



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'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Spécialité : Agroalimentaire et Contrôle de Qualité

تخصص: الغذاء ومراقبة الجودة

Thème

Mise en évidence et dosage des pesticides par GC/MS dans quelques matrices alimentaires consommées en Algérie

Présenté par : Omrane Abdelaziz

Toumi Ahmed Yassine

Devant le jury composé de :

Président : DEHBI F.

Univ.Djelfa

Promoteur : KACIMI E. M.

Univ.Djelfa

Co-promoteur :

Examineur : BAKHTI M.Z.

Univ.Djelfa

Examineur : BOUMEHRES A.

Univ.Djelfa

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

Nous tenons à remercier en premier lieu "ALLAH" le miséricordieux qui nous a donné la force et la volonté d'achever ce modeste travail.

Nous tenons tout particulièrement à remercier notre encadreur KACIMI MOHAMED.

Merci également aux membres de jury, Madame DEHBI, Monsieur BAKHTI et Monsieur BOUMEHRES qui ont bien voulu faire partie du jury et d'apporter leur vive contribution à l'enrichissement de travail.

Nos remerciements vont enfin à chaque personne qui a contribué de près ou de loin à élaboration de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chers père et mère qui m'ont soutenu durant mon parcours universitaire, ainsi qu'à mes amis, collègues et tous ceux qui ont directement ou indirectement contribué à la préparation de ce travail.

Ahmed Yassine

Dédicaces

JE DÉDIE CE MÉMOIRE À

-LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

- LA MÉMOIRE DE MA MÈRE

-MON CHER FRÈRE MOHAMED

-MA CHERE SŒUR

A TOUTE MA FAMILLE

-EMBARKA WIDAD FATIMA HDJER

-MOHAMED YOUNES BACHIR

Abdelaziz

Tableau de matières

Tableau de matières

Introduction générale	1
-----------------------------	---

Chapitre I : Généralités sur les pesticides

Introduction.....	3
1. Définition d'un pesticide	3
2. Composition et formulation	3
3. Histoire des pesticides	4
4. Classification des pesticides.....	5
4.1 Classification chimique	5
4.1.1 Les pesticides inorganiques.....	6
4.1.2 Les pesticides organo-métalliques.....	7
4.1.3 Les pesticides organiques.....	7
4.2 Classification biologique	7
4.3 Classification selon usage.....	7
4.4 Classification selon le risque toxicologique	8
5. Effets des pesticides sur l'environnement	8
5.1 Dispersion et contamination des milieux naturels	9
5.1.1 Contamination des sols	9
5.1.2 Contamination de l'air	9
5.1.3 Contamination des eaux	10
5.2 Bioaccumulation des pesticides dans la chaîne alimentaire	10
6. Normes pesticides du « <i>Codex Alimentaires</i> » dans les aliments	11
6.1 Limites Maximales de Résidus (LMR)	11
6.2 Normes pesticides dans l'air	11
6.3 Normes pesticides dans le sol	12
7. Utilisation/consommation des pesticides.....	12
7.1 Consommation mondiale.....	12
7.2 Consommation algérienne	13
8. Réglementations liées aux pesticides	14
8.1. Réglementation internationale.....	14
8.2 Législation Algérienne.....	15

Chapitre II : Effets des pesticides sur la santé humaine

Introduction.....	16
-------------------	----

1. Exposition de l'Homme aux pesticides	16
2. Voies de pénétration des pesticides dans l'organisme.....	16
3. Toxicité des pesticides	17
3.1 La toxicité aiguë des pesticides	17
3.2 La toxicité chronique des pesticides	18
4. Effets cancérigènes	19
5. Effets sur le système endocrinien et la reproduction.....	20
6. Effets neurologiques	22
7. Effets sur l'immunité	23
8. Effets dermatologiques	24

Chapitre III : Méthode d'analyse pesticide

Introduction.....	25
1. Méthode classique	25
1.1 Chromatographie sur colonne.....	25
1.2 Méthode Chromatographique sur couches minces CCM.....	26
1.2.1 Réalisation d'une CCM	26
1.2.2 Les étapes de la réalisation de la Chromatographie sur couche mince.....	27
a-choix de la phase mobile.....	27
1.3 La Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem.....	28
1.3.1 La Chromatographie en phase liquide	28
1.3.2 La spectrométrie de masse en tandem	30
1.4. Chromatographie en phase gazeuse	33
1.4.1 Définition	33
1.4.2 Principe de fonctionnement.....	34
2. Méthode de QuEChERS	35
2.1 Définition.....	35
2.3 Historique	36
2.4 Les avantages des techniques Disque.....	36
2.5 La méthode QuEChERS et ses utilisations pour les milieux biologiques.....	36
3.1 Protocole d'extraction et d'analyse multi-résidus dans les tomates	42
3.2 Résultats des analyses	43
3.3 En conclusion :	44
Conclusion générale	45

Références bibliographiques.....47

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1: Historique de l'évolution des trois plus grandes classes de pesticides d'avant 1900 à nos jours.	5
Tableau 2: Les principales familles chimique des pesticides	6
Tableau 3: Top10 des pays consommateurs de pesticides selon la consommation annuel (Millions de Kg) et consommation algérienne.	13
Tableau 4: Exemple de certains pesticides cancérigènes.	20
Tableau 5: Exemple de pesticides qui affectent les glandes endocrines et la reproduction. ...	21
Tableau 6: Exemple de pesticides qui causent la neuro-dégénérescence.....	23
Tableau 7: Choix du type de chromatographie et du support.....	26
Tableau 8 : Intervalles de variation des résultats des analyses GC et LC des échantillons dans les tomates.....	42

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1: Modèle de transfert de pesticide dans la chaîne alimentaire.	11
Figure 2: Evolution des quantités de pesticides utilisées en Algérie par catégorie entre 1990 et 2013 (Établie à partir des données de la FAOSTAT).....	14
Figure 3: Modes d'exposition de l'homme et des milieux aux pesticides.	16
Figure 4: Composants d'un appareil de chromatographie liquide.	30
Figure 5: Schéma d'une source electrospray.	31
Figure 6: Principe du filtre quadripolaire.	32
Figure 7: Chromatographe en phase gazeuse.....	34
Figure 8: Principe de fonctionnement d'un Chromatographe en phase gazeuse.	35
Figure 9: Protocole synthétisé de la préparation d'échantillon avec la méthode QuEChERS.	38
Figure 10: Principales étapes de la procédure analytique QuEChERS pour la détermination de pesticides dans les matrices alimentaires.	41
Figure 11: Extraits de surnageant dans les tubes Supel-Que Z-Sep/C18.	43

Liste des abréviations

Liste des Abréviations

ACN : acétonitrile.

BZD : benzodiazépines.

CL : Chromatographie liquide.

CCM : chromatographie sur couches minces.

CPG : Chromatographie phase gazeuse.

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane.

DisQuE : Dispersive simple préparation.

DJA : Dose journalière admissible.

dpm : désintégration par minute.

dSPE : dispersive solide phase extraction (extraction solide liquide dispersive).

ECD : Electron Capture Detector.

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

Fig : Figure.

GC/MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

GCB : graphitized carbon black (carbone graphite noir).

g : gramme.

HPLC : chromatographie en phase liquide à haute performance.

Kg : kilogramme.

LC-MS/MS : chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem.

LC-MS : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse.

LMR : limites maximales de résidus.

L : litre.

MgSO₄ : sulfate de magnésium.

MS : spectrométrie de masse.

ml : millilitre.

mg : milligramme.

min : minute.

NaCl : chlorure de sodium.

ng : nano gramme.

OMS : Organisation Mondiale de Santé.

PSA : primary and secondary amine phase.

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

s : seconde.

Tab : tableau.

tr : temps de rétention.

T : tonne.

UV : ultra-violet.

µg : microgramme.

µl : microlitre.

µm : micromètre.

°C : Degré *Celsius*.

Introduction générale

Introduction générale

Les productions agricoles destinées à la consommation humaine ou animale ont besoin d'être protégées contre des ravageurs qui sont susceptibles de provoquer des dégâts souvent irréversibles [1].

Avant l'avènement des produits phytosanitaires, les systèmes de culture étaient conçus pour assurer le meilleur compromis entre le risque phytosanitaire et le potentiel de production de la culture. Cependant, les pertes en rendement des productions agricoles dues aux maladies, aux ravageurs et aux mauvaises herbes pouvaient atteindre des proportions importantes [2].

L'usage des pesticides a débuté dans la seconde moitié du XIX^e siècle. Il a connu une expansion considérable dans la seconde moitié du XX^e siècle avec la découverte d'un nombre croissant de familles chimiques de pesticides de synthèse [3].

Dès la fin de la seconde guerre mondiale, ces produits furent très employés dans le secteur agricole, non seulement pour augmenter le rendement de production, mais également pour protéger les plantes tout au long de leur croissance vis-à-vis des organismes nuisibles. Leur utilisation n'est pas limitée à l'agriculture, ils sont aussi employés dans les maisons sous forme de pulvérisations et de poudres pour tuer les moustiques, les rats, les mouches, les tiques et d'autres insectes nuisibles [4].

L'usage des pesticides est en constante évolution à travers tous les pays du monde. En effet, selon les constatations des experts mondiaux, la demande en pesticides double pratiquement tous les 10 ans, depuis 1945. Ces produits sont plus utilisés dans les pays développés. En Algérie, l'usage des pesticides dans le domaine de l'agriculture est de plus en plus fréquent suite à l'augmentation des superficies cultivées. Ainsi, Environ 7000 spécialités commerciales dont 400 substances actives de pesticides sont homologuées [5].

Cependant, l'utilisation de ces produits est remise en question dans les années 1950, avec la prise de conscience des risques potentiellement préjudiciables des pesticides pour l'environnement voire pour la santé humaine. En 1962 Rachel Carson a soulevé l'opinion publique avec son livre « Printemps silencieux », qui dénonçait les impacts nocifs des pesticides sur l'environnement et la santé humaine et animale, ce qui a déclenché une série

d'actions orientées sur les consommateurs et a conduit à de nouvelles recherches sur la prévention des risques liés aux pesticides.

Plusieurs données toxicologiques disponibles concernant les pesticides et leur impacts sur l'environnement et la santé publique, militent en faveur d'une grande prudence dans leur utilisation. Par ailleurs, plusieurs enquêtes ont été faites sur l'application de ces produits, en Algérie et dans plusieurs pays du monde, et ont montrés l'absence de la bonne pratique des produits phytosanitaires [6].

Toutefois, les méthodes d'analyse classiques des pesticides se montrent ardues notamment dans le cas où l'analyte se présente sous forme de matrice complexe, telle que les matrices alimentaires ; d'où la nécessité de recourir à de nouvelles techniques plus rapides, moins chères, plus robustes, plus efficaces et plus sûres. De ce fait ; il est dans ce contexte que s'inscrit la thématique principale de ce thème de recherche.

QuEChERS est un acronyme pour QUick, Easy, CHEap, Effective, Rugged, and Safe. Il s'agit donc d'une méthode d'extraction qui se veut rapide, facile, bon marché, robuste et fiable. Elle a vraisemblablement été utilisée pour la première fois il y a une dizaine d'années pour l'analyse de résidus de pesticides dans les fruits et légumes.

Il s'agit d'une méthode de préparation des échantillons qui consiste à rajouter des sels dits « QuEChERS » à la matrice d'intérêt qui aura été mélangée au préalable dans un solvant apolaire [59].

Notre travail propose une réflexion construite en partie à partir des éléments d'une bibliographie scientifique qui couvre des généralités sur les pesticides et sur les méthodes d'analyse de ces pesticides.

Ce document est composé de trois chapitres.

Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique couvrant les généralités sur les pesticides. Dans le deuxième chapitre présente les dangers des pesticides et leur impact sur la santé humaine. Alors que le troisième chapitre traite des méthodes de détection et d'analyse des pesticides, en utilisant des méthodes traditionnelles (CCM...) et des méthodes modernes (QuEChERS) et enfin nous terminons par une conclusion.

Chapitre I :
Généralités sur les
pesticides

Introduction

Dans ce chapitre nous rappelons ce qui est nécessaire de retenir sur les pesticides. Nous décrirons par exemple les plus importantes familles chimiques, leurs contaminations des matrices environnementales (air, eau et sol) au niveau algérien et ailleurs dans le monde, leurs données commerciales récentes, pour conclure sur la réglementation qui encadre leurs usages.

1. Définition d'un pesticide

Selon le Code de conduite de la FAO sur la distribution et l'utilisation des pesticides, «un pesticide est une substance ou association de substances destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaines et animales, et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux » [7].

D'un point de vue réglementaire, nous distinguons les pesticides utilisés principalement pour la protection des végétaux que nous appelons produits phytopharmaceutiques [8].ou plus communément produits phytosanitaires et d'autres dénommés biocides [9]. Par exemple, un insecticide sera un produit phytosanitaire s'il est utilisé sur du blé mais un biocide dès lors qu'il est utilisé sur du bois de charpentes [10]. De manière plus concise, les produits phytosanitaires, sont définis comme des substances dont les propriétés chimiques contribuent à la protection des plantes cultivées et des produits récoltés, ils améliorent ainsi à la fois la quantité et la qualité des denrées alimentaires. Leur composition et leur structure sont très variées, de sorte que leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques le sont aussi, ce qui explique leurs multiples usages, leurs dangers, ainsi que les difficultés rencontrées pour décrire et prévoir leur devenir dans les sols [11].

2. Composition et formulation

Les produits phytosanitaires contiennent une ou plusieurs substances chimiques minérales ou organiques, synthétiques ou naturelles. Ceux utilisés aujourd'hui sont, la plupart, de nature organique dont un petit nombre est extrait ou dérivé des plantes. Les formulations sont en générale composées d'une ou plusieurs substances actives et d'un ou plusieurs adjuvants. La substance active exerce une action générale ou spécifique sur les organismes nuisibles ou sur les végétaux ; c'est elle qui confère au produit l'effet désiré. L'adjuvant quant à lui est une

substance dépourvue d'activité biologique jugée suffisante dans la pratique, mais capable de modifier des propriétés physiques, chimiques ou biologiques des produits phytosanitaires. Il renforce l'efficacité, la sécurité du produit et sa facilité d'utilisation [12].

La formulation correspond, aussi, à la forme physique sous laquelle le produit phytopharmaceutique est mis sur le marché. Obtenue par le mélange des matières actives et des adjuvants, elle se présente sous une multitude de formes, solides ou liquides. La teneur en matière active s'exprime en g/l pour les formulations liquides et en pourcentage (%) pour les formulations solides. La dose d'emploi en produit commercial s'exprime en l/ha pour des formulations liquides et en kg/ha (ou parfois en g/ha) pour les formulations solides. La dose d'emploi en matière active s'exprime toujours en g/ha

3. Histoire des pesticides

Dès l'antiquité, les hommes élaborent des techniques de lutte pour protéger, les graines, les semis et les produits récoltés. L'intervention manuelle contre les mauvaises herbes qui demeure toujours d'actualité était la technique la plus utilisée.

Les Sumériens servaient du soufre contre les insectes et les mites, les Romains utilisaient l'huile comme chasse-moustique tandis que les Chinois employaient de l'arsénique et du mercure contre les tiques et puces. Avec la naissance de l'industrie chimique moderne apparaissent de nouvelles substances pour répondre aux besoins en herbicides, fongicides et insecticides (Tab1 [13]).

Tableau 1: Historique de l'évolution des trois plus grandes classes de pesticides d'avant 1900 à 1990

	Herbicide	Fongicide	Insecticides
Avant 1900	Sulfate de cuivre Sulfate de fer	Soufre Sels de cuivre	Nicotine
1900-1920	Acide sulfurique		Sels d'arsenic
1920-1940	Colorants nitrés		
1940-1950	Phytohormones		Organo-chlorés et phosphorés
1950-1960	Triazines Urées substituées Carbamates	Dithiocarbamates Phtalimides	Carbamates
1960-1970	Dipyridyles Toluidines	Benzimidazoles	
1970-1980	Amino phosphonates Propionates	Triazoles Dicarboximides Amides Phosphites Morpholines	Pyréthrimoïdes Régulateurs de croissance
1980-1990	Sufonyl urées		

4. Classification des pesticides

Il existe quatre façons de classer les pesticides :

- 1) Selon leurs caractéristiques chimiques;
- 2) Selon leurs cibles (organismes vivants visés);
- 3) Selon leurs usages;
- 4) Selon les risques (toxicologiques) qu'ils peuvent engendrer d'après l'Organisation Mondiale de la Santé.

4.1 Classification chimique

Blanc-Lapierre (2012) dont la classification est reprise et adoptée par des chercheurs du CRSTRA-Biskra décrit un millier de matières actives de pesticides, appartenant à une centaine de familles chimiques différentes, qui sont homologuées à travers le monde, et commercialisées dans près de 10 000 spécialités commerciales [14](Tab2 [15]) .

Tableau 2: Les principales familles chimique des pesticides

	Insecticides	Fongicide	Herbicide
Minéraux	Composés arsenicaux Soufre Composés fluorés Dérivé de mercure Dérivé de sélénium Composés de base de silice, quartz Huiles de pétrole	Sels de NH ₄ , de Ca, de Fe de Mg, K, Na Sous forme de sulfates, de Nitrates Chlorures, Chlorates....	Sels de cuivre A base de soufre Composés arsenicaux Huiles minérales
Organique	Organochlorés Organophosphorés Carbamates	Phytohormones Dérivé de l'urée Carbamates Triazines et Diazine Dérivé de pyrimidines Dérivé des dicarboximides	Carbamates et Dithiocarbamates Dérivé des benzène Dérivé des quinones Amides Organophosphorés Toluidines Benzontriles
Divers	Pyréthrimoïdes synthèse Produits bactériens Répulsif	Dicamba Pichlorme Paraquot	Carboxines Chloropicrine Doguanides Formol

Selon cette classification chimique, il existe trois catégories de pesticides

4.1.1 Les pesticides inorganiques

Ces pesticides sont peu nombreux mais certains d'entre eux comme le soufre et le cuivre sont utilisés en très grandes quantités. Leur emploi est apparu bien avant les débuts de la chimie organique de synthèse. L'essentiel de ces pesticides inorganiques sont des fongicides à base de soufre et de cuivre, une des formes des plus utilisée est la bouillie bordelaise employée pour traiter la vigne mais aussi les arbres fruitiers, la pomme de terre et de nombreuses cultures maraîchères.

4.1.2 Les pesticides organo-métalliques

Il s'agit essentiellement de substances fongicides constituées par un complexe métallique avec le zinc et le manganèse et un anion organique dithiocarbamate. Le mancozèbe (avec le zinc) et le manèbe (avec le manganèse) sont des exemples emblématiques de ce type de pesticides.

4.1.3 Les pesticides organiques

Les pesticides organiques sont nombreux et appartiennent à 80 familles (classes ou groupes) chimiques. Chaque famille se distingue par un ensemble de molécules dérivées d'un groupe d'atomes qui constituent une structure de base (ex. famille des triazines pour les molécules contenant un noyau triazinique, etc.). Les appellations peuvent donc être différentes d'un ouvrage à l'autre. Le nombre de substances appartenant à une famille donnée est très variable et certaines ne sont représentées que par un seul pesticide.

4.2 Classification biologique

Cette classification repose sur les organismes vivants ciblés, on distingue plusieurs catégories de pesticides dont les principales sont les insecticides-acaricides, les fongicides et les herbicides. Il y a aussi les rodenticides, les molluscicides, les nématocides, les régulateurs de croissance des plantes et d'autres [16].

4.3 Classification selon usage

Il existe six catégories de pesticides classés selon la destination des traitements ; dans cette étude nous nous intéresseront principalement aux substances utilisées dans la protection des cultures c'est-à-dire celles utilisées en agriculture pour maintenir un bon état sanitaire des sols et des végétaux. Ce sont les substances les plus nombreuses, sous les termes d'insecticides-acaricide, de fongicides et d'herbicides. Par ailleurs, les pesticides sont utilisés dans la protection des bâtiments d'élevage, le traitement des locaux de stockage des produits végétaux, le traitement des zones non agricoles, le traitement des bâtiments d'habitation et le traitement des hommes et des animaux.

4.4 Classification selon le risque toxicologique

Les pesticides appelés perturbateurs endocriniens, sont connus pour provoquer leurs effets néfastes en imitant ou en antagonisant les hormones naturelles dans le corps et on a postulé que l'exposition à faible dose et à long terme est de plus en plus liée à des effets sur la santé humaine, comme l'immunosuppression, les perturbations hormonales, l'intelligence diminuée, et des anomalies de la reproduction et le cancer [17].

En 1975, l'OMS a établi une classification des pesticides en fonction de leur toxicité avec comme critère la dose létale 50 (DL₅₀). Selon l'Organisation mondiale de la santé [18]. Il y a 5 classes de pesticides établies selon leur risque pour les humains :

- **Classe Ia** : Pesticides extrêmement dangereux, la DL₅₀ pour le rat (mg / kg de poids corporel) est <5 mg pour l'ingestion orale et <50 mg pour la voie cutanée. Exemples : éthoprophos, parathion-méthyl.
- **Classe Ib** : Pesticides très dangereux, la DL₅₀ pour le rat est comprise entre 5 à 50 mg pour l'ingestion orale et 50-200 mg par voie cutanée. Exemples : azinphos-méthyl, méthomyl.
- **Classe II** : Pesticides modérément dangereux, la DL₅₀ est comprise entre 50- 2000 mg pour l'intoxication par voie orale et de 200 à 20.000 mg pour l'intoxication par voie cutanée. Exemples : acéphate, amitraz, DDT.
- **Classe III** : Pesticides légèrement dangereux, la DL₅₀ plus de 2000 mg pour l'intoxication par voie orale et cutanée. Exemples : atrazine, hexaconazole.
- **Classe U** : Pesticides susceptibles de présenter un risque aigu, la DL₅₀ est supérieure à 5000 mg. Exemples : carbendazime, chlorothalonil, mancozeb, propamocarb.

5. Effets des pesticides sur l'environnement

Les risques liés à l'utilisation incontrôlée des pesticides ont dépassé leurs effets bénéfiques. Ces produits affectent l'environnement en réduisant la qualité de ses différents compartiments : l'air, l'eau et le sol [4].

5.1 Dispersion et contamination des milieux naturels

Lors de l'application des pesticides, une portion des matières actives dispersées n'atteint pas la zone ciblée, dérive dans l'air et se dépose dans des écosystèmes plus ou moins éloignés. Les pertes en direction des différents compartiments de l'environnement varient selon l'état de développement des cultures, le réglage de pulvérisateur et la composition de la bouillie pulvérisée [3].

5.1.1 Contamination des sols

La pollution des sols a pris au cours des dernières décennies des dimensions de plus en plus préoccupantes, tant par la multiplicité de ses causes que par l'ampleur croissante des surfaces affectées au point de devenir un problème majeur de l'environnement et de santé publique. Les molécules de pesticides sont entraînées dans le sol par l'infiltration des eaux de pluies. Lorsque les molécules sont en solution, on parle de lixiviation, si les molécules sont associées à des phases solides on parle de lessivage. En effet, ces substances sont transformées dans le sol en divers produits de dégradation dont la toxicité n'est pas toujours connue.

Les produits phytosanitaires touchent les bactéries, champignons, algues, vers de terre et insectes. Cela peut avoir un effet nocif sur la fertilité du sol. Les vers de terre qui jouent le rôle d'agents actifs de la fertilité du sol sont atteints par les pesticides via l'eau polluée qui imbibe le sol. Les pesticides en usage nuisent aussi aux micro-organismes du sol qui jouent un rôle clé en aidant les plantes à utiliser les éléments nutritifs dont elles ont besoin pour croître et se développer [19].

5.1.2 Contamination de l'air

La contamination de l'air dépend de nombreux facteurs comme les propriétés physico-chimiques des pesticides, la nature des sols et des surfaces, les modes d'utilisation et la fréquence, et les conditions climatiques. Cependant, les pesticides peuvent dériver dans l'air non seulement pendant l'application (transport par le vent ou évaporation de gouttelettes), mais ils peuvent également se volatiliser après l'application à partir des sols ou plantes traitées [20].

Les pesticides peuvent être présents dans toutes les phases atmosphériques, en concentrations variables dans le temps et l'espace.

5.1.3 Contamination des eaux

Une des conséquences environnementales majeures de l'agriculture intensive actuelle est la dégradation de la qualité des eaux de surface et souterraine, Les pesticides peuvent facilement pénétrer dans le sol et les sources d'eau. Cela peut se faire suivant trois voies d'écoulement : soit par ruissellement où la concentration est en générale maximale (lors de fortes pluies survenant peu de temps avant l'application), soit par le drainage artificiel des sols (avec des concentrations moyennes), soit par lixiviation [21].

La présence des pesticides dans les eaux de rivières présente un impact direct sur la qualité des sources d'approvisionnement en eau potable, ils peuvent aussi atteindre les eaux souterraines par leur fort potentiel de lessivage, ce qui menace la qualité de ces eaux [22].

5.2 Bioaccumulation des pesticides dans la chaine alimentaire

Les pesticides se trouvent dans les différents maillons de la chaine alimentaire. Ils agissent sur tous les êtres vivants par ingestion, par contacte ou par inhalation et s'accumulent tout au long de la chaine alimentaire. Cela se fait par de nombreuses façons. Certains pesticides s'accumulent au fil de la chaîne alimentaire pour se concentrer dans les derniers maillons (l'homme). Les carnivores et piscivores situés en bout de chaîne concentrent des doses de pesticides pouvant atteindre 10 000 fois celles des premiers maillons. Dans l'écosystème terrestre, la contamination du milieu en pesticides résulte majoritairement du lessivage, par les pluies, des terrains cultivés [23].

Les pesticides peuvent contaminer accidentellement les animaux et les plantes qui pourraient être consommés par les humains (Fig1 [24]).

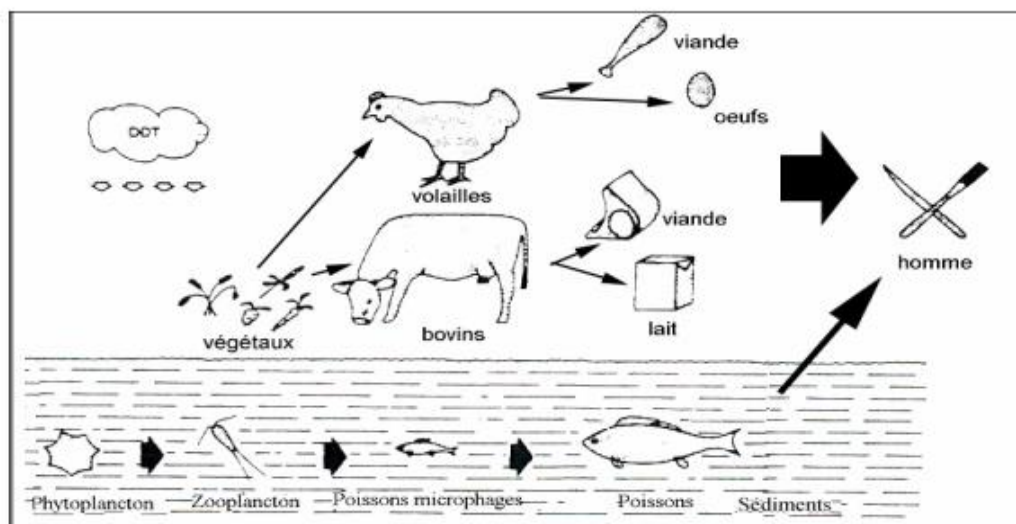


Figure 1 : Modèle de transfert de pesticide dans la chaîne alimentaire.

6. Normes pesticides du « *Codex Alimentaires* » dans les aliments

6.1 Limites Maximales de Résidus (LMR)

Les limites maximales de résidus (LMR) sont les niveaux supérieurs de concentration de résidus de pesticides autorisés légalement dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux. Elles visent à garantir le niveau d'exposition le plus faible possible pour les consommateurs. Il y a une LMR pour chaque production végétale et pour chaque pesticide. Ces normes sont établies par le « *Codex Alimentaires* » ou « Code alimentaire », qui a été créé par l'ONUAA (FAO) et l'OMS en 1963 afin de mettre au point des normes alimentaires internationales harmonisées destinées à protéger la santé des consommateurs et à promouvoir des pratiques loyales en matière de commerce denrées alimentaire [25].

6.2 Normes pesticides dans l'air

Il n'existe pas de surveillance systématique de la contamination en pesticides de l'air. Il n'existe pas non plus d'ailleurs, de normes de sécurité fixant une concentration limite de pesticides dans l'air [26].

6.3 Normes pesticides dans le sol

Vu le nombre très important de matières actives qui s'utilise sur les cultures et qui atteignent le sol, il est difficile d'établir des normes pour le sol. Aussi, l'effet toxicologique des pesticides sur l'homme sont plus importants via l'eau, les aliments et l'air ce qui rend ces matrices prioritaires en matière de normes de résidus de pesticides. Malgré la non existence de normes algériennes ni de norme internationales standards, quelques pays ont, cependant, établi pour quelques substances actives (essentiellement des Organochlorés) quelques normes.

7. Utilisation/consommation des pesticides

7.1 Consommation mondiale

Le Top10 des pays les plus consommateurs de pesticides au niveau mondial figure dans le tableau 3[27]. La moitié des pays qui figurent dans le Top10 consommateurs de pesticides (en gras dans le tableau), détiennent également les plus importantes firmes de l'agrochimie.

La Chine est de loin en tête du classement consommateur de pesticides avec 1806 millions de Kg (1806*10³ Tonne), suivi de la Thaïlande (87*10³ T), du Japon (52*10³ T) et de l'Inde (40 *10³ T) côté asiatique. Les Etats Unis (386*10³ T), l'Argentin (265*10³ T), le Brésil (76*10³ T) et le Canada (54*10³ T) sont les plus importants consommateurs côté du continent américain. Tandis qu'en Europe les pays en tête de la consommation sont l'Italie et la France avec 63*10³ T et 62*10³ T respectivement.

L'utilisation des pesticides en Afrique est la plus faible de tous les continents en raison de la pauvreté, de l'instabilité, des pluies peu fiables et des sols indifférents qui ont empêché la petite agriculture de se moderniser dans une grande partie de la région.

Cependant, il existe des zones d'utilisation intensive des pesticides en Afrique du Nord, par exemple dans les régions cotonnières du Soudan. Aussi, les grandes fermes commerciales et plantations produisant du café et d'autres cultures d'exportation en Afrique du Sud [28].

Tableau 3: Top10 des pays consommateurs de pesticides selon la consommation annuel (Millions de Kg) et consommation algérienne

Rang	Pays	Consommation annuelle de pesticides	Rang	Pays	Consommation annuelle de pesticides
1	Chine	1806	6	Italie	63
2	USA	386	7	France	62
3	Argentine	265	8	Canada	54
4	Thaïlande	87	9	Japon	52
5	Brésil	76	10	Inde	40
Sans classement				Algérie	6-10

7.2 Consommation algérienne

La quantité annuelle de pesticides utilisée en Algérie est comprise entre 6 000 à 10 000 T . D'après le tableau 3, cette quantité est six à dix fois moins importante que la consommation française. Elle est également moins importante que celle du Maroc atteignant 12 000 T en 2004 [29]. Cependant, en 2013, l'usage des pesticides totaux est passé à 25841 T d'ingrédients actifs dont les régulateurs de croissance des plantes représentent 22 000 T (85%) alors que les herbicides, les insecticides et les fongicides-bactéricides représentent respectivement 886 T (3%), 927 T (4%) et 2028 T (8%) d'ingrédients actifs [30].

Aussi, selon la division des statistique de la FAO entre 2005 et 2009, la quantité de pesticides utilisée en Algérie à l'hectare de terre arable est comprise entre 0.21 et moins 1 Kg, plus importante donc que la dose moyenne africaine qui était de 0.13 kg/ha [31].

Les quantités utilisées en Algérie selon catégories sont affichées à la figure 2 [30] , les données par famille chimique ne sont pas toujours disponibles, elles sont surtout regroupées par types d'usages (insecticides, herbicides, fongicides,...) et couvrent une période de 23 ans (entre 1990 et 2013).

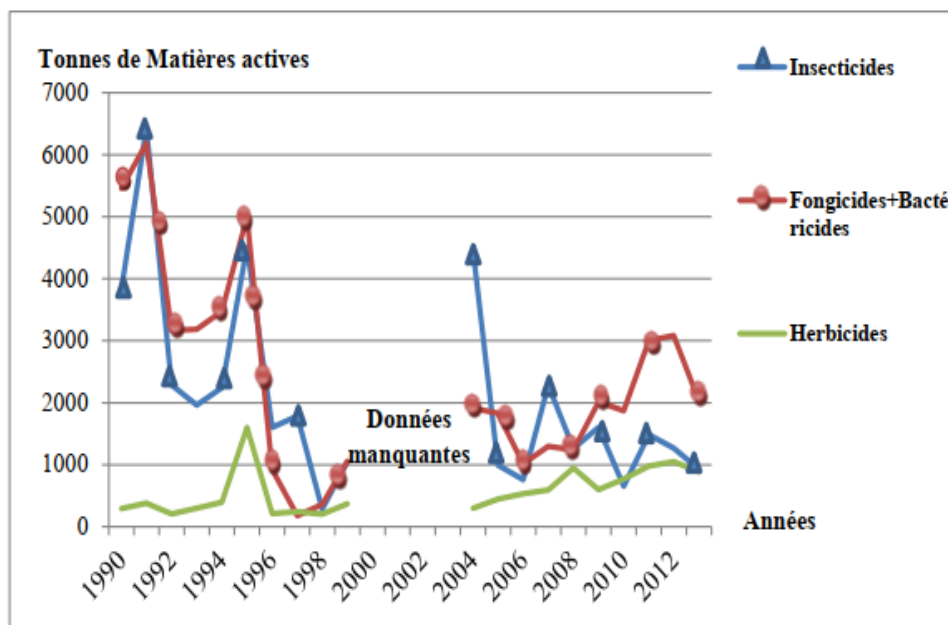


Figure 2: Evolution des quantités de pesticides utilisées en Algérie par catégorie entre 1990 et 2013 (Etablie à partir des données de la FAOSTAT).

8. Réglementations liées aux pesticides

Afin de veiller à l'application de bonnes pratiques dans le commerce des denrées alimentaires, et protéger la santé des consommateurs, des normes de qualité et d'innocuité applicables aux aliments ont été mises en place par les organisations mondiales qui sont la FAO et l'OMS au niveau international, et au niveau national par de nombreux pays.

8.1. Réglementation internationale

Au niveau Européen, les pesticides sont régis par deux directives, la première est la directive CEE n°91/414 du Conseil du 15 juillet 1991, relative à leur mise sur le marché, et la deuxième, qui est la directive 98/8/CE du Parlement Européen et du Conseil du 16 février 1998 relative à leur mise sur le marché.

Ces deux directives présentent un programme de révision ou d'homologation (des nouvelles molécules soumises) de toutes les matières actives au sein de l'Union européenne.

Les dossiers d'examen se basent sur plusieurs études (propriétés physico-chimiques, toxicité, écotoxicité, efficacité...) dont l'évaluation du devenir des substances dans l'environnement.

Ces évaluations comprennent des études de la dégradation de ces composés dans l'eau, le sol et l'atmosphère et de leurs produits de dégradation, ainsi que leur potentiel de migration et de diffusion vers tous les compartiments environnementaux. L'examen du dossier final permet ou non l'homologation d'une substance active ciblée.

8.2 Législation Algérienne

En Algérie, ce contrôle a connu une évolution dans le temps. La promulgation de la **loi n° 87- 17 du 01.08.1987** relative à la protection phytosanitaire a permis d'édicter les mesures relatives à la fabrication, l'étiquetage, l'entreposage, la distribution, la commercialisation et l'utilisation des produits phytosanitaires à usage agricole. Au terme de la loi, aucun produit phytosanitaire ne peut être commercialisé, importé ou fabriqué s'il n'a pas fait l'objet d'une homologation.

Décret exécutif **n° 95-405 du 02 Décembre 1995** traite des conditions d'homologation, de fabrication, de commercialisation, d'utilisation des pesticides et instaure la commission chargée d'étudier les demandes d'homologation et de fabrication des produits phytosanitaires. Le Décret **exécutif n° 99-156 du 20 juillet 1999** modifiant et complétant le précédent, règle les conditions de l'importation et de la commercialisation des produits phytosanitaires à usage agricole. L'**Arrêté de mars 2000** définit le contenu des mentions et indications d'emballage des produits phytosanitaires à usage agricole. Le **Décret exécutif n° 10 - 69 du 31 janvier 2010** fixe les mesures applicables lors de l'importation et l'exportation des produits phytosanitaires à usage agricole.

Le Plan National des Gestion des Déchets Spéciaux (PNAGDES) (2003-2013) règle la destruction des déchets contaminés par les PCB et des pesticides périmés. La fabrication, l'importation et l'utilisation de ces substances étant prohibées, sont des déchets au sens de la **loi 01/19** relative à la gestion, au contrôle et à l'élimination des déchets.

Chapitre II :
Effets des pesticides
sur la santé humaine

Introduction

Plusieurs études scientifiques montrent la présence d'un lien entre l'exposition aux pesticides et certains effets graves sur la santé, tels que des malformations congénitales, des atteintes du système endocrinien et nerveux et l'immunodéficience.

1. Exposition de l'Homme aux pesticides

L'exposition de l'Homme aux pesticides s'effectue à travers le sol, l'eau, l'air ainsi que les aliments. Des risques d'exposition professionnelle directe ont lieu lors de phases telles que la préparation de la bouillie, l'application du produit, le nettoyage des pulvérisateurs, les interventions dues à tout dysfonctionnement du pulvérisateur (buses bouchées, rupture de tuyaux...) (Fig3 [32]).

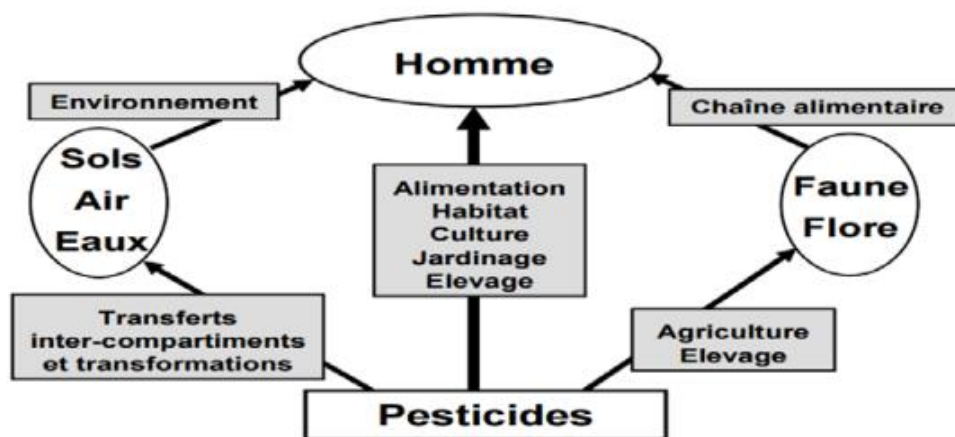


Figure 3: Modes d'exposition de l'homme et des milieux aux pesticides.

2. Voies de pénétration des pesticides dans l'organisme

On distingue trois principales voies de pénétration des pesticides dans l'organisme humain [33].

- **La voie cutanée** : c'est la voie de pénétration la plus fréquente et la plus significative en milieu agricole. L'absorption cutanée se produit par contact direct de la peau avec des pesticides ou avec des vêtements et des outils contaminés par les pesticides.
- **La voie digestive** : c'est le type de pénétration le plus direct et le plus rapide le produit se trouve en contact direct avec le sang aux niveaux des alvéoles pulmonaires, l'absorption par cette voie ne doit pas être négligé puisque l'ingestion de quantités

importantes de pesticides par les applicateurs professionnels, même les consommateurs est fréquente [34].

- **La voie respiratoire** : les particules de pesticides sont prises par les branchies pendant la respiration. Les expositions respiratoires se produisent généralement lors de l'application de produits (hautement volatils), en particulier pour ceux qui ne disposent pas d'équipement de protection respiratoire (par exemple, un masque avec filtre) ou dans un environnement de travail mal ventilé [33].

3. Toxicité des pesticides

Le risque d'intoxication pour l'homme résulte à la fois du danger lié à la toxicité de la substance active (toxicité aiguë et chronique), et de l'exposition au pesticide (dose journalière absorbée, quantité de résidus présents).

3.1 La toxicité aiguë des pesticides

Les conséquences liées à cette toxicité sont le plus souvent immédiates (quelques minutes, heures ou jours), elle est induite suite à une exposition ponctuelle à une dose importante de pesticide comme pour le cas de la manipulation des produits non dilués [35].

La toxicité aiguë des pesticides résulte d'une mauvaise utilisation, d'un usage accidentel des pesticides (accidents domestiques) ou d'une intoxication volontaire souvent gravissime.

Les pesticides organophosphorés et les carbamates sont à l'origine des cas d'empoisonnements par les pesticides les plus fréquents, ainsi l'exposition se fait essentiellement par voie cutané-muqueuse et respiratoire (inhalation), la voie d'exposition orale concernerait davantage la population générale par ingestion accidentelle ou intentionnelle de pesticides. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS) il y a chaque année dans le monde un million d'empoisonnements graves par les pesticides, à l'origine d'environ 220 000 décès parant [36].

En outre, les symptômes les plus souvent rapportés lors d'une intoxication aiguë aux pesticides sont les suivants :

- ✓ irritation cutanée ou oculaire ;
- ✓ maux de tête (Céphalées);
- ✓ nausées ;
- ✓ vomissements ;
- ✓ étourdissements ;
- ✓ fatigue.

Additivement à ces symptômes, s'ajouteraient encore d'autres et qui sont liés à l'intoxication par les pesticides inhibiteurs de cholinestérase (insecticides organophosphorés et carbamates), tels que : les crampes abdominales, la diarrhée, la difficulté d'attention, les troubles de vision, les difficultés respiratoires, les convulsions ou même le coma [37].

Ce type de toxicité par les substances chimiques est évalué à l'aide de tests réglementaires réalisés sur des animaux de laboratoire, la notion retenue est celle de la dose létale 50 (DL50) correspondant à la quantité de matière active qui, administrée en une seule fois, par ingestion, inhalation ou voie cutanée, entraîne la mort de 50% des animaux traités. Les principales connaissances sur les effets aigus des pesticides chez l'homme sont issues d'observations rapportées en milieu professionnel et des cas d'intoxications documentés par les centres antipoison [35].

3.2 La toxicité chronique des pesticides

Ce type de toxicité se développe sur une période plus longue et peut persister longtemps après le fait. Elle survient suite à l'absorption répétée pendant plusieurs jours, plusieurs mois et même plusieurs années, de faibles doses de pesticides qui peuvent s'accumuler dans l'organisme.

La majorité des problèmes de santé liés aux pesticides repose sur l'exposition prolongée et l'intoxication chronique à ces produits phytosanitaires, sachant que leurs effets tardifs sont d'autant plus dangereux qu'ils sont difficiles à cerner.

Elle peut être aussi le résultat d'intoxications aiguës répétées ; cette toxicité est évaluée de par expérimentation sur des animaux de laboratoire, l'ensemble des tests réalisés permettent de fixer la dose journalière admissible (DJA) [38]. Les maladies potentiellement liées aux

expositions à long terme aux pesticides sont essentiellement étudiées dans les populations professionnellement exposées [35].

Les pesticides possèdent des effets génotoxiques, en dehors des effets cancérogènes, trois types d'effets font l'objet d'une attention particulière : les troubles neurologiques causant des troubles psychologiques, en particulier des syndromes dépressifs, les troubles de la production et du développement et les perturbations endocriniennes. Des études ont démontré que la majorité des hommes exposés aux pesticides ont une concentration spermatique bien au-dessous de la limite considérée normale pour les hommes fertiles.

Depuis la seconde guerre mondiale, il a été observé une diminution importante de la concentration du sperme en spermatozoïdes, dans les pays industrialisés, et une augmentation de la fréquence d'infécondité masculine de 1,6 à 9 % et de l'hypo fécondité de 5 à 45 % de la population [39]. Les troubles neurologiques se traduisant par des maladies neuro-dégénératives comme les maladies de Parkinson et d'Alzheimer sont attribués à l'exposition aux pesticides.

Le nombre d'empoisonnements par les pesticides dans le monde est estimé à troismillions de cas tous les ans avec environ 220000 décès.

4. Effets cancérigènes

Un grand nombre de pesticide est connu comme étant cancérigène pour l'homme suite à des études épidémiologiques ou expérimentales [40].

Selon l'Institut français du cancer, 35 % des cancers sont dus à notre alimentation, même si le lien entre l'alimentation et le cancer est encore mal défini, il est évident que nous devons interroger sur la qualité des aliments que nous consommons. En effet, plusieurs éléments montrent que notre alimentation est loin d'être sans dangers [39].

Pour la population professionnellement exposée, il semblerait que la mortalité et l'incidence de certains types de cancers soient augmentées.

Les types de cancer pouvant affecté cette population sont ceux classés comme peu fréquents tels que les cancers des lèvres, de l'estomac, des ovaires, du cerveau et de la peau [41] (Tab 4 [42]).

Chez l'enfant, les leucémies et les tumeurs cérébrales peuvent survenir, celles-ci semblent être associées à l'exposition de la mère au moment de la grossesse [35].

En résumé, les connaissances demeurent insuffisantes et les études doivent être approfondies notamment sur la détermination des expositions aux pesticides et sur les mécanismes biologiques d'action des substances.

Il n'est pas exclu que d'autres facteurs de risque puissent jouer un rôle important dans le déclenchement de certains cancers, notamment en milieu agricole [43].

Tableau 4: Exemple de certains pesticides cancérigènes

Maladie	Type	Pesticide et groupe
Cancer	Pancréas Poumons	Pendiméthaline
		Chlorpyrifos
		Terbufos
		Diazinon
		Dicamba
	Prostate	Métolachlore
		Clordécone
	Leucémie	2,4-D
		Terbufos
		Diazinon
	Rectum	Chlordane
		Chlorpyrifos
	Colon Lymphohématopoïétique	Chlordane
		Chlorpyrifos
		Alachlore

5. Effets sur le système endocrinien et la reproduction

Aujourd'hui les chercheurs s'interrogent sur l'hypothèse selon laquelle une exposition à des substances exogènes possédant des effets sur le système endocrinien, pourrait être à l'origine d'une grande variété d'effets délétères sur l'organisme tels des cancers (du sein, de la prostate et des testicules), des atteintes de la fonction reproductrice (problèmes de fertilité masculine, malformations de l'appareil génital masculin) ainsi que des effets sur le système immunitaire et sur la fonction thyroïdienne. Plusieurs pesticides, parmi lesquels des insecticides (DDT, Endosulfan, Dieldrine, Methoxychlore, Dicofol, Toxaphène) des nématocides (Aldicarbe) des herbicides (Alachlore, Atrazine, Nitrofène, 2,4D) des fongicides (Mancozèbe, Vinchlozoline) figurent sur la liste des perturbateurs endocriniens. Certaines de

ces molécules sont aujourd'hui interdites en Europe mais peuvent néanmoins toujours être présentes dans notre environnement [44] (Tab 5[42]).

Tableau 5: Exemple de pesticides qui affectent les glandes endocrines et la reproduction

Maladie	Type	Pesticide et groupe
Perturbateurs endocriniens et reproduction	Azoospermie	1,3-Dibromo-3-Chlorpropane
	Infertilité Caractères sexuels	Chlordécane Atrazine Endosulfaine Organophosphates
	Synthèse d'oestrogènes	Glyphosate

Plusieurs études se sont intéressées aux effets des pesticides sur la reproduction, en particulier sur la fertilité masculine.

Les pesticides peuvent agir au niveau de la spermatogénèse via des altérations des hormones ou des effets génotoxiques. Par exemple une étude a montré une baisse significative du nombre et de la qualité des spermatozoïdes chez des ouvriers exposés au Chlordécone, un pesticide xéno-oestrogène. D'autres études ont souligné l'effet des métabolites d'un fongicide, la Vinchlozoline, sur la reproduction sur les rats.

Cet effet affecte non seulement des rats exposés in utero mais également ceux des générations ultérieures. Ces effets étaient corrélés à une transmission épigénétique.

Chez les enfants, la littérature disponible parle d'une puberté précoce associée à l'exposition aux organochlorés, d'une perturbation des hormones thyroïdiennes et sexuelles associée aux organophosphorés, pyréthriinoïdes ou éthylène-bis dithiocarbamates (EBDCs). D'autres études associent des perturbations endocriniennes à des pesticides spécifiques, tels que Manèbe ou Zinèbe et un effet antithyroïdien, Vinchlozoline ou Procymidone ou DDT et effet anti-androgénique chez l'enfant.

Une récente étude souligne l'importance de l'exposition paternelle dans la transmission des altérations des cellules germinales à l'enfant. Cette étude indique que des modifications géniques et épi génétiques, telles que des mutations entraînant une instabilité génétique ou une suppression de l'apposé des cellules germinales, peuvent être transmises à partir du père dans le fluide séminal et montre ainsi l'impact de l'exposition paternelle dans l'apparition des pathologies sur le développement in utero de l'enfant mais également de son système endocrinien et reproductif [45].

6. Effets neurologiques

Les insecticides comme les organochlorés, les organophosphorés, les pyréthroïdes et les carbamates, possèdent des effets neurotoxiques sur certains mammifères [46].

L'expertise Inserm « Pesticides et santé » rendue publique en 2013 a démontré l'existence d'un lien entre exposition professionnelle et non professionnelle aux pesticides et certaines pathologies neurologiques [47] (Tab 6 [42]).

Les pathologies concernées sont :

- ✓ La maladie de Parkinson pour laquelle la présomption d'association est forte ;
- ✓ La maladie d'Alzheimer pour laquelle la présomption d'association est possible, avec des études cas-témoins peu robustes mais des cohortes aux résultats convergents ;
- ✓ La sclérose latérale amyotrophique pour laquelle la présomption d'association est possible avec deux méta-analyses récentes montrant des risques significatifs mais un nombre d'études qui demeure insuffisant;
- ✓ Les troubles cognitifs (mémoire, concentration. . .) et anxio-dépressifs (souffrance, suicide).

Cependant, Il existe plusieurs difficultés dans l'étude des effets des pesticides sur la santé, La première concerne le nombre de produits à étudier avec un nombre de substance dépassant les cinq cents, et l'appartenance à diverses familles chimiques qui conduisent à des effets toxicologiques différents.

La deuxième difficulté est liée au caractère multifactoriel des pathologies évoquées comme les cancers. Une difficulté supplémentaire résulte de la multiplicité des voies

d'exposition et des faibles niveaux de contamination observés qui rendent difficile la quantification de l'exposition de la population.

Toutes les recherches bibliographiques conduisent au constat que l'évaluation des expositions est aujourd'hui une source de confusion dans la majorité des études portant sur les effets des pesticides sur la santé [48].

Tableau 6: Exemple de pesticides qui causent la neuro-dégénérescence

Maladie	Type	Pesticide et groupe
Neuro-dégénérative	Parkinson	Organochloré Organophosphates Carbamates Paraquat
	Alzheimer	Organophosphates Organochloré Carbamates

7. Effets sur l'immunité

Les pesticides sont capables d'agir sur le système immunitaire selon différents mécanismes entraînant des pathologies immunitaires plus fréquentes chez l'enfant que chez l'adulte. Cependant les résultats des études épidémiologiques sont contradictoires. Certaines études ont montré que l'exposition chronique aux pesticides peut jouer un rôle dans le développement de certaines pathologies respiratoires comme l'asthme et la bronchite chronique [48]. D'autre part, l'exposition de l'enfant aux pesticides organochlorés (en particulier DDE) a été associée à des altérations d'ordre immunologique, comme par exemple une augmentation des immunoglobulines IgE, et développement d'otites chroniques et d'asthmes bronchiques. Ces effets ont été observés essentiellement à la suite d'une exposition in utero ou via le lait maternel (p,p'-DDE et dieldrin). De plus, certaines études ont montré des perturbations de la production des cytokines.

De plus, des études expérimentales in vivo et in vitro ont permis de déterminer l'effet immun toxique et de comprendre le mécanisme d'action de certains pesticides. Par exemple, l'Atrazine induit une inhibition de la capacité des cellules NK humaines à sécréter des protéines lytiques sans affecter leur liaison avec les cellules cible et un effet immun

modulateur sur les lymphocytes T et NK humaines. Un effet immun modulateur a été également observé avec des dithiocarbamates (comme le Manèbe) [49].

8. Effets dermatologiques

Certains pesticides peuvent aussi être responsables d'effets dermatologiques comme les dermatites de contact qui sont des réactions cutanées inflammatoires, aiguës ou chroniques, provoquées par un agent chimique, biologique ou physique. Ces réactions sont caractérisées par l'apparition de démangeaisons, de rougeurs et de lésions cutanées. Les dermatites de contact peuvent être irritatives ou allergiques.

Chapitre III :
Méthodes d'analyse
des pesticides

Introduction

Traditionnellement, l'extraction de matrices solides se fait par des techniques classiques d'analyse elles présentent quelques inconvénients et en particulier un temps de mise en œuvre long et l'utilisation de plusieurs dizaines voire centaines de millilitres de solvant organique. De plus, certaines méthodes nécessitent un coût élevé d'investissement et d'entretien.

Aussi, Anastassiades et al. en 2003 ont développé la méthode QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) afin de disposer d'une méthode d'extraction qui soit simple, rapide et peu coûteuse pour l'analyse des pesticides dans les fruits et les légumes. Cette technique a par la suite été appliquée avec succès sur d'autres types de matrices (poissons, sols et sédiments) et pour d'autres types de composés (PBDE, COV, PCB, pharmaceutiques, HAP)

1. Méthode classique

1.1 Chromatographie sur colonne

C'est une méthode de séparation des constituants d'un mélange par migration dans un dispositif constitué de deux phases :

- ✓ La phase stationnaire : support solide.
- ✓ La phase mobile : le solvant.

La vitesse de déplacement des composés dans la colonne dépend de:

- L'affinité à la phase stationnaire : plus que l'affinité à la phase stationnaire est grande, plus que le déplacement des composés dans la colonne est très lent.
- La solubilité dans la phase mobile (plus que le composé est très soluble dans la phase mobile, plus que son déplacement dans la colonne est très vite).

Le choix du type de chromatographie et du support dépend de la nature des composés à séparer [50] (Tab7 [50]).

Tableau 7: Choix du type de chromatographie et du support

Type de chromatographie	Nature de l'adsorbant	Nature des composés à séparer
Adsorption	Gel de silice	Molécules organiques simples, molécules contenant plusieurs groupements polaires, substance électrophiles, substances à haut poids moléculaire.
	Oxyde d'aluminium	Vitamines, alcaloïdes, colorants, substances à caractère nucléophile.
Partage	Gel de silice	Substances très polaires.
	Oxyde d'aluminium	Substances très polaires.
	Kieselguhr	Sucres et composés amphotères, acides aminés.
Partage en phase inverse	Film E.C.S. 511 V Film E.C.S. 541 V	Phénols et dérivés nitrés aromatiques.
	Polyamide	Phénols et dérivés nitrés aromatiques.
	Cellulose	Acides gras et leurs esters méthyliques.
Electrophorèse	Gel de silice	Amines, acides aminés et peptides, colorant.
	Oxyde d'aluminium	Hétérocycles azotés polynucléaires.
	Kieselguhr	Acides nucléiques.
Echange d'ion	DEAE Ecteola Sephadex Dowex	Composés dont la charge électrique dépend du pH. (Nucléotides et acides carboxyliques)

1.2 Méthode Chromatographique sur couches minces CCM

La chromatographie sur couche mince est la plus simple des méthodes chromatographie. Elle consiste à placer sur une feuille (papier, silice ou autre) une tache et de la laisser éluer en la trempant dans un solvant ou un mélange de solvant (appelé éluant), l'éluant diffuse le long du support. La tache migre sur la feuille plus ou moins vite selon la nature des interactions qu'elle subit de la part du support et de l'éluant [51].

1.2.1 Réalisation d'une CCM

Cette méthode très facile à mettre en œuvre est une des principales utilisées dans les laboratoires. Elle présente l'avantage de ne nécessiter que peu de matériel et donner des résultats facilement interprétables mais pas toujours très reproductibles. La CCM se déroule en trois étapes : préparation de la cuve, préparation de la plaque, et l'éluion.

1.2.2 Les étapes de la réalisation de la Chromatographie sur couche mince

a-choix de la phase mobile

Le choix de l'éluant est essentiel, il n'est pas toujours fourni avec le mode opératoire et il est important de savoir le choisir. L'éluant est souvent un solvant ou un mélange de plusieurs (2ou 3) solvants par caractère polaire croissant.

1-Ethanol 100 % → pas de séparation à cause de la forte polarité

2-Ethanol 50% + hexane 50% → pas de séparation à cause de la faible polarité de l'hexane

3-Dichlorométhane + quelques gouttes d'éthanol → séparation

b-Dépôt de l'échantillon sur la plaque

On a prélevé environ 0,5 µl de la solution en un point situé à 1 cm de l'extrémité inférieure de la plaque ; le diamètre de la tache doit être d'environ 2mm pour la disposition de plusieurs produits. La première goutte de l'extrait de sol et l'autre goutte des pesticides. Sur la ligne de dépôt, on a placé une petite goutte de chaque étalon à cette chromatographie

c-Préparation de la cuve

Préparer l'éluant en respectant les proportions du mode opératoire. On a placé 5 mm dans le fond de la cuve puis on a fermé le couvercle.

d- Préparation de la plaque

On a découpé une plaque aux dimensions raisonnables 8 cm/5 cm. On a tracé au crayon un trait à 1 cm du bas de la plaque. Sur ce trait on a tracé des petits points de 1 cm de distance où seront déposées les taches. Ensuite on a déposé à l'aide d'une micropipette (ou pipette Pasteur) les solutions sur chaque point.

Les gouttes doivent être les plus petites possibles.

e. Elution

On a placé la plaque dans la cuve et on a laissé l'éluant diffuser. Placer la plaque dans la cuve, fermer et laisser l'éluant diffuser. Lorsque le front d'éluant est arrivé à 1 cm du haut de la plaque on a arrêté la CCM (cette opération prend environ 15 min, ça dépend du support et de l'éluant). On trace au crayon le front de l'éluant et enfin on sèche la plaque au pistolet ou à la chaleur d'une plaque chauffante.

f. Révélation UV

Si la plaque est fluorescente, sous une lampe UV, toute la plaque apparaît verte sauf là où sont les taches que l'on entoure au crayon. Les dérivés aromatiques absorbent dans l'UV. Placer la plaque sous une lampe UV et entourer les taches colorées.

g. Calculs et interprétation

La position finale de la tache (ou spot) est caractéristique de la molécule. On lui attribue une valeur, le R_f (Rétention factor) en anglais qui a été fort habilement traduit comme Rapport frontal. Ce R_f est le rapport de la distance parcourue par le composé divisé par la distance parcourue par l'éluant.

Le R_f vaut : $R_f = h_s / H_e$

- ✓ h_s = hauteur atteinte par l'espèce étudiée.
- ✓ H_e = hauteur atteinte par l'éluant.

Le R_f est caractéristique d'une molécule pour un éluant et un support donné.

1.3 La Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem**1.3.1 La Chromatographie en phase liquide**

La chromatographie est une technique de séparation pouvant être couplée à un détecteur en vue d'une analyse qualitative et/ou quantitative. En chromatographie, l'échantillon contenant un ou plusieurs solutés est entraîné par un courant de phase mobile (liquide ou gaz) à travers une phase stationnaire. La séparation est fondée sur le partage des solutés entre ces deux phases. En effet, chaque soluté se déplace à une vitesse propre dépendant de ses caractéristiques physico-chimiques et des caractéristiques de ces deux phases. Il existe deux types de chromatographie en phase liquide : en phase normale (phase stationnaire polaire et phase

mobile apolaire) et en phase inverse (phase stationnaire apolaire et phase mobile polaire). La technique en phase normale est peu utilisée dans le domaine biologique, alors que la deuxième technique est très utilisée pour les xénobiotiques, notamment les BZD en raison de leur caractère apolaire. Ces solutés ont donc une plus grande affinité pour la phase stationnaire que des composés polaires.

Ensuite, la phase mobile usuelle en LC-MS/MS est composée d'un mélange de tampon formiate d'ammonium et d'ACN et/ou méthanol. Ces solvants sont très utilisés car ils sont très facilement volatilisables et ionisables dans la source electrospray d'un spectromètre de masse. De plus, le mélange de plusieurs solvants permet d'ajuster le pouvoir d'élution de la phase mobile, et donc de jouer sur la rétention et la séparation d'un mélange complexe. C'est pourquoi, dans la littérature, l'utilisation d'un gradient d'élution est systématique pour analyser des BZD [52].

Le principe est le suivant : la phase mobile contenant l'échantillon est injectée à travers la phase stationnaire qui est contenue dans un fin capillaire appelé colonne de chromatographie. Selon leurs propriétés, les molécules sont plus ou moins retenues et mettent plus longtemps à traverser le capillaire. Chaque molécule traverse la colonne avec un temps qui lui est propre, appelé temps de rétention (t_R). Dans des conditions standardisées, ce temps est caractéristique de la molécule d'intérêt et contribue à son identification. L'injection des composés étudiés dans le système de chromatographie nécessite leur extraction préalable de l'échantillon biologique.

L'HPLC (chromatographie en phase liquide à haute performance) est une chromatographie en phase liquide qui utilise une colonne de très faible porosité dans laquelle l'échantillon doit être injecté à haute pression. Cette caractéristique la rend plus discriminante et permet d'améliorer la résolution du système.

L'appareil de chromatographie se compose d'un système permettant l'injection de l'échantillon, d'une pompe permettant l'entrée de l'analyse en solution dans la colonne, de la colonne elle-même, le tout couplé à un détecteur (par exemple un spectromètre de masse ou un détecteur UV-visible), ainsi qu'un système informatique permettant de visualiser puis traiter les données. (Fig4 [53])

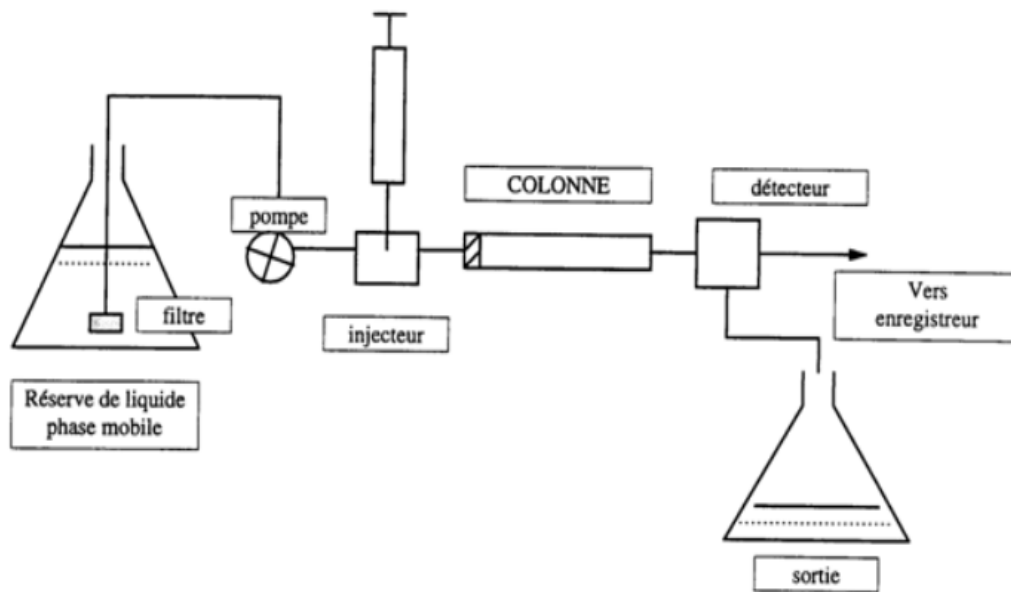


Figure 4: Composants d'un appareil de chromatographie liquide.

1.3.2 La spectrométrie de masse en tandem

La spectrométrie de masse en tandem est une technique permettant la détection et l'identification de molécules chargées par mesure de leur rapport masse sur nombre de charge (m/z). C'est un détecteur universel, très sensible et sélectif qui peut être couplé à la chromatographie [54]-[55].

Tout d'abord, les solutés sont ionisés dans la source du spectromètre de masse. Son rôle n'est pas seulement d'ioniser les molécules d'intérêt mais également d'évaporer le solvant.

Pour un couplage avec la chromatographie en phase liquide, il existe différents types de sources pouvant être utilisés à pression atmosphérique : électrospray (ESI) ou ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI).

En électrospray, la phase mobile contenant les molécules d'intérêt est introduite dans un capillaire métallique soumis à un potentiel électrique (négatif ou positif), ce qui crée un aérosol ionisé. Grâce à la température élevée de la source, les gouttelettes sont désolvatées puis explosent à cause de la trop grande densité de charge générant des ions pseudo-moléculaires (voir Fig5 [53]). Si la source est utilisée en mode positif, cela crée des ions protons de forme $[M+H]^+$. Si elle est utilisée en mode négatif, on crée des ions de forme $[MH]^-$.

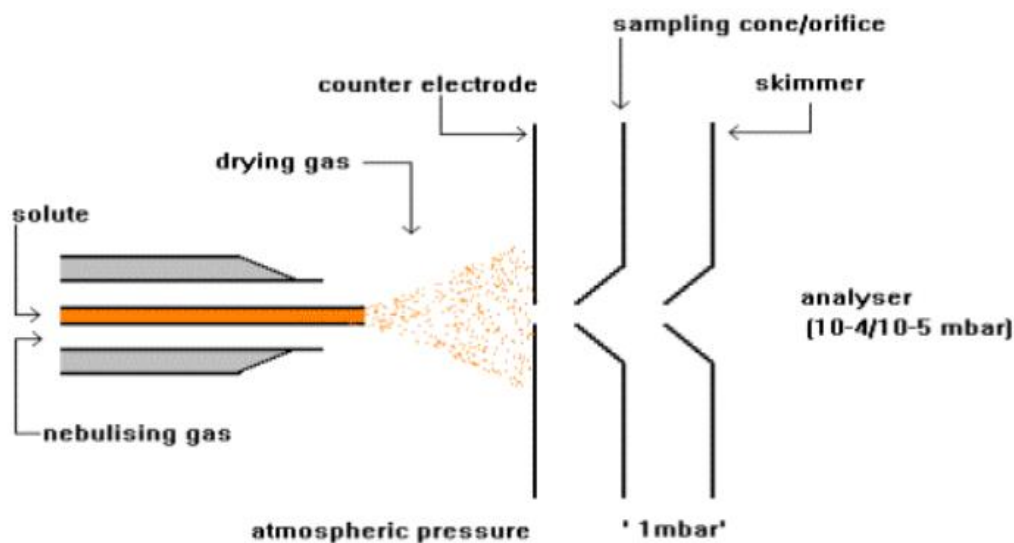


Figure 5: Schéma d'une source électrospray.

En APCI, les composés élués par la phase mobile sont introduits dans un tube en matière inerte (céramique) hautement chauffé qui les volatilise. De plus, une aiguille corona réalise des décharges électriques provoquant l'ionisation d'un gaz réactant présent dans la source. Les collisions entre le gaz réactant ionisé et les composés à l'état gazeux conduisent à des ions d'intérêt multichargés de type $[M+nH]^n$.

Ensuite, les ions traversent deux analyseurs disposés en série. Ces derniers peuvent être de même nature ou de nature différente. Les spectromètres de masse en tandem pouvant être utilisés dans le service de Pharmacologie-Toxicologie et Pharmacovigilance sont constitués de trois quadripôles en ligne.

Un quadripôle (ou quadruple) est constitué de quatre électrodes parallèles de section hyperbolique, ou cylindrique. Les électrodes opposées sont reliées entre elles et soumises au

même potentiel. Les électrodes adjacentes sont portées à des potentiels de même valeur, mais de signe opposé. Entre ces électrodes, les ions ont une trajectoire oscillante. Mais seuls ceux dont la trajectoire est mise en résonance traversent l'analyseur et sont détectés par un multiplicateur d'électrons qui transforme le signal chimique en signal électrique. Les quadripôles permettent donc de « filtrer » les différents ions.

Dans le cas de la spectrométrie de masse en tandem, les ions pseudo-moléculaires, appelés également ions parents, sont sélectionnés dans le premier quadripôle. Ils sont ensuite fragmentés dans le deuxième qui est une cellule de collision. Les fragments ou ions fils sont filtrés dans le dernier quadripôle. On observe donc la transition entre un ion parent et un de ses fragments [56]. La Figure 6 illustre le principe du filtre quadripolaire [56].

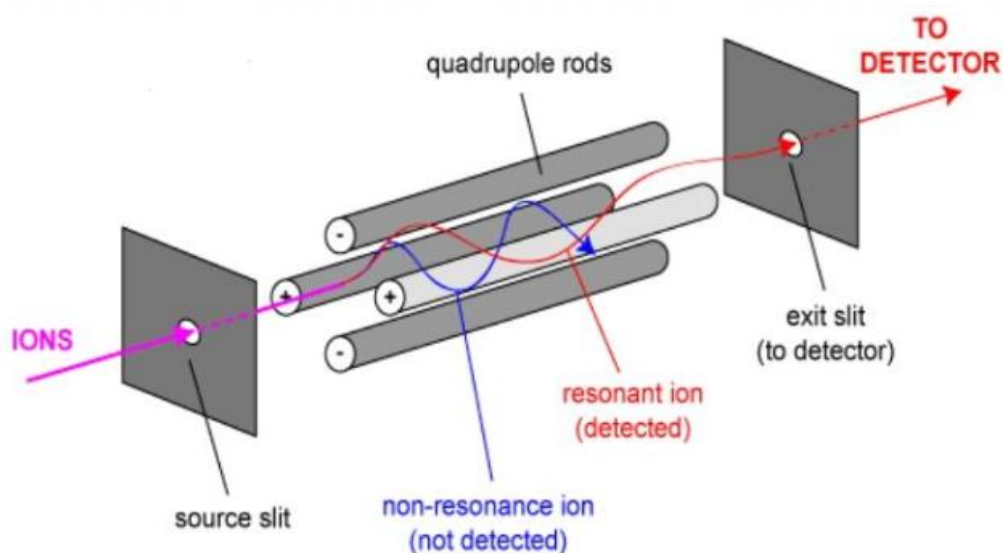


Figure 6: Principe du filtre quadripolaire.

Le principe de l'acquisition scannée des données est de diviser le temps imparti à la détection en « scan » : au cours de chaque balayage, le spectre de masse de l'analyse est enregistré et le résultat est une succession de très nombreux spectres de masse. Plus le nombre de scans par minute est élevé, plus la résolution des pics chromatographiques est importante. Le mode d'acquisition de transitions multiples (MRM, multiple réaction monitoring), adapté au quantitatif, est utilisé lors d'une recherche d'un grand nombre de molécules dans un

échantillon. Pour chaque molécule, on suit au minimum 2 transitions : une seule est utilisée pour la quantification, la deuxième participe à l'identification de la substance.

Une fois la méthode développée, l'acquisition des données sera effectuée en «ScheduleMRM». Ce mode permet de scanner les transitions caractéristiques d'un composé uniquement autour de son temps de rétention. Ainsi, le nombre de transitions devant être observées en même temps est plus faible, ce qui augmente le nombre de scans par transition. Par conséquent, les pics chromatographiques seront davantage résolus. Le résultat est un gain en sensibilité.

1.4. Chromatographie en phase gazeuse

1.4.1 Définition

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est comme toutes les techniques de chromatographie, une technique qui permet de séparer des molécules d'un mélange éventuellement très complexe de nature très diverses. Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle est de plus en plus utilisée dans les principaux domaines de la chimie.

Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur (ou gaz vecteur). Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules [57]. Les appareils de chromatographie à phase gazeuse sont appelés chromatographes (Fig7 [57]).

Ils sont principalement composés d'un/une :

- **Four** : Les colonnes sont placées dans des chauffées appelées four dont la température peut-être régulée et qui est également équipé d'un système de refroidissement rapide.

La température du four peut-être:

- ✓ Stable et identique du début à la fin de la manipulation (mode en isotherme).
- ✓ programmée par palier successif (mode en gradients).

- **Système d'injection** : qui va permettre d'introduire et de rendre volatile l'échantillon à analyser. L'injection peut se faire d'une manière manuelle ou automatique à l'aide d'un échantillonneur.
- **colonne** : (capillaire ou remplie), sur laquelle les différentes molécules de l'échantillon injecté vont se séparer suivant leurs affinités avec la phase stationnaire.
- **Système de détection** : qui va permettre de mesurer le signal émis par les différentes molécules et de pouvoir les identifier. Pour l'enregistrement du signal émis par le détecteur, des logiciels sur ordinateur remplacent avantageusement les enregistreurs analogiques sur papier.
- **système de détendeur-régulateur** : pour les gaz utilisés (hélium, hydrogène, azote et air comprimé). Sur les chromatographes modernes, on trouve des systèmes électroniques pour la régulation des gaz qui sont également purifiés par des cartouches filtrantes.



Figure 7: Chromatographe en phase gazeuse.

1.4.2 Principe de fonctionnement

L'échantillon (un liquide volatile) est d'abord introduit en tête de colonne par l'injecteur. L'injecteur est traversé par le gaz porteur et porté à une température appropriée à la volatilité de l'échantillon. Ensuite, une fois rendus volatiles, les différents composés de l'échantillon vont être emportés par le gaz porteur (ou gaz vecteur) à travers la colonne et se séparer les uns

des autres en fonction de leur affinité avec la phase stationnaire qui va provoquer un phénomène de rétention chromatographique avec les différents composés [57].

Plus le composé a d'affinité avec la phase stationnaire, plus il mettra de temps à sortir de la colonne. La grandeur expérimentale brute est appelée temps de rétention.

C'est le temps qui s'écoule entre l'injection de l'échantillon et l'apparition du signal maximum du soluté au détecteur. Pour favoriser le transport de tous les composés à travers la colonne (élution), il faut déterminer la bonne température du four. En général, la température doit être supérieure à la température d'ébullition des composés.

A la sortie de la colonne, les composés rencontrent un élément essentiel qui est appelé détecteur. Cet élément évalue en continu la quantité de chacun des constituants séparés ainsi du gaz porteur grâce à la mesure de différentes propriétés physiques du mélange gazeux. Le détecteur envoie un signal électronique vers un enregistreur qui dessinera les courbes de chaque pic en fonction de leur intensité (L'ensemble des pics est appelé chromatogramme) (Fig8 [57]).

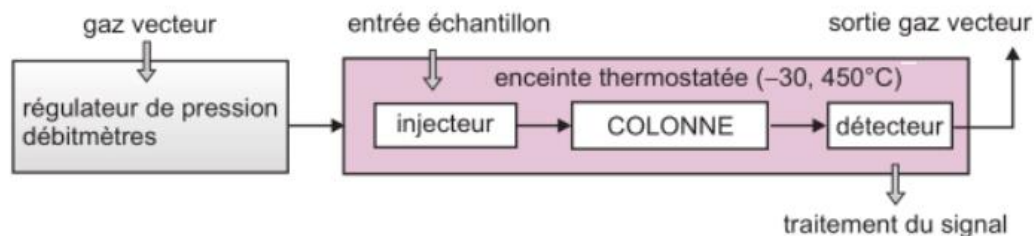


Figure 8: Principe de fonctionnement d'un Chromatographe en phase gazeuse.

2. Méthode de QuEChERS

2.1 Définition

La technique des QuEChERS (rapide, facile, pas cher, efficace, robuste et sûre). La combinaison de la technique QuEChERS à l'extraction en phase solide en mode dispersif ou d-SPE constitue une méthode simple et rapide pour la préparation des échantillons, elle est idéale pour l'analyse des résidus des pesticides des médicaments vétérinaires et de mycotoxines pour une large éventail de produits alimentaire et agricole. Les produits

nécessaires à la préparation des échantillons pour extraction en mode dispersif selon la technique DisQuE. Sont conditionnés en privilégiant l'aspect pratique : support et tampons pré-pesés en sachets et en tubes [58].

2.3 Historique

Les deux chimistes qui, avec leurs collègues, ont développé et piloté la technique à travers le organismes internationaux de validation et d'accréditation [AOAC International and EuropeanCommitteeStandardization (CEN), respectivement] étaient les docteurs Steven J. Lehotay de l'USDA à Philadelphie, Pennsylvanie, États-Unis et Michelangelo Anastassiades of ChemischesundVeterinaruntersuchungsamt, Stuttgart, Allemagne, qui ont travaillé ensemble dans le laboratoire de l'USDA de 2000 à 2002.

La technique cultivée au point de devenir la technique standard de préparation d'échantillons pour les pesticides dans les fruits et légumes dans les laboratoires du monde entier. De plus, QuEChERS se développe rapidement au-delà de son domaine d'applications traditionnelles pour traiter une grande variété de contaminants, d'antibiotiques, de produits pharmaceutiques, de médicaments d'abus et d'autres composés dans une plus grande variété de matrices telles que la viande, le poisson, le sang total, le vin et même sol.

Pour cet opus de "Simple Préparation Perspectives", le chroniqueur du LCGC Europe Ron MajorsInterviewéAnastassiades et Lehotay sur la technique, ses succès et ses défis et où elle pourrait se diriger à l'avenir. M. Anastassiades et al., J. AOAC Int., 86, 412-431 (2003).

2.4 Les avantages de la technique Disque

- ✓ Rapidité de la préparation des échantillons.
- ✓ méthode rentable et efficace.
- ✓ produit fiable et de qualité, dans un format pratique.

2.5 La méthode QuEChERS et ses utilisations pour les milieux biologiques

QuEChERS est un acronyme pour QUick, Easy, CHEap, Effective, Rugged, and Safe. Il s'agit donc d'une méthode d'extraction qui se veut rapide, facile, bon marché, robuste et fiable. Elle a vraisemblablement été utilisée pour la première fois il y a une dizaine d'années pour l'analyse de résidus de pesticides dans les fruits et légumes.

Brièvement, il s'agit d'une méthode de préparation des échantillons qui consiste à rajouter des sels dits « QuEChERS » à la matrice d'intérêt qui aura été mélangée au préalable dans un solvant apolaire [59].

La méthode telle qu'initialement proposée par Anastassiades et al. comprenait deux étapes (Fig9 [59]).

- ✓ Une étape « extraction partitioning » consistant à mettre la matrice d'intérêt en solution dans de l'acétonitrile (ACN), puis à rajouter un mélange de sels de sulfate de magnésium (MgSO₄) et de chlorure de sodium (NaCl). L'objectif est de séparer l'échantillon en une phase aqueuse et une phase organique (ACN), puis de « sécher » la phase aqueuse par des sels avant de récupérer la phase organique.
- ✓ Une étape « dSPE (Dispersive Solid Phase Extraction)» ou « Clean-up » consistant à éliminer les impuretés présentes dans la phase organique à l'aide d'adsorbants tels que le PrimarySecondary Amine (PSA), le carbone graphite noir (GCB) ou les particules C18, en présence de sels. Il se forme à nouveau 2 phases, et la phase organique est récupérée.

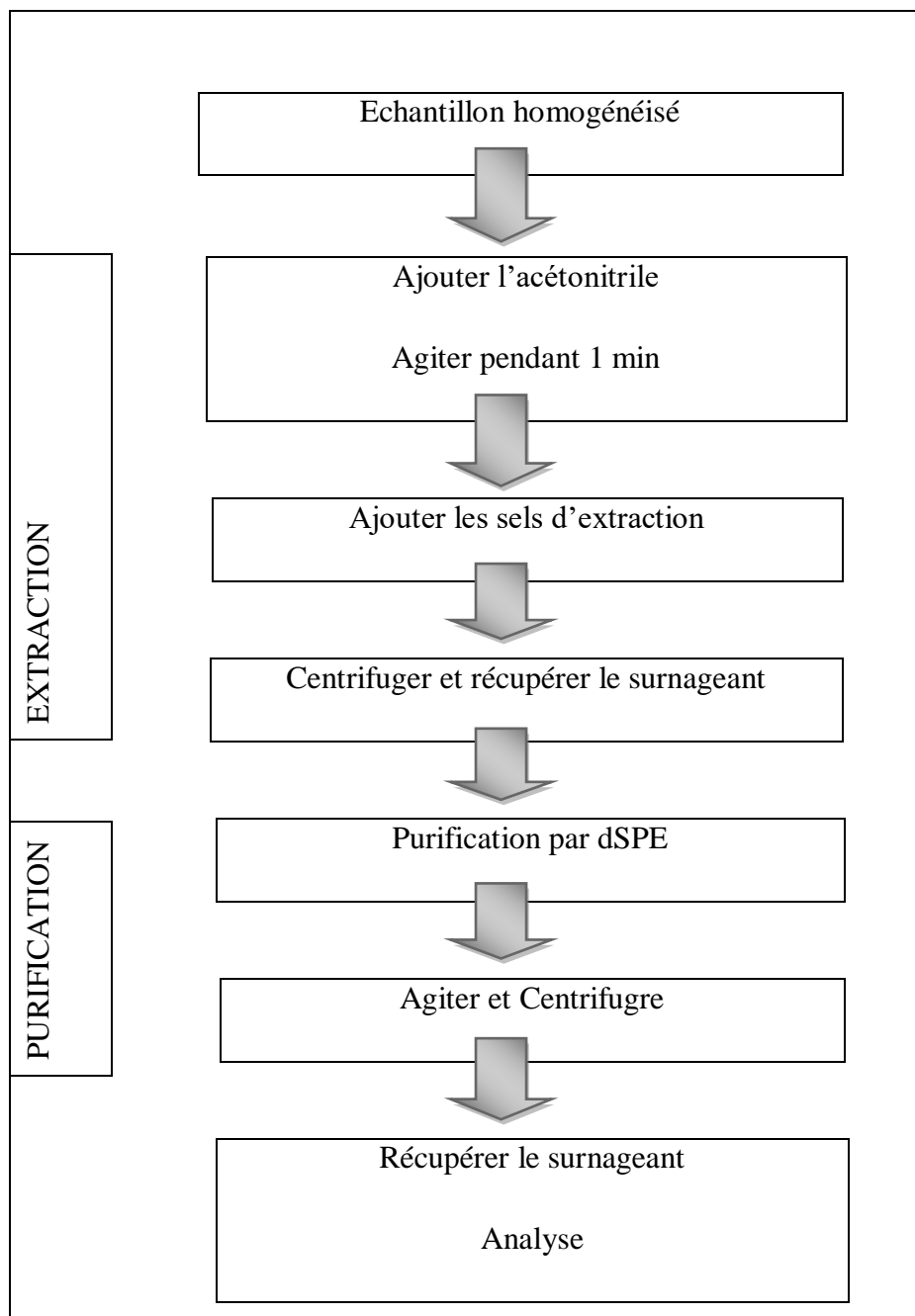


Figure 9: Protocole synthétisé de la préparation d'échantillon avec la méthode QuEChERS.

En effet, l'ACN et l'eau sont des liquides miscibles, dans leur état pur, à température ambiante. Il est connu qu'une mixture homogène de ces deux solvants (comme tout autre système binaire homogène contenant de l'eau et un solvant organique) peut être séparé en deux phases hétérogènes par l'addition de sels [60]. Ce phénomène a lieu car la dissolution

des sels altère les propriétés du système, particulièrement la force ionique et la pression de vapeur des composants individuels des solvants. Il a été montré que la solubilité du sel dans chaque solvant est un facteur clé : la séparation la plus efficace est réalisée avec des sels hautement solubles dans l'eau et insolubles (ou très peu solubles) dans les solvants organiques [61]. Ce phénomène de séparation de l'ACN et de l'eau est appelé « salting-out ».

Plusieurs solvants d'extraction ont été testés : acétone [59], [62], ACN [59], [63], [64] et acétate d'éthyle [65]-[66]. Dans une étude dédiée au dosage de pesticides, il a été montré que ces solvants permettent tous un bon rendement d'extraction. L'acétone est facilement miscible à l'eau, mais la séparation de l'eau à partir de ce solvant n'est pas possible sans l'addition d'un solvant non polaire. L'acétate d'éthyle est partiellement miscible à l'eau, ce qui rend superflue l'addition de solvant non polaire pour le séparer de l'eau. Les extraits à base d'ACN contiennent moins de substances interférentes que les extraits à base d'acétate d'éthyle ou d'acétone, et l'ACN peut-être séparé assez facilement de l'eau. C'est pour cette raison que l'ACN a finalement été retenu dans la méthode QuEChERS.

Au fur et à mesure de l'extension de l'utilisation de cette méthode, il est apparu évident que la force et la quantité des sels utilisés ne pouvaient pas être la même pour toutes les applications. Aujourd'hui, il existe au moins trois variantes de la méthode QuEChERS en fonction des sels utilisés:

- ✓ La méthode d'origine (décrite ci-dessus) : 4 g $MgSO_4$ + 1 g NaCl
- ✓ La méthode « EN 15662 » : 1g citrate trisodiquedihydraté + 0.5 g hydrogénocitrate disodiquesesquihydraté + 1 g NaCl + 4 g $MgSO_4$
- ✓ La méthode « AOAC 2007.01 » : 6 g $MgSO_4$ + 1.5 g acétate de sodium

Ces quantités de sels sont disponibles sous la forme de kits prêts à l'emploi, utilisés pour l'extraction des pesticides avec un volume de solvant de 10 à 12 ml et 10 grammes d'échantillon.

L'emploi des sels QuEChERS a été principalement décrit pour la recherche et le dosage des résidus de pesticides dans des matrices alimentaires ou environnementales [67]-[68]. Pour ces applications, il a été montré que le $MgSO_4$ accompagné de $NaCl$ était le meilleur choix pour l'extraction des pesticides. Le $MgSO_4$ permet de séparer l'eau du solvant organique, le $NaCl$ permet de contrôler la polarité. Dans la deuxième étape du protocole, il a été montré que le PSA permet de supprimer de nombreux acides organiques polaires de l'extrait, ainsi que des pigments polaires, des sucres et des acides gras. Le GCB permet essentiellement de supprimer les stérols et les pigments tels que la chlorophylle, alors que le C18 permet d'éliminer des substances interférentes apolaires comme les lipides. La Figure 10 présente le protocole tel que proposé par Wilkowska et al [68]. Pour la recherche et le dosage de pesticides.

Les méthodes de dosage des pesticides au sein du laboratoire du CHU de Limoges concernent trois grandes familles de pesticides : les organophosphorés, les organochlorés et les carbamates, qui constituent environ 90% des molécules sur le marché. Seul le Mix I (soit 1g citrate trisodiquedihydraté + 0.5 g hydrogenocitratedisodiquesesquihydraté + 1 g $NaCl$ + 4 g $MgSO_4$) est utilisé pour extraire la plupart des pesticides, qui ont des formules chimiques, des polarités et des charges extrêmement variables.

La plupart des pesticides peuvent être extraits avec les sels QuEChERS, sauf le para quat, le diquat et le chlormequat.

Si les méthodes d'extractions à base de sels QuEChERS ont d'abord été utilisées pour la recherche de pesticides dans des matrices alimentaires ou environnementales, la littérature rapporte depuis 2 ou 3 ans quelques exemples d'applications dans des matrices biologiques.

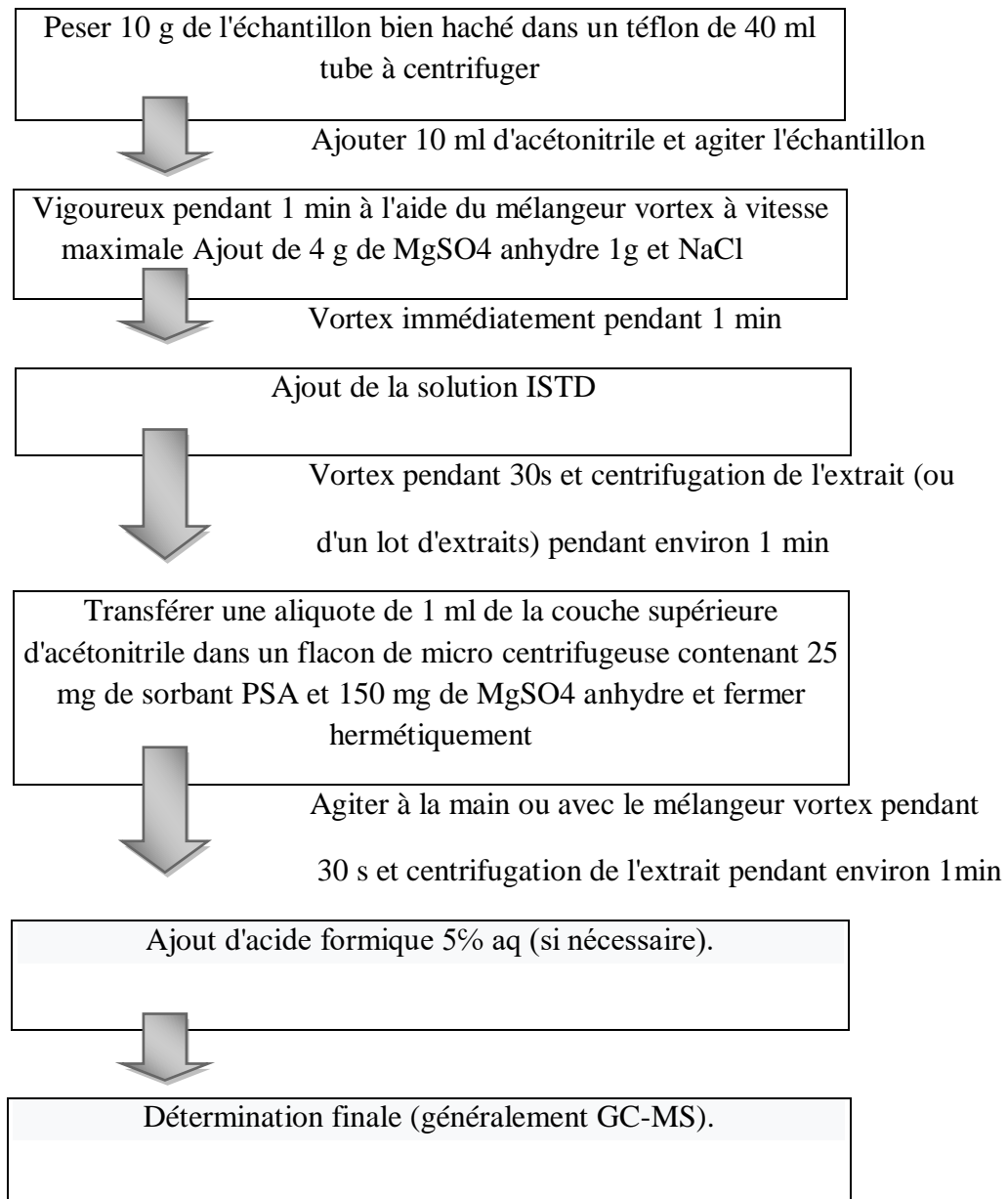


Figure 10: Principales étapes de la procédure analytique QuEChERS pour la détermination de pesticides dans les matrices alimentaires.

3. Exemple sur la Méthode d'Analyse des pesticides dans les tomates par QuEChERS

Dans cet exemple, on a procédé à l'optimisation d'une méthode analytique permettant la détection de pesticides (Acétamipride, Aldrine, Atrazine, Azadirachtine, Carbofuran, Chlorpyrifos-ethyl, Cyhalothrine, Cyperméthrinealpha, Cyperméthrinebêta, Dieldrine, Emamectine Benzoate, Endosulfan II, HCH-delta, Imidaclopride, Méthoxychlore, Ométhoate, Penta chlorobenzène, Profenofos, Triazophos) dans les tomates [69].

3.1 Protocole d'extraction et d'analyse multi-résidus dans les tomates

Les étapes de la procédure analytique QuEChERS pour la détermination de pesticides dans les tomates :

- Découpage des échantillons de tomates prélevés et broyage l'aide d'un mixeur pour obtenir une solution homogène de l'échantillon
- Homogénéisation
- Prélever 10 g de tomate bien broyée et homogénéisée.
- Peser dans un tube à centrifugé de 50 ml
- Ajouter 10 ml d'acétonitrile (acétonitrile contenant 1% d'acide acétique)
- Vortex pendant 1 min
- Ajouter de 4 g de MgSO₄ anhydre 1g et NaCl (pour permettre une bonne séparation des phases aqueuses et organiques)
- Vortex pendant 1 min
- Mettre dans un bain à ultrasons de marque Bansonic 3510
- Centrifugation au but de séparation
- Purification du surnageant [à l'aide d'une phase de la marque Supel-Que (Fig11 [69])]
- concentration au rotavap, séparation et reconstitution dans les solvants adaptés à l'analyse en GC-MS et LC-MS
- Détermination finale (généralement GC-MS)

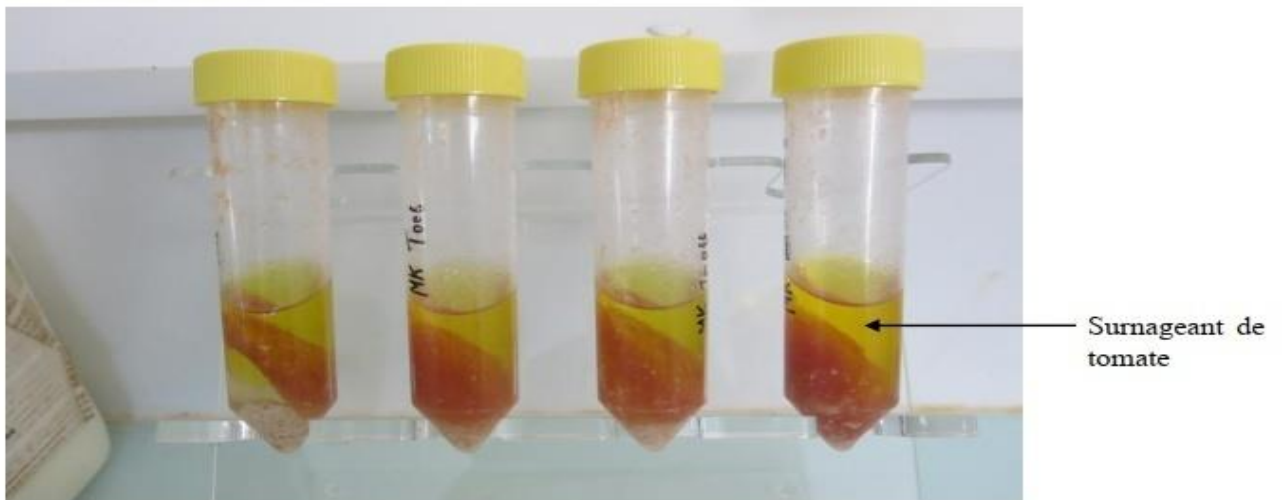


Figure 11 : Extraits de surnageant dans les tubes Supel-Que Z-Sep/C18.

3.2 Résultats des analyses

Tableau 8 : Intervalles de variation des résultats des analyses GC et LC des échantillons dans les tomates [69]

Matières actives	Tomate (mg/kg)
Acétamipride	0 -0,0047
Aldrine	0 -0,0008
Atrazine	0 -1,81E-05
Azadirachtine	0 -0,0109
Carbofuran	0 -0,0002
Chlorpyrifos-ethyl	0 -0,2055
Cyhalothrine	0 -0,0348
Cyperméthrinealpha	0 -0,0076
Cyperméthrinebêta	0 -0,0041
Dieldrine	0
Emamectine Benzoate	0 -8,487E-05
Endosulfan II	0 - 0,00081
HCH-delta	0
Imidaclopride	0 -0,0123
Méthoxychlore	0 -8,980E-05
Ométhoate	0
Penta chlorobenzène	0
Profenofos	0 -0,0148
Triazophos	0 -9,165E-05

3.3 En conclusion :

Les résultats reportés montrent que la technique décrite permet de simplifier la purification préalable des extraits et de faciliter l'analyse préparative tout en consommant moins de produits et de réactifs, en ayant un taux d'extraction élevé avec une fiabilité sans différence significative par rapport aux méthodes classiques d'extraction et de purification.

Conclusion générale

Le Code de conduite international sur la gestion des pesticides adopté par les États membres de la FAO dont l'Algérie, stipule la possibilité d'interdire l'importation, la distribution, la vente et l'achat de pesticides très dangereux si les mesures de réduction des risques s'avèrent insuffisants pour garantir une manipulation du produit qui n'engendre aucun risque inacceptable pour l'homme et pour l'environnement. Partant de ce principe Il est donc impératif de mettre au point un dispositif de contrôle d'homologation, de gestion et de surveillance des produits alimentaires notamment ceux destinés à la consommation humaine.

De ce fait, l'analyse des pesticides en amont et en aval dans les matrices alimentaires s'avère plus que jamais primordiale.

En réponse aux contraintes techniques pouvant entraver la procédure de contrôle des produits alimentaires ; la méthode QuEChERS se montre, à lumière des informations décrites dans ce travail, particulièrement pratique et fiable. Elle simplifie la purification d'extraits, elle est aussi économique en permettant de traiter un plus grand nombre d'échantillons avec des volumes réduits de solvants et de réactifs, la méthode permet également l'obtention des rendements d'extraction élevés (>85%), pour une large gamme de pesticides de différente polarités et volatilités.

Il serait alors intéressant de mettre au point des protocoles d'analyse adaptés qui reposeront sur la méthode QuEChERS dans le but de garantir un contrôle fiable et efficient de la qualité des produits alimentaires destinés à la consommation en Algérie.

Par conséquent, la surveillance de plus de résidus de pesticides dans toute la variété de fruits et légumes devrait être développée afin de garantir l'apport alimentaire selon les normes internationales de sécurité sanitaire des aliments.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

- [1].Mamadou A., Mazih A., 2015- Évaluation des effets des pesticides utilisés en lutte chimique contre le Criquet pèlerin sur les fourmis au Niger. *Journal of Applied Biosciences* 88:8144– 8153.
- [2].Oerke E., Dehne H., 1997- *Global crop production and the efficacy of crop production current situation and futures trends*.European Journal of Plant Pathology.103(203-215).
- [3].Ramade F., 2005- *Elément d'écologie*. Ecologie appliquée. DUNOD, Paris, 6ème édition, 864p.
- [4].Hakeem K R., Mahmood I., Imadi S.R., Shazadi K., Gul A., 2016-*Plant, soil and Microbes: Implication in crop science Effects of pesticides on environment*, volume 1., Ed . springer international publishing, switzerland.
- [5].Bouziane M., 2007 - *L'usage immodéré de pesticides : de graves conséquences sanitaires*. Le guide de la médecine et la santé en Algérie. Santé magrebe.com
- [6].Multigner I., 2005 - Effets retardés des pesticides sur la santé humaine, Environnement, *Risques & Santé*, vol. 4 No.3, Université de Rennes.
- [7].FAO .,2002- Version novembre.
- [8].Directive 91/414/EC, CONSLEG : 1991L0414 — 01/01/2004, Office des publications officielles des Communautés européennes, 207pp.
- [9].Directive 98/8/CE du 16 février 1998, concernant la mise sur le marché des produits biocides, JOCE L123/1, 63 pp.
- [10].Devillers, J., Farret, R., Girardin, P., Rivière, J.L. et Soulas, G., 2005- *Indicateurs pour évaluer les risques liés à l'utilisation des pesticides*, Lavoisier, Paris.
- [11].Gariido, F.A., Martinez, V.J.L., Lopez, T. et Cortes, A.S.,2004- *Martinez Salvador I*. Journal of Chromatography.1048 : 199-206.
- [12].ACTA., 2006- *Index phytosanitaire*, Association De Coordination Technique Agricole, 194rue de Bercy, 75595 Paris.

- [13].M. Gérard MIQUEL <http://www.senat.fr/rap/102-215-2/102-215-21.pdf>
- [14].Belhadi, A., Mehenni, M., Reguieg, L., & Yakhlef, H., 2016- Pratiques phytosanitaires des serristes maraichers de trois localités de l'est des Ziban et leur impact potentiel sur la sante humaine et l'environnement. *Revue Agriculture, 1*, 9–16.
- [15].El bakouri H.,2006- *Développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par utilisation des Substances Organiques Naturelles (S.N.O)*. Thèse de Doctorat. Université Mohammed V-Agdal, Rabat, 108p.
- [16].Calvet, R., Barriuso, E., Bedos, C., Benoit, P., Caharnay, M.-P., & Coquet, Y., 2005- *Les pesticides dans le sol, conséquences agronomiques et environnementales*. Edition France Agricole.p 636.
- [17].Aktar, W., Sengupta, D., & Chowdhury, A., 2009- Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(1), 1–12. <https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7>.
- [18].WHO., 2010- *The Who Recommended Classification of Pesticides By Hazard and Guidelines To Classification 2009*. World Health Organization.p.60. <https://doi.org/ISBN 978 92 4 154796 3>.
- [19].Anonyme., 2010- *Alimentation, environnement, travail. Portail des bases de données de priorité des pesticides*, 54 p.
- [20].Pallares C., Masurais S., 2006- Note sur la surveillance des produits phytosanitaires en Alsace, PP 05-09.
- [21].Batch D., 2011- *L'impact des pesticides sur la santé humaine. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy*, 165p.
- [22].Gagné C., 2003- L'utilisation des pesticides en milieu agricole. Mémoire présenté à la commission sur l'avenir de l'agriculture et l'agroalimentaire Québécois, 16p.
- [23].Brosselin P.,2006- Santé–Environnement-Travail: Perturbation du système endocrânien.

- [24].**Juc L., 2007**-*Etude des risques liés à l'utilisation des pesticides organochlorés et impact sur l'environnement et la santé humaine*. Thèse de Doctorat. Université Claude Bernard - Lyon 1. 159p.
- [25].**OMS., 1963**-*Resistance aux insecticides et lutte contre les vecteurs*, Treizième rapport du Comité OMS d'experts des Insecticides. Rapport N°265.p.128.
- [26].**cheyer, A., 2004** -*Développement d'une méthode d'analyse par CPG/MS/MS de 27 pesticides identifiés dans les phases gazeuse, particulaire et liquide de l'atmosphère. Application à l'étude des variations spatio-temporelles des concentrations dans l'air et dans les eaux de pluie*. Université Louis Pasteur de Strasbourg. Thèse de Doctorat.p.273.
- [27].**Anonyme.**,<http://www.worldatlas.com> page modifiée le 19 Août, 2016, consultée le 07 Octobre 2016, 18 :30.
- [28].**Benaboud, J., Oujidi, J., Elachouri, M., &Chafi, A.,2014**- *Pesticides used by Moroccan's farmer in oriental Morocco. Case of Berkaneregion*. *AcademiaJournal of Environmental Sciences*, 2(4), 52–58.
- [29].**Moussaoui, K. ., Boussahel, R., Tchoulak, Y., Haouchine, O., Benmami, M., &Dalachi, N., 2001**- *Utilisation, évaluation et impacts des pesticides en Algérie*. PPT.p31.
- [30].**La FAOSTA** (<http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP>),
- [31].**FAO.,2013**- *FAO Statistical Yearbook 2013*.
p.289.<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- [32].**Merhi M.,2008**-*Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin*. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse. 140 P.
- [33].**Ming Y., Beach J., Jonathan W.M., Ambikaipakan S., 2013**- *Occupational pesticide exposure and respiratory health* .*International journal of environmental research and public health*, 43p.
- [34].**La verdiere C., Gauthier F., Gingras B., 2004**- *Pesticides et entretien des espaces vert. Bon sens, bonnes pratiques*. Edition 2004, Québec, Ministère de l'environnement, Envirodoq, 100 p.

- [35].**ORSB.,2001-** *Effets chroniques des pesticides sur la santé : état actuel des connaissances.*In: Errami M. *Devenir atmosphérique de bupirimate et transfert de ses métabolites (les diazines) dans l'atmosphère, sa dissipation dans les fruits de tomate et sa dégradation électrochimique.* Thèse de Doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims,212p.
- [36].**Cherin P., Voronsk E., Fraoucene N., DE jaeger C.,2012-** *Toxicité aigüe des pesticides chez l'homme. Médecine et Longévité*, n.4, pp. 68-74.
- [37].**Aardema H., Meertens J.H., Ligtenberg J.J., Peters-Polman O.M.,Tulleken J.E., Zijlstra J.G.,2008-** Organophosphorus pesticide poisoning: cases and developments. *Neth J Med*, n. 66, pp.149-153.
- [38].**OuldKankou M.O.S.A.,2004-***Vulnérabilité des eaux et des sols de la rive droite du fleuve Sénégal en Mauritanie : Etude en laboratoire du comportement de deux pesticides.* In : *SAIBA A. Etude de l'adsorption d'un herbicide -la métribuzine- sur un sol cultivé.* Mémoire de Magister, Ecole Nationale Polytechnique, El Harrach.102p.
- [39].**DE jaeger C., Voronskaa E., Fraoucenea N., Cherine P.,2012-***Exposition chronique aux pesticides, santé et longévité. Rôle de notre alimentation. Médecine et longévité*, n. 4, pp. 75-92.
- [40].**CIRC.,2003-** *World cancer report.* In: Errami M. *Devenir atmosphérique de bupirimate et transfert de ses métabolites (les diazines) dans l'atmosphère, sa dissipation dans les fruits de tomate et sa dégradation électrochimique.* Thèse de Doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, 212p.
- [41].**Capkin E., Altinokkarrhan N S.,2006-** Water quality and Fish size affect toxicity of endosulfan, an organochlorine pesticide, to rainbow trout. *Chemosphere*, vol.64, pp.1793-1800.
- [42].**Anonyme .,**<https://www.inspq.gc.ca/bise/risques-pour-la-sante-associes-l-epandage-de-biosolides-municipaux-sur-des-terres-agricoles>
- [43].**Kelley J.R., Duggan J.M.,2003-** Gastric cancer epidemiology and risk factors .*Journal of Clinical Epidemiology*, n. 56, pp.9.
- [44].**Garcia-Rodriguez, J., Garcia-Martin, M., Nogueras-Ocana, M., de Dios Luna-del-Castillo, J., Espigares Garcia, M., Olea, N., and Lardelli-Claret, P., 1996-***Exposure to*

pesticides and cryptorchidism: geographical evidence of a possible association. Environ Health Perspect. 104(10); 1090-1095.

[45].Priyadarshi, A., Khuder, S. A., Schaub, E. A., and Shrivastava, S.,2000- A meta-analysis of Parkinson's disease and exposure to pesticides.Neurotoxicology. 21(4); 435-440.

[46].Costa L.G., Giordano G., Guizzetti M., Vitalone A.,2008- Neurotoxicityof pesticides: a brief Review, *Frontiers in Bioscience*, n. 13, pp. 1240.

[47].Baldi I., Lebailly P., Mohammed-Brahim B., Letenneur L.,Dartigues J.F., Brochard P.,2003- Neurodegenerative diseases and exposure topesticides in the elderly.*American Journal of Epidemioleology*, n. 157, vol. 5, pp. 409-414.

[48].ORP.,2008- *Observatoire des Résidus de Pesticides. In : Errami M. Devenir atmosphérique de bupirimate et transfert de ses métabolites (les diazines) dans l'atmosphère, sa dissipation dans les fruits de tomate et sa dégradation électrochimique.*Thèse de Doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, 212p.

[49].Rtecs.,1998- National Institute of Occupational Safety and Health, Cincinnati, Ohio, (versionCD-ROM).

[50].Benabdallah .H.,2015- Technique d'extraction , de purification et de conservation. Polycopié du cours. Université Ferhat Abbas de Sétif, 38p.

[51].Aloui . N .,2019 -*Etude de la biodégradation de quelques pesticides par des bactéries isolées de différentes niches écologiques de la wilaya de ouargla.*Thésede Doctorat. Université de Ghardaïa.54p.

[52].D. Montenarh, M. Hopf, H. H. Maurer, P. Schmidt, and A. H., 2014-Ewald, "Detection and quantification of benzodiazepines and Z-drugs in human whole blood, plasma, and serum samples as part of a comprehensive multi-analyte LCMS/MS approach," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 406, no. 3, pp. 803–818.

[53].*Schéma d'une source électrospray.*

[54].Rouessac., 2005-*Analyse chimique: méthodes et techniques instrumentales*, Dunod.

[55].Hoffmann, Stroobant., 2005-*Spectrométrie de masse*, Dunod.

[56].*Principe du filtre quadripolaire.*

[57].FrancisAuroussea.,2009- association CIBAC, "aspects théoriques de la chromatographie(C.P.G.)",<https://iutcv.univparis12.fr/cibac/Annexes/CPG>,14-28p.

- [58].Anonyme .,<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720003048fr>.
- [59].M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbaher, and F. J. Schenck., 2003- “Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and ‘dispersive solid-phase extraction’ for the determination of pesticide residues in produce,” *J.AOAC Int.*, vol. 86, no. 2, pp. 412–431.
- [60].J. A. Renard.,1962- “The Ternary Systems. Water-2 Chloroethanol-Salt and Water-Tetrahydrofurfuryl Alcohol-Salt.,” *J. Chem. Eng. Data*, vol. 7, no. 2, pp. 203–205.
- [61].J. A. Renard and A. G. Oberg.,1965 - “Ternary Systems: Water-Acetonitrile-Salts.,” *J.Chem. Eng. Data*, vol. 10, no. 2, pp. 152–155.
- [62].M. Luke, J. Froberg, and H. Masumoto., 1975- “Extraction and Cleanup of Organochlorine, Organophosphate, Organonitrogen, and Hydrocarbon Pesticides in Produce for Determination,” *J.Assoc. Off. Anal.Chem.*, vol. 58, no. 5, pp. 1020–1026.
- [63].K. Mastovska and S. J. Lehotay., 2004- “Evaluation of common organic solvents for gas chromatographic analysis and stability of multiclass pesticide residues,” *J.Chromatogr. A*, vol. 1040, no. 2, pp. 259–272.
- [64].F. J. Schenck, P. Callery, P. M. Gannett, J. R. Daft, and S. J. Lehotay., 2002 - “Comparison of magnesium sulfate and sodium sulfate for removal of water from pesticide extracts of foods,” *J. Aoac Int.*, vol. 85, no. 5, pp. 1177–1180.
- [65].H. G. J. Mol, A. Rooseboom, R. van Dam, M. Roding, K. Arondeus, and S. Sunarto., 2007- “Modification and re-validation of the ethyl acetate-based multi-residue method for pesticides in produce,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 389, no. 6, pp. 1715–1754.
- [66].K. Banerjee, D. P. Oulkar, S. B. Patil, S. H. Patil, S. Dasgupta, R. Savant, and P. G. Adsule., 2008 - “Single-Laboratory Validation and Uncertainty Analysis of 82 Pesticides Determined in Pomegranate, Apple, and Orange by Ethyl Acetate Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry,” *J. Aoac Int.*, vol. 91, no. 6, pp. 1435–1445.
- [67].A. Wilkowska and M. Biziuk., 2011-“Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology,” *Food Chem.*, vol. 125, no. 3, pp. 803–812.
- [68].O. Golge and B. Kabak., 2015- “Evaluation of QuEChERS sample preparation and liquid chromatography-triple-quadrupole mass spectrometry method for the determination of 109 pesticide residues in tomatoes,” *FoodChem.*, vol. 176, pp. 319–332.

[69].KOLIA Y. P. M., 2015 -Analyse des résidus de pesticides dans les produits maraichers sur le site du barrage de Loumbila au Burkina Faso: Évaluation des risques pour la santé. Mém. Master en Ingénierie de l'Eau et l'Environnement. Ecole Polytechnique fédérale. Lausanne.78p.

Résumé

ملخص :

يهدف هذا العمل لدراسة تقنية QuEChERS التي تعتبر تقنية تحضير العينات الموجهة للتحليل الكمي و التوصيف الكيميائي لبقايا المبيدات في الأوساط المعقدة و من بينها المواد الغذائية. تتميز هذه التقنية بأنها سريعة و بسيطة و منخفضة الكلفة و فعالة و آمنة الاستعمال، حيث أنها تتيح معالجة عدد معتبر من العينات بكميات أقل من المذيبات و الكواشف. كما تتميز بعوائد استخلاص عالية تفوق 85% لطيف واسع من المبيدات الحشرية متعددة القطبية و قابلية التطاير.

نظرا لذلك فإنه من المجدي الاهتمام بتطوير بروتوكولات تحليل ملائمة تعتمد على طريقة QuEChERS من أجل ضمان مراقبة نوعية رصينة موثوقا وفعالة لجودة و سلامة المنتجات الغذائية الموجهة للاستهلاك في الجزائر.

الكلمات المفتاحية: مبيدات الآفات ، المستهلك ، الغذاء ، جس / مس.

Résumé :

La méthode QuEChERS se montre, à lumière des informations décrites dans ce travail, particulièrement pratique et fiable. Elle simplifie la purification d'extraits, elle est aussi économique en permettant de traiter un plus grand nombre d'échantillons avec des volumes réduits de solvants et de réactifs, la méthode permet également l'obtention des rendements d'extraction élevés (>85%), pour une large gamme de pesticides de différente polarités et volatilités.

Il serait alors intéressant de mettre au point des protocoles d'analyse adaptés qui reposeront sur la méthode QuEChERS dans le but de garantir un contrôle fiable et efficace de la qualité des produits alimentaires destinés à la consommation en Algérie.

Mots-clés : pesticides, consommateur, alimentation, CG/MS.

Abstract:

This work aims to describe The QuEChERS method which is a sample preparation technique that vastly simplifies the analysis of pesticide residues. It's quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe. It allows a larger number of samples to be processed with reduced volumes of solvents and reagents, the method also makes it possible to obtain high extraction yields (> 85%), for a wide range of pesticides of different polarities and volatilities.

It would then be interesting to develop suitable analysis protocols which will be based on the QuEChERS method in order to guarantee reliable and efficient control of the quality of food products intended for consumption in Algeria.

Keywords: pesticides, consumer, food, CG / MS