avec le mouillage [48]. Elle oscille entre 1,028 et 1,034.

#### **3.4.3. Le point de congélation**

Dans [49] on a montré que le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau pure puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Cette propriété physique est mesurée pour déterminer s'il y a addition d'eau au lait.

#### **3.4.4 Le point d'ébullition**

Le point d'ébullition est la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition est influencé par la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100,5°C [50]

#### **3.4.5 Le PH**

Les différents laits ont une réaction ionique voisine de la neutralité. Le pH est compris entre 6,4 et 6,8. C'est la conséquence de la présence de la caséine et des anions phosphorique et citrique, principalement. Le pH n'est pas une valeur constante. Il peut varier au cours du cycle de lactation et sous l'influence de l'alimentation

### **3.4.6 L'acidité**

L'acidité du lait résulte de l'acidité naturelle, due à la caséine, aux groupes phosphate, au dioxyde de carbone et aux acides organiques et de l'acidité développée, due à l'acide lactique formé par la fermentation lactique. L'acidité titrable du lait est déterminée par le dosage en utilisant une solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine. Bien que l'acide lactique ne soit pas le seul acide présent, l'acidité titrable peut être exprimée en grammes d'acide lactique par litre de lait ou en degré Dornic (°D).  $1^{\circ}\text{D} = 0,1\text{g}$  d'acide lactique par litre de lait. Un lait cru au ramassage doit avoir une acidité  $\leq 21^{\circ}\text{D}$ . Un lait dont l'acidité est  $\geq 27^{\circ}\text{D}$  coagule au chauffage et un lait dont l'acidité est  $\geq 70^{\circ}\text{D}$  coagule au refroidissement.

### **3.4.7 La matière grasse**

Selon les normes AFNOR, la matière grasse est déterminée par la méthode acido-butyrométrie. Le principe de cette méthode est basé sur la dissolution de la matière grasse à doser par l'acide sulfurique. Sous l'influence de la force centrifuge et grâce à l'adjonction d'une faible quantité d'alcool iso-amylique, la matière grasse se sépare en couche claire dont les graduations du butyromètre révèlent le taux.

### **3.5 Les résidus des pesticides dans le lait**

Dans le secteur agricole, les fruits, les légumes et les céréales sont aspergés de produits chimiques artificiels connus sous le nom de pesticides.

Ces pesticides sont utilisés avant la récolte et pendant la période de stockage et ces pesticides ont la capacité de passer à travers la chaîne alimentaire des simples plantes et animaux aux animaux haut de gamme, ce qui entraîne la bioaccumulation de pesticides dans produits d'origine animale tels que la viande, le lait, les graisses et les œufs.

L'accumulation est causée par une exposition continue aux antiparasites [51]. L'hydrocarbonate de chlore est un matériau hautement efficace et perturbateur pour les toxines chimiques bioaccumulables qui se propagent largement et pénètrent dans la chaîne alimentaire en contrôlant les animaux et ravageurs environnementaux.

La contamination du fourrage se produit dans les entrepôts au champ en raison de l'utilisation des insecticides tels que le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), le dichloro-diméthyl dichloroéthane (DDD) et d'autres.

### **3.6 Les procédures analytiques appliquées à la détermination des molécules**

#### **3.6.1 Préparation de l'échantillon**

L'analyse des résidus de pesticides dans le domaine alimentaire consiste en une préparation d'échantillon et une détermination instrumentale. Malgré que les instruments analytiques aient été développés depuis longtemps, les bruits de fonds des détecteurs, les limites de détections et la quantification finale sont souvent influencés par les interférences de la matrice. Ainsi la préparation de l'échantillon est l'étape critique pour une analyse efficace et précise des traces de résidus de pesticides [52]. Le but de la préparation de l'échantillon est d'isoler des quantités infimes de l'analyte à partir d'une large quantité de matrices complexes et d'éliminer les interférences de la matrice alimentaire dans la mesure du possible.

Le processus de la préparation de l'échantillon inclut typiquement l'échantillonnage/homogénéisation, l'extraction, la purification. Les méthodes d'extraction traditionnelles, spécialement l'extraction liquide a été largement utilisée dans l'analyse des résidus de pesticides ; toutefois, ces méthodes sont laborieuses, et consomment beaucoup de temps, de solvants et sont sujettes à des pertes d'analytes.

Ainsi de nouvelles méthodes d'extraction et de purification sont introduites dans le domaine d'analyses des résidus de pesticides dans les aliments [53]. Il s'agit de l'extraction par les fluides supercritiques (SFE), l'extraction en solvant chaud pressurisé (PLE), l'extraction assistée par micro-onde (MAE), l'extraction assistée par ultrason (UAE), l'extraction en phase solide (SPE), la micro extraction en phase solide (SPME), la micro-extraction en phase liquide (LPME) et la méthode QuEChERS, etc.

La méthode QuEChERS est devenue la technique la plus utilisée dans le domaine de l'extraction des résidus de pesticide les matrices alimentaires

### **3.6.2 Présentation de la méthode Quechers**

#### **3.6.2.1 Définition**

La technique QuEChERS est une approche simplifiée qui permet aux chimistes analystes d'examiner facilement et pour pas cher des résidus de plusieurs pesticides dans les aliments tels que les fruits, les légumes, les céréales et leurs dérivés, viande, lait...etc. Elle a été nommée en fonction des avantages qu'elle apporte : rapide, facile, abordable, efficace, robuste et sécuritaire (**Q**uick, **E**asy, **C**heap, **E**fficient, **R**ugged and **S**afe).

#### **3.6.2.2 Caractéristiques :**

En raison de sa grande simplicité, cette technique laisse place à peu d'erreurs de manipulation. C'est donc pourquoi elle permet d'obtenir des rendements élevés et des analyses précises.

Cette méthode a été développée en 2003 dans [54], pour la recherche des résidus dans les fruits et légumes, où la teneur en eau est élevée, cependant plusieurs auteurs ont utilisé cette méthode sur d'autres matrices possédant une teneur faible en eau.

Il faut signaler que cette méthode est appelée multi-résidus capable de détecter un ou plusieurs substances à partir de diverses matrices alimentaires à l'inverse d'une méthode mono-résidus ne pouvant détecter qu'une seule substance ou famille de pesticides

Sa mise en œuvre simple se fait en deux courtes étapes d'extraction et de purification

### **3.6.2.3 Principe général**

La technique consiste à extraire un échantillon représentatif, préalablement homogénéisé par agitation manuelle ou par vortex, par un réactif (ex : l'acétonitrile) utilisé comme solvant.

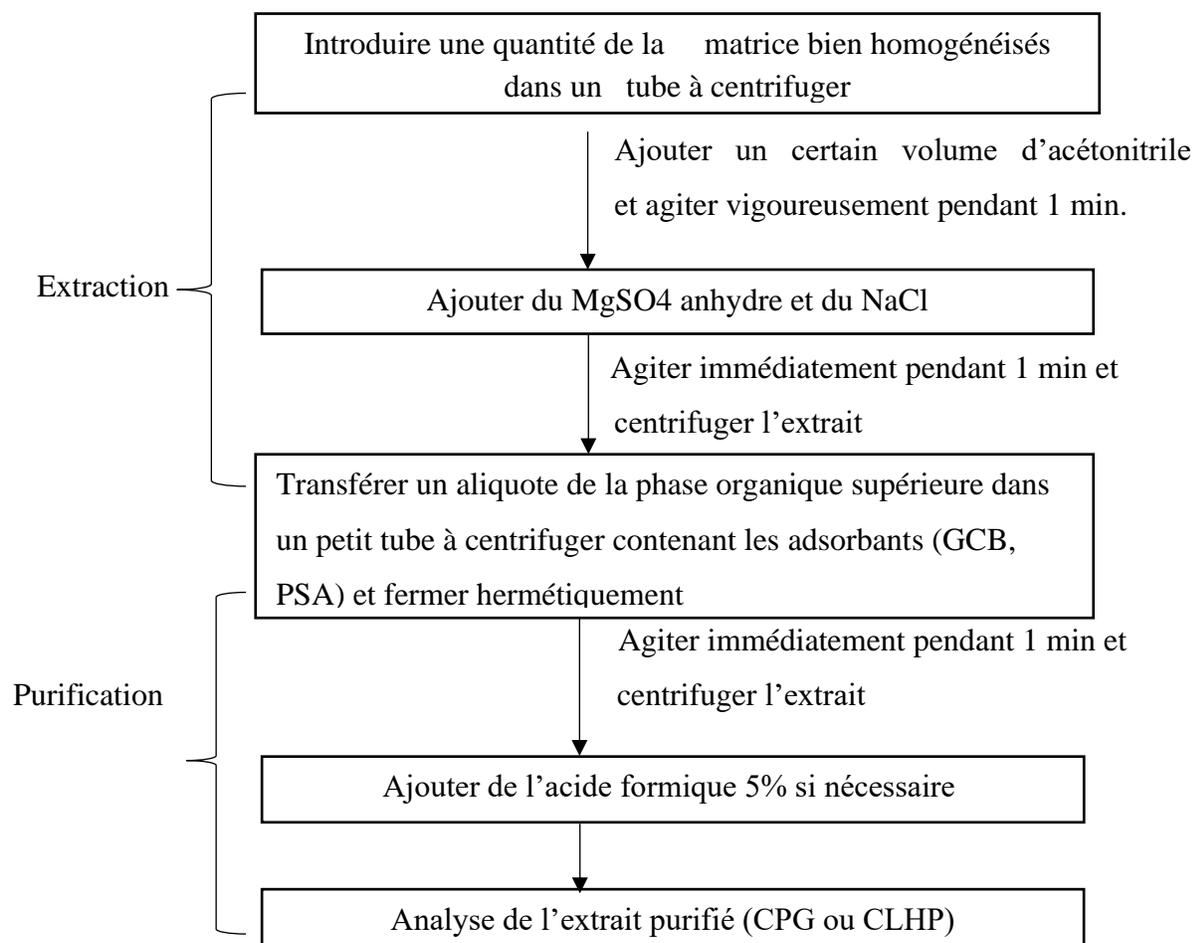
Un mélange de sulfate de magnésium ( $MgSO_4$ ) et de chlorure de sodium ( $NaCl$ ) est ajouté permettant une bonne séparation des phases aqueuse et organique. De plus, en jouant sur la quantité de chlorure de sodium ajoutée avec le  $MgSO_4$  lors du partage, il est possible d'ajuster la gamme de polarité de la méthode et de réduire sensiblement les interférences.

Après agitation et centrifugation, un aliquote du surnageant est purifié par un mélange d'adsorbants et de  $MgSO_4$  qui permet la purification et l'élimination de l'eau résiduelle.

Plusieurs adsorbants sont utilisés soit seuls, soit en mélange parmi lesquels on a les amines primaires et secondaires (PSA) qui retiennent les acides gras et les sucres, le C18 pour éliminer les lipides, le noir de carbone (GCB) pour la chlorophylle et les caroténoïdes.

L'extraction en phase solide dispersive (d-SPE) se base sur le même principe que la SPE mais ici l'adsorbant est ajouté directement à l'extrait et la purification est obtenue par agitation et centrifugation.

Une petite quantité d'acide formique ajoutée à l'extrait, permet d'améliorer la stabilité des pesticides alcali-sensibles. L'extrait final obtenu peut être directement utilisé pour analyse. Nous pouvons résumer ces étapes dans la figure 3.6.



**Figure 3.6. Principales étapes de la méthode QuEChERS[54],**

### 3.6.3 Analyse des pesticides

Après avoir terminé l'étape d'extraction, on passe à l'étape d'analyse qui consiste à séparer, à identifier et à doser les substances isolées. Pour cela on utilise la chromatographie.

Son principe consiste à entraîner l'échantillon à l'aide d'un éluant (gazeux ou liquide) appelé phase mobile (PM), qui se déplace au contact d'une seconde phase fixée sur un support (colonne ou surface plane). Celle-ci, dite stationnaire (PS), est insoluble dans la première. Donc selon la nature des pesticides étudiés, deux techniques analytiques de séparation sont généralement employées pour leur identification et leur quantification : la chromatographie en phase gazeuse (GC) et la chromatographie en phase liquide (LC). Ces techniques peuvent être couplées à des détecteurs spécifiques ou universel.

La méthode QuEChERS a été conçue pour être utilisée avec la chromatographie en phase gazeuse ou en phase liquide couplée à une spectrométrie de masse : C'est pourquoi qu'on parle de GC-MS ou LC-MS. Ce couplage a débuté au début des années 90.

### 3.6.3.1 La chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) (gas chromatography, GC, en anglais) est une technique de séparation d'un mélange de molécules volatiles, appelées « analytes ». Le principe physico-chimique de la CPG repose sur l'équilibre de partage des analytes entre une phase stationnaire et une phase mobile gazeuse.

La séparation des analytes repose sur la différence d'affinité de ces composés pour la phase mobile et pour la phase stationnaire. Le mélange à analyser est vaporisé puis transporté à travers une colonne renfermant une substance liquide ou solide qui constitue la phase stationnaire. Le transport se fait à l'aide d'un gaz inerte, appelé « gaz vecteur », qui constitue la phase mobile. [Web 10]. L'appareil utilisé pour réaliser une analyse par chromatographie est appelé chromatographe.

Il comporte plusieurs éléments, comme indiqué sur le schéma ci-dessous :

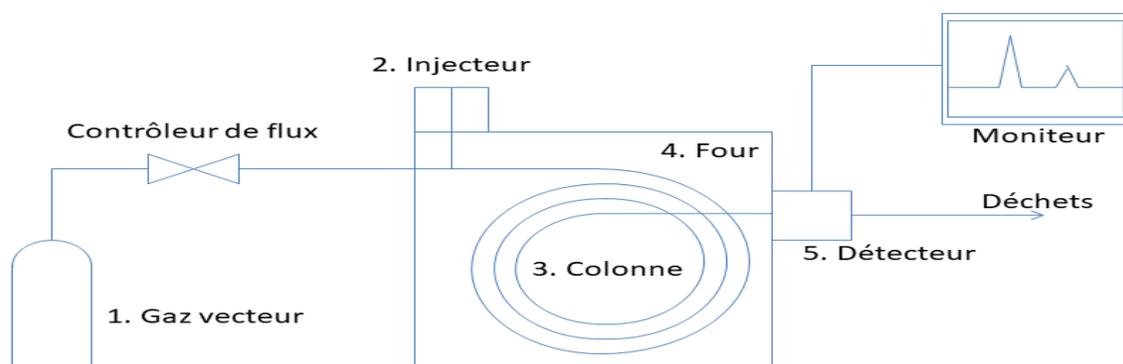


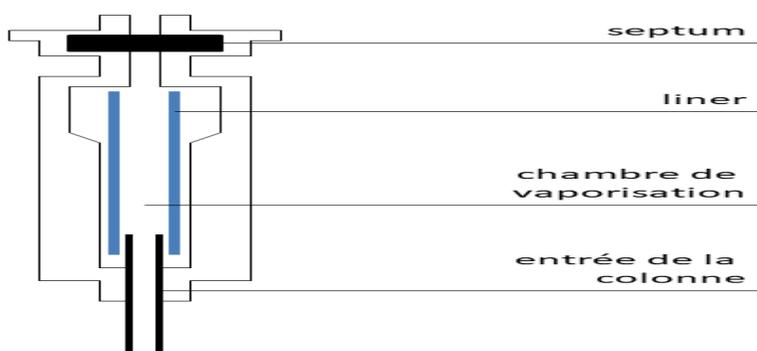
Figure 3.7 Schéma d'un chromatographe

**a) Le gaz vecteur (phase mobile)**

Le gaz vecteur est le gaz qui circule à l'intérieur du chromatographe, entraînant les analytes à travers la colonne, depuis l'injecteur jusqu'au détecteur. Son choix dépend du type de détecteur utilisé ; cela peut être par exemple de l'hélium, de l'azote, de l'argon ou de l'hydrogène.

**b) Le système d'injection**

Ce système permet à la fois l'introduction de l'échantillon dans la colonne du chromatographe, ainsi que la volatilisation des analytes. La température de l'injecteur doit être réglée de manière à entraîner la vaporisation de tous les analytes de l'échantillon : elle est généralement maintenue à 50 °C au-dessus de la température d'ébullition de l'analyte le moins volatile.

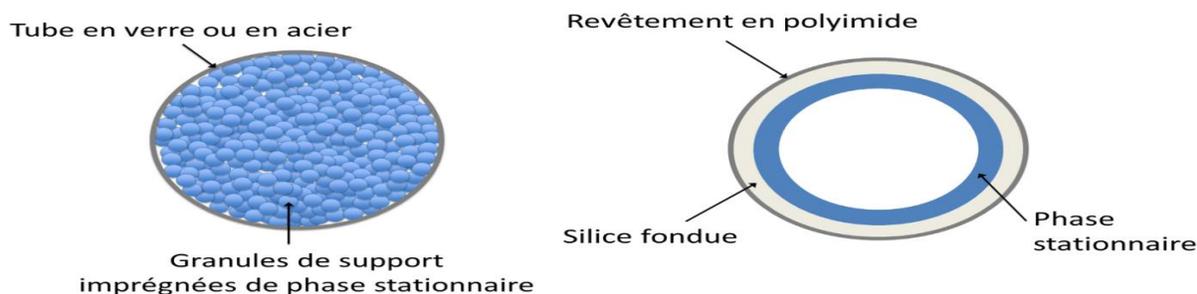


**Figure 3.8 Schéma d'un injecteur**

**c) La colonne (phase stationnaire)**

Il existe deux types de colonnes : les colonnes remplies et les colonnes capillaires (**Figure 3.4**). Les colonnes remplies ont un diamètre de quelques millimètres et une longueur de l'ordre du mètre. Elles sont remplies de granules de support inerte, généralement de la silice, dont la surface est imprégnée ou greffée avec la phase stationnaire.

Elles sont aujourd'hui supplantées par les colonnes capillaires, dont le pouvoir de résolution est bien supérieur.



**Figure 3.9** Schéma (en coupe) d'une colonne remplie (à gauche) et d'une colonne capillaire (à droite)

#### **d) Le four**

La colonne est contenue dans un four de type chaleur tournante, dont la température est précisément ajustable (typiquement entre 20 °C et 350 °C) et programmable. Les températures utilisables en pratique dépendent des domaines de stabilité en température de la colonne utilisée, et de ceux des composés analysés.

Plus la température du four (et donc de la colonne) est élevée, plus les analytes se déplacent rapidement dans la colonne, mais moins ils interagissent avec la phase stationnaire, et donc moins les analytes sont séparés. Plus la température du four est basse, meilleure est la séparation des analytes mais plus longue est l'analyse. Le choix de la température est donc un compromis entre la durée de l'analyse et le niveau de séparation désiré. Une méthode pour laquelle la température est gardée constante tout au long de l'analyse est appelée « isotherme ».

#### **e) Le détecteur**

En sortie de colonne, les analytes rencontrent le détecteur, aujourd'hui généralement couplé à un enregistreur numérique du signal qui permet son traitement. Cet élément mesure en

continu une grandeur proportionnelle à la quantité des différents analytes. Il en existe de nombreux modèles, dont :

-**Le FID** : flame ionisation detector, en français détecteur à ionisation de flamme), qui est le plus utilisé.

-**Le TCD** (en anglais thermal conductivity detector, en français détecteur à conductivité thermique), ou catharomètre

-**Le MS** (en anglais mass spectrometer, en français spectromètre de masse), généralement en mode EI (electron ionisation) ou CI (chemical ionisation), qui provoque l'ionisation des molécules organiques éluées et analyse ces ions.

Ce couplage GC–MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) permet, au-delà de la simple détection de présence d'espèces chimiques, d'avoir des informations concernant lesdits composants. Typiquement utilisé avec les gaz vecteurs azote, hélium et hydrogène

### **3.6.3.2 La chromatographie en phase liquide**

Dans ce type de chromatographie, la phase mobile est un liquide. Selon la nature de la phase stationnaire on peut en distinguer : [**Web 11**]

**a) La chromatographie de partage** : C'est une chromatographie liquide-liquide. La phase stationnaire est un liquide fixé sur un support inerte (ex. : de l'eau sur la cellulose d'un papier). Cette chromatographie est ainsi dénommée car elle est basée sur le partage du soluté dans les deux phases liquides.

**b) La chromatographie d'exclusion** : On l'appelle également chromatographie d'exclusion-diffusion, tamisage moléculaire, gel-filtration ou perméation de gel. La phase stationnaire est un solide poreux : les grosses particules sont exclues de la phase fixe, en revanche, les petites particules incluses diffusent dans les pores du gel.

**c) La chromatographie d'adsorption en phase normale** : C'est une chromatographie liquide-solide. La phase stationnaire est un adsorbant solide polaire.

**d) La chromatographie d'adsorption en phase inverse** : C'est une chromatographie liquide solide dans laquelle la phase stationnaire est apolaire.

**e) La chromatographie sur échangeurs d'ions** : La phase stationnaire est un échangeur d'ions constitué par une résine porteuse de groupements ionisés négativement ou positivement, exerçant des interactions de type électrostatique avec les solutés ioniques du milieu.

**f) La chromatographie d'affinité** : La phase stationnaire est un support macromoléculaire chimiquement inerte, sur lequel est greffé un effecteur qui présente une affinité biologique (bioaffinité) pour un soluté de l'échantillon à analyser (affinité enzyme-substrat, ligand-récepteur, antigène-anticorps).

**Remarque** : La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est un type avancé de chromatographie liquide (LC), qui est réalisée sous une pression opérationnelle nettement plus élevée que la LC.

La LC ordinaire repose sur la force de gravité pour faire passer la phase mobile à travers la colonne, ce qui entraîne un débit lent et limite largement la taille des particules utilisées dans la colonne. HPLC, d'autre part, s'appuie sur des pompes pour faire passer un liquide sous pression à travers la colonne, ce qui réduit considérablement le temps de séparation et augmente ainsi l'efficacité. En outre, les colonnes HPLC sont remplies de particules stationnaires plus petites que la LC ordinaire, ce qui permet à la HPLC d'avoir un pouvoir de résolution supérieur lors de la séparation des mélanges.

#### **3.6.4 Quelques applications de la méthode Quechers pour des matrices (autres que le lait)**

Dans le tableau ci-dessous, on trouve des exemples d'utilisation de la méthode Quechers pour l'analyse des résidus des pesticides pour des matrices différentes (**autres que le lait**) [55].

**Tableau 3.1: Application de la méthode Quechers pour quelques matrices alimentaires (autres que le lait)**

| Pesticides     | Echantillon (Matrice)                            | Extraction (Solvants et sels)                                  | Purification                                                                            | Technique analytique | Taux de recouvrement | Réf. |
|----------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|------|
| 229 pesticides | Salade et orange (15 g)                          | 15 ml CAN<br>6g MgSO <sub>4</sub><br>1.5 g NaCl                | 1.8 g de MgSO <sub>4</sub><br>300 mg PSA                                                | HPLC-MS/MS<br>GC-MS  | 70-120 %             | [56] |
| 43 pesticides  | Pomme, Citron, salade (15g) et grain de blé (5g) | 10 mL ACN 5% HOAc (v/v)<br>7.5 g ammonium formate              | 150 mg MgSO <sub>4</sub> ,<br>50mg PSA (150 mg pour le grain), 50 mg C18,<br>7.5 mg GCB | LPGC-MS/MS           | 90-110 %             | [57] |
| 27 pesticides  | Raisin                                           | 10 mL MeCN, 4 g MgSO <sub>4</sub> + 1 g NaCl                   | 10 mL MeCN, 4 g MgSO <sub>4</sub> + 1 g NaCl                                            | LPGC/MS              | 70-120%              | [58] |
| 32 pesticides  | Fruits et légumes                                | 10 mL MeCN, 4 g MgSO <sub>4</sub> + 1 g NaCl                   | 150 mg de MgSO <sub>4</sub> + 50 mg de PSA+ 50 mg de C18                                | LC-MS/MS<br>GC-MS    | 88 - 102%            | [59] |
| 215 pesticides | Légumes                                          | 10 mL MeCN, 4 g MgSO <sub>4</sub> , 1g NaCl.                   | 150 mg de MgSO <sub>4</sub> +50 mg de PSA + 50 mg de C18                                | LC-MS/MS<br>GC-MS/MS | 70-120%              | [60] |
| 150 pesticides | Fruits et légumes                                | 15 mL MeCN , 0.15 mL HAc(1%), 6g MgSO <sub>4</sub> ,1.5 g NaAc | 150 mg MgSO <sub>4</sub> + 50 mg PSA+ 50 mg C18 +7.5 mg GCB                             | LP-GC/TOFMS          | 70-120%              | [61] |
| 292 pesticides | Céréales                                         | 10 mL eau, 15 mL ACN 4 g MgSO <sub>4</sub> , 1 g NaCl,         | 100 mg MgSO <sub>4</sub> + 20 mg PSA +75 mg C18                                         | LC-MS/MS             | 70-120%              | [62] |
| 99 pesticides  | Riz                                              | 5 mL eau, 20 mL ACN 4 g MgSO <sub>4</sub> , 1 g NaCl           | 50 mg PSA+ 50 mg C18                                                                    | LC-MS/MS             | 70-120%              | [63] |

## Chapitre 4 Matériel et méthodes

### Introduction

Dans le cadre de cette étude, nous avons procédé à deux types d'analyse :

- Mesure de quelques propriétés physico-chimiques d'un échantillon de lait de vache. Ces mesures ont été effectuées au laboratoire d'analyse de la laiterie Sweetlé d'Ain Ouessera.
- Extraction de pesticides à partir de 7 échantillons de lait différents. Ce processus a été effectué au laboratoire de recherche de la faculté Sciences de la nature et de la vie de l'université de Djelfa

### 4.1 Matériel et méthodes utilisés

#### 4.1.1 Pour les propriétés physico-chimiques du lait de vache

##### 4.1.1.1 Pour la densité

Pour déterminer la densité du lait, un appareil lactodensimètre (aréomètre à lait) a été utilisé. On a commencé par mettre un échantillon du lait à tester soigneusement mélangé au préalable (sans mousse). Le cylindre a une capacité maximale de 250 ml. Un thermomètre calibré est ensuite inséré dans le tube. La température doit être entre 15° et 25° C. Lors de la détermination de la température, le thermomètre ne doit pas toucher les parois du cylindre. Le thermomètre a donné une valeur de 20° C.

Par la suite, le lactodensimètre a été introduit dans le tube en flottant à l'intérieur. Après 1 à 2 minutes de sa mise en place, l'hydromètre à lait (le lactodensimètre) passe à l'état stationnaire, On lit son échelle à la surface du lait. En utilisant cette lecture, on calcule la densité en utilisant la formule suivante :

$$\text{Densité} = 1 + \frac{^{\circ}\text{L} + (\text{T} \times \text{F})}{1000}$$

Avec :

$^{\circ}\text{L}$  : La valeur lue de l'échelle du lactodensimètre       $\text{T}$  : Température corrigée : ( $t_1 - t_0$ )

Où  $t_1$  : Température de l'échantillon    et     $t_0$  : Température standard ( $20^{\circ}$ )

$\text{F}$  : Le facteur de température (Généralement égal à 0.2)



**Figure 4.1** Echantillon introduit dans un cylindre gradué et avec un thermomètre

#### 4.1.1.1 Pour l'acidité

Dans notre cas, nous avons pris un échantillon de 10 ml, et nous avons ajouté 3 gouttes de phénolphtaléine (indicateur coloré). Ensuite, nous avons progressivement ajouté une solution de NaOH (appelée dans ce cas soude Dornic), une goutte à la fois, jusqu'à ce que la couleur de notre lait a viré au rose. Puis nous avons dosé la quantité de NaOH que nous avons utilisé. Cette quantité multipliée par 10 donne l'acidité.



**Figure 4.2** Le phénolphtaléine et le dosage du NaOH

#### 4.1.1.3 Pour le PH

En utilisant la pH-métrie, nous avons inséré notre pH-mètre dans notre échantillon qui a lu automatiquement le PH de notre lait.



**Figure 4.3 Un PH-mètre avec la valeur trouvée**

#### 4.1.1.4 Pour la teneur en matière grasse

Nous avons utilisé la méthode GERBER, .C'est une technique qui permet de détecter la fraude de l'écémage du lait cru et de vérifier la standardisation du taux de la matière grasse du lait.

Elle est basée sur l'utilisation d'un butyromètre

Le protocole de la méthode nécessite nécessite 10 ml d'acide sulfurique et 11 ml de l'échantillon et 1 ml d'alcool amylique, et aussi une centrifugeuse à 1500 rpm pendant 5 minutes.

Dans cette méthode, après dissolution des protéines par addition d'acide sulfurique, la séparation de la matière grasse du lait par centrifugation dans un butyromètre est favorisée par l'addition de la quantité d'alcool amylique.

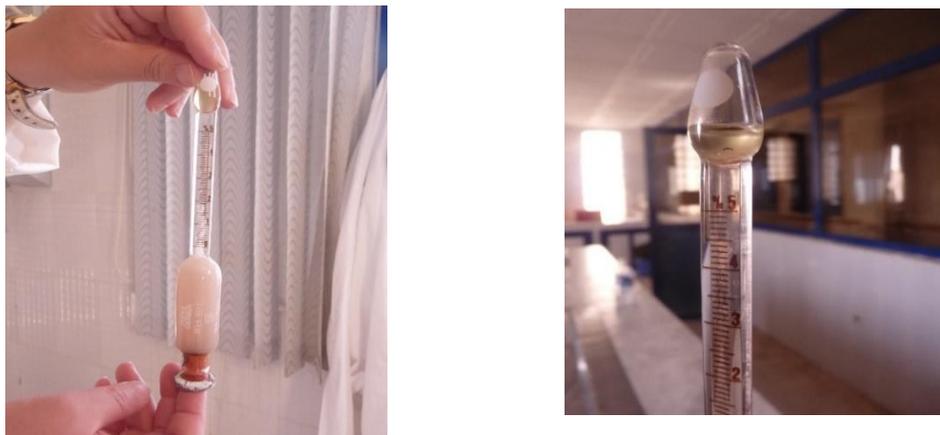
Le résultat est exprimé en g/l et la lecture se fait directement sur le butyromètre

A : est la lecture faite à l'extrémité inférieure de la colonne de matière grasse ;

B : est la lecture faite à l'extrémité supérieure de la colonne de matière grasse.

$$MG = B-A$$

La figure 4.4 montre l'utilisation de la méthode Gerber avec un butyromètre



**Figure 4.4 : Un butyromètre (Utilisation de la méthode Gerber)**

#### **4.1.1.5 Pour la matière sèche**

Nous avons utilisé un four et nous avons mesuré la quantité d'échantillon avant et après l'avoir brûlé à 105 ° C pendant 30 à 60 minutes. Le four qui a été utilisé possède une balance intégrée qui fournit des résultats immédiats.

Les gouttes du lait sont mises sur une plaque en aluminium qui est insérée dans le four.



**Figure 4.5 Four pour extraire la matière sèche**

#### 4.2. Pour l'extraction des pesticides dans les échantillons de lait

Pour la détermination des pesticides, la méthode Quechers a été utilisée avec une chromatographie en phase gazeuse et un spectromètre de masse (GC-MS). Les principes de la méthode Quechers et la chromatographie en phase gazeuse ont été expliqués plus haut. Les échantillons du lait ont subi le même protocole. La figure 3.10 montre l'essentiel des produits et matériel utilisés.

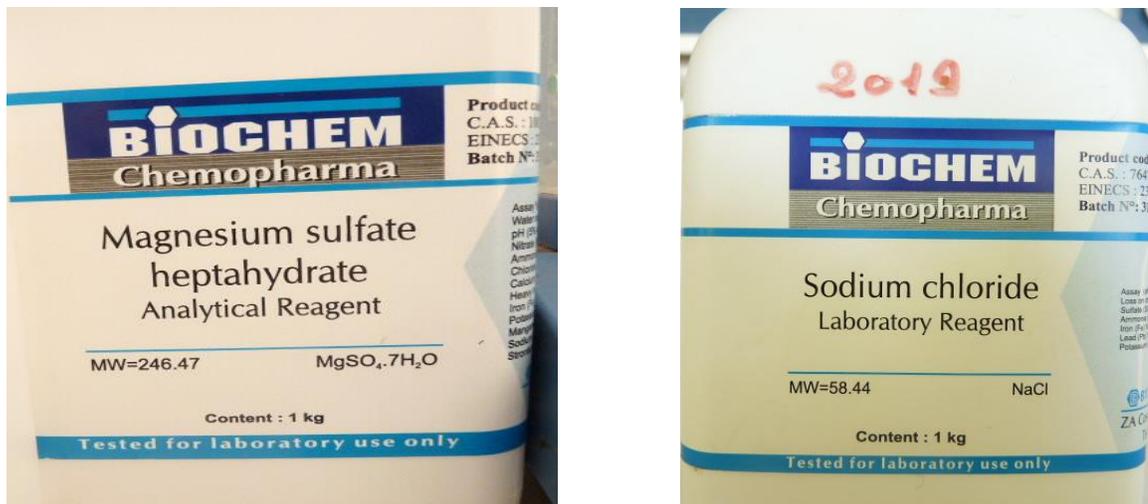


**Figure 4.6 Matériel utilisé**

Les étapes du protocole sont les suivantes

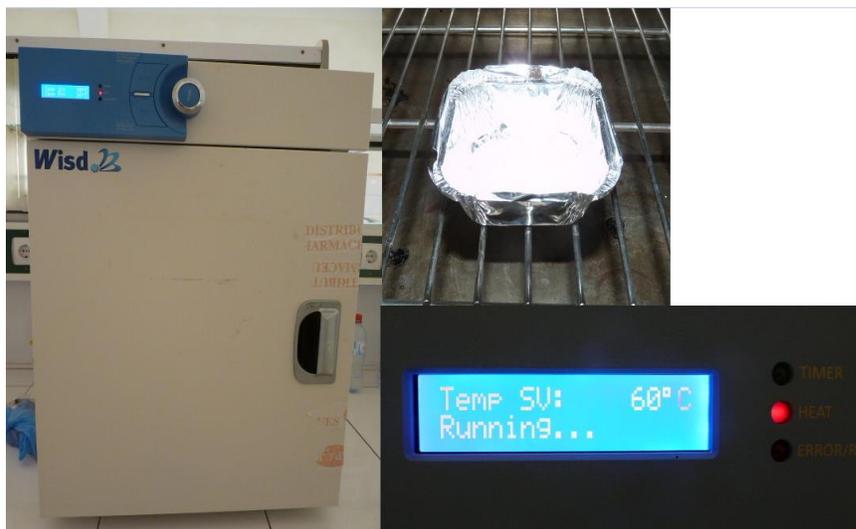
- a) Une quantité de 10 g est extraite de l'échantillon et mise dans un tube de contenance 50 ml
- b) On a ajouté 10 ml d'acétonitrile (ACN) contenant 0.1 ml d'acide acétique comme solvant d'extraction. et le tube a été hermétiquement fermé et secoué vigoureusement pendant 2 min.
- c) On a ajouté 1 g de NaCl et 4 g de MgSO<sub>4</sub>. Ceci permettra une bonne séparation entre la phase aqueuse et la phase organique.

Le  $\text{MgSO}_4$  qui a été utilisé est le sulfate de magnésium heptahydraté ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), appelé aussi sel 'd'Epsom' ou sel 'Anglais'



**Figure 4.7 Le  $\text{MgSO}_4$  heptahydraté et le NaCl**

Ce type de  $\text{MgSO}_4$  doit être au préalable séché au four à  $60^\circ\text{C}$  pendant une heure et demie en le mélangeant toutes les demi-heures pour garantir que la quantité totale a séché. Après ça, il est prêt pour l'utilisation.



**Figure 4.8 le processus de séchage du  $\text{MgSO}_4$  heptahydraté**

- d) Tout ce mélange a été centrifugé pendant 5 minutes dans une centrifugeuse à 4000 rpm.
- e) Environ 1 ml d'aliquote de la couche supérieure (organique) a été transférée dans un tube Q351 QuEChERS dSPE (150 mg MgSO<sub>4</sub>, 25 mg PSA, 25 mg C18) et le tube a été bien fermé et secoué vigoureusement pendant 2 min. Le tube a ensuite été centrifugé pendant 5 min à 4 000 tr/min.

## Chapitre 5 Résultats et discussion

### Introduction

Dans ce chapitre on va présenter les résultats obtenus lors de nos mesures et analyses, et faire une discussion de ces résultats

### 5.1 Les résultats des mesures pour les propriétés physico chimiques du lait

On a effectué des mesures pour 5 propriétés physico-chimiques pour notre échantillon du lait. Voici les résultats obtenus

**Tableau 5.1 Les résultats obtenus**

| Densité | Acidité | Matière grasse | Matière sèche | PH   |
|---------|---------|----------------|---------------|------|
| 1.034   | 28      | 3.6            | 16.93         | 7.08 |

Les normes sont résumées dans le tableau suivant

**Tableau 5.2 Des normes pour quelques propriétés physicochimiques**

| Densité     | Acidité | Matière grasse | Matière sèche | PH      |
|-------------|---------|----------------|---------------|---------|
| 1.028-1.036 | 15-18   | 3-4            | 12.5-13       | 6.6-6-8 |

Le tableau 5.3 représente une synthèse sur quelques propriétés physico-chimiques trouvées dans des travaux antérieurs (effectués en Algérie). Voici les résultats

**Tableau 5.3 Des résultats antérieurs pour quelques propriétés physico-chimiques**

| Année | Densité | Acidité | PH   | Matière grasse | Matière sèche | Ref.  |
|-------|---------|---------|------|----------------|---------------|-------|
| 2015  | 1.030   | 20.21   | 6.48 | 2.51           | 8.75          | [ 64] |
| 2015  | 1.0304  | 15.5    | 6.7  | 3.33           | 8.64          | [65]  |

|       |         |              |      |                |               |      |
|-------|---------|--------------|------|----------------|---------------|------|
| 2011  | 1.030   | 16,51-18, 37 | -    | 3.53-9.11      | 12.98         | [66] |
| Année | Densité | Acidité      | PH   | Matière grasse | Matière sèche | Ref. |
| 2014  | 1.028   | 18           | -    | 3.6            | 9.45          | [67] |
| 2010  | 1.029   | 18.4         | 6.6  | -              | 12.3          | [68] |
| 2010  | 1.030   | -            | 6.75 | -              | 11.9          | [69] |

### 5.2 Analyse chromatographique des pesticides dans le lait :

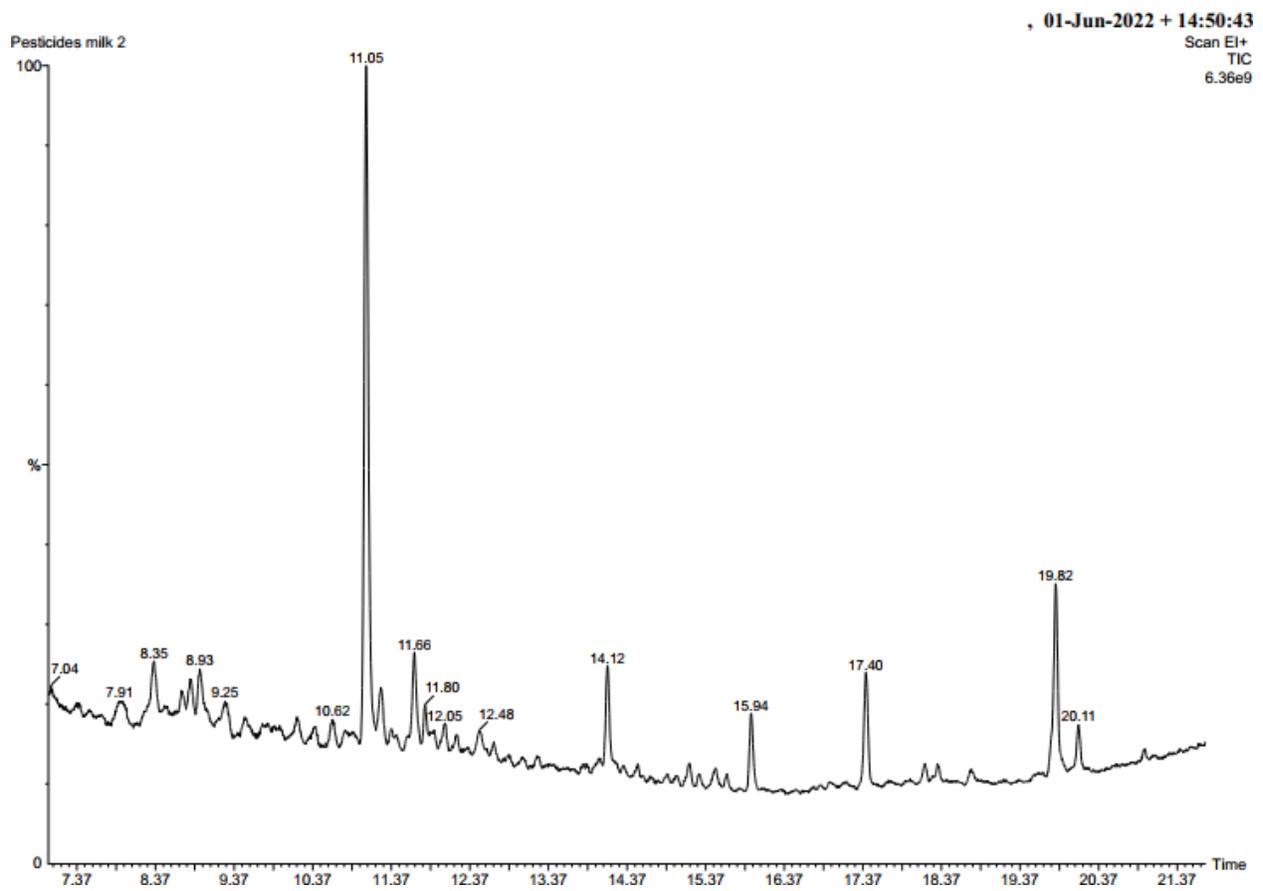
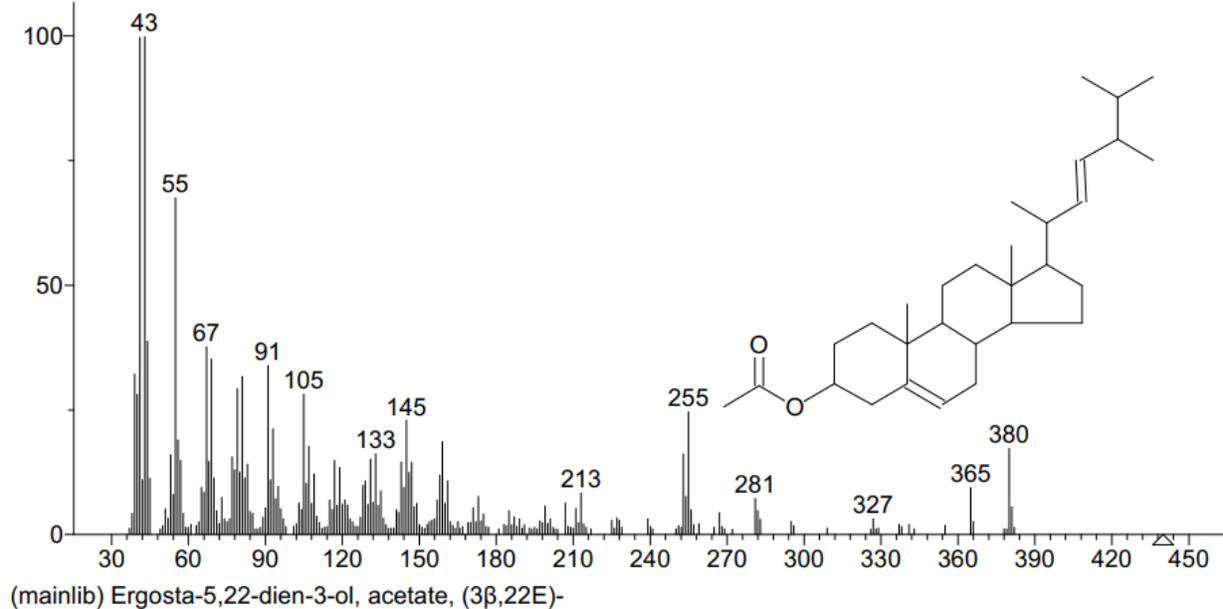


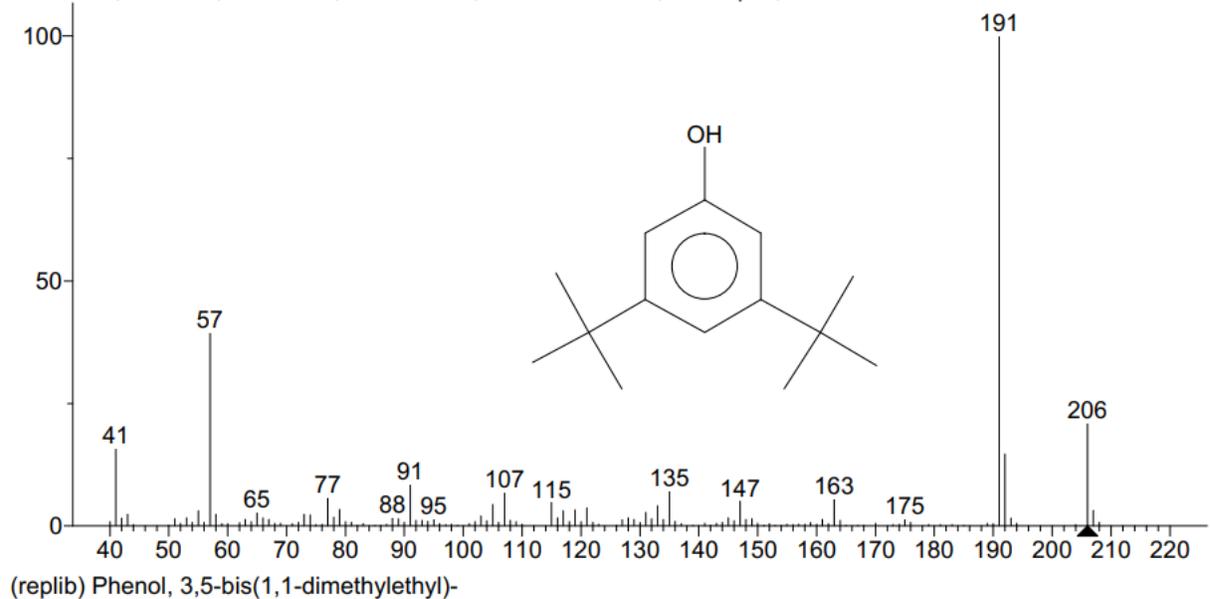
Figure 5.1 Chromatogramme de l'analyse des pesticides dans le lait ovin

Hit 1 : Ergosta-5,22-dien-3-ol, acetate, (3 $\beta$ ,22E)-  
 C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub>; MF: 565; RMF: 596; Prob 27.3%; CAS: 2458-53-9; Lib: mainlib; ID: 5700.



**Figure 5.2** exemple d'un composé séparé et identifié par GC-MS

Hit 1 : Phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-  
 C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>O; MF: 728; RMF: 814; Prob 33.0%; CAS: 1138-52-9; Lib: replib; ID: 25769.



**Figure 5.3** Exemple d'un composé séparé par GC-MS

### 5.3 Discussion

Parmi les 5 propriétés physico-chimiques étudiées :

-Trois propriétés se montrent conformes aux normes de la réglementation algérienne en vigueur avec quelques différences à certains résultats trouvés dans des travaux antérieurs.

- Une propriété (La matière sèche) est un peu supérieure à la norme

- Une propriété (l'acidité) est beaucoup supérieure à la norme. Ceci est peut-être dû au fait que l'échantillon a été longtemps conservé.

La préparation des échantillons par la méthode QuEChERS et l'analyse chromatographique par GC-MS a permis d'effectuer une analyse préliminaire des pesticides présents éventuellement dans le lait, quelques pics pouvaient être interprétés ce qui a permis d'élucider la structure développée de quelques composés organiques y étant présents et qui ne semblent pas atteindre la nocivité des pesticides recherchés.

## **Conclusion générale**

Dans cette étude, on s'est intéressé à l'impact des pesticides sur notre alimentation, et on a choisi en particulier le lait comme matrice pour effectuer nos mesures et analyses.

Après avoir donné différents types de classification des pesticides, nous avons donné leurs effets négatifs sur la santé humaine, avec des pathologies très dangereuses (cancers et autres), dans le cas où les résidus de pesticides dans notre alimentation dépassent un certain seuil. On a passé aussi en revue l'impact sur l'environnement.

Des échantillons de lait ont été pris pour effectuer en premier lieu des mesures sur quelques propriétés physico-chimiques, et en second lieu des analyses ont été faites pour l'extraction des pesticides dans ces échantillons. Pour ces analyses on a utilisé le protocole expérimental de la méthode Quechers (une méthode qui a une place prépondérante dans l'examen des pesticides dans les aliments). La méthode a été suivie par une chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse.

L'interprétation des résultats de la chromatographie, a recelé la présence de quelques composants organiques.

Une diversification plus grande des échantillons de lait de différents types est souhaitable pour que les conclusions soient plus précises sur le type de lait consommé le plus contaminé.

## Références bibliographiques

- [1] Cormac Ó Gráda, Ireland's Great Famine: An Overview, UNIVERSITY COLLEGE DUBLIN, DEPARTMENT OF ECONOMICS, 2004, p 01.
- [2] IYAD Youcef Alhadj Ismail, Insect Pest management, University of Al Mosul, Department of Life Sciences College of Education, 2009.p 11.
- [3] Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M.P. et Coquet Y. (2005). Les pesticides dans le sol, conséquences agronomiques et environnementales. Edition France Agricole, Paris, 637 p.
- [4] Bordjiba, O. & Ketif, A. 2009. Effet de trois pesticides (Hexaconazole, bromiuconazole et Fluazifop-p-butyl) sur quelques Métabolites physicochimiques du blé dur : *Triticum durum* Desf. European Journal of Scientific Research, pp 260-268.
- [5] [ANSES] Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail,. Site internet de l'Observatoire des résidus de pesticides, France. 2014
- [6] Isra Mahmood, Sameen Ruqia Imadi, Kanwal Shazadi, *et al*, Effects of Pesticides on Environment, article, Springer International Publishing Switzerland,2006. P 254.
- [7] David Pimentel and Lois Levitan, Pesticides Amounts Applied and Amounts Reaching Pests, Bioscience .Vol 36 N°2.Oxford University Press, p 01.1986
- [8] C. Drum . Soil Chemistry of Pesticides. PPG Industries, Inc, USA (1980)
- [9] Yadav, Ishwar & Devi, Ningombam. Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment. (2017).
- [10] Fisher and ferell . Managing pesticide drift. Agronomy department University of Florida, Gainesville, FL, USA (2013)
- [11] Rajveer Kaur<sup>1</sup> \*, Gurjot Kaur Mavi<sup>2</sup> and Shweta Raghav<sup>3</sup>. Pesticides Classification and its Impact on Environment .2019

- [12] F.Testud ,C.Payen .Fongicides agricoles. Elsevier 2016
- [13] Yadav, I.S. Devi, N.L., Pesticides Classification and its Impact on Human and Environment. In book: Environment Science and Engineering, Vol. 6: Toxicology Chapter: 7 Publisher: Studium Press LLC, USA. 2017.
- [14] A Periquet, toxicologies des residus de pesticides. In R deracge(Ed), toxicologie et securité des aliments. 1 er edition, technique, Documentation Paris 1986.
- [15] Cluzeau S., Patunelle M. C., Lhoutellier C., 2000. Index phytosanitaire, Association de coordination technique agricole, ACTA, Paris, 644 p
- [16] Nougadère A., 2015. Surveillance des expositions alimentaires aux résidus de pesticides : développement d'une méthode globale d'appréciation quantitative du risque pour optimiser l'évaluation et la gestion du risque sanitaire. Thèse de doctorat : Université de Toulouse,
- [17] Sylvie Bortoli , Xavier Coumou. Impact des pesticides sur la santé humaine. Dossier Science direct.2018
- [18] Leon ME, Beane Freeman LE, Douwes J et al. AGRICOH: a consortium of agricultural cohorts. Int J Environ Res Public Health 2011;8:1341–57
- [19] Lori Alton: diseases linked to pesticides. J Natural health , 2016 4SPIEWAK R: Pesticides as a cause of occupational skin diseases in farmers. RAnn Agric Environ Med. 2001;Vol8, N°(1)
- [21] Willis B.Wheller. Pesticides in agriculture and environment.University of florida . edited by Marcel Dekker INC.2002
- [22] Khuder SA, Mutgi AB, Schaub EA, et al. (1999) Meta-analyses of Hodgkin's disease among farmers. Scand J Work Environ Health 25: 436–441
- [23] L.M Brown Pesticide Exposures and Other Agricultural Risk Factors for Leukemia among Men in Iowa and Minnesota .Cancer research.Volume 50.issue 20.1990

- [24] Michael C R Alavanja et al. Use of agricultural pesticides and prostate cancer risk in the Agricultural Health Study cohort. 2003
- [25] Van Maele-Fabry G, Willems JL. Occupation related pesticide exposure and cancer of the prostate: a meta-analysis. *Occup Environ Med*. 2003;60(9):634-42
- [26] Radoslav Spiewak. Pesticides as a cause of occupational skin diseases in farmers. *Ann Agric Environ Med* 2001, 8, 1–5
- [27] Forastiere F. et Al. Cancer among farmers in central Italy. 1993. *Scand J Work Environ Health* 19:382-9
- [28] Clément Piel. Tumeurs du système nerveux central et expositions agricoles aux pesticides. Médecine humaine et pathologie. Université de Bordeaux, 2018.
- [29] I. Baldi, S. Cordier, X. Coumoul, A. Elbaz, A. Gamet-Payrastre, L. Le Bailly, P. Multigner, L. Rahmani, R. Spinosi, J. Van Maele-Fabry, G. Pesticides, effets sur la santé. Expertise collective. Synthèse et recommandations 2013.
- [30] ASCHERIO Alberto: Pesticide exposure and risk for Parkinson's disease, *Annals of Neurology*, 2006
- [31] K.M Hayden et al, Occupational exposure to pesticides increases the risk of incident AD. *Neurology journal*. 2010 May 11; 74(19): 1524–1530.
- [32] R. Stephens et al. Neuropsychological effects of long-term exposure to organophosphates in sheep dip. *Science*
- [33] MULTIGNER L. Effets retardés des pesticides sur la Santé Humaine. Environnement, risques et santé. Volume 4. N°3 :187-194. Mai-juin 2005

- [34] WHORTON D. et al. Testicular function in DBCP exposed pesticide workers. 1979. J Occup Med 21:161-6.
- [35] TAYLOR JR. Neurological manifestations in humans exposed to chlordécone and follow up results. 1982. Neurotoxicology 3:9-16.
- [36] Nathalie Ruaux. Les perturbateurs endocriniens : Comprendre où en est la recherche. Les perturbateurs endocriniens, 2019. Anses-02289024
- [37] Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB et al. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. Endocr Rev. 2012 ;33(3):378-455.
- [38] Schildkraut JM, Demark-Wahnefried W, DeVoto E et al. Environmental contaminants and body fat distribution. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1999 ;8(2):179-83.
- [39] Airaksinen R, Rantakokko P, Eriksson JG et al. Association between type 2 diabetes and exposure to persistent organic pollutants. Diabetes Care. 2011;34(9):1972-9
- [40] PIMENTEL D., LEVITAN L., 1986. Pesticides: amounts applied and amounts reaching pests. Bioscience, 36, 86-91.
- [41] LEONARD R. A., 1990. Movement of pesticides into surface waters. In Pesticides in the soil environment. Soil
- [42] WALKER A., 1976. Simulation of herbicide persistence in soil. Pesticide Science, 7, 41-49.
- [43] TAYLOR A.W., SPENCER W. F., 1990. Volatilization and vapor transport processes. In Pesticides in the soil environment. Soil Science Society of America Book Series, n°2, Madison, WI, USA, 213-269
- [44] Cheftel. Introduction à la biochimie, à la technologie des aliments. Edition : Lavoisier, Paris. 1996, Vol 1, p: 43.

- [45] FAO. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO, 1995.
- [46] Pougheon et Goursaud. Le lait et ses constituants caractéristiques physicochimiques, In : DEBRY, G. Lait, nutrition et santé, Tec & Doc, Paris, 2001, p 342.
- [47] Bourgeois et Leveau. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires, Band 3 Collection Sciences et techniques agro-alimentaires Technique & documentation, 1980.
- [48] Vignola. Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. 2002,
- [49] Neville M.C et Jensen R. G. The physical properties of human and bovine milks In JENSEN R., Handbook of milk composition-General description of milks, Academic Press, Inc,1995, p 82.
- [50] Amiot J., Foutier S., Lebeuf Y., et Simpson R. Composition, propriétés physicochimique, valeur nutritive, qualité technologique d'analyse du lait chapitre1, 2002.
- [51] Kotinagu K and Krishnaiah N 2015 Organochlorine and organophosphorus pesticide residues in fodder and milk samples along Musi River belt, India J. of Veterinary worl. 8(4)
- [52] Ferrer C., Jose Gómez M., García-Reyes J.F., Ferrer I., Thurman E.M., Fernández-Alba A.R., 2005. Determination of pesticide residues in olives and olive oil by matrix solid-phase dispersion followed by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography /tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography, A 1069:183 – 194
- [53] Zhang L., Liu S., Cui X., Pan C., Zhang A., Chen F.,2012. A review of sample preparation methods for the pesticide residue analysis in foods. Central European Journal of Chemistry 10(3): 900-925
- [54] Anastassiades M, Lehotay SJ, Štajnbaher D, Schenck FJ. 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid- phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. J of AOAC Int. 86 : 412–431.

[55] M.Á. González-Curbelo, B. Socas-Rodríguez a, A.V. Herrera-Herrera, J. González-Sálamo, J. Hernández-Borges a, M.Á. Rodríguez-Delgado. Evolution and applications of the QuEChERS method. *Trends in Analytical Chemistry*.2015.169-185

[56] Lehotay S.J., De Kok A., Hiemstra M., Van Bodegraven P., 2005. Validation of a fast and easy method for the determination of residues from 229 pesticides in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection, *J. AOAC Int.* 88 : 595–614.  
Gonzalez-Curbelo M.A., Lehotay S.J., Hernandez-Borges J., Rodriguez-Delgado M.A., 2014.

[57] Use of ammonium formate in QuEChERS for high throughput analysis of pesticides in food by fast, low-pressure gas chromatography and liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1358 :75–84.

[58] Cunha S.C., Fernandes J.O., Alves A., Oliveira M.B.P.P., 2009. Fast low-pressure gas chromatography–mass spectrometry method for the determination of multiple pesticides in grapes, musts and wines. *Journal of Chromatography. A*, 1216: 119 -126

[59] Lehotay S.J., Son K.A., Kwon H., Koesukwiwat U., Fu W., Mastovska K., Hoh E., Leepipatpiboon N., 2010. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography. A*, 1217: 2548- 2560

[60] Alla S.A.G., Loutfy N. M., Shendy A. H., Ahmed M. T., 2015. Hazard index, a tool for a long term risk assessment of pesticide residues in some commodities, a pilot study. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 73, 985-991

[61] Koesukwiwat U. , Lehotay S.J., Miao S., Leepipatpiboon N., 2010. High throughput analysis of 150 pesticides in fruits and vegetables using QuEChERS and low-pressure gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry *Journal of Chromatography. A*, 1217, 6692 – 6703

[62] Malinowska E. Jankowski K., Sosnowski J, Wiśniewska-Kadżajan B., 2015. Pesticide residues in cereal crop grains in Poland in 2013. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(6): 329.

- [63] Takatori S., Okihashi M., Okamoto Y., Kitagawa Y., Kakimoto S., Murata H., Sumimoto T., Tanaka Y., 2008. A rapid and easy multiresidue method for the determination of pesticide Page 134 residues in vegetables, fruits, and cereals using liquid Chromatography/tandem mass spectrometry. Journal of . AOAC International. 91: 871-883
- [ 64] Tir E., Bounoua S., Heddar M., Bouklila N.2015. Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique de laits crus de vache dans deux fermes de la wilaya de Tissemsilt (Algérie). Revue ElWahat pour les Recherches et les Etudes. Vol.8 n°2 : 26 – 33.
- [65] Mehnoun S., Ferhoule K.H .2015. Contrôle de la propreté hygiénique du lait de vache cru avec application de la préparation du fromage frais petit suisse. Mémoire de master .Université Khemis Miliana. 108 p.
- [66] Makroud H. 2011. Effet de la température sur la production laitière dans la région de Sétif. Mémoire magister, Université Ferhat Abbas ; Sétif, 105p
- [67] Debouz A., Guergueur L., Hamid O., Hadj Sayed A. 2014. Etude comparative de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait de vache et du lait camelin dans la wilaya de Ghardaia. Revue Elwahat pour les recherches et les études : Vol 7, N°2, 10-17.
- [68] Aggad H.,Mahouz F.,Ahmed A.Y., Kihal M. 2009. Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'Ouest Algérien. Revue .Med.Vét, 160, 12,590-595.
- [69] Meribai A. 2010. Influence des paramètres de production (alimentaire et race) sur la composition du lait, aptitude à la coagulation par des succédanés de la présure. Mémoire de magister. Ecole Nationale Supérieur d'Agronomie –El-Harrach Alger. 105p

## Webographie

[web 01] Limite maximale des résidus

[https://fr.wikipedia.org/wiki/Limite\\_maximale\\_de\\_résidus](https://fr.wikipedia.org/wiki/Limite_maximale_de_résidus)

[web 02] LMR, ARfD, DJA et les autres

[https://wiki.aurea.eu/index.php/LMR,\\_ARfD,\\_DJA\\_et\\_les\\_autres](https://wiki.aurea.eu/index.php/LMR,_ARfD,_DJA_et_les_autres)

[web 03] Maladie de Parkinson Deuxième maladie neurodégénérative la plus fréquente

<https://www.inserm.fr/dossier/parkinson-maladie/>

[web 04] La maladie d'Alzheimer

[https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=alzheimer\\_pm](https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=alzheimer_pm)

[web 05] Codex alimentarius .Normes alimentaires internationales

<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/about-codex/fr/#c453333>

[web 06] Commission du codex Alimentarius. Manuel de procédure. 16ème édition

<http://www.fao.org/3/a1100f/a1100f00.pdf>

[web 07] Règlement n° 1107/2009 du Parlement européen et du Conseil du 21 octobre 2009 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=celex:32009R1107>

[web 08] Règlement (UE) n° 528/2012 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2012 concernant la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=celex:32012R0528>

[web 09] Règlement (CE) N° 396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX:32005R0396>

**[Web 10]** La chromatographie en phase gazeuse : principe

<https://culturesciences.chimie.ens.fr/thematiques/chimie-analytique/chromatographie/la-chromatographie-en-phase-gazeuse-principe>

**[Web 11]** Les différentes techniques de la chromatographie

<http://www.123bio.net/cours/chromato/introchromato.html>