

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة – الحراش

الجزائر

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE - EL HARRACH

ALGER

Mémoire de magister en sciences vétérinaires

Option: hygiène et sécurité alimentaire

Présenté par: Dr. MOHAMMEDI SALIHA

*Contribution à la recherche des résidus de
pesticides organochlorés (DDT, lindane) dans
les graisses ovines dans les régions :
Alger, Laghouat, Djelfa et Adrar*

Soutenu le : 8 Juin 2009

Devant le Jury:

Melle. M.H. BENMAHDI

Mr. A. BAZ

Mr. T.M. HAMDI

Mr. D. MOHAMMEDI

Mr. A. BENOUDAH

Maître de conférences (A)

Professeur

Maître de conférences (A)

Maitre Assistant (A)

Maître de conférences (A)

ENSV. Alger

ENS. Kouba

ENSV. Alger

ENSV. Alger

Centre Universitaire de

Borj Bou Arreridj

Président

Promoteur

Co-promoteur

Examineur

Examineur

Année universitaire 2008 –2009

Avant propos

«L'homme n'est un homme qu'avec l'autre » selon Nietzsche. Cette phrase prend tout son sens quand il s'agit de présenter en son propre nom le fruit issu d'une réflexion intellectuelle exprimée notamment au cours des nombreuses années.

Ce travail a été réalisé au laboratoire central de l'intendance au sein du laboratoire de toxicologie et de l'environnement. En préambule, j'exprime toute ma gratitude et mes remerciements au Directeur du Laboratoire monsieur le colonel Djebairia Lemnaour pour m'avoir accueilli parmi son équipe et pour la confiance qu'il m'a témoignée.

Je remercie Melle Benmehdi. M H qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse. Hommage respectueux. Je suis sensible à l'honneur que me font Monsieur Benouadah Ali et Monsieur Mohammedi Dahmane en acceptant de juger ce travail de thèse et d'en être les rapporteurs.

Je remercie mon promoteur : M. Baz Ahcen, qui a accepté de m'encadrer. Un grand merci pour son aide scientifique, ses conseils et ses encouragements.

Je tiens tout particulièrement à remercier mon co-promoteur : Dr. Hamdi Taha Mossadak, pour son aide tout en me laissant beaucoup d'autonomie, sa patience, sa disponibilité, ainsi que ses encouragements permanents qui m'ont été d'un grand secours et m'ont permis, je l'espère, de rendre fructueuses ces années passées sous sa tutelle.

J'adresse tous mes remerciements à toute l'équipe du laboratoire pour l'accueil qu'ils m'ont réservé pendant les mois de réalisation de mon stage tout en espérant partager encore des travaux communs: en particulier M. Tourki M'hamed pour son aide technique.

Un grand merci à tous ceux qui ont pris un peu de leur temps pour m'exposer les principes de bases de disciplines qui m'étaient inconnues comme la chimie analytique je pense en particulier à : M^{me} Alamir Berkahoum ,M. Ahmed Zaid Toudert, M. Lehotay Steven, M. Covaci Adrian et M^{me} Bouderies Nadia pour les nombreuses discussions qui ont tourné autour de ce mémoire et pour m'avoir facilité la documentation dont j'avais besoin.

Je tiens à exprimer mes sentiments de reconnaissance à toutes les personnes qui par leur aide et leurs encouragements m'ont permis de réaliser ce travail je pense en particulier à M.Bouhous, M. Houichar, M. Boudjenah, M. Najib et M.Ouchache Fouad.

Je ne peux passer sans remercier chaleureusement mes très chers collègues (M^{me} Tass safia, Nassira, Hayet, Sihem, Wafa et Souhila) pour l'ambiance cordiale et l'aide qu'ils m'ont apporté à tout moment. Je leur souhaite à toutes une bonne continuation et une vie pleine de succès. Ma gratitude s'adresse également à tous ceux que je ne peux pas citer et à qui j'ai fait subir le stress depuis mes toutes premières années d'études. Je les remercie de m'avoir supporté et surtout d'avoir cru en moi.

Toutes mes pensées vont également vers mes parents, mes sœurs, mes frères mes beaux frères, mes nièces et mes neveux sans le soutien desquels je n'aurais jamais pu concrétiser toutes ces années d'études.

Merci les oubliés !

A la mémoire de ma grande mère Yamna et ma chère Zineb d'Illizi.

Mohammedi Saliha

Introduction	11
---------------------------	-----------

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Rappels bibliographiques

I.1. Historique	15
I.2. Production et consommation.....	18
I.3. Le marché mondial des pesticides	20
I.4. Classification des pesticides	21
I.4.1. Classification des pesticides selon la cible.....	21
I.4.1.1. Les Fongicides.....	22
I.4.1.2. Les insecticides.....	22
I.4.1.3. Les herbicides	22
I.4.2. Classification des pesticides selon la toxicité	24
I.5. Utilisation des pesticides	24
I.5.1. Usage en agriculture.....	24
I.5.2. Usage pour la santé animale	24
I.5.3. Usage pour la santé publique	24
I.5.4. Usage pour l'industrie	25
I.6. Effets indésirables des pesticides	25
I.6.1. Effets sur la santé humaine.....	25
I.6.2. Effets indésirables sur l'environnement	26
I.7. Homologation des pesticides.....	27

Chapitre II : La contamination alimentaire par les résidus des pesticides

II.1. Le comportement des pesticides dans l'environnement	29
II.2. Le potentiel du transfert des pesticides	31
II.2.1. Les paramètres extrinsèques.....	31
II.2.2. Les paramètres intrinsèques.....	31
II.3. Les résidus des pesticides dans l'alimentation.....	32
II.3.1. Définition d'un résidu	32
II.3.2. Les sources de la contamination alimentaire par les pesticides.....	32
II.4. Exposition des animaux aux pesticides	33
II.4.1. Les facteurs de la toxicité.....	33
II.4.2. Devenir des pesticides chez l'animal.....	34
II.5. Ingestion avec l'alimentation	35
II.6. Ingestion avec le sol	36

II.7. Ingestion avec l'eau	36
II.8. Les transferts entre les organismes et le milieu	36
II.9. Modélisation du biotransfert des pesticides.....	37

Chapitre III : Les pesticides organochlorés

III. Les contaminants organohalogénés.....	39
III.2. Les insecticides organochlorés	39
III.2.1. Structure Chimique	40
III.2.2. Classification des pesticides organochlorés	41
III.2.3. Propriétés.....	41
III.2.4. Toxicocinétique et accumulation dans l'organisme.....	43
III.2.5. Mode d'action des pesticides organochlorés	43
III.3. Le DDT.....	44
III.3.1. Présentation.....	44
III.3.2. Propriétés.....	45
III.3.3. Le résidu du DDT dans l'alimentation.....	45
III.4. Le lindane	46
III.4.1. Les propriétés physicochimiques	46
III.4.2. Le résidu du lindane dans l'alimentation.....	47

Chapitre IV: Application de la CG - SM dans la recherche des résidus de pesticides

IV.1. Principe de la détermination des résidus de pesticides.....	49
IV.2. Extraction.....	49
IV.2.1. Principe.....	49
IV.2.2. Extractions des produits riches en matières grasses.....	49
IV.3. La purification.....	50
IV.4. Détection des résidus de pesticides dans les extraits purifiés.....	51
IV.5. Les méthodes chromatographiques	51
IV.5.1. Le principe de la chromatographie gaz.....	51
IV.5.2. L'injecteur.....	52
IV.5.3. La colonne.....	52
IV.5.4. Le détecteur	53
IV.6. Le système GC-MS	53
IV.7. La spectrométrie de masse	54
IV.7.1. Principe.....	54

IV.7.2. Le principe de fonctionnement	55
IV.7.2.1. La source.....	55
IV.7.2.2. L'analyseur	55
IV.7.3. L'amplification et l'enregistrement	56

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I: Le contexte scientifique

I.1. L'enquête agrochimique	59
I.2.Diagnostic environnemental	60

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matériels et méthodes.....	62
II.1.1.L'échantillonnage	62
II.1.1.1. Choix des sites de prélèvements	62
II.1.1.2. Le prélèvement des échantillons	62
II.1.1.3. Nature de prélèvement	63
II.1.1.4. Caractérisations des échantillons	64
II.1.2. Appareillage	64
II.1.3. Produits et réactifs	67
II.1.4.Les exigences relatives aux réactifs et aux matériaux.....	67
II.1.4. 1.Distillation des solvants.....	67
II.1.4.2. Préparation des réactifs.....	68
II.2. Méthodes	69
II.2.1. Choix de la technique d'extraction	69
II.2.2. Principe	69
II.2.3. Méthode d'extraction.....	70
II.2.4. Méthode de purification par chromatographie d'adsorption.....	72
II.2.4.1. Préparation de la colonne	72
II.2.4.2. Préparation de l'éluant.....	72
II.2.4.3. Purification et concentration de l'extrait.....	72
II.2.5. Mise au point des conditions analytiques du dosage des standards	74
II.2.5.1. Choix des pesticides étudiés	74
II.2.5.2. Mise au point de l'appareil CG-SM.....	74
II.2.5.3. Vérification du vide.....	75
II.2.6. Injection des étalons analytiques.....	76
II.2.6.1. Lindane.....	76

II.2.6.2. DDT.....	76
II.2.6.3. Identification simultanée du DDT et du lindane dans le mélange.....	77
II.2.6.4. Identification du mélange standard par le deuxième programme.....	77
II.2.6.5. Identification du DDT technique par CG-SM.....	77
II.2.6.6. Identification du lindane à différentes concentrations	77
II.2.6.7. Vérifications des blancs d'analyse.....	77
II.2.7. Les essais préliminaires.....	78
II.2.7.1. Essai n°.....	78
II.2.7.2. Essai n°2.....	78
II.2.8. Analyse des échantillons	78

Chapitre III: Résultats

III.1. Résultats des injections des standards.....	80
III.1.2. Résultats des analyses des échantillons.....	93
III.1.2.1. Taux de détection dans la région d'Alger.....	94
III.1.2.1. Taux de détection dans les régions Laghouat, Djelfa et Adrar.....	94

Chapitre IV: Discussion

IV. Discussion	98
----------------------	----

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives.....	107
---------------------------------	-----

Références bibliographiques	111
--	-----

Annexes

Annexe I.	131
Annexe II.....	134
Annexe III.....	139

Liste des figures

Figure.1: Production mondiale des pesticides formulés	18
Figure.2: Utilisation des pesticides par région en 1993, basée sur les valeurs de ventes	19
Figure.3 : La répartition du marché mondial 2001 par catégorie de produits	20
Figure.4 : Les différentes interactions entre les pesticides et l'écosystème	30
Figure.5 : Modes de pénétration et du devenir des pesticides dans l'organisme	34
Figure.6 : Répartition de divers pesticides dans l'organisme (% retrouvés)	35
Figure.7 : Schéma représentatif du transfert entre les organismes et le milieu	36
Figure.8 : Structure chimique des pesticides organochlorés	40
Figure.9 : DDT et ses métabolites	44
Figure.10 : Molécule du lindane	46
Figure.11: Principales approches analytiques des résidus de pesticides	50
Figure.12 : Les différentes parties du chromatographe gaz	52
Figure.13 : Schéma d'appareil de couplage CG-SM	53
Figure.14 : Spectre de masse : représentation graphique	54
Figure.15 : Distribution de l'échantillonnage	63
Figure.16: Chromatographe Perkin Elmer de type Auto System XLGC – Turbo Mass Gold System	66
Figure.17 : Diagramme des différentes étapes de l'extraction	71
Figure.18 : Schéma représentatif des étapes de purification et de concentration	73
Figure.19 : Chromatogramme du standard de lindane	80
Figure.20 : Spectre de masse du standard du lindane	81
Figure.21 : Chromatogramme du standard de DDT	82
Figure.22 : Spectre de masse du standard du DDT	82
Figure.23 : Chromatogramme A du mélange standard DDT - Lindane	83
Figure.24 : Chromatogramme B du mélange standard DDT - Lindane	84
Figure.25 : Chromatogramme du DDT technique	85
Figure.26 : Chromatogramme du lindane a 1 mg. l ⁻¹	86
Figure.27 : Chromatogramme du lindane a 0.1 mg. l ⁻¹	87
Figure.28 : Chromatogramme du lindane a 0.05 mg. l ⁻¹	87
Figure.29 : Chromatogramme du lindane a 0.008 mg. l ⁻¹	88
Figure.30 : Chromatogramme typique d'un l'échantillon analysé sans ajout de pesticide	89
Figure.31 : Chromatogramme de l'échantillon dopé par 100 ppb de DDT	90
Figure.32: Chromatogramme de l'échantillon dopé par 50 ppb de DDT	90
Figure.33: Chromatogramme de l'échantillon dopé par 100 ppb de lindane	91
Figure.34 : Chromatogramme de l'échantillon dopé par 50 ppb de lindane	92
Figure.35 : Chromatogramme d'un des 4 échantillons de la région de Baraki	93
Figure.36 : Taux de détection dans la région d'Alger	94
Figure.37 : Taux de détection de DDT et de Lindane dans les autres wilayas	95
Figure.38 : Taux de détection global	96
Figure.39 : Evolution du taux de lindane dans les graisses de mouton Algérien	96

Tableau.1 : Ventes de produits agrochimiques réalisées par les 10 plus grandes firmes	21
Tableau.2 : Les différentes catégories de pesticides	23
Tableau. 3 : Exemple de classification des pesticides d'après leur toxicité aiguë DL_{50}	24
Tableau.4 : Quelques symptômes d'intoxication aiguë par les pesticides	25
Tableau.5 : Spectre d'action biocide de quelques produits phytosanitaires	26
Tableau.6 : Paramètres influençant le transfert des pesticides dans l'environnement	32
Tableau.7 : Les propriétés physiques et chimiques de quelques pesticides organochlorés	42
Tableau.8 : Répartition des stocks périmés par région	60
Tableau.9 : Récapitulatif des caractéristiques des échantillons par site	64
Tableau.10 : Les caractéristiques de la colonne capillaire	66
Tableau.11 : Lindane : temps de rétention et ions d'identification	81
Tableau.12 : DDT : Temps de rétention et ions d'identification	83
Tableau.13 : Récapitulatif des temps de rétention (DDT, Lindane)	84
Tableau.14 : Temps de rétention des deux molécules avec le deuxième programme	84
Tableau.15 : Taux de détection dans la région d'Alger	94
Tableau.16 : Taux de détection de DDT et de Lindane dans les autres régions	94
Tableau.16 : Taux de détection global	95

° C : Degré Celsius

AMM : Autorisation de la mise sur le Marché

Biocénose : En écologie, une biocénose (ou *bioceonose*) désigne l'ensemble des êtres vivants coexistant dans un espace défini (le biotope)

CG – SM : Chromatographie gaz couplée à la spectrométrie de masse

CI : Ionisation chimique

CL – SM : Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse

EI : Ionisation par impact électronique

EPA : Agence Américaine de la protection de l'environnement (Environment protection agency)

Ev : Electron volt

FAO: Food and Agriculture Organisation

FDA: Food and Drug Administration

IARC (CIRC): Centre International de Recherche sur le Cancer

ICI: Imperial Chemical Industries

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

g : gramme

Kg : kilogramme

Mesh : Unité de mesure 60 US Mesh correspond à 250 microns ,100 US Mesh correspond à 149 microns

Mg : Milligramme

ml : Millilitre

m : Minute

OC : Les organochlorés

OCDE : Organisation de Coopération et de développement économiques

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Pops : Les polluants organiques persistants

ppm : Partie par million (mg/kg)

ppb : Partie par billion (µg/kg)

t : Tonne

UIPP : Union des industries de la protection des plantes

WHO : World Health Organization (OMS : organisation mondiale de la santé)

µL : Microlitre

µg : Microgramme

ng : Nanogramme

Introduction

Introduction

Si l'emploi des pesticides s'est largement répandu ces dernières années, c'est ce que ces produits sont indispensables à la protection des aliments et des récoltes dont ils contribuent à améliorer la quantité, la qualité et la conservation (Mouilet., 1991).

Cet usage intensif a eu un impact significatif sur l'environnement et par conséquent sur les éléments de la chaîne alimentaire ; 300.000 personnes meurent chaque année par l'intoxication par les pesticides dans les régions rurales dans les pays en voie de développement. Les intoxications aiguës sont non significatives dans les pays développés, tandis que les effets à long terme par de faibles doses sont une source majeure de préoccupation (Eddleston et Bateman., 2007).

Dans le cas des pesticides organochlorés qui ont été considérés bénéfiques pour l'homme pendant plusieurs années, ils sont soupçonnés d'être des sources de contamination (Mouilet., 1991). Suite à de nombreuses études, la toxicité de ces produits a été mise en évidence. Cette toxicité a amené les états à limiter, contrôler, voire interdire l'usage de ces produits. En Europe, la plupart des denrées alimentaires sont soumises à un contrôle rigoureux visant à limiter la présence de produits organochlorés et particulièrement de pesticides en application des recommandations des directives de la Communauté Economique Européenne (directives n°86/363/CEE, 90/642/CEE et 2004/61/CEE). Malgré ces dernières actions, la stabilité de ces produits est telle que l'on continue à les détecter dans l'environnement, néanmoins les concentrations ont diminué graduellement jusqu'au niveau actuel de la limite de détection.

Le biomonitoring de la contamination par les pesticides et particulièrement par les polluants organiques persistants dans les différentes matrices (alimentaire et non alimentaire) constitue une préoccupation de nombreux laboratoires internationaux et fait l'objet de plusieurs publications aussi nous a-t-il paru primordial de s'intéresser à ce problème et plus particulièrement à l'évolution de la contamination de la graisse ovine par les insecticides organochlorés depuis les premières évaluations effectuées par Mr. Benouadah et Mme. Alamir en 1985.

Notre travail s'articule autour de deux grands axes :

1. Le premier est une partie bibliographique où seront développés quatre grands chapitres :
Le premier chapitre rappelle les différentes classes de pesticides ; leur utilisation, les données toxicologiques et la législation qui les régit.
Le deuxième chapitre décrit les mécanismes et les origines de la contamination des denrées alimentaires par les pesticides.

Introduction

Le troisième chapitre décrit les pesticides organochlorés, leurs principales familles, ainsi que leur toxicité.

Quant au dernier chapitre, il décrit les méthodes analytiques utilisées pour la recherche des résidus de pesticides dans les produits alimentaires.

2. Le deuxième axe correspond à notre travail expérimental dans lequel nous espérons atteindre deux objectifs principaux à savoir :

- § La maîtrise de la technique de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse et son application à la recherche des résidus de pesticides organochlorés dans le contrôle alimentaire.
- § L'appréciation qualitative et quantitative de la contamination des graisses ovines par les pesticides organochlorés provenant de différentes régions du pays.

Partie bibliographique

Chapitre I : Rappels bibliographiques

Le terme pesticide dérive du mot anglais «*Pest*» qui désigne tout animal, plante ou microorganisme (virus, bactérie, champignon, herbe, vers, mollusque, insecte, rongeur, oiseau et mammifères) susceptibles d'être nuisible à l'homme et à son environnement (Periquet., 1986 ; Mouillet., 1991 ; Waxman., 1998; Ramade., 2000 ; FAO., 2002) , et regroupe toute substance destinée pour protéger les cultures contre les ennemis ; ou bien utilisée pour l'assainissement des locaux, matériels et véhicules ; qui sert pour l'élevage des animaux domestiques ou encore de la collecte, le transport, le stockage ou le transport des produits d'origine animale ou végétale. Les pesticides appelés aussi produits phytosanitaires, produits agro pharmaceutiques ou bien mêmes produits antiparasitaires à usage agricole, sont très utilisés actuellement pour (Fournier., 1988 ; Waxman., 1998) :

- § Augmenter les rendements des cultures
- § Limiter les irrégularités de productions agricoles
- § Protéger les réserves alimentaires contre les parasites
- § Lutter contre les vecteurs de maladies
- § Protéger certaines espèces

La réglementation Européenne ne reconnaît pas le terme de pesticide, mais au contraire définit précisément les notions de biocide, de produit phytopharmaceutique et de produit antiparasitaire contre les ennemis des cultures (Timothy et *al.*, 2004).

I.1. Historique

Depuis très longtemps, la destruction des plantes a été attribuée à des causes magiques ou surnaturelles (Periquet, 1986). Les sauterelles étaient déjà l'une des sept plaies d'Egypte rapportées par le Coran ; Dieu a dit dans son livre saint « *nous avons éprouvé les gens du Pharaon par des années et par la pénurie de fruits afin qu'ils se remémorent* » (130) et « *nous leurs avons envoyé l'inondation, les sauterelles, la vermine, les grenouilles et le sang ; signes détaillés. Mais ils s'enflaient d'orgueil, et ils étaient des gens criminels* (133) » Sourate *El AÂRAF*.

L'homme a de tout temps essayé de protéger ses cultures et ses récoltes et si le travail manuel a joué un rôle important dans le maintien de l'état sanitaire des zones agricoles, la lutte chimique existe cependant depuis plus longtemps qu'on ne le croit habituellement. Ainsi, 1000 ans avant J.C, Homer connaissait les propriétés fongicides du soufre, 500 avant J.C, Démocrite protégeait les plantes par pulvérisation d'huile d'olive (Periquet., 1986) et 50 ans avant J.C, Pline recommandait l'arsenic pour tuer les insectes (Periquet., 1986; Kaushik et

Chapitre I : Rappels bibliographiques

Kaushik., 2006). Au XVI^{ème} siècle, les produits arsenicaux sont recommandés contre les fourmis et les vertus insecticides du tabac importé en Europe sont signalées dès 1690 par La Quintinie. En 1807, le sulfate de cuivre a été appliqué contre le carré du blé, et le chlorure mercurique a été proposé pour protéger le bois. La lutte chimique s'est développée à partir du milieu du XIX^e siècle, avec des produits d'origine naturelle comme la roténone (extraite des racines de *Derris*) et le pyrèthre (extrait de fleurs de chrysanthèmes). Jusqu' à la deuxième guerre mondiale, l'arsenal phytosanitaire sera essentiellement composé de substances minérales, de quelques composés organiques de synthèse (acide cyanhydrique, chloropicrine) ou d'origine naturelle (Tissu et *al.*, 1979). Les esters phosphoriques, parents d'insecticides organophosphorés, sont synthétisés vers 1854, un programme d'enquête sur les propriétés insecticides des composés phosphoriques, mené par Gerhard Schrader à la fin des années trente, a abouti à la synthèse du tabun et le sarin (GA, GB) les premières armes chimiques utilisées en guerre (Timothy et *al.*, 2004).

Après la première guerre mondiale, la priorité était à l'accroissement des rendements agricoles pour mettre fin à la pénurie alimentaire, l'utilisation des huiles de goudron et de pétrole, du cyanamide calcique et d'acide sulfurique qui ont constitué la pharmacopée de base des phytothérapeutes, a rapidement chuté au début de la 2^{ème} guerre mondiale avec l'arrivée du Dichloro-Diphényl-Trichloroéthane connu sous le nom DDT synthétisé en 1874 par Zeilder, dont les propriétés insecticides avaient été reconnues en Suisse vers 1939, et exploitées dès 1942 par la défense Américaine contre les vecteurs du typhus et de la malaria. L'histoire de sa production par les entreprises de Frank Mayo, puis par Geigy Co, a été racontée par Friedman (1992). Après l'armée, l'agriculture adopta l'utilisation du DDT vers 1943 et dès les années suivantes, des mises en garde furent lancées contre les effets nocifs du produit. Un déclin des populations de grives, d'aigles chauves, d'orfraies et de mammifères consommateurs de poissons fut constaté à partir des années 50 et dénoncé par Rachel Carson dans son célèbre appel du « *Silent spring* » ou « Printemps silencieux » de 1962 (Bounias., 1999).

En 1943, Templeman et Sexton découvrent en Grande Bretagne le premier herbicide systémique et sélectif qui est le 2,4 D. L'hexachlorocyclohexane (HCH) a été massivement utilisé contre le criquet, les hannetons et les doryphores. Ensuite des produits à effet insecticide comme le méthoxychlore, le chlordane ou même le lindane ont été introduits dans les années 1945 et 1946. En 1948, le prix Nobel de médecine a été attribué à Paul Müller, attaché au laboratoire des usines Geigy à Bâle pour avoir précisé l'action insecticide du DDT.

Chapitre I : Rappels bibliographiques

En 1950, la pénurie de cuivre et de soufre pendant la guerre a suscité de nombreuses recherches organiques : des fongicides tels l'hexachlorobenzène et le quintozone pour le traitement des semences, des rodenticides dérivés de l'hydroxycoumarine ; des insecticides organophosphorés ou chlorés comme le parathion, le malathion, l'aldrine et la dieldrine, des désherbants sélectifs de la famille des aryloxyacides (El Bakouri., 2005).

En 1951, la compagnie Standard Oil a introduit le captane ; un an après, de nouveaux produits sont présentés l'Endrine et l'Heptachlore. En 1956, l'industrie met au point le toxaphène et les polychlorocamphanes comme des produits insecticides du colza. Ensuite en 1959, le groupe britannique ICI (l'un des acteurs majeurs du secteur de la chimie au plan international) a introduit deux herbicides : le diquat et paquat qui sont très toxiques avant un an de la découverte de l'effet insecticide de l'endosulfan. Après de nouveaux produits herbicides permettant de résoudre les problèmes difficiles de désherbage de la betterave et du colza et de lutter contre le vulpin et la folle avoine dans les céréales ont été synthétisés : phosalone, fénitrothion, diméthoate, doguadine (El Bakouri., 2005).

En 1966 Du Pont et ICI découvrent les premières fongicides systémiques à action curative. L'année 1969 a vu les retraits d'homologation pour un certain nombre d'usages d'insecticides organochlorés (aldrine, dieldrine, heptachlore, chlordane, DDT, HCH (WWF., 1998). Mais malgré cette initiative, le DDT est encore en utilisation aujourd'hui et l'arrêt complet de sa production mondiale est prévu pour 2007 (WHO., 1982).

En 1972, les chercheurs ont trouvé une nouvelle famille des benzoylphénylurées offrant un nouveau mode de limitation des populations d'insectes indésirables (en agissant sur la biosynthèse de la chitine) différents de celui des organochlorés et des organophosphorés qui sont des neuroactifs. En 1974, Roussel Uclaf en France a produit la deltaméthrine (pyréthrinoïdes). Ce produit actif à faible dose et relativement inoffensif pour les mammifères, a bouleversé le marché des insecticides. En 1977, Rhone Poulenc a fait sortir le phoséthyl aluminium (Fongicide) qui offre un nouveau type de lutte en stimulant la production de substances fongitoxiques par la plante infectée (Timothy et *al.*, 2004).

Malheureusement le développement de produits systémiques a induit l'apparition rapide de résistances qu'on a pu prévenir. Ainsi, 17 nouvelles espèces résistantes au bénomyl (introduit en 1967) ont été recensées. Ensuite, la recherche s'est orientée vers la mise au point de propesticides susceptibles de restituer le pesticide dans les conditions d'utilisation par hydrolyse, photolyse ou métabolisation, moins toxiques pour l'homme et les mammifères, et plus faciles à conserver et à manipuler (Bounias., 1999).

A partir des années quatre-vingt dix, le grand nombre de produits commercialisés et les exigences réglementaires (homologation, normalisation) ont rendu la compétition entre les industries phytosanitaires de plus en plus sévère. Les industriels préfèrent axer leurs efforts sur la vente d'un seul produit optimisé pour un usage bien ciblé plutôt que de se lancer dans la fabrication simultanée des autres produits. Pour cette raison, les recherches sont actuellement de plus en plus orientées vers le perfectionnement des méthodes d'analyses de résidus pour la surveillance et le contrôle de la qualité des eaux et des aliments et à la protection et la réhabilitation de l'environnement et des ressources naturelles (El Bakouri., 2006).

I.2. Production et consommation

La production mondiale de produits phytosanitaires a connu une croissance considérable depuis la fin de la deuxième guerre mondiale (figure.1).

Une tendance au ralentissement est observée depuis les années 1990 dans les pays développés (Ramade., 2000 ; Carvalho., 2006 ; INRA., 2006).

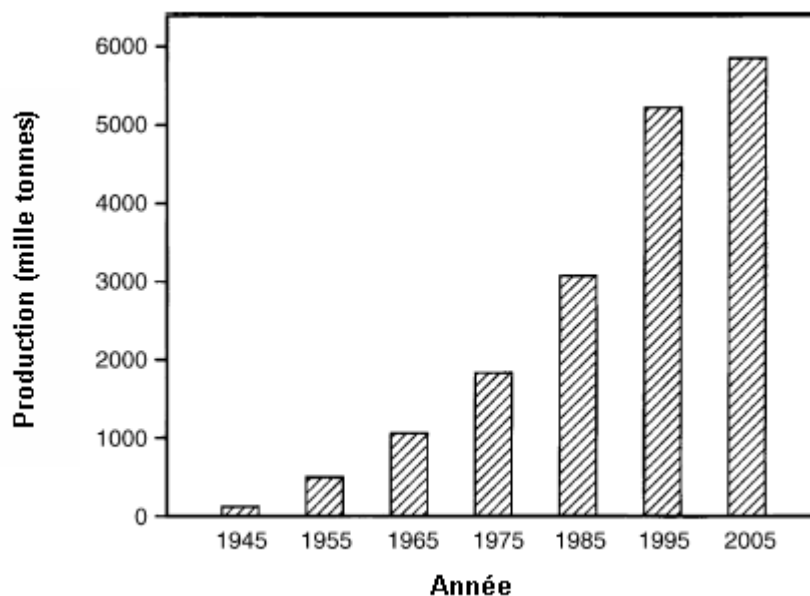


Figure.1: Production mondiale des pesticides formulés (Les données 2005 sont estimées)

(Source : Agrochemical service., 2000).

Elle liée en partie à (INRA., 2006) :

- § La découverte de substances plus efficaces nécessitant donc des quantités épandues plus faibles (quelques g /ha pour les sulfonilurées)
- § La mise en œuvre et à l'évolution de la réglementation
- § La mise en place progressive de l'agriculture raisonnée
- § L'interdiction de certaines substances (cas des insecticides organochlorés dans la

Chapitre I : Rappels bibliographiques

plupart des pays développés).

En outre la consommation de pesticides continue à s'accroître à l'échelle mondiale à un rythme supérieur à la production agricole. Cette croissance résulte d'une augmentation continue de leur usage dans les pays en voie de développement. Ces derniers continuent à utiliser massivement les substances anciennes, de toxicité et d'impact environnemental élevé cette croissance est particulièrement spectaculaire ; qui fait du Brésil et de la Chine des exportateurs nets de pesticides. Quant à l'Inde, elle est le premier producteur mondial de DDT, lequel est interdit dans la plupart des pays de l'OCDE (Ramade., 2000). Par ailleurs, l'utilisation des pesticides varie en fonction des régions : en Amérique du Nord et en Europe de l'ouest le désherbage, en raison de son coût élevé lorsqu'il se fait manuellement, s'effectue exclusivement par des herbicides, contrairement en Asie de l'Est et de l'Amérique latine où ils sont beaucoup moins employés (Figure.3). Dans les régions tropicales, où les insectes et les parasites des plantes sont plus fréquents, des pesticides sont généralement appliqués massivement aussi bien dans les petites fermes que dans les plantations industrielles (banane, café, maïs et coton). Ainsi des concentrations relativement élevées de résidus de pesticides, particulièrement des composés organophosphorés et organochlorés sont retrouvés dans le sol, l'atmosphère et dans l'environnement aquatique (Carvalho *et al.*, 1997).

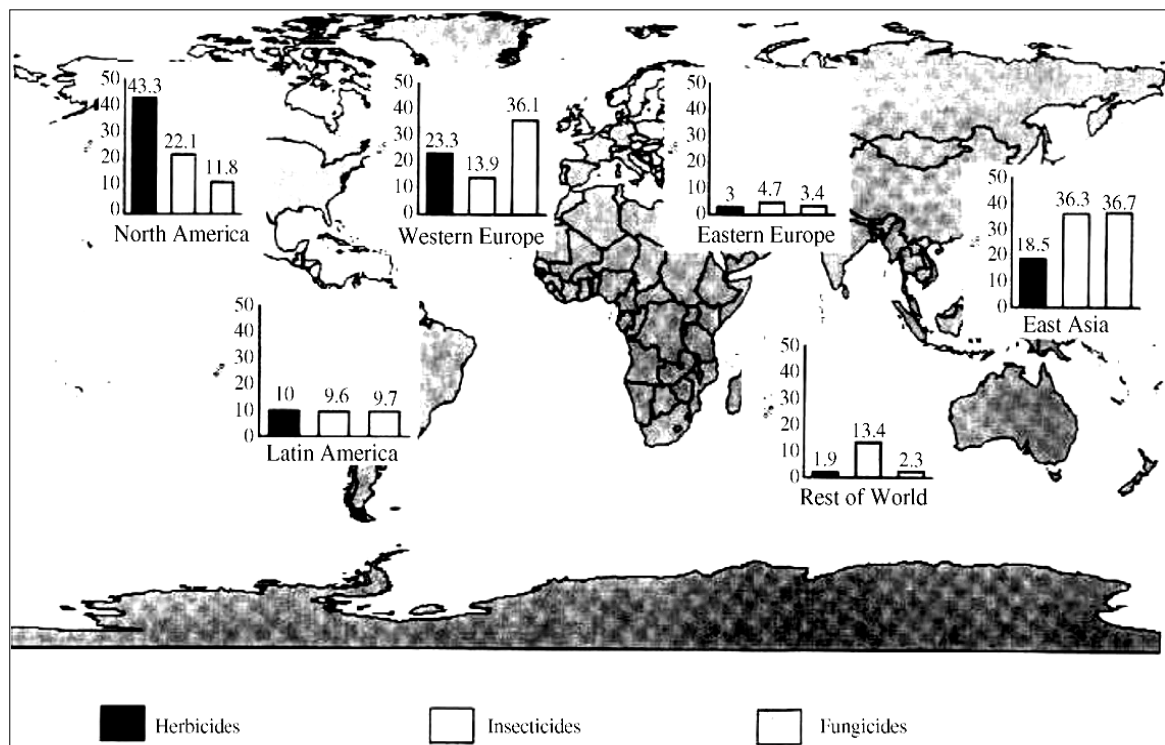


Figure.2: L'utilisation des pesticides par région en 1993, basée sur les valeurs de ventes (Carvalho *et al.*, 1997).

I.3. Le marché mondial des pesticides

L'emploi des pesticides, dans le monde entier a connu une croissance constante tout au long des années 1970- 1980 de l'ordre de 5% par an. L'utilisation des pesticides a baissé pour atteindre au niveau de la consommation, le chiffre estimatif de 25.2 milliard de dollars en 1992 alors qu'elle avait atteint 26.8 milliards de dollars en 1991.

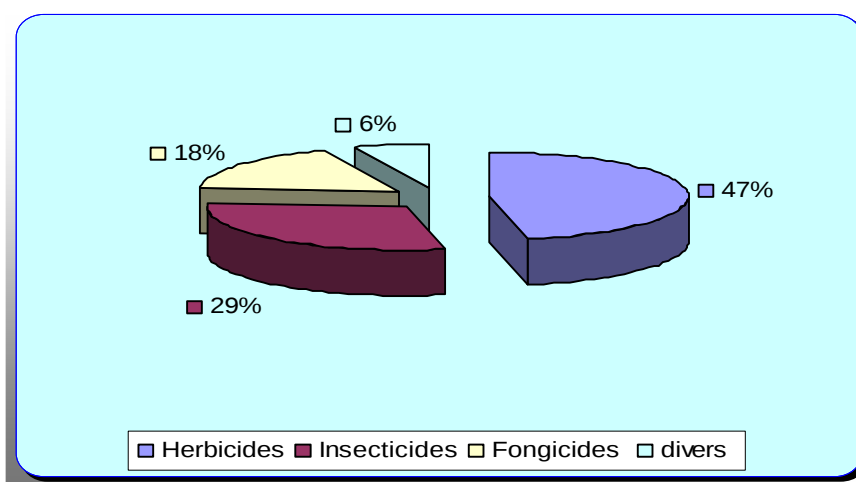


Figure.3 : La répartition du marché mondial 2001 par catégorie de produits
(UIPP., 2003)

Le tableau.1 donne la liste des dix plus grands fabricants de produits agro- chimiques du monde, la majorité de ces sociétés occupent des créneaux des produits chimiques industriels, des produits vétérinaires, des produits pharmaceutiques. Le nombre de fabricants a diminué ces dernières années par suite des regroupements motivés, par les coûts élevés de la recherche de nouvelles matières actives. On a assisté à des fusions et à des rachats internationaux entre ces fabricants (Ciba-Geigy et Sandoz ont formé la société Novartis Crop Protection (McEwan et Deen., 1997).

Chapitre I : Rappels bibliographiques

Tableau.1 : Ventes de produits agrochimiques réalisées par les 10 plus grandes firmes -1996
(Source : Agro : World Crop Protection News., 1997)

Firme	Vente (millions de dollars US)	Variation par apport à 1995 (en %)
Novartis	4527	+4.5
Monsanto	2997	+22.3
Zeneca	2630	+11.3
Agrevo	2493	+6.4
Du Pont	2472	+6.5
Bayer	2360	+1.2
Rhône -Poulenc	2210	+6.7
Dow Elanco	2000	+1.9
Cyanamid	1989	+1.1
BASF	1541	+8.4

I.4. Classification des pesticides

La diversité et l'hétérogénéité des pesticides synthétisés à travers le monde rendent difficile toute classification (Timothy et *al.*, 2004 ; Picó et *al.*, 2004). Mais ils peuvent être classés selon :

- § La nature chimique
- § Les activités biologiques (cible)
- § La destination
- § Le mode de pénétration dans le ravageur
- § L'utilisation
- § L'époque d'application

I.4.1. Classification des pesticides selon la cible

Il existe de nombreux groupes de pesticides en considérant seulement un des groupes, on se trouve devant une extraordinaire diversité de familles chimiques et dans chaque groupe on distingue deux sous groupes qui sont : les produits inorganiques et les produits organiques (naturels ou synthétiques). Le tableau 2 montre les principales familles des insecticides, des herbicides et des fongicides (Clu., 1991 ; Viala., 1998 ; Winter., 2000 ; Lauwerys., 2007).

I.4.1.1. Les Fongicides

Servent à combattre la prolifération des champignons phytopathogènes, ils permettent de lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent de graves maladies aux végétaux cultivés. Le mildiou de la pomme de terre, celui de la vigne, les charbons et les rouilles de céréales, représentaient autrefois de véritables fléaux. Les plus anciens fongicides connus sont des sels cupriques, le soufre et certains de ses dérivées minéraux.

I.4.1.2. Les insecticides

Les insecticides forment le groupe de pesticides qui représentent le plus de risques pour l'homme et beaucoup d'entre eux ont la propriété d'être toxiques par contact car ils traversent très facilement leurs téguments cuticulaires des insectes. Les principaux insecticides sont :

- § Les organochlorés
- § Les organophosphorés
- § Les carbamates
- § Les dérivés de végétaux et autres produits

I.4.1.3. Les herbicides

Ils permettent d'éliminer les mauvaises herbes adventices des cultures, les plus représentées sont les carbamates, les urées substituées, les triazines, les phytohormones (2,4-D) et les amides.

Toujours selon la classification selon la cible visée, on distingue :

- § Les acaricides (contre les acariens)
- § Les nématocides (toxiques pour les nématodes)
- § Les rodenticides (contre les rongeurs)
- § Les taupicides (contre les taupes)
- § Les mollucides (contre les mollusques, limaces, escargots)
- § Les corvicides et les corvifuges

Chapitre I : Rappels bibliographiques

Tableau.2 : Les différentes catégories de pesticides (Chavéron., 1999)

pesticides	prédateur	origines	Nature chimique
<u>Insecticides</u>	Animaux insectes	Minérale	Arsenicaux : arsénates As^{+5} de Pb, Ca et Al, arsénites (As^{+3}) de Na Fluorés : fluosilicate de Ba
		Végétale	Nicotine : extrait du tabac Roténone : extrait des racines d'arbres ou d'arbustes de régions tropicales genre <i>Derris</i> famille papilionacées espèces cultivées <i>D. elliptica</i> ou <i>tuba</i> Pyréthrine : poudre de fleurs de chrysanthème (pyrèthre de Dalmatie) (<i>chrysanthemum cinerariaefolium</i>)
		De synthèse	Organochlorés : aldrine, dieldrine, DDT méthoxychlore, hexachlorocyclohexane (HCH) et hexa chlorobenzène (HCB) Organophosphorés : malathion, parathion, tétrachlovinphos, dichlorvos. Carbamates : carbaryl
<u>Rodenticides</u>	Rongeur		Strychnine : anticoagulant
<u>Corvicides corvifuges</u>	Corbeau		Strychnine Goudrons d' houille (corvifuges)
	Nématodes		Dichloropropane : DP, oxyde d'éthylène, sulfure de carbone Métaldéhyde : utilisé sous formes d'appâts. Ce produit exerce une très forte attirance sur les mollusques. La mort survient rapidement après ingestion ou simple contact
<u>Hélicidés</u>	Limaces-escargot		Roténone : les végétaux traités à la roténone sont protégés
<u>Fongicides</u>	Végétaux Champignons	Minérale	Cu^{++} , soufre
		De synthèse	Organomercuriques : dithiocarbamate (zinebe). Oxyquinoléates de Cu, captane, bénomyl (systémique)
<u>Herbicides</u>	Mauvaises herbes	Minérale	Chlorate de sodium $NaClO_3$
		De synthèse	Dérivés du phénol et du crésol, DNP dinitrophénol, dinitroorthocrésol 2,4 D et 2, 4,5 T

Où: **Pb** (plomb), **Ca** (calcium), **Al** (aluminium), (**As**) arsenic, **Na** (sodium), **Ba** (baryum), **Cu** (cuivre)
T (trichlorophénoxyacétique).

Chapitre I : Rappels bibliographiques

I.4.2. Classification des pesticides selon leur toxicité

La dose létale pour 50 (DL₅₀) calculée chez le rat, exprime la toxicité aigue d'un produit, a permis de classer les pesticides en quatre classes (Tableau 3).

Tableau.3 : Exemple de classification des pesticides d'après leur toxicité aigue DL₅₀
(WHO., 2005)

<u>Classe</u>	<u>DL₅₀ (rat) mg/ kg de poids corporel</u>			
	<u>Par voie orale</u>		<u>Par voie dermique</u>	
	<i>Solide</i>	<i>Liquide</i>	<i>Solide</i>	<i>Liquide</i>
I_a : Extrêmement dangereux	5 ou moins	20 ou moins	10 ou moins	40 ou moins
I_b : Très dangereux	5- 50	20-200	10-100	40-400
II : Modérément dangereux	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
III : Plus dangereux	Plus de 500	Plus de 2000	Plus de1000	Plus de4000

I.5.Utilisation des pesticides

I.5.1. Usage en agriculture

Même si les grandes famines tendent à disparaître, la pénurie alimentaire reste de manière chronique et constitue un des problèmes majeurs de notre temps. On estime que 50 % de la population mondiale ne reçoit pas une ration suffisante ; l'Afrique étant le continent le plus touché (Gilles., 1991), la solution à ce problème impose l'augmentation de la rentabilité des cultures, l'homme doit donc protéger ses récoltes contre les ravageurs et en même temps accroître la productivité de ses cultures. En effet la production agricole mondiale subit une baisse de 40% due aux dégâts des parasites et des ravageurs de cultures (Gilles., 1991). Ces pertes sont plus importantes dans les pays en voie de développement. En Afrique, la production agricole subit une perte annuelle de 42 % dont 13% due aux insectes, 13% aux maladies fongiques et 16 % aux mauvaises herbes selon le même auteur.

I.5.2. Usage pour la santé animale

Un certain nombre de maladies du cheptel ovin et bovin surtout, est traité par des insecticides et des acaricides en l'occurrence, la gale et la teigne. La désinfection des locaux d'élevage entre aussi dans ce cadre, elle se fait par le phosphore d'aluminium et le phosphore de zinc.

I.5.3. Usage pour la santé publique

Ces composés jouent un rôle non seulement en agriculture, mais aussi dans le domaine de la santé publique pour lutter contre les vecteurs des maladies infectieuses (Viala., 1998) tel que la malaria, l'onchocercose et la leishmaniose. En Algérie un programme de lutte contre le

Chapitre I : Rappels bibliographiques

paludisme à été mis en place de 1968 à 1977, la phase d'attaque avait pour objectif d'atteindre en espace de trois ans l'interruption de la transmission. Cette phase qui s'est déroulée graduellement par zone géographique opérationnelle en commençant par l'est du pays, région la plus endémique, a démarré en 1968 annonçant le départ de la campagne d'éradication proprement dite. Cette phase comportait l'épandage systématique d'insecticides (DDT) dans l'Est et dans l'Ouest combiné à l'administration de médicaments antipaludiques (Abid., 2006).

I.5.4. Usage pour l'industrie

C'est un usage moindre par rapport à l'usage agricole et animalier, il concerne surtout le stockage des denrées alimentaires et des produits altérables par l'attaque de certaines moisissures (conservateurs, anti germinatifs).

I.6. Effets indésirables des pesticides

Les pesticides peuvent avoir de sérieux effets sur la santé humaine et sur l'environnement.

I.6.1. Effets sur la santé humaine

Il est classique de distinguer plusieurs types d'intoxications ; aiguë ou sub -aiguë, chronique et à long terme.

Toxicité aiguë ou subaiguë

Elle correspond à l'absorption massive d'une seule dose (Periquet., 1986) le plus souvent par les fongicides (éthyle et éthyle mercure, l'Hexachlorobenzène(HCB) et les organophosphorés (Chavéron., 1999), les tableaux cliniques ainsi observés sont résumés dans le tableau 4.

Tableau.4 : Quelques symptômes d'intoxication aiguë par les pesticides (Periquet., 1986)

Pesticides	Symptômes
Pesticides organochlorés	Troubles digestifs (vomissement, diarrhée) Troubles neurologiques (céphalées, convulsion)
Pesticides organophosphorés Carbamates	Effets anticholinéserasiques
Pesticides divers	Prolifération de cellules fibroblastiques (poumons, tube digestif) Asphyxie (dérivés de dipyridylum) Troubles neurologiques Accidents hémorragiques (anticoagulants)

Toxicité chronique et à long terme

Chapitre I : Rappels bibliographiques

Elle survient à la suite d'absorption de faibles doses durant plusieurs jours, plusieurs mois voire plusieurs années, elle se manifeste par des effets très divers. Certaines études auraient montré des effets carcinogènes, mutagènes, neurotoxiques, tératogènes et immunodépressives (Hayes., 1991 ; Ramade., 2000) ou au contraire immunostimulants (allergie) (Ramade., 2000). Certaines molécules perturbent le système hormonal et immunitaire de l'homme, la réduction du nombre de spermatozoïdes pourrait également être un des symptômes d'une contamination chronique par les produits phytosanitaires (Le Blanc., 1995).

I.6.2. Effets indésirables sur l'environnement

Ecotoxicologie

Lors d'une application, une proportion importante du produit n'atteint pas la zone traitée, elle dérive et se dépose dans des écosystèmes plus au moins éloignés. Suivant les conditions météorologiques et les modes d'application, on constate qu'en moyenne 25 % à 75 % des produits phytosanitaires ne se déposent pas sur les cultures (Aaron et *al.*, 2001). La pollution par les pesticides se traduit par diverses perturbations écologiques qui résultent de la contamination des parties aériennes des végétaux et des sols par les résidus des traitements. Ces perturbations présentent des conséquences néfastes pour les espèces et les biocénoses (Ramade., 1995) ; ainsi un composé doté d'une action spécifique sur une seule espèce de la biocénose pourrait induire de profondes modifications sur l'ensemble de l'écosystème (tableau 5).

Tableau.5 : Spectre d'action biocide de quelques produits phytosanitaires (Ramade., 2000)

Composé	Type	Bactéries	Champignons	Phytoplancton et algues	Plantes supérieures	Insectes Et/ou autres invertébrés
Lindane	insecticide	++	++	+++	++	++++
Aldicarbe	insecticide	++	+	+	+	+++++
2,4 D	herbicide	+++	+	++++	+++++	+++
Chlortoluron		++	+	+++++	+++++	+
Bénomyl	herbicide	++	+++++	++	+	++++
	fongicide					

Bioaccumulation

Toute substance qui contamine le milieu naturel peut être concentrée par les êtres vivants grâce aux échanges permanents avec le milieu extérieur et aux divers processus métaboliques. La bioaccumulation et la biomagnification sont associées aux composés lipophiles résistants à la dégradation (Clu., 1991).

Accoutumance et phénomène de résistance

Il a été observé avec le temps un phénomène de résistance chez les insectes ravageurs et certaines herbes, c'est le cas de sauterelles africaines par exemple (Sharpe., 1999). Face à cette adaptation de la nature, on assiste à une prolifération de nouvelles molécules de pesticides ce qui contribue non seulement à augmenter les agressions vis-à-vis du milieu récepteur naturel, mais également à augmenter les mutations génétiques. De plus, nous savons très peu de sujet sur le comportement environnemental de ces produits chimiques et leurs effet sur la santé humaine (Sharpe., 1999; EEA., 2005).

I.6.3. Coût élevé des techniques d'analyses

L'un des plus grands problèmes au niveau analytique est que le suivi des pesticides au niveau de l'environnement est complexe. D'une part, cela demande des techniques d'analyses spécifiques coûteuses, d'autre part il existe une grande diversité de matière active nécessitant des capacités analytiques très différentes. Certaines matières actives sont très difficiles à analyser car elles ont des caractéristiques physicochimiques qui rendent leur extraction ou leur détection difficiles. Le problème devient encore plus complexe si l'on s'intéresse à l'analyse des produits de dégradation qui peuvent être plus toxiques que le pesticide lui-même (Feinberg et *al.*, 2006 ; El Bakouri., 2006).

I.7. Homologation des pesticides

En Algérie, avant d'être commercialisés, les produits phytosanitaires doivent faire l'objet d'une évaluation précise des risques pour l'homme, l'environnement et les cultures. Si le produit satisfait aux exigences réglementaires, une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) est délivrée par le Ministère de l'Agriculture et du développement rural. Cette autorisation est accordée par produit et par usage pour une durée de 10 ans et elle est renouvelable, l'AMM peut être modifiée ou retirée si des risques inacceptables avérés sont mis en évidence (Décret exécutif n° 99-156).

Chapitre II: La contamination alimentaire par les pesticides

II.1. Le comportement des pesticides dans l'environnement

Les recherches consacrées à la dispersion des pesticides dans l'environnement n'ont réellement commencé qu'après avoir constaté que ces produits avaient contaminé de vastes zones de la biosphère non directement soumises aux traitements (Lefeuvre., 1986). En raison des échanges permanents entre les trois compartiments de l'environnement (air, sol et eau), un pesticide introduit dans l'un d'entre eux peut contaminer les deux autres.

L'insertion des pesticides dans les réseaux trophiques n'est plus à démontrer. Elle concerne en dernière analyse l'homme qui se trouve particulièrement exposé car notre espèce est située, ne l'oublions pas, au sommet de la pyramide écologique c'est la raison pour laquelle la contamination de l'alimentation humaine constitue un des problèmes d'environnement les plus préoccupants (Ramade., 1979 ; Barceló et Hennion., 1997 ; Taylor et *al.*, 2003).

La figure.4 représente les différentes interactions qui peuvent avoir lieu entre les pesticides et l'écosystème (Angers., 1986).

Chapitre II : La contamination alimentaire par les pesticides

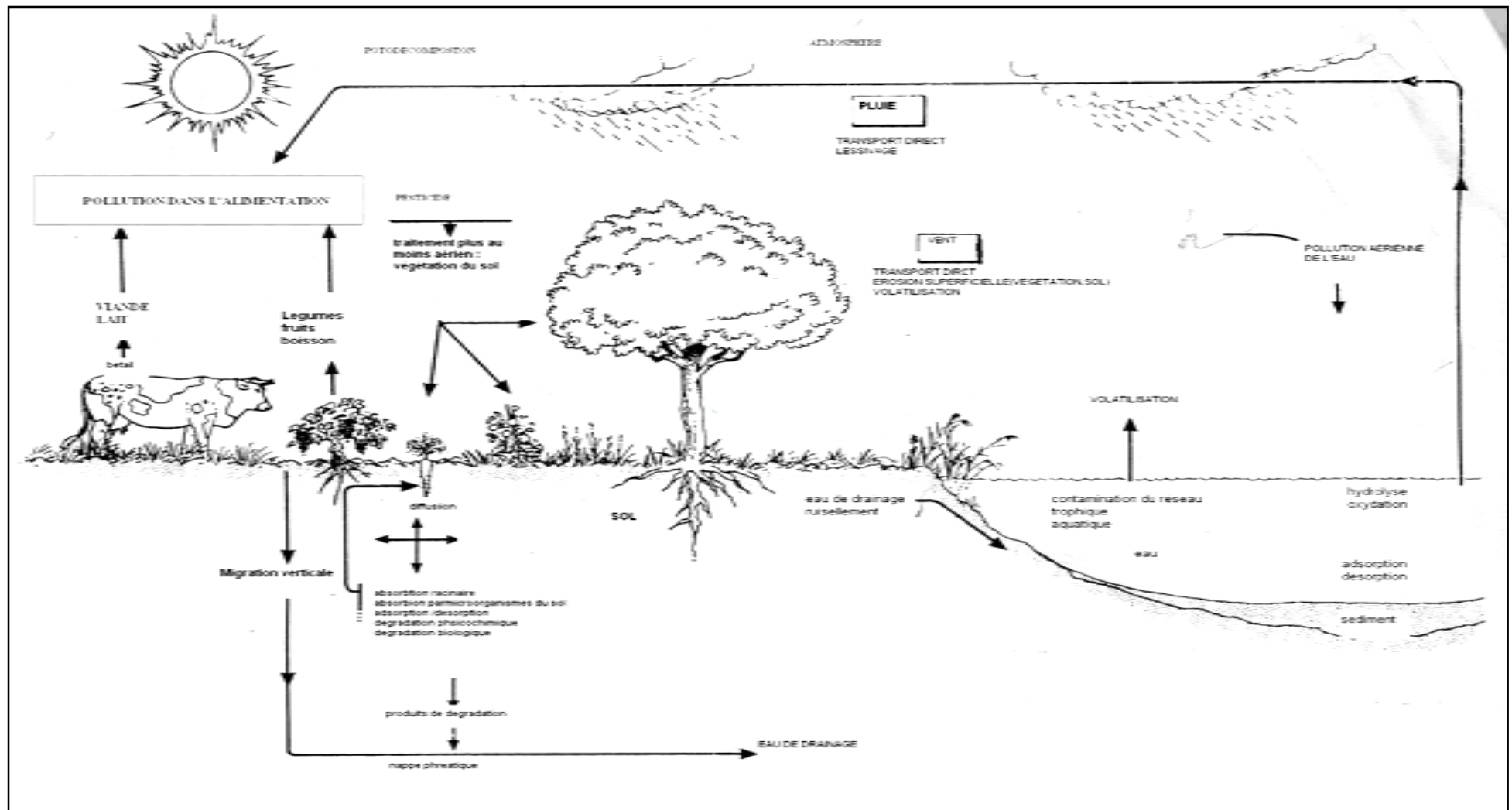


Figure.4 : Les différentes interactions qui peuvent avoir lieu entre les pesticides et l'écosystème (Angers., 1986)

II.2. Le potentiel de transfert des pesticides

Les phénomènes de transfert qui affectent les produits phytosanitaires sont très complexes et les réactions possibles de l'écosystème à leur présence sont largement méconnues (Weber., 1991). Ces phénomènes mettent en jeu plusieurs paramètres intrinsèques et extrinsèques.

II.2.1. Les paramètres extrinsèques

Les substances introduites dans le milieu naturel vont disparaître plus ou moins rapidement ou changer de milieu par diverses voies naturelles :

- § Adsorption
- § Volatilisation
- § Oxydation
- § Hydrolyse
- § Biodégradation
- § Métabolisme.

Cependant, c'est surtout les caractéristiques physicochimiques et la formulation des pesticides qui déterminent leur biodisponibilité et par conséquent leur absorption, leur dégradabilité et leur activité biologique (Narbonne., 2002).

II.2.2. Les paramètres intrinsèques

Le potentiel de transfert des produits phytosanitaires peut être évalué à partir de quelques propriétés physicochimiques (Milne., 1994 ; Calvet et *al.*, 1996 ; Mouvet., 1996).

- § Le temps de demi-vie : correspond à la durée au bout de laquelle la moitié de la substance initialement introduite est dégradée, cette propriété donne une indication sur le temps de la persistance dans le sol, l'eau et l'air.
- § La solubilité dans l'eau : indique la tendance du produit à être entraîné sous la forme dissoute ; le plus souvent mesuré à une pression réduite.
- § Le coefficient de partage octanol /eau (K_{ow}) : il rend compte de la tendance d'une molécule à s'accumuler dans les membranes biologiques des organismes vivants, si le K_{ow} est élevé, le risque de la bioaccumulation est important.
- § Le coefficient de partage sol /eau (K_d) : donne une indication sur l'aptitude d'une molécule d'être absorbée ou désorbée sur la matière active organique.
- § La constante d'Henry (K_H) : rend compte de la volatilité d'une substance.

Chapitre II : La contamination alimentaire par les pesticides

Les paramètres qui influencent cette dispersion sont résumés dans le tableau 6.

Tableau.6 : Paramètres influençant le transfert des pesticides dans l'environnement
(Lefevre., 1986)

Paramètres			
Climatiques	Biologiques	Phénomènes physicochimiques	Propriété de pesticide
-Température -Pluviométrie -Vent	- Biodégradation -Absorption par les êtres vivants -Accumulation dans les réseaux trophiques	-Ruissellement -Lessivage -Adsorption/désorption	-Tension de vapeur -Solubilité - Chaleur latente de vaporisation - Stabilité (UV, pH) - Coefficient du distribution (eau/lipide)
			Type de formulation

II.3. Les résidus des pesticides dans l'alimentation

II.3.1. Définition d'un résidu

Un résidu de pesticide peut être considéré comme la quantité de ce pesticide se trouvant dans l'aliment au moment de sa consommation (Chavéron., 1999).

Les résidus d'un produit phytopharmaceutique sont définis par la directive communautaire 91/414/CEE du 15 juillet 1991, comme suit : *« il s'agit d'une ou plusieurs substances présentes dans ou sur des végétaux ou produits d'origine végétale, des produits comestibles d'origine animale, ou ailleurs dans l'environnement, et constituant le reliquat de l'emploi d'un produit pharmaceutique , y compris leurs métabolites et produits issus de la dégradation ou de la réaction ».*

II.3.2. Les sources de la contamination alimentaire par les pesticides

La pollution de l'alimentation provient de différentes sources (Periquet., 1986 ; Ramade., 2000) :

- § L'environnement par les produits chimiques fabriqués par l'industrie, ceci rejoint le problème général de la pollution de l'environnement par les effluents industriels rejetés après usage.

§ Les résidus d'opérations de traitements des cultures ; c'est la voie la plus importante de la présence des pesticides dans l'alimentation qu'il s'agisse de traitement phytosanitaires ou vétérinaires.

§ L'industrie alimentaire ajoute à notre alimentation certains composés dont des pesticides autorisés (conservateurs, anti germinatifs).

La principale source d'inquiétude pour la santé publique demeure les résidus de pesticides dans les aliments ; elle concerne un grand nombre d'individus sur une longue période (Chavéron., 1999).

II.4. Exposition des animaux aux pesticides

Tenant compte de la durée de vie relativement longue des ruminants domestiques, les pesticides peuvent s'accumuler dans leurs tissus pendant plusieurs années. En outre, le fait que certains, tels que les moutons et autres animaux du bétail, mobilisent les graisses pour fournir les nutriments de la croissance fœtale et de la production laitière, leurs progénitures sont susceptibles d'être exposées à des taux élevés. Il y a peu d'études sur la concentration des pesticides dans les tissus des animaux domestiques (Feil., 1996 ; Boerjen et *al.*, 2002). Les principaux probables voies de cette exposition demeurent via la nourriture et via l'eau mais une exposition par inhalation ou l'absorption à travers la peau dans certaines circonstances est possible.

II.4.1. Les facteurs de la toxicité

La toxicité des pesticides dépend d'un certain nombre de facteurs parmi lesquels nous citerons :

§ La nature de la formulation (solide, liquide ou gaz)

§ Les moyens d'application et d'emploi (pulvérisation, dispersion)

§ Les conditions d'utilisation.

Mais le facteur principal qui conditionne la toxicité de ces produits concerne le mode de pénétration et le devenir du produit dans l'organisme (figure.5) (Lefeuvre., 1986 ; Periquet., 1986).

§ La pénétration par la voie respiratoire est la plus redoutable car l'air pulmonaire et le sang circulant sont directement en contact.

§ La pénétration par voie cutanée dépend de l'affinité du produit (liposolubilité) pour la barrière cutanée, de l'état de la peau et de la surface exposée.

§ La pénétration digestive est exceptionnelle pour des quantités importantes mais d'une importance capitale pour les ingestions répétées de petites quantités (Periquet., 1986).

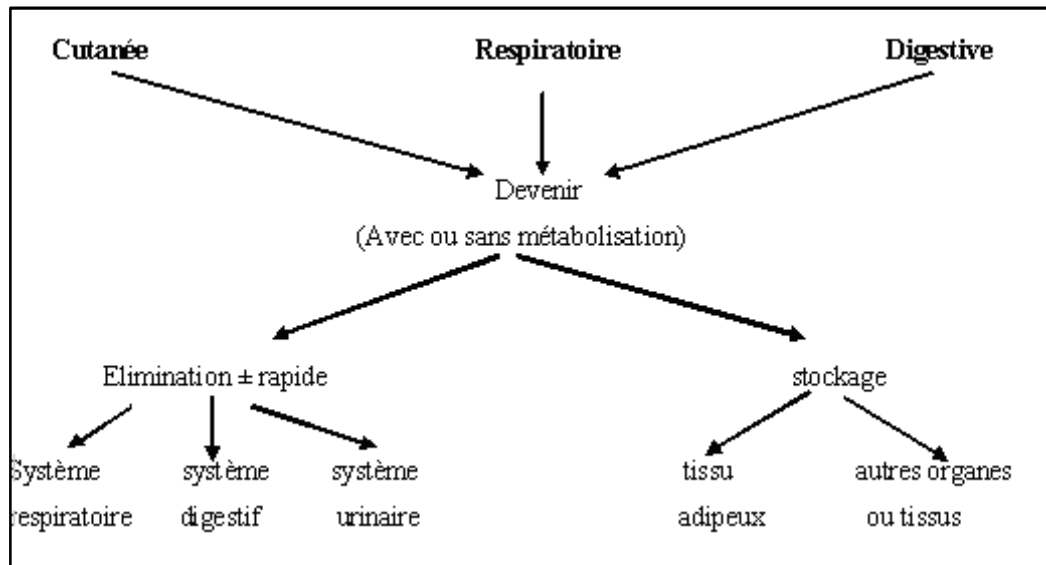


Figure.5 : Schématisation des modes de pénétration et du devenir des pesticides dans l'organisme (*Periquet., 1986*)

II.4.2. Devenir des pesticides chez l'animal

L'exemple du mouton (figure.6) résume l'aspect toxicocinétique et illustre la manière dont les pesticides (organophosphorés, organochlorés, carbamates et les pyréthroides) peuvent se répartir dans l'organisme des animaux de boucherie et indique les pourcentages de matière active récupérés dans les organes 8 heures après application dermale de divers pesticides marqués au carbone radioactif (^{14}C).

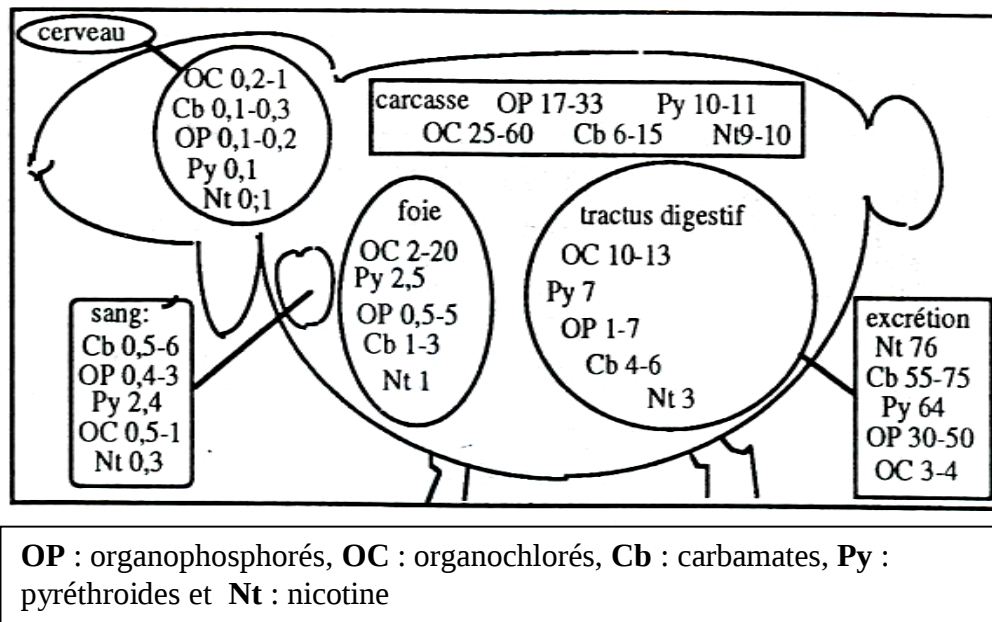


Figure.6 : Répartition de divers pesticides dans l'organisme (% retrouvés)
(Bounias., 1999)

La distribution des toxiques à l'intérieur des organismes ne constitue en aucun cas la phase ultime de la dynamique des substances considérées ; deux processus de tendances quantitatives opposées dans l'écosystème contenant les organismes contaminés : d'une part, la dissipation, qui résulte d'une forme de dilution par éparpillement dans les divers compartiments du milieu, à laquelle s'ajoutent les processus de dégradation, et d'autre part, la bioconcentration, qui résulte d'un cas particulier de transfert d'organisme à organisme, principalement par la chaîne alimentaire, qui se présente donc comme un exemple d'enchaînement toxicologique (Bounias., 1999).

II.5. L'ingestion avec l'alimentation

La contamination peut se faire par l'application de pesticides (contrôle des ectoparasites ou certaines maladies cutanées) ou par l'ingestion de fourrage ou de pâturages contaminés. Ils peuvent être stockés dans le tissu adipeux des animaux d'où l'intérêt de leur surveillance continue dans l'environnement (Osibanjo et Adeyeye., 1997 ; Rind., 2002). Cependant, le risque d'exposition des jeunes animaux via l'alimentation peut être différent de ceux des adultes puisqu'ils consomment le lait qui peut contenir un taux élevé de résidus dans la matière grasse (Sharman., 1994 ; Dekoning., 2000).

II.6. Ingestion avec le sol

Les évaluations de l'ingestion du sol par les ruminants sont très variables et les résultats peuvent dépendre des changements saisonniers du sol et des conditions climatiques (Fries., 1982). Cependant, il est probable que les taux annuels d'ingestion du sol sont supérieurs à 20 kg chez les moutons (Healy., 1967) et supérieurs à 180 kg pour le bétail (Healy., 1968). Chez le porc ces taux sont beaucoup plus élevés. Il y a peu de rapports sur les concentrations de pesticides dans le sol et la plupart concernent les sols traités ou contaminés avec les boues d'épuration où des concentrations très élevées ont été rapportées (Giger., 1984 ; Weber., 1989).

II.7. Ingestion avec l'eau

Les concentrations dans l'eau de rivières et de lacs, et dans les approvisionnements sont généralement faibles car ces composés tendent à s'associer à la matière organique dans les sédiments. Cependant, les études de Meijer (1999) en Hollande sur des cheptels laitiers exposés à des eaux contaminées ont révélées des concentrations élevées des contaminants causant ainsi une réduction remarquable des performances de la reproduction.

II.8. Les transferts entre les organismes et le milieu

Les coefficients de transfert indiquent la proportion de toxique passé dans les tissus vivants en fonction de celle présente dans le milieu environnant, ou dans les organismes ingérés :

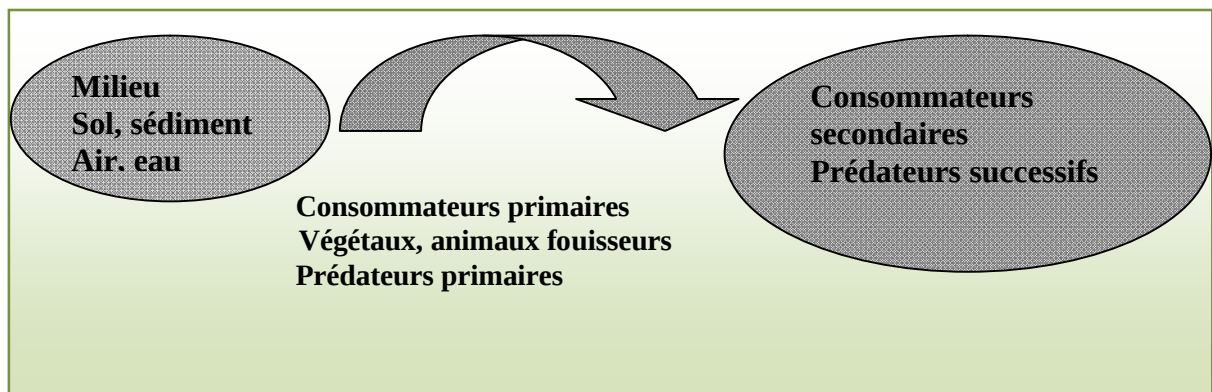


Figure.7 : Schéma représentatif du transfert entre les organismes et le milieu
(Bounias., 1999)

II.9. Modélisation du biotransfert des pesticides

Des approches d'estimations probables basées sur le devenir des pesticides dans les milieux naturels ont été proposées pour évaluer le devenir des pesticides et leurs risques engendrés (Charles, 2004). Travis et Arms (1988) ont identifié des facteurs typiques de biotransfert, employés souvent comme base pour des développements méthodologiques ultérieurs :

$$\text{Log BTF} = \log K_{ow} - b$$

Où :

BTF : (l /kg) facteur du biotransfert.

K_{ow} : Coefficient de partage **b** : Constante (selon le produit animal considéré b =7.6 pour la viande bovine, b=8.1 pour le lait et b=5.1 pour les œufs).

Margni (2002) a développé l'approche méthodologique pour la bioconcentration dans la chaîne alimentaire humaine ; le cadre méthodologique proposé est basé sur la relation entre la concentration de la substance dans le tissu animal ou ces fluides selon la prise journalière quotidienne de la substance.

Chapitre III : Les pesticides organochlorés

III.1. Les contaminants organohalogénés

Les contaminants organohalogénés sont des dérivés organiques dans lesquels un ou plusieurs atomes d'hydrogène ont été remplacés par des atomes d'halogènes. Les organohalogénés sont tous issus de l'activité humaine, et font partie de la «liste noire », classés comme polluants organiques persistants (Pops).

Les Pops se caractérisent par leur toxicité, leur persistance dans l'environnement (faible biodégradabilité) et leur bioaccumulation dans les organismes, du à leur caractère lipophile. Ils peuvent être transportés sur de grandes distances sous forme de gaz volatils ou liés à des particules de poussières. Les émissions anthropiques, qu'elles proviennent de sources ponctuelles ou diffuses, sont associées à des procédés industriels, à l'utilisation et à l'application de pesticides ou de certains produits, à l'élimination de déchets, à des fuites et à des déversements, ainsi qu'à la combustion de produits pétroliers et de déchets (UNEP., 2004).

Au niveau réglementaire, le protocole d'Aarhus (juin 1998) et la convention de Stockholm (mai 2001), dont le but est de contrôler, réduire ou éliminer les émissions de ces substances dans l'environnement, ont établi une liste nominative de Pops répartis en trois catégories (Buccini., 2003) :

- § Les substances produites non intentionnellement par des activités humaines :
telles les Dioxines, les Furannes, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), l'Hexachlorohexane (HCB) et l'Hexachlorocyclohexane (HCH).
- § Les substances issues de la fabrication et de l'utilisation de produits chimiques :
les Polychlorobiphényles (PCB).
- § Les substances utilisées comme pesticides (HCB, Endrine, Aldrine, Dieldrine, Toxaphène, Mirex, Chlordane, Chlordécone, Heptachlore, DDT)

III.2. Les insecticides organochlorés

Les organochlorés sont des dérivés chlorés d'hydrocarbures cycliques ou aromatiques de moins en moins utilisés en raison de leur très longue rémanence, leur bioaccumulation et leur biomagnification à travers la chaîne alimentaire. Un grand nombre de pesticides organochlorés ont été synthétisés à cause de leur propriété insecticide prouvée efficace mais seulement quelques uns ont été exploités commercialement (Kaushik et Kaushik., 2006). Le plus connu de ces groupes est le DDT. En 1974, sa production mondiale avait atteint 60000 tonnes (France, Etats Unis et Inde). Sur la base des considérations écologiques le DDT est banni dans de nombreux pays, cependant dans certains pays son utilisation est encore tolérée

dans l'agriculture et dans le contrôle de certains vecteurs de maladies (Smith., 2004). Quoique interdits dans la plupart des pays industrialisés, les organochlorés soulèvent toujours de préoccupants problèmes d'environnement par suite de leur stabilité et leurs propriétés écotoxicologiques (Ramade., 2000 ; Lauwerys., 2007).

III.2.1. Structure Chimique

Les insecticides organochlorés ont des structures variées, mais possèdent tous un ou plusieurs atomes de chlore (figure.7). Chimiquement très stables, ils persistent longtemps dans le sol (temps de demi-vie excède souvent 10 ans), participant à une contamination continue des autres compartiments de l'environnement ainsi que de la chaîne trophique (Ramade., 2000).

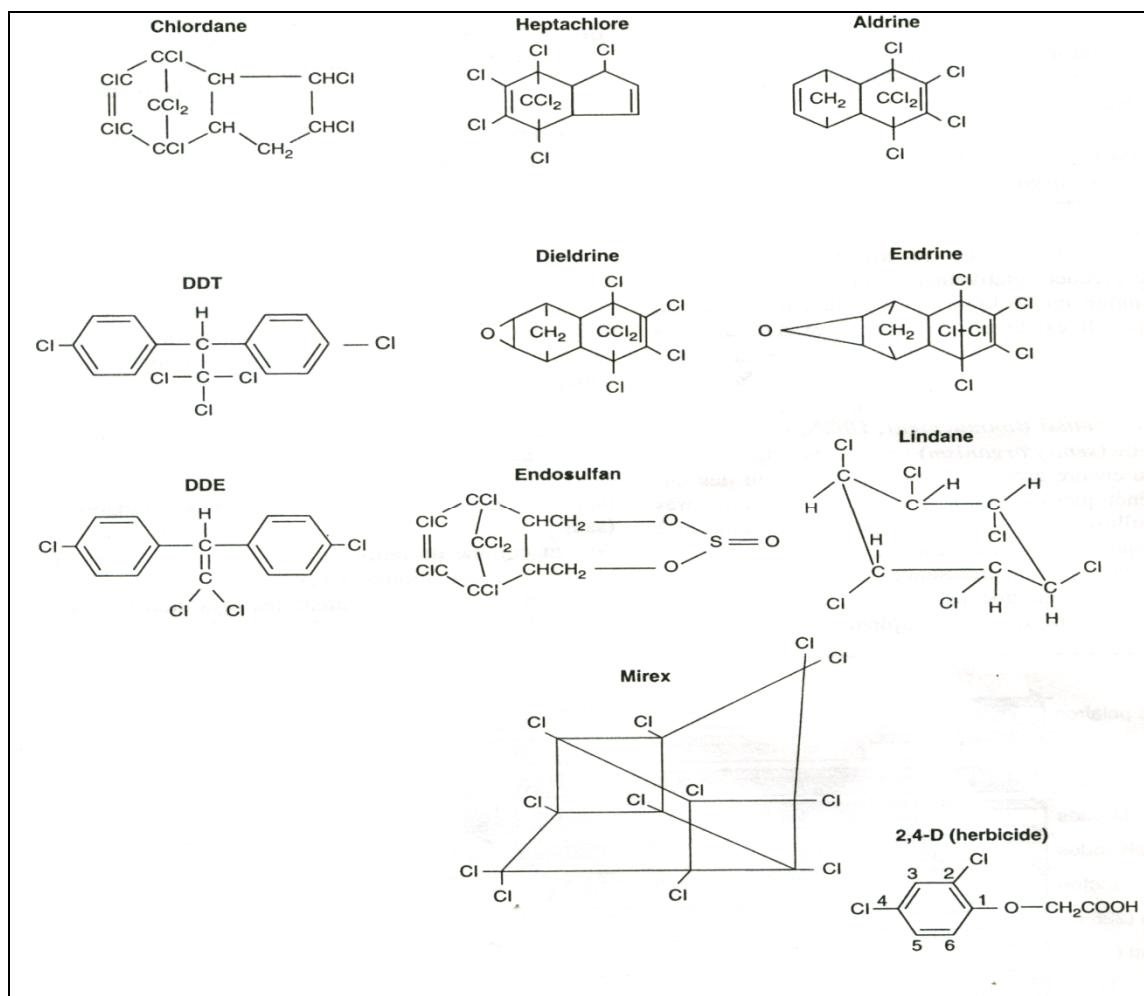


Figure.8: Structure chimique des pesticides organochlorés (Ramade., 2000)

III.2.2. Classification des pesticides organochlorés

Les pesticides organochlorés peuvent être répartis en quatre groupes (El Batawi et Anova., 1991 ; Conso et Marest., 2000) :

- § Groupe des composés halogénés aromatiques : DDT, kelthane, Méthoxychlore, Chlorbenzilate.
- § Groupe des Cyclodiènes : Aldin, Dieldrine, Endrein, Heptachlore, isodrin, Endosulfan et Chlordane.
- § Groupe de cycloparaffines : hexachlorocyclohexane (HCH) ou hexachlorocyclo benzène (HCB).
- § Groupe des terpènes chlorés : polychlorocamphènes.

Les pesticides peuvent être classées selon leurs profils métaboliques en trois groupes (Kan et Meijer., 2007) :

- § Les substances qui sont rapidement métabolisées et excrétées : parmi lesquelles on retrouve l'endosulfan et le méthoxychlore.
- § Les substances avec une accumulation détectable dans les animaux : tels que le Chlordane, l'• hexachlorocyclohexane (• HCH), • hexachlorocyclohexane (• HCH) lindane.
- § Les substances avec une accumulation élevée dans les animaux DDT/DDE, Aldrin /Dieldrine, Endrine, Heptachlore (époxyde).

III.2.3. Propriétés

Parmi les caractéristiques communes des pesticides organochlorés (Zitco., 2003) :

- § Très peu hydrosolubles;
- § Solubles dans les solvants organiques ;
- § Très stables à l'air, à la lumière et au chauffage ;
- § Peu biodégradables
- § Persistants

Les principales propriétés physicochimiques de quelques pesticides organochlorés sont représentées dans le tableau 7.

Tableau.7: Les propriétés physiques et chimiques de quelques pesticides organochlorés
(Zitco., 2003)

Composés	DDT	ALDRIN	CHLORDANE	LINDANE	HCB
Propriétés					
point de fusion		104° C	103° C	113° C	229° C
Solubilité dans l'eau	insoluble	TECH - 49° Pratiquement insoluble	TECH - 104° insoluble	à 20° légèrement (10ppm)	Insoluble
Solubilité dans les solvants organiques		Acétone Benzène Xylène	soluble	Acétone	Alcool Benzène Chloroforme Ether
Pression de vapeur	1.9×10^{-7} mm Hg à 20°	2.31×10^{-5} mm Hg	1×10^{-5} mm Hg à 25°	9×10^{-4} mm Hg à 20°	1.089×10^{-5} mm Hg à 20°

III.2.4. Toxicocinétique et accumulation dans l'organisme

Généralement, les pesticides organochlorés peuvent être absorbés par toutes les voies (Lauwerys., 2007), ils sont rapidement redistribués à travers les lipoprotéines plasmatiques, au foie, le cerveau et les autres tissus riches en lipides (Viala., 1998 ; Conso et Marest., 2000). Ils passent dans le lait et peuvent contaminer ainsi le consommateur, ils franchissent également la barrière placentaire (Conso et Marest., 2000). Le relargage à partir du tissu graisseux et très lent (Lauwerys., 2007 ; Viala., 1998), les métabolites sont transportés vers le foie et excrétés dans la bile puis réabsorbés par le tube digestif (cycle entéro-hépatique) (Raisbeck., 2001). Certains d'entre eux se transforment en un dérivé liposoluble et plus toxique (les cyclodiènes se transforment en époxydes), d'autres sont directement transformés en produits acides hydrosolubles éliminables par la voie urinaire par exemple le dichlorophénol et le trichlorophénol pour le lindane (Viala., 1998).

III.2.5. Mode d'action des pesticides organochlorés (OC)

La plupart des pesticides organochlorés, sont actifs au niveau du système nerveux en perturbant la conduction de l'influx nerveux le long des axones, ce qui fait augmenter la décharge présynaptique des neurotransmetteurs (Periquet., 1986 ; Kaushik et Kaushik., 2006). Le DDT inhibe l'entrée du Na^+ et la sortie du K^+ d'où une hyperactivité, ainsi il semble que le lindane et l'heptachlore inhibent les neurotransmetteurs de l'acide gamma aminobutyrique (GABA) (Raisbeck., 2001). Les organochlorés agissent également au niveau du foie en stimulant la synthèse des protéines des microsomes hépatiques par induction du système mono oxygénase au cytochrome P450 entraînant la prolifération de réticulum endoplasmique. Cette perturbation s'accompagne d'une augmentation de la synthèse de nouvelles protéines enzymatiques. Les enzymes microsomales métabolisent non seulement les substances exogènes (Clu., 1991 ; Viala., 1998 ; Conso et Marest., 2000), mais aussi des métabolites physiologiques tels que les stéroïdes (hormones qui contrôle le développement de l'insecte) et la bilirubine (Albrecht et Manchon., 1974 ; FAO., 1978).

En plus des relations qui peuvent avoir lieu entre les hormones et les pesticides, ces derniers peuvent aussi occasionner via l'établissement de doubles liaisons avec les sites porteurs de radicaux de type $-\text{NH}_2$ et $-\text{SH}$, des phénomènes mutagènes, cancérigènes et tératogènes et diverses formes d'allergie (Kaushik et Kaushik., 2006). Cependant peu d'études sur l'homme ont suggéré une relation de l'exposition aux pesticides et les organochlorés en particulier, par leurs propriétés de dérégulateurs endocrinien (disrupteurs endocriniens), représentent les promoteurs potentiels de diverses pathologies. Une relation

éventuelle est évoquée entre l'exposition à ces substances et l'apparition d'une tumeur mammaire, d'une puberté précoce, ou de troubles de la fertilité masculine (Charlier et Plomteux., 2002). Le potentiel carcinogène (cancer du sein) (Von Muhlendahl., 1999) et de disrupteurs endocriniens des organochlorés ont été démontrés dans de nombreuses études *in vivo* (Wolff et *al.*, 2000; Krieger et *al.*, 1994), et beaucoup d'études récentes sont négatives (Calle et *al.*, 2002). Les organochlorés sont associés au dysfonctionnement de la reproduction (Safe., 2004), la maladie de parkinson et beaucoup maladies du système nerveux (Kamel et Hoppin., 2004). Par ailleurs les études sur l'animal ont révélé des anomalies à la naissance, des maladies respiratoires (Garry et *al.*, 1996), et des dysfonctionnements du système immunitaire (Handy et *al.*, 2002).

III.3. Le DDT

III.3.1. Présentation

Le DDT, ou 4,4'-DDT ou p, p'- DDT (1, 1,1-trichloro-2,2-bis (p-chlorophényl) éthane) est un insecticide puissant massivement utilisé lors de la seconde guerre mondiale pour combattre les insectes vecteurs des épidémies de malaria et de typhus. Le DDT existe commercialement sous la forme de deux isomères différant par la position d'un atome de chlore : p, p' DDT et o, p' DDT. Dans les organismes vivants, il se dégrade en pp' DDE (le métabolite reconnu comme le plus abondant) et pp' DDD, deux métabolites toxiques plus persistants que le composé parent, puis en p, p' DDA (figure.9).

Malgré les restrictions, le DDT et ses dérivés, en raison de leur stabilité et de leur caractère semi volatil, subissent un transport atmosphérique sur de longues distances et montrent une répartition géographique mondiale plus de trente ans après une diminution sévère de leur production et de leur utilisation (ATSDR., 2002).

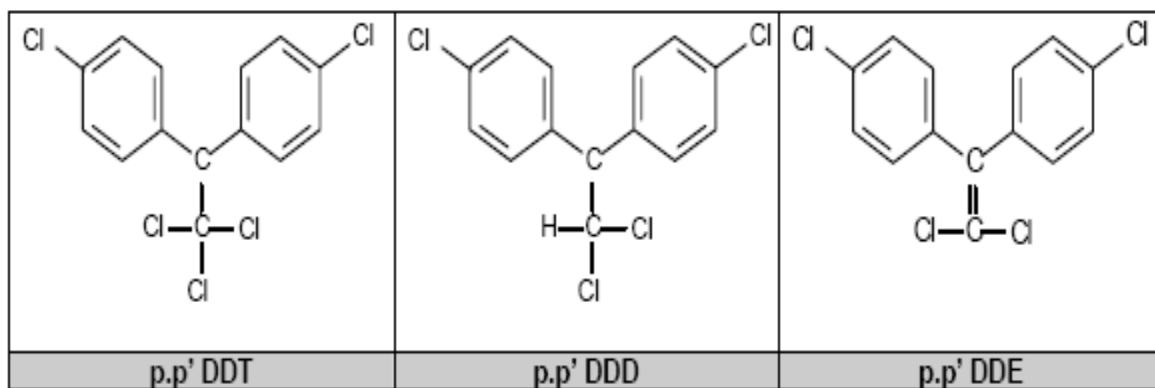


Figure.9: DDT et ses métabolites

III.3.2. Propriétés:

Les propriétés pesticides du DDT (Zitco., 2003) découlent pour l'essentiel de :

- § Formule moléculaire $C_{14}H_9Cl_5$; poids moléculaire 355.
- § Aspect : cristaux ou poudre blanche inodore à légèrement aromatique.
- § Solubilité dans l'eau 5 mg/l.
- § Point de fusion 109°.
- § Constante d'Henry 1.80 Pa .m³ / mole.
- § Log k_{ow} 6.19.

Le DDT et ses métabolites (DDD, DDE) sont très peu solubles dans l'eau, mais solubles dans la plupart des solvants organiques (composés lipophiles). Il est semi volatil, le DDT et ces composés apparentés sont très persistants, jusqu'à 50 % peuvent être mesurés dans le sol 10 à 15 après l'application, et comme ses propriétés chimiques favorisent son transport sur de longues distances, ils ont été également détectés dans l'air, l'eau et les organismes de l'Arctique et même presque dans tous les programmes de surveillance des organochlorés (ATSDR., 2002). Les preuves de la cancérogénicité du DDT chez l'homme sont insuffisantes, mais elles sont suffisantes chez les animaux en expérimentation. Le centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a classé le DDT parmi les agents cancérogènes probables *groupe 2B*. Le DDT est très toxique pour les poissons, les valeurs de DL₅₀ sont comprises entre 0.4 mg / l chez les crevettes, et 42 mg /l chez la truite arc en ciel, il influence également le comportement des poissons ; le saumon de l'Atlantique exposé au stade des œufs présente des troubles de l'équilibre et de comportement. Les doses aiguës et notamment pour le DDE sont toxiques pour les oiseaux (effets nocifs sur la reproduction, amincissement de la coquille, cette sensibilité varie considérablement avec l'espèce. Les résidus de DDE dans les œufs étaient étroitement corrélés avec la concentration de DDE dans l'alimentation des oiseaux (Ritter et *al.*, 1996).

III.3.3. Le résidu du DDT dans l'alimentation (OMS/FAO., 1997)

Sa première évaluation a été établie en 1965 par la commission mixte OMS /FAO chargé des résidus de pesticides puis elle a été revue plusieurs fois. Des limites maximales résiduelles (LMR) ont été proposées : œufs (0.5 mg /kg), laits 0.05 mg /kg (de graisse), viandes (des mammifères autres que les mammifères marins) 5 mg /kg (de graisse). La dose journalière admissible est de 0.02 mg /kg. Le DDT est très soluble dans les graisses d'où son occurrence dans l'alimentation grasse tels que les viandes et les produits laitiers, les résidus

sont encore détectés dans l'alimentation même dans les pays qui ont banni son utilisation depuis une décennie en raison de :

- § Sa persistance dans l'environnement
- § Une utilisation illégale
- § L'importation d'aliments contaminés provenant de pays où le DDT est encore utilisé.

III.4. Le lindane

Le lindane (γ -HCH) est l'un des isomères de l'hexachlorocyclohexane synthétisé à partir de benzène et de chlore (figure.10). D'après IARC les HCH (mélange d'isomères α , β et γ) sont classés en *Groupe 2B* : le mélange pourrait être cancérogène pour l'homme (OMS., 1991).

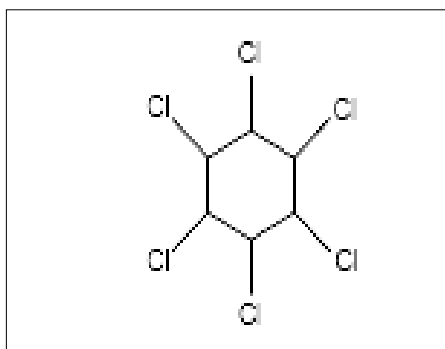


Figure.10 : Molécule du lindane

Le lindane est utilisé comme insecticide dans de nombreuses applications agricoles :

- § Traitement des sols (maïs, betteraves)
- § Traitement des semences (céréales, colza, lin)
- § Traitement foliaire (arboriculture, cultures maraîchères, ornementales et fourragères).
- § Il est également employé pour la protection des bois d'œuvre (grumes, charpentes, meubles), en médecine vétérinaire pour le traitement antiparasitaire des animaux (gales, tiques, puces, poux) et en médecine humaine pour le traitement de la gale.

III.4.1. Les propriétés physicochimiques

Les propriétés pesticides du lindane découlent pour l'essentiel de (OMS., 1991) :

- § Formule moléculaire $C_6H_6Cl_6$; poids moléculaire 290.83
- § Aspect : cristaux solides blancs
- § Pression de vapeur : 4.34 MPa (3.26×10^{-5} mmHg) à 20° C
- § Point de fusion 112.8° C

§ Solubilité dans l'eau 10 mg/l à 20° C

§ Log k_{ow} 3.2- 3.7

III.4.2. Le résidu du lindane dans l'alimentation

Sa dernière évaluation était en 2003 par la commission mixte OMS /FAO sur les résidus de pesticides, des limites maximales résiduelles (LMR) ont été proposées : chair de volaille 0.7 mg /kg (de graisse), œufs 0.1 mg /kg, laits 0.01 mg /kg (de graisse), viande des bovins et d'ovins 2 mg /kg (de graisse). La dose journalière admissible est 0.008 mg /kg de poids corporel (FAO/OMS., 2004).

Chapitre IV : Application de la CG - SM dans la recherche des résidus de pesticides

IV.1. Le principe de la détermination des résidus de pesticide

Le principe de la démarche analytique suivi pour la détermination des résidus de pesticides se décline en 3 étapes (Periquet., 1986 ; Zidane Hindi., 1999 ; Even et *al.*, 2002, Pang et *al.*, 2006) :

- § L'extraction
- § La purification
- § La détermination

IV.2. Extraction

IV.2.1. Principe

La première étape de toute méthode analytique consiste en une extraction plus au moins spécifique du composé recherché. Pour assurer l'efficacité de l'extraction, le broyage et l'homogénéisation de l'échantillon sont indispensables, ceci peut être réalisé avec un ultra turax en mélangeant l'échantillon avec un réactif déshydratant (sulfate de sodium) pour la désintégration tissulaire et l'élimination de l'eau (Anonyme., 1986 ; Wells., 1988 ; FDA., 1994 ; Lehotay., 2005). L'extraction des résidus de pesticides des matières alimentaires est le plus souvent réalisée selon les principes généraux de la méthode de Mills qui fait la distinction entre les produits pauvres et les produits riches en matières grasses (Mouillet., 1991 ; FDA., 1994).

IV.2.2. Extractions des produits riches en matières grasses

Le principe de base repose sur la liposolubilité des pesticides, il permet une extraction simultanée de la matière grasse et des résidus par des solvants. Le choix du solvant d'extraction est guidé principalement par son efficacité dans l'extraction. Un solvant idéal doit être (Maštovská et Lehotay., 2004) :

- § Compatible avec l'analyte
- § Compatible avec la préparation de l'échantillon
- § Une faible inflammabilité
- § Une faible toxicité
- § Un faible risque environnemental
- § Un faible coût

Les procédés d'extraction sont multiples (figure.11) et le choix doit être guidé par la nature chimique des composés recherchés (Anonyme., 1986 ; Wells., 1988 ; FDA., 1994, Witier., 1995 ; Rouessac et Rouessac., 2000 ; Ahmed., 2001 ; Lehotay., 2005 ; Rial –Otero et *al.*, 2007 ; Barr., 2008) :

- § L'extraction liquide / liquide
- § L'extraction en phase solide (SPE)
- § L'extraction en phase supercritique (SFE)
- § La micro extraction en phase solide (SPME)
- § Extraction par Immuno –affinité

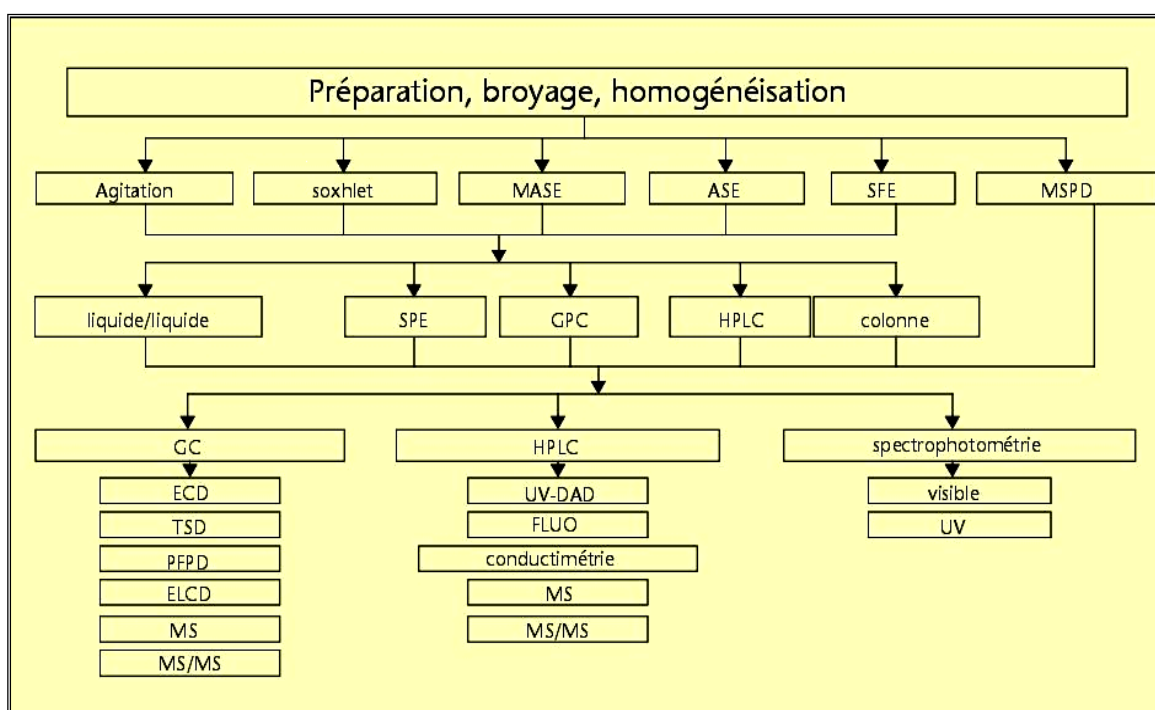


Figure.11: Principales approches analytiques des résidus de pesticides (Truchot., 2003)

MASE: Microwave-Assisted Solvent Extraction, **ASE:** Accelerated Solvent Extraction, **SFE:** Supercritical fluid extraction, **MSPD:** Matrix solid phase dispersion extraction, **SPE:** Solid phase extraction, **HPLC:** High Performance Liquid Chromatography HPLC, **GPC:** gel permeation Chromatography, **GC:** gas chromatography, **ECD:** Electrons capture detectors, **TCD:** Thermal Combustion. Detector, **FPD:** flame photometric detector, **ELCD:** electrolytic conductivity Detector, **MS:** mass Spectrometry, **MS/ MS:** tandem mass spectrometry, **FLUO:** fluorescent Detection, **UV-DAD:** ultraviolet diode array detection.

IV.3. La purification

L'extrait obtenu doit être purifié afin d'éliminer les composés lipophiles co-extraits qui interfèrent avec l'identification des résidus de pesticides dans les produits alimentaires (Curren et King., 2002 ; Pihlström., 2003). La purification est la principale étape d'une part

pour maintenir le bon fonctionnement des instruments, et d'autre part pour réduire la quantité des hydrocarbures, sulfure, phtalates et les lipides dans le cas d'un échantillon biologique et améliore la limite de détection. Elles peuvent se subdiviser en deux catégories : chimique et chromatographique.

IV.4. Détection des résidus de pesticides dans les extraits purifiés

Il existe un très grand nombre de techniques (Mouillet, 1991) :

- § Méthodes biochimiques
- § Méthodes biologiques
- § Méthodes polarographiques
- § Méthodes spectrophotométriques
- § Méthodes colorimétriques
- § Méthodes chromatographiques
- § Méthodes immunologiques

Cependant la chromatographie demeure la technique la plus utilisée pour la recherche des pesticides (Mouillet, 1991).

IV.5. Les méthodes chromatographiques

IV.5.1. Le principe de la chromatographie gaz (CG)

Cette méthode chromatographique peut être appliquée à tout composé susceptible d'être volatilisé par élévation de la température ; l'échantillon est introduit au niveau de l'injecteur puis vaporisé et entraîné par une phase gazeuse dans une colonne renfermant la phase stationnaire nécessaire pour la séparation. Dans des conditions analytiques données, chaque molécule parcourt la colonne avec un temps qui lui est propre et génère un signal au niveau du détecteur, enregistré et traité par des moyens informatiques, ce qui permet l'obtention du chromatogramme caractéristique de l'échantillon (Lorient et *al.*, 1991 ; Serpinet., 1995 ; Rouessac et Rouessac., 2000). L'identification et la quantification des molécules peut se faire classiquement par comparaison avec une solution étalon de composition connue, sur la base des temps de rétention des composés et aussi à partir des spectres de masses vu la possibilité de couplage de cette technique avec ce type de détecteurs, ce qui permet de connaître rapidement les structures des composés analysés.

Le chromatographe en phase gazeuse est constitué de trois systèmes (figure.12):

- § Un système d'introduction où on retrouve l'injecteur ;
- § Un système de séparation qui est la colonne ;
- § Un système de détection.

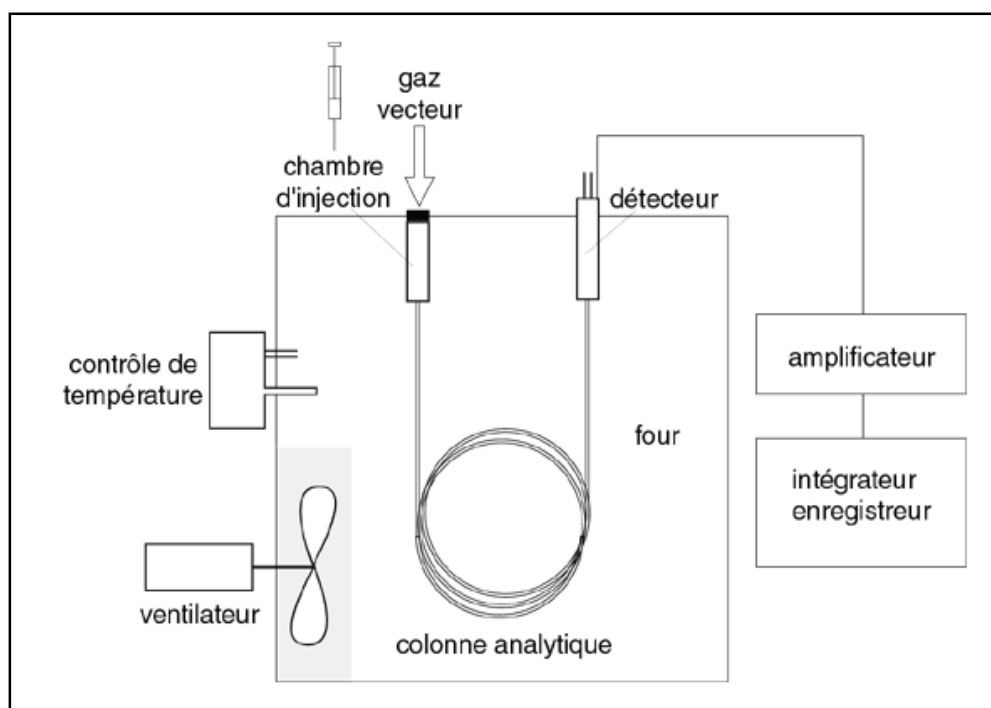


Figure.12 : Les différentes parties du chromatographe gaz

IV.5.2. L'injecteur

Selon l'injecteur utilisé, l'injection peut se faire en différents modes :

- § En mode Splitless (sans division) : l'échantillon est introduit dans l'insert où il est vaporisé et envoyé dans la colonne sans division de l'échantillon.
- § En mode Split (avec division) de même que précédemment, l'échantillon est introduit dans l'insert mais seule une faible portion entre dans la colonne ; le reste est évacué par la valve de purge.
- § On-column : Il n'y a qu'une seule arrivée du gaz vecteur, par conséquent, l'échantillon est injecté à froid au niveau de la tête de colonne (FDA., 1994 ; Witier., 1995 ; Kitson et al., 1996).

IV.5.3. La colonne

Elle représente l'élément de la CG où le processus de migration différentielle des composés d'un mélange a lieu. La colonne est un tube construit dans un matériau le plus possible inerte aux produits chimiques (inox, verre, nickel, polymère). La colonne est constituée d'un tube de silice fondue dont la paroi interne est couverte d'un film chimique nommé "phase stationnaire" ; la paroi externe est gainée d'un revêtement en polyimide qui confère une souplesse et robustesse à la colonne. La phase stationnaire est caractérisée par les fonctions chimiques greffées sur la silice. Si ces dernières sont peu polaires (chaînes alcanes

ou groupements phényles, par exemple), la colonne est dite "peu polaire". Si, au contraire, la phase stationnaire est constituée de composés polaires tels que, par exemple, des polyéthylènes glycols, la colonne est dite "polaire". Les constituants d'un mélange sont séparés en fonction de leur polarité si la phase stationnaire est polaire, de leur volatilité si cette dernière est apolaire ; leurs différences de propriétés physicochimiques leur confèrent des vitesses d'élution différentes et ils sont donc séparés en fonction du temps, les colonnes utilisées en CG-SM sont des colonnes dites "capillaires, en plus de la nature de la phase stationnaire, la colonne capillaire est caractérisée par trois paramètres géométriques : sa longueur, son diamètre interne et l'épaisseur de sa phase stationnaire (Prévôt., 1995).

IV.5.4. Le détecteur

Il existe différents types de détecteurs (catharomètre, ionisation à flamme, infrarouge, détecteur à captures d'électrons) (Tranchant., 1995). Cependant le spectromètre de masse avec le couplage chromatographique tend aujourd'hui à supplanter tous les autres car il est le seul à fournir des informations structurales sur les composés séparés par chromatographie (Debrauwer et *al.*, 2005).

IV.6. Le système CG-SM

La colonne capillaire sort du chromatographe et entre dans le spectromètre de masse via une "ligne de transfert" (figure.13). Il s'agit d'un cylindre intensément chauffé (environ 300° C) de manière à éviter que les molécules éluées ne se recondensent entre les deux appareils.

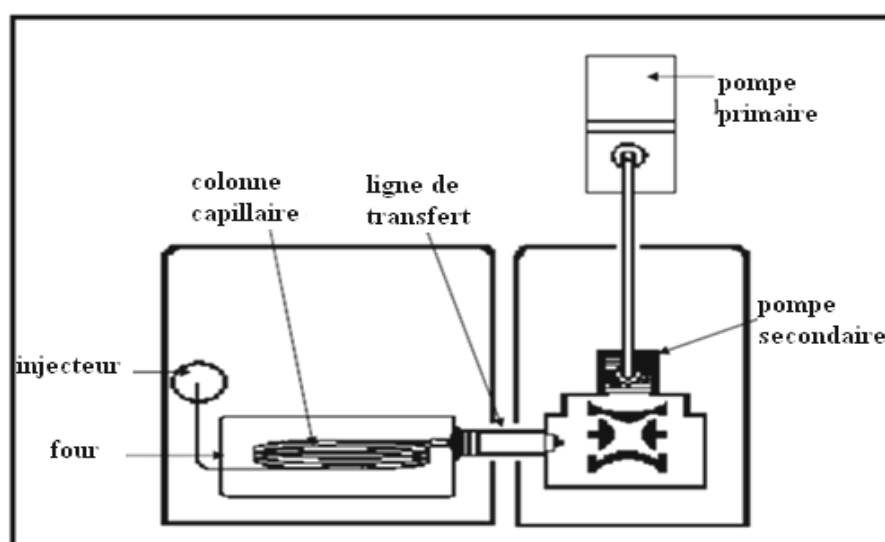


Figure.13 : Schéma d'appareil de couplage CG-SM (Mahusier et *al.*, 1999)

IV.7. La spectrométrie de masse

IV.7.1. Principe

La spectrométrie de masse repose sur l'ionisation et la fragmentation des molécules, leur ionisation entraîne une accumulation d'énergie qui en se dissipant, peut provoquer la rupture des liaisons interatomiques et donner des fragments caractérisés par le rapport de leur masse sur leur charge m/z . Les différents fragments (chargés positivement ou négativement) ainsi produits sont accélérés avant de parvenir à un analyseur (filtre de masse) qui les sépare en fonction du rapport m/z , le recueil sélectif des différents ions permet l'établissement d'un spectre caractéristique appelé : spectre de masse (Adda et Le Quere., 1991 ; Mahusier et *al.*, 1999). Le spectromètre de masse est constitué de quatre parties (figure.14) :

- § La chambre d'introduction
- § La chambre d'ionisation
- § L'analyseur
- § L'ensemble collecteur enregistreur

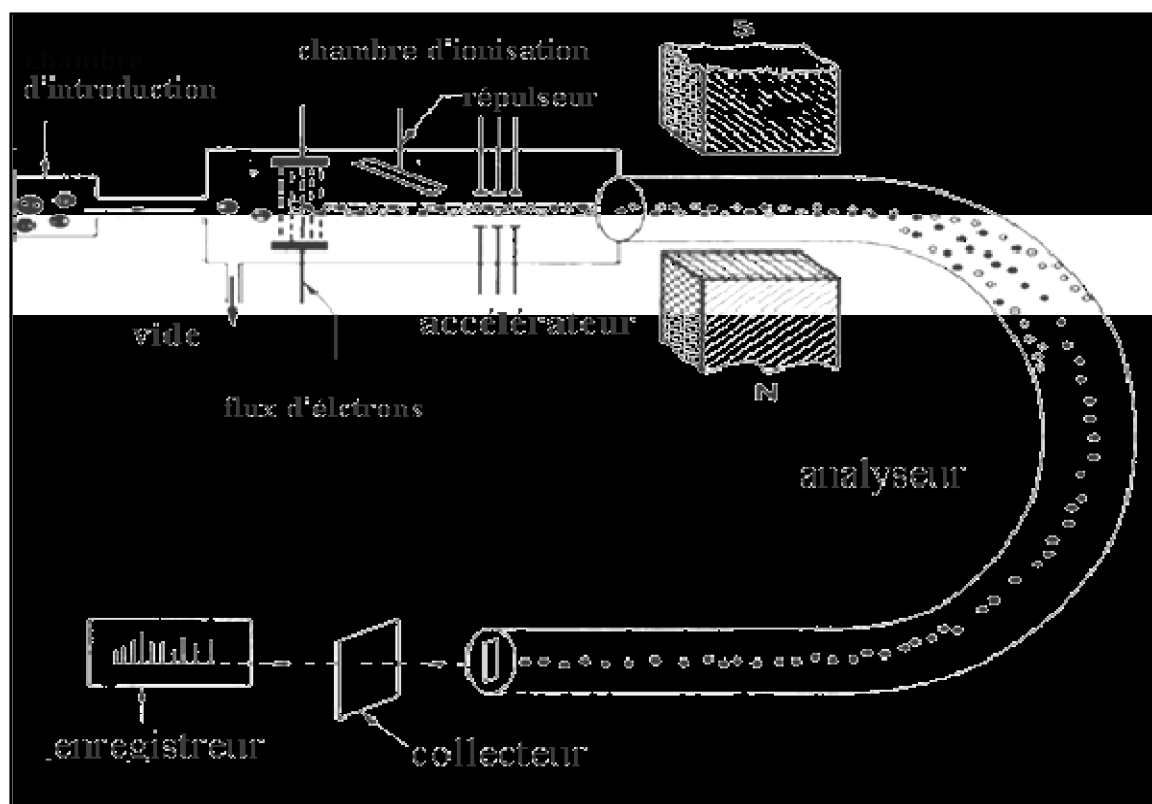


Figure.14 : Spectre de masse : représentation graphique (Hamon et *al.*, 1990)

IV.7.2. Le principe de fonctionnement

Le principe de fonctionnement de chacun de ces éléments est détaillé ci-dessous.

IV.7.2.1. La source

La source est la partie du spectromètre de masse où sont produits des ions gazeux à partir des molécules introduites. En couplage avec un chromatographe en phase gazeuse, où les composés élués arrivent au spectromètre à l'état gazeux, les sources utilisées sont dites à "ionisation électronique" ou à "ionisation chimique"; on parle d'"EI" pour "Electron Ionization", de "CI" pour "Chemical Ionization." Leur usage est réservé à l'analyse des composés gazeux ou facilement volatilisables (point d'ébullition n'excédant pas 400 °C). La source est maintenue à une température élevée (généralement comprise entre 100 et 250° C) pour éviter la condensation des analytes (Adda et Le Quere., 1991 ; Tranchant., 1995 ; Mahusier et *al.*, 1999).

L'ionisation électronique

Consiste à " bombarder" les molécules par un faisceau d'électrons de haute énergie. L'"impact" d'un électron sur la molécule M a pour effet d'arracher un électron à cette dernière, conduisant à la formation d'un ion radicalaire M^+ , l'énergie des électrons incidents est telle que l'ion M^+ acquiert une grande énergie internes qui l'amène généralement à se fragmenter spontanément en ions plus petits baptisés "ions fils ou "ions fragments". Les électrons sont produits par le chauffage d'un filament métallique (tungstène ou rhénium) et accélérés par une différence de potentiel de 70 eV, ce qui leur confère une énergie cinétique. (Adda et Le Quere., 1991 ; Tranchant., 1995 ; Mahusier et *al.*, 1999).

L'ionisation chimique

Un gaz réactif (par exemple le méthane,) est introduit dans la source sous une pression et soumis à un bombardement électronique ce gaz s'ionise et devient capable de réagir avec la molécule dont on veut obtenir le spectre (Adda et Le Quere., 1991 ; Mahusier et *al.*, 1999).

IV.7.2.2. L'analyseur

L'analyseur sépare les ions produits par la source en fonction de leur rapport masse sur charge : m/z . Dans un contexte de couplage CG-SM, on parle souvent abusivement de mesure de masse car $z=1$ (ou -1 , beaucoup plus rarement, lorsque l'on utilise l'ionisation chimique négative) (Hamon et *al.*, 1990).

IV.7.3. Amplification et enregistrement

Les ions qui arrivent sur le collecteur produisent un flux d'électrons dont l'intensité est proportionnelle à l'abondance de ces ions, ce signal est amplifié par un amplificateur d'électrons.

Le système informatique

Les ordinateurs utilisés sont des systèmes informatiques interactifs qui assurent à la fois le pilotage du spectre de masse et la fonction de saisie et le traitement des données, tracer les chromatogrammes, spectre de masse et la recherche d'identité du composé correspondant par comparaison du spectre obtenu à ceux qui sont en mémoire dans une bibliothèque de spectres fournis avec l'appareil ou réalisés par l'utilisateur à partir de produits de références.

Modes d'acquisition

L'ordinateur peut généralement piloter le spectromètre, cela permet des balayages rapides et répétés. Deux modes d'acquisition sont généralement employés :

- § Le mode spectre complet (SCAN) où l'appareil balaye une gamme de masse.
- § Le mode SIM (Selected ion monitoring) où l'appareil acquiert le courant ionique (TIC) d'un ou quelques ions, SIM qui consiste à suivre sélectivement un ou plusieurs ions. Dans ce mode de fonctionnement, le spectromètre saute à certaines masses pré sélectionnées au lieu d'effectuer un balayage sur toute une plage de masses (Gervaise et *al.*, 1998).

Partie expérimentale

Chapitre I : Le contexte scientifique

La partie pratique se compose d'une :

1. Enquête suivie d'un diagnostic environnemental
2. Une étude expérimentale

I.1. L'enquête agrochimique

Les terres consacrées à l'agriculture, avec une superficie de 40.2 millions d'hectares représentent 17 % de la superficie totale du territoire national.

La surface agricole utile (SAU) a augmenté de près de 1.3 millions d'hectares entre les campagnes agricoles 1963 /1964 et 1999 / 2000, passant ainsi de 6.9 à 8.2 millions d'hectares. L'augmentation de la surface agricole utile s'est accompagnée d'une utilisation intensive des pesticides qui était le corollaire à une amélioration de la production des cultures. L'utilisation des pesticides à usage agricole, bien qu'encore relativement faible (6000 à 10000 T/an et les traitements appliqués ne sont que de 14 % des traitements normatifs) par rapport aux pays développés, y est donc en augmentation croissante aussi bien en quantité qu'en variété (Ministère de l'agriculture et du développement rural, bilan des statistiques 2006).

Les résultats des enquêtes réalisées montrent que la lutte chimique est assurée par environ 400 produits. Les insecticides restent encore la catégorie de pesticides la plus utilisée en Algérie, avant les fongicides et les herbicides, contrairement aux pays développés où les herbicides viennent à présent en tête.

Certains pesticides sont fabriqués en Algérie par Asmidal (Moubydal): malathion, fénitrothion, chlorphérophos, glycophosate et d'autres sont importés.

I.2. Diagnostic environnemental

L'utilisation abusive des pesticides dans le secteur agricole durant les années 60 et 70 a généré d'importants stocks inutilisés à travers le territoire national qui sont entreposés d'une manière anarchique et diffuse sans prise en compte des problèmes éco toxicologiques.

L'inventaire réalisé en 2003 par le ministère de l'aménagement du littoral et de l'environnement a comptabilisé un total de 1731 tonnes de produits toutes natures confondues. La répartition des stocks périmés par région est illustrée dans le tableau 8. 197.3 Tonnes entrent dans la catégorie des Pop's, parmi lesquels 191 tonnes sont constitués par le DDT (96.8%) localisées principalement dans la Wilaya de Mostaganem (180 tonnes). Les autres wilayas détentrices de ces stocks de pesticides Pop's sont: Alger, Chlef, Tizi-Ouzou, Sidi bel Abbès, Mascara, Tipaza et Ain Témouchent.

Tableau.8 : Répartition des stocks périmés par région (Tonne)

(Source : projet Pop's –Algérie GF /ALG /02/001 Plan national de mise en œuvre (PNM) Algérie – convention de Stockholm 2006).

Région	Centre		Est /sud -Est		Ouest /sud –ouest	
Nature	Solide	Liquide	Solide	Liquide	Solide	Liquide
Total	690563.96	240750.00	13041.94	185379 .30	280169 .60	190481.50

L'inventaire des sites fait ressortir :

- § La présence de 145 sites contaminés à travers tout le territoire national ; parmi ces sites potentiellement pollués, 07 sites le sont par les pesticides Pop's principalement le DDT et la dieldrine.
- § La catégorie des pesticides est concentrée dans la région centre.
- § Les pesticides organochlorés Pop's représentent 11.39 % du total des pesticides.

L'examen de l'inventaire révèle que tous les sites où sont stockés les pesticides périmés ne sont nullement conformes à une bonne gestion de ces déchets dangereux. Le quasi totalité des contenants présentent des fuites, ce qui suppose que les sites d'entreposage sont probablement contaminés depuis longtemps (photos : annexe I).

Il y a donc tout lieu de se demander dans quelle mesure les produits alimentaires que nous consommons ne sont pas contaminés par des résidus de pesticides ?

Chapitre II: Matériels et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. L'échantillonnage

II.1.1.1. Choix des sites de prélèvements

Pour les considérations scientifiques précédemment mentionnées et des raisons d'accessibilité ainsi que de simplicité, quatre régions ont été choisies pour effectuer notre échantillonnage :

- § La région d'Alger (Ben-Talha)
- § La région de Laghouat
- § La région de Djelfa
- § La région d'Adrar

Dans un premier temps un dépistage des produits phytosanitaires utilisés (les insecticides et les acaricides) a été effectué au niveau de chaque site (annexe II).

II.1.1.2. Le prélèvement des échantillons

Dans le but de faire un état des lieux sur la contamination par les résidus de pesticides organochlorés dans les élevages extensifs d'ovins, nous avons adopté le plan d'échantillonnage détaillé dans le paragraphe ci-dessous et illustré par la figure 15.

§ Dans la région d'Alger

Un programme d'échantillonnage aléatoire simple consiste à prélever des échantillons de graisses périrénales au nombre de 50 sur de nombreux lots d'ovins provenant d'une ferme privée située à Sidi Errezine (Baraki) et abattus à l'abattoir d'El -Harrach tout au long d'une période de 2 mois et demi (du mois d'Avril au mois de Juin 2007) avec un minimum d'échantillonnage au sein du même lot (environ 3-5 prélèvements par visite).

§ Dans la région de Laghouat

25 échantillons de graisses périrénales ont été prélevés à l'abattoir de la wilaya de Laghouat au mois de février 2008.

§ Dans la région d'Adrar

19 échantillons de graisses périrénales ont été prélevés à l'abattoir de la wilaya d'Adrar au mois de mars 2008.

- Dans la région de Djelfa

12 échantillons de graisses périrénales ont été prélevés au niveau de 4 grandes boucheries dans la wilaya de Djelfa au mois d'avril 2008.

Nombre de prélèvements

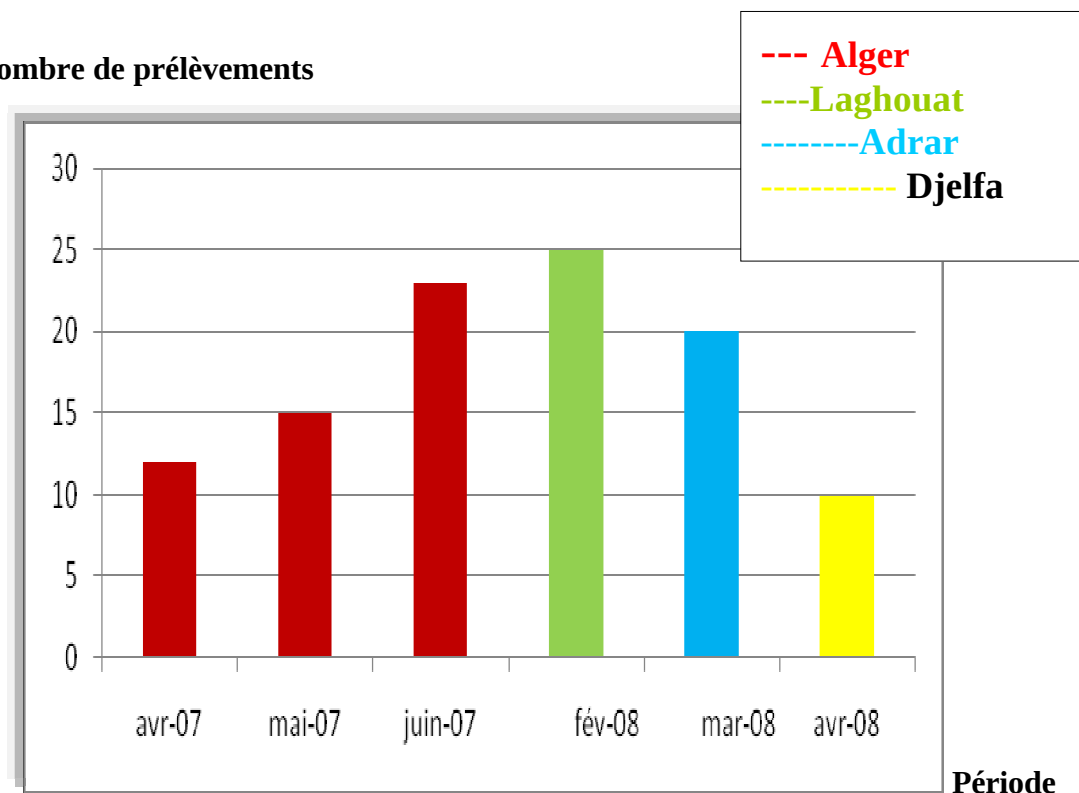


Figure.15 : Distribution de l'échantillonnage

II.1.1.3. Nature de prélèvement

La capsule adipeuse du rein est le tissu qui se prête le mieux aux analyses courantes pour détection des résidus d'hydrocarbures halogénés, cependant lorsqu'il y a lieu de soupçonner un contact dorsal avec ces produits (application topique dorsale), il est préférable de prélever la graisse sous cutanée de cette région (ACIA, 2006).

De plus le prélèvement de la capsule adipeuse est recommandé par de nombreuses publications parmi lesquelles celles de Venant et *al.*, 1985 et Waliszewski., 2004 ainsi que par la norme officielle mexicaine NOM -004-ZOO-1994 ; et Covaci et *al.*, 2004.

Par ailleurs, La dernière étude du service de l'inspection et la sécurité alimentaire (Food Safety Inspection Service : FSIS) aux USA en 1986 a conclu que le foie n'était pas nécessairement la matrice la plus appropriée pour l'analyse des pesticides organochlorés et les pesticides organophosphorés, par contre la graisse est la matrice qui convient le mieux pour ces analyses (Zrostlíková et *al.*, 2002).

II.1.1.4. Caractérisations des échantillons

Conformément aux méthodes d'échantillonnages recommandées pour la détermination des résidus de pesticides du *Codex Alimentarius* (1994), environ 150 à 250 g de graisse de la capsule périrénale ont été prélevés après chaque abattage au niveau de chaque carcasse jugée propre à la consommation. Les échantillons prélevés soigneusement sont emballés dans de l'aluminium alimentaire puis identifiés (l'utilisation de matière plastique n'est pas recommandée du fait qu'elle peut être contaminée par les phtalates). Idéalement, les échantillons devraient être stockés au frais à + 3 à + 5 ° C à l'abri de la lumière solaire directe, et analysés dans les jours qui suivent leur prélèvement. Toutefois un stockage prolongé (6 à 9 mois) comme dans notre cas, s'impose souvent avant analyse et il faut alors les congeler à - 18° C.

Pour des raisons économiques, les analyses ont concerné un total de 51 échantillons, 4 échantillons de sexe femelle et 47 échantillons de sexe mâle (Tableau 9).

Notre travail expérimental s'est déroulé au Laboratoire Central de l'Intendance d'El-Harrach.

Tableau.9 : Récapitulatif des caractéristiques des échantillons par site

	Nombre	Age (moyenne)	Sexe	Race
Alger	17	1 an et 2 mois	4 • / 13 •	Ouled Djelel
Laghouat	18	Inconnu	•	Ouled Djelel
Adrar	12	3 ans et demi	•	Sidaoune
Djelfa	4	Inconnu	•	Ouled Djelel

II.1.2. Appareillage

Notre travail consiste en l'application de la chromatographie gaz couplée à la spectrométrie de masse pour l'analyse et la recherche des résidus de pesticides organochlorés. Les caractéristiques des matériels et produits utilisés tout au long de nos manipulations sont décrits ci- dessous :

- § Balance analytique de précision capable de peser à 0. 0001 g près (Sartorius)
- § Homogénéisateur (Mortier avec pilon)
- § Centrifugeuse
- § Pots de centrifugation de 30 ml en pyrex

- § Evaporateur rotatif (Büchi) avec un dispositif de mise sous vide (pompe à eau) et bain marie
- § Système pour la distillation des solvants
- § Microseringues en verre de 1 ,2 et 50 μ L (Hamilton)
- § Colonnes (burettes) avec un régulateur du débit
- § Verreries usuelles de laboratoire (béchers, entonnoirs, scalpel et pince)
- § Couteau, papier alimentaire
- § Ampoules à décanter à robinet de téflon rodées de 500 ml et de 250 ml.
- § Ballons à évaporation
- § Four à moufle
- § Etuve
- § Distillateur
- § Appareil de chromatographie en phase gazeuse

Dans notre cas, les analyses des pesticides organochlorés ont été réalisées en utilisant un chromatographe Perkin Elmer de type Auto System XLGC, couplé à un spectromètre de masse de type Turbo Mass Gold System (Ion Trap) (figure.16) qui peut fonctionner par mode d'impact électronique (EI) ou par mode d'ionisation chimique (CI).

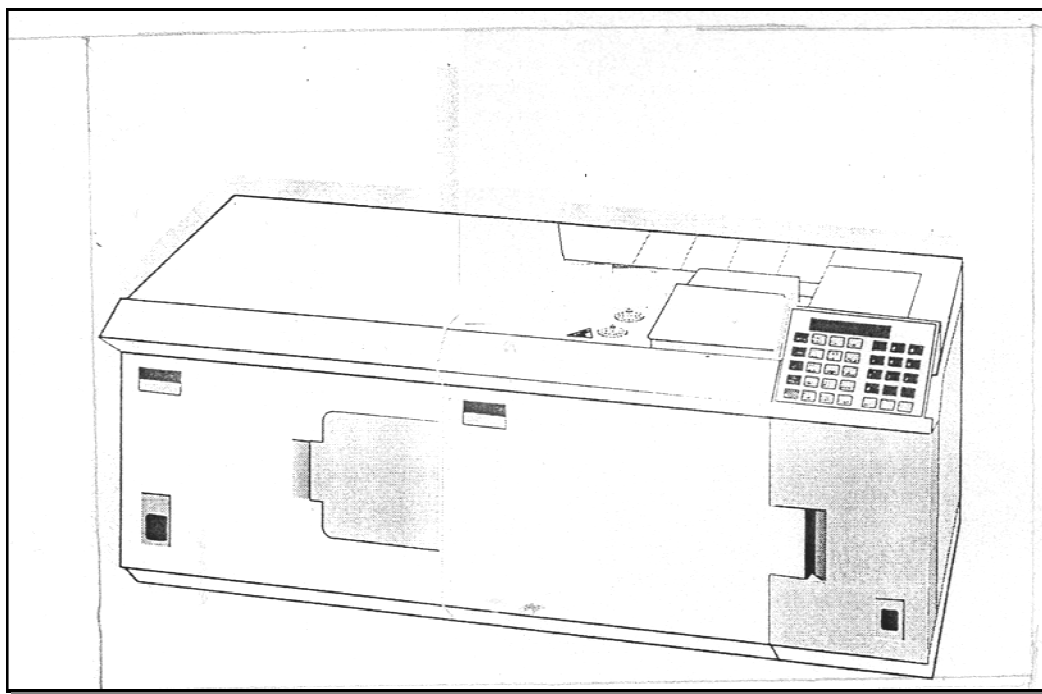


Figure.16: Chromatographe Perkin Elmer de type Auto System XLGC – Turbo Mass Gold System

La séparation a été réalisée sur une colonne capillaire de type Elite - **5 ms** dont les caractéristiques sont représentées dans le tableau 10 :

Tableau.10 : Caractéristiques de la colonne capillaire

Composition	5% Phényl – 95% méthyle
Longueur	30 mètres
Diamètre interne	0,25 μm
Film	0,25 mm
Température limite	de -60°C à 325°C (350°C)

II.1.3. Produits et réactifs

Les solvants utilisés sont de qualité analytique pour chromatographie

- § Méthanol (Panreac- Quimica)
- § Hexane (Prolabo)
- § Acétonitrile (Panreac - Quimica)
- § Éther de pétrole (Panreac- Quimica)
- § Dichlorométhane (Merck)
- § Isooctane(Prolabo, Merck)
- § Acetone (Prolabo, Merck)
- § Chlorure de sodium (normapur analytical reagent)
- § Sulfate de sodium anhydre en poudre (Merck)
- § Florisil (trademark of Floridian company) 60 - 100 mesh de composition silicate de magnesium $MgO+SiO_2$
- § Laine de verre traité (DMCS)
- § Standards (Florida Company)

II.1.4. Les exigences relatives aux réactifs et aux matériaux

Avant de procéder aux opérations analytiques, il est essentiel de redistiller les solvants pour éviter les interférences qui peuvent être causées par des contaminants contenus dans les solvants, les réactifs, la verrerie (voir annexe III) ou les appareils de préparation.

La pureté des solvants peut être vérifiée, en effectuant un test par chromatographie, le chromatogramme ne doit montrer aucune impureté interférente.

II.1.4. 1. Distillation des solvants

Conformément aux normes internationales (FIL 75B : 1983, l'ISO 3890-1 et l'ISO -3890- 2)

§ L'acétonitrile

Mélanger 4 litres d'acétonitrile avec 1 ml d'acide ortho phosphorique et 30 g de pentoxyde de phosphore dans un ballon en verre à fond rond et distiller à une température comprise entre 81° et 82° (la température ne doit pas dépasser 82°).

§ n-Hexane

Ayant un point d'ébullition 68° - 70° : distiller par l'hydroxyde de potassium

§ Ether de pétrole

Ayant un point d'ébullition compris entre 40° et 60° distillé par l'hydroxyde de potassium ou de sodium.

§ Dichlorométhane

Distillé par hydroxyde de sodium.

II.1.4. 1.2. Préparation des réactifs

§ Florisil

Activation et désactivation du florisil

Activer par chauffage à $650^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$, pendant 4h, verser immédiatement dans un flacon bien bouché et le conserver dans l'obscurité. Avant usage, chauffer à $130^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ tous les deux jours. Il convient de le conserver soit à $130^{\circ} \pm 2^{\circ}$, soit à la température ambiante dans un dessiccateur, dans ce dernier cas il est recommandé de le chauffer à 130°C tous les deux jours.

Désactivation du florisil s'effectue par l'ajout de l'eau distillée à 2.5%

§ Sulfate de sodium (Na_2SO_4)

Chauffer à $500^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ pendant 4 heures, laisser refroidir et conservé dans un flacon bouché.

§ Chlorure de sodium NaCl

Chauffer le chlorure de sodium à $500^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ pendant 4 h avant de préparer la solution aqueuse à 2 ‰.

II.2. Méthodes

II.2.1. Choix de la technique d'extraction

Pour obtenir la récupération des pesticides organochlorés dans les graisses, nous avons utilisé une méthode d'extraction et de purification, testée positivement par le laboratoire central d'hygiène alimentaire de Paris ; il s'agit de la méthode décrite par Mme Venant en 1986, modifiée par la FDA en 1994 (Jennequin et *al.*, 2003). Le dosage des résidus de pesticides passe par une extraction à l'aide de solvants variés, puis une analyse chromatographique en phase gazeuse.

Pour des raisons de simplicité et en fonction du matériel dont nous disposions au laboratoire, nous avons utilisé la technique d'extraction liquide - liquide qui est une méthode traditionnelle et la plus ancienne, elle reste à l'heure actuelle, malgré l'existence de méthodes plus élaborées, très utilisée et elle est considérée souvent comme celle donnant les résultats les plus fiables (FDA., 1994 ; Tranchant., 1995).

II.2.2. Principe

La méthode d'extraction est basée sur la liposolubilité des résidus recherchés et par conséquent, l'extraction des résidus organochlorés et de la matière grasse est simultanée. La séparation des résidus et de la matière grasse est essentiellement basée sur leurs différences de solubilité vis-à-vis de deux solvants, tels que l'hexane et l'acétonitrile, selon la méthode décrite par Venant et Borrel (1982). La purification des composés organochlorés est ensuite réalisée sur colonne de florisil avec élution par un mélange éther de pétrole-dichlorométhane (Venant et Richou- Bac., 1981).

Son principe est basé sur l'utilisation d'un solvant ou d'un mélange de solvants organiques pour extraire les résidus, les deux liquides ne devant pas être miscibles entre eux. Dans notre travail l'échantillon est soumis à l'extraction par l'hexane et l'acétonitrile. L'utilisation de ces deux solvants non miscibles l'un dans l'autre permet la séparation de la matière grasse et des résidus. La matière grasse va préférentiellement dans l'hexane, et les résidus dans l'acétonitrile.

Les éventuels résidus sont remis en solution dans l'hexane et la solution est purifiée sur colonne de florisil. L'élua est concentré et injecté en chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

II.2.3. Méthode d'extraction

- § Peser dans un pot de centrifugation 5 g de graisse, le reste de l'échantillon est stocké à l'état congelé et éventuellement analysé ultérieurement afin de confirmer les résultats obtenus (teneurs résiduelles trop élevées par exemple).
- § Ajouter une quantité de sulfate de sodium égale au poids de l'échantillon pour la désintégration tissulaire.
- § Ajouter un mélange de 40 ml d'hexane et d'acétonitrile (20 ml / 20ml) et mélanger le tout, centrifuger pendant 5mn à 1500 tours par minute.
- § Verser la phase surnageante dans une ampoule à décanter de 250 ml.
- § Laver le culot par un mélange 60 ml d'acétonitrile et d'hexane puis centrifuger à 2000 tours par mn pendant 5 mn.
- § Laver le culot par un mélange 60 ml d'acétonitrile et d'hexane et centrifuger à 2500 tours par mn pendant 5 mn.
- § Après chaque centrifugation, verser la phase surnageante dans une ampoule à décanter de 250 ml, bien agiter et éviter toute émulsion et laisser décanter.
- § Verser la phase acétonitrile dans une ampoule à décanter de 500 ml contenant 360 ml d'eau salée à 2 ‰ et 10 ml d'hexane.
- § Agiter et laisser au repos une nuit.
- § Eliminer l'eau salée ayant solubilisé l'Acétonitrile et récupérer la phase hexane contenant les éventuels résidus (figure.17).

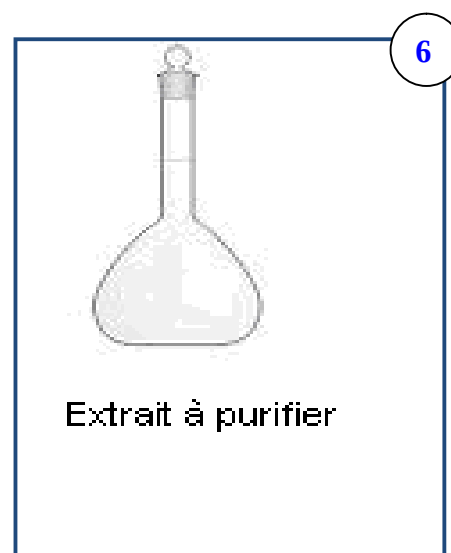
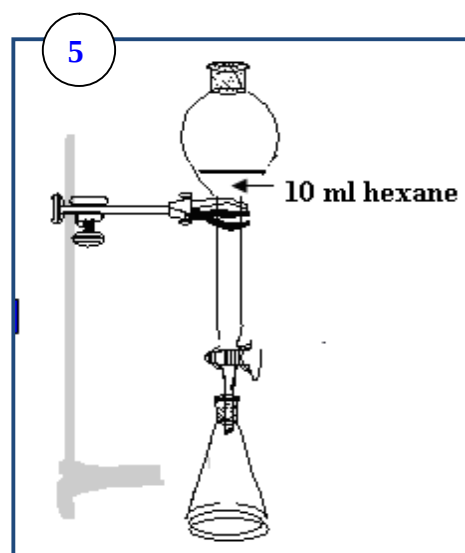
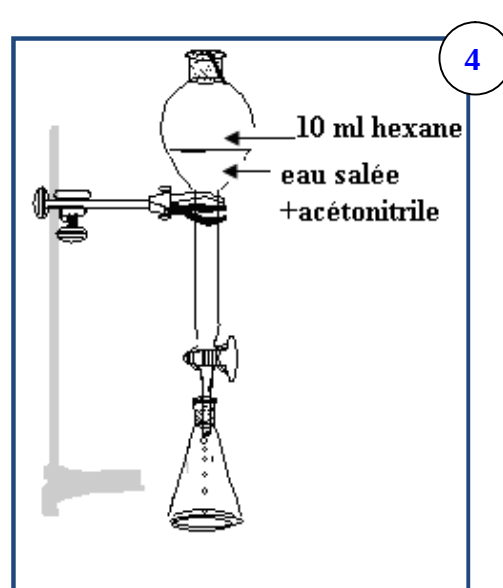
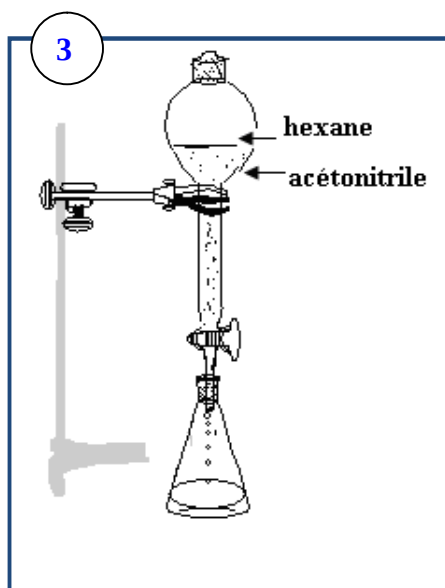
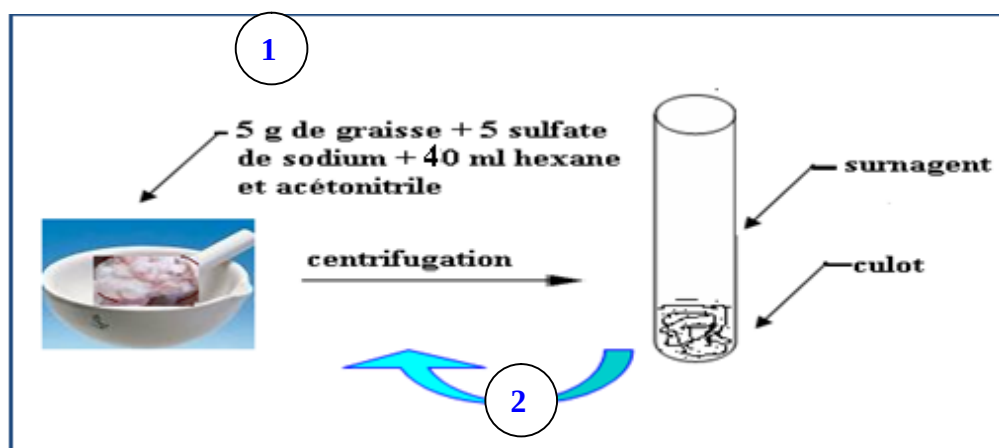


Figure.17 : Diagramme des différentes étapes de l'extraction

II.2.4. Méthode de purification par chromatographie d'adsorption

II.2.4.1.Préparation de la colonne

Dans une colonne de verre, mettre un tampon de laine de verre ,5g de florisil désactivé à 2,5 % puis 3 cm de Na_2SO_4 .

II.2.4.2. Préparation de l'éluant

Dans un ballon à fond plat, verser :

72 ml d'éther de pétrole

Et 18 ml de dichlorométhane

Pour obtenir 90 ml d'éluant

II.2.4.3. Purification et concentration de l'extrait

Afin d'éliminer les composés susceptibles d'interférer les analyses chromatographiques nous avons utilisés comme technique la chromatographie d'adsorption (colonne de florisil) en suivant les étapes suivants :

- § Après avoir préparé la colonne d'éluant, faire un prélavage de florisil avec 50 ml de l'éluant (dichlorométhane et l'éther de pétrole)
- § Éliminer les 50 ml de prélavage.
- § Déposer l'échantillon à purifier
- § Lorsque le niveau de la solution de l'extrait à purifier effleure Na_2SO_4 verser le reste de l'éluant 40 ml, la vitesse d'élution est environ 5ml / mn.
- § Recueillir les 40 ml d'élution dans un ballon rodé à fond plat, concentrer la solution recueillie par l'évaporateur rotatif sous vide entre 35-40 ° C (figure .18) jusqu'à un volume réduit (presque à sec).
- § Reprendre le résidu dans 10 ml d'hexane et injecter dans le CG-SM

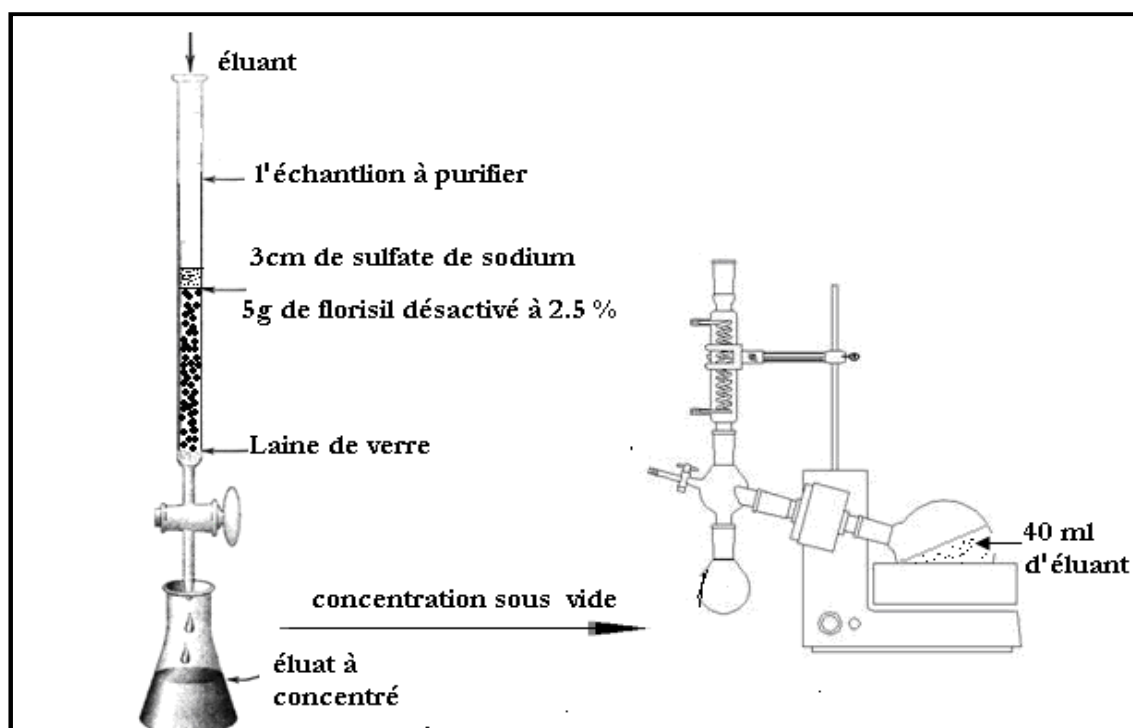


Figure.18 : Schéma représentatif des étapes de purification et de concentration

II.2.5. Mise au point des conditions analytiques du dosage des standards

II.2.5.1. Choix des pesticides étudiés

Deux substances actives le DDT et le lindane, jugées prioritaires, ont été sélectionnées pour être analysées et recherchées dans les graisses.

II.2.5.2. Mise au point de l'appareil CG-SM

Avant d'appliquer la procédure analytique à des échantillons réels, il faut impérativement vérifier les performances de l'appareil CG- SM. Tout d'abord, il faut régler les paramètres de la colonne et du spectre de masse.

Pour aboutir à l'identification de chaque composé puis une séparation des pics correspondants, plusieurs injections ont été réalisées en variant à chaque fois les conditions de travail (volume d'injection ,température, débit de gaz vecteur). L'analyse se fera selon les conditions suivantes :

À l'aide d'une micro seringue un volume de 1 microlitre (pour éviter de saturer la phase stationnaire) est introduit à travers un septum qui obture la chambre d'injection. Cette dernière doit être maintenue à des températures relativement élevées, en général supérieures à celles de la colonne, sans toutefois entraîner la décomposition thermique des substances à chromatographier, l'injection doit être rapide pour éviter les élargissements des pics sur le chromatogramme. Au fur et à mesure de leur passage à travers la colonne, les substances éluées, modifient des propriétés physiques et parfois chimiques du gaz vecteur. Ces variations sont transformées par le détecteur en signaux électriques qui sont amplifiés et transcrits sous forme graphique.

A chaque substance isolée correspond à une courbe sensiblement gaussienne dont la surface est proportionnelle à la concentration.

L'ionisation au niveau du spectromètre de masse est produite sous vide par impact électronique avec une énergie d'ionisation de 70 eV, donc suffisamment grande pour ioniser les molécules et rompre les liaisons en balayage continu (full scan).

Les différents fragments produits sont ensuite déviés par des champs magnétiques et électriques et piégés entre trois électrodes (Ion Trap) avant d'être répartis en fonction de leur rapport masse/charge (m/z) ce qui fournit un spectre caractéristique de chaque molécule.

Pour connaître l'identité du produit, le système que nous avons utilisé permet la consultation de librairie NIST (National Institute of Standards and Technology).

II.2.5.3. Vérification du vide

Etant donné le principe du spectromètre de masse, le maintien de ce vide est très important pour réaliser de bonnes mesures. Il faut vérifier la pression dans le spectromètre de masse. Pour cela, on réalise un spectre de l'air contenu dans le spectromètre de masse (auto tune). On apprécie visuellement la qualité du vide au moyen du spectre de masse, en inspectant la hauteur des signaux à $m/z = 18$ (H_2O), $28(\text{N}_2)$, $32(\text{O}_2)$, dans un système étanche, l'ion à $m/z = 18$ doit être bien supérieur aux ions à $28(\text{N}_2)$ et $32(\text{O}_2)$.

II.2.6. Injection des étalons analytiques

Dans cette première partie, on étudie les temps de rétention des deux composés : le DDT et le lindane et leurs spectres de masse.

II.2.6.1. Lindane

1ml de la solution standard de lindane à 10 mg / L (méthanol) (10ppm) (pureté supérieur à 96 %) est dilué dans 10 ml de méthanol pour obtenir une solution à 1 ppm. 1µl de cette solution est injecté dans l'appareil CG-SM selon les conditions suivantes :

- § Volume d'injection 1 µl (en mode Splitless)
- § Débit de gaz : 1mL.mn⁻¹
- § Température de l'injecteur et l'interface est de 265° C et 300 ° C.
- § La température du four est programmée à 90° C pour 1 mn, programmée à 15° C mn⁻¹ à 150° C est maintenue pendant 1 mn et finalement programmée à 6° C. mn⁻¹ à 275 et maintenue pendant 6 mn.
- § Acquisition des paramètres du spectromètre de masse (SM) sont :
Ion source : 180° C, ionisation par impact électronique 70 eV.
- § Modes d'acquisition : le mode SIM.

II.2.6.2. DDT

De même, 1ml de la solution standard du DDT à 10 mg / L (méthanol) (10ppm) est dilué dans 10 ml de méthanol pour obtenir une solution à 1 ppm.

1µl de cette solution est injecté dans l'appareil CG-SM selon les conditions précédemment détaillées.

II.2.6.3. Identification simultanée du DDT et de lindane dans le mélange

1 µl d'une solution (préparée dans l'hexane) dont les concentrations de DDT et de lindane sont respectivement 200 ppb et 40 ppb est injecté au CG-SM selon les mêmes conditions prédéfinies.

Commentaire

Théoriquement, l'ordre de sortie des deux composés dépend de la polarité des composés et celle de la phase stationnaire. En prenant en considération les masses molaires des deux composés, le DDT (355) sera le plus retenu par la phase stationnaire, il sort donc plus tard. Tandis que le lindane (masse moléculaire est de 290) sera plus volatilisé, il sortira donc en premier. Or ce n'était pas le cas avec le programme choisi ; le lindane est précédé par le DDT (voir figure.21 en chapitre III : Résultats). Pour résoudre ce problème, un autre programme semble plus adéquat a été utilisé.

La programmation de la température de la colonne est très importante car souvent dans un mélange, les temps de rétention des composés sont très différents et il est difficile de pouvoir les séparer en une seule opération à température constante.

Ainsi, la programmation de la température permet tout en diminuant le temps d'analyse, d'obtenir de bonnes séparations et joue un rôle analogue à celui d'un gradient d'élution. En principe, l'analyse s'effectue au départ à une température suffisamment basse pour séparer correctement les composés les moins retenus, puis s'élève progressivement pour permettre l'élution des autres substances à temps minime et sous forme de pics plus étroits.

II.2.6.4. Identification du mélange standard par le deuxième programme

Injection de 1 μ l du mélange (DDT, lindane) est faite en mode *splitless* à une température de 250 ° C. La température du four a été programmée initialement à 100° C pour une minute, puis elle augmente à 15 °C/min jusqu'au premier palier correspondant à une température de 170° C. maintenue pendant 3 mn, ensuite à 5 ° C /mn jusqu'à la température de 350 ° C. La température de la source d'ions et de la ligne de transfert au spectromètre de masse était respectivement de 180 ° C et de 200 ° C pour éviter le problème de condensation.

II.2.6.5. Identification du DDT technique par CG-SM

Le DDT technique est une mixture de plusieurs isomères (65 - 80 % p, p' DDT matière active, 15 - 21 % o, p' DDT presque inactif, 4% p,p' DDD) dont le plus important est le p,p' DDT ou le 4,4' DDT (ATSDR , 2002).

Préparation des solutions étalons de 100 mg / l (ppm)

1 mg de la poudre de DDT technique est dissous dans 10 ml d'hexane.

A Partir de cette solution mère deux dilutions décimales successives ont été réalisées pour obtenir des concentrations de 1 et 0.1 mg / l (ppm)

1 μ l de la solution standard à 0.1 ppm est injecté et analysé par CG- SM.

II.2.6.6. Identification du lindane à différentes concentrations

Selon les mêmes conditions, des injections du lindane ont été réalisées à des concentrations décroissantes allant de 1 mg. l⁻¹ (ppm), 0.1 ppm et 50 ppb et 8 ppb.

II.2.6.7. Vérifications des blancs d'analyse

Les systèmes chromatographiques qui reçoivent des injections répétées d'une substance, même à l'état de traces sont également susceptibles de donner lieu à des effets de mémoire, ces derniers peuvent être facilement prévus par des injections périodiques de l'isooctane.

II.2.7. Les essais préliminaires

II.2.7.1. Essai n°1

Pour contrôler les performances de la méthode d'extraction et de détermination des pesticides organochlorés nous avons analysé l'extrait d'un échantillon de graisse (tel qu'il est) qui a subi toutes les étapes de la procédure d'extraction.

1µL de l'extrait purifié est injecté dans l'appareil CG-SM.

II.2.7.2. Essai n°2

2 prises d'essai du même échantillon égal chacune à 5 g sont traitées comme suit : 50µL de chaque solution standard à 10 ppm sont additionnés à la prise d'essai n° 1 pour avoir une concentration de 100 µg / kg de DDT et de 100µg / kg de lindane.

De même 25µL de chaque solution standard à 10 ppm sont additionnés à la prise d'essai n° 2 pour avoir une concentration de 50µg / kg de DDT et de 50µg / kg de lindane.

L'extraction s'effectue après au moins 4 - 6 h après l'évaporation complète du méthanol et la distribution homogène des composées dans le tissu.

1µL de chaque extrait purifié est injecté dans le CG-SM

II.2.8. Analyse des échantillons

Tous les échantillons (51) ont subi le même traitement et ont été analysés en suivant le même protocole analytique (extraction, purification et analyse GC-MS).

Chapitre III : Résultats

III.1. Résultats des injections des standards

Identification

Pour une identification fiable, deux critères doivent être réunis : le temps de rétention et le spectre de masse avec au minimum trois ions d'identification caractéristiques.

Lindane

On observe que le pic est intense (figure.19), on constate que les fragments principaux obtenus (219, 217, 181) sont identiques au spectre théorique obtenu par la bibliothèque (NIST) des spectres de masse (figure.20) et récapitulé dans le tableau 11.

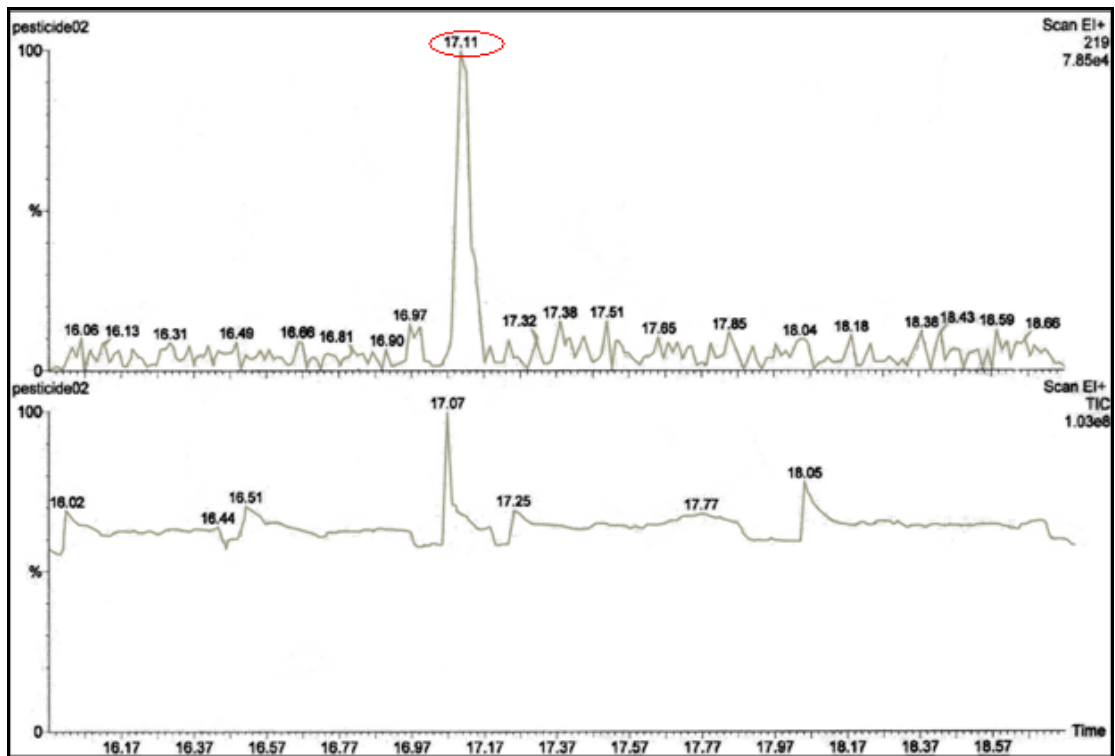


Figure.19 : Chromatogramme du standard de lindane

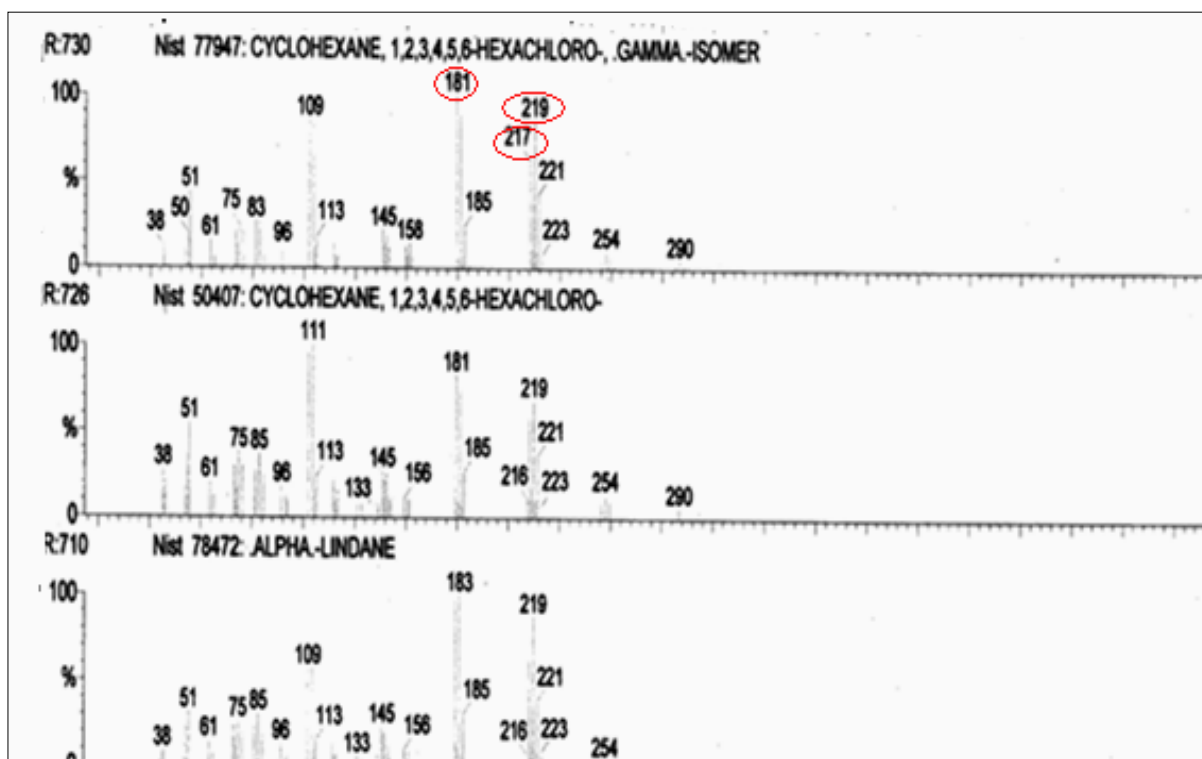


Figure.20 : Spectre de masse du standard du lindane

Tableau.11 : Lindane : temps de rétention et ions d'identification

		<u>Ions d'identification</u>		
Lindane	<u>Temps de rétention</u>	<u>Premier ion</u>	<u>Deuxième ion</u>	<u>Troisième ion</u>
(Gamma HCH)	17.11	219	217	181

DDT

De même, le pic du DDT est intense (figure.21), les fragments principaux obtenus (235, 237, 165) sont comparables au spectre théorique obtenu par la bibliothèque de spectres de masse (figure.22) et récapitulé dans le tableau 12.

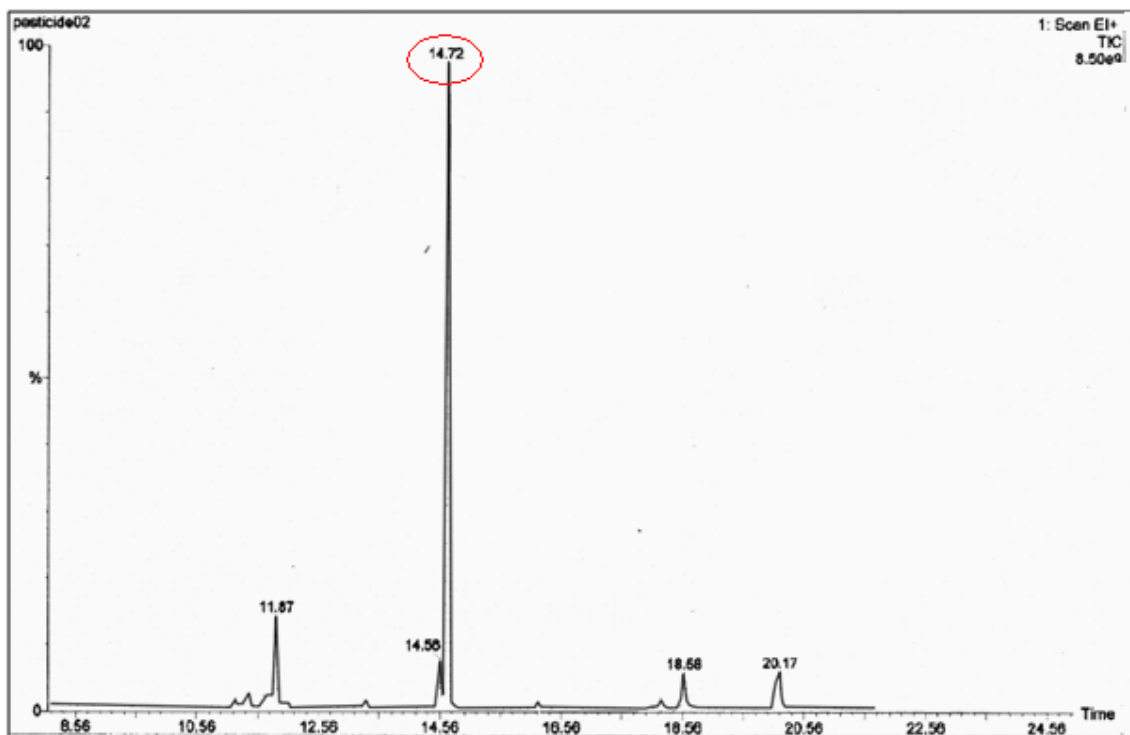


Figure.21 : Chromatogramme du standard de DDT

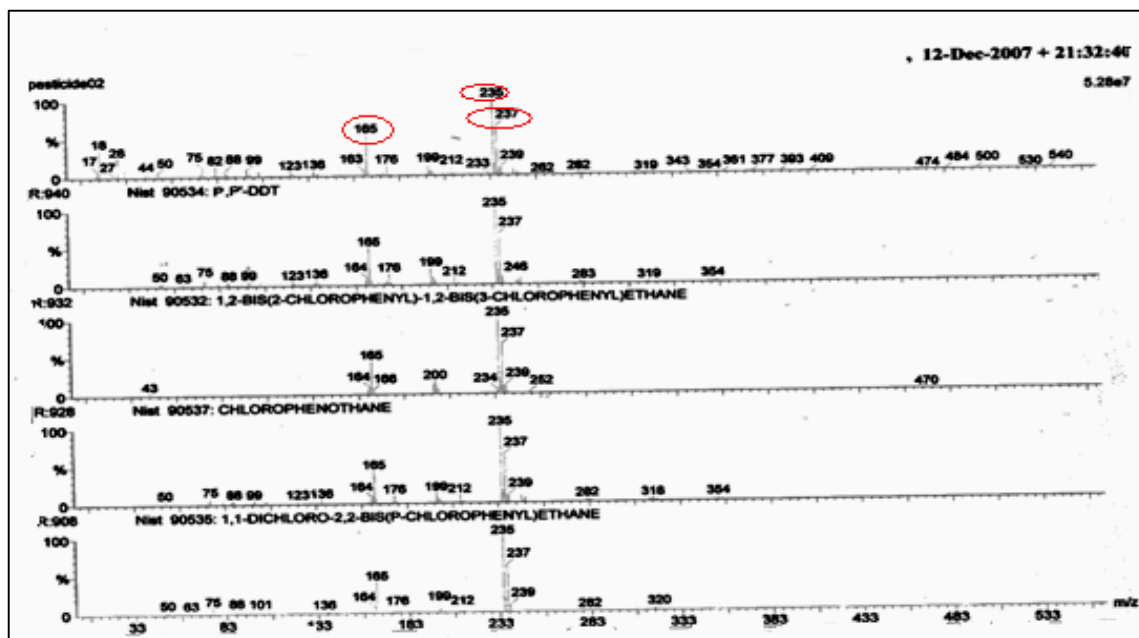


Figure.22 : Spectre de masse du standard du DDT

Tableau.12: DDT : Temps de rétention et ions d'identification

<u>Ions d'identification</u>				
	<u>Temps de rétention</u>	<u>Premier ion</u>	<u>Deuxième ion</u>	<u>Troisième ion</u>
DDT	14.72	235	237	165

Identification simultanée du DDT et du lindane dans le mélange

Le chromatogramme A du mélange (figure.23) représente deux pics : 14.65 et 17.13 correspondent aux temps de rétention de DDT et de lindane respectivement qui sont repris dans le tableau 13.

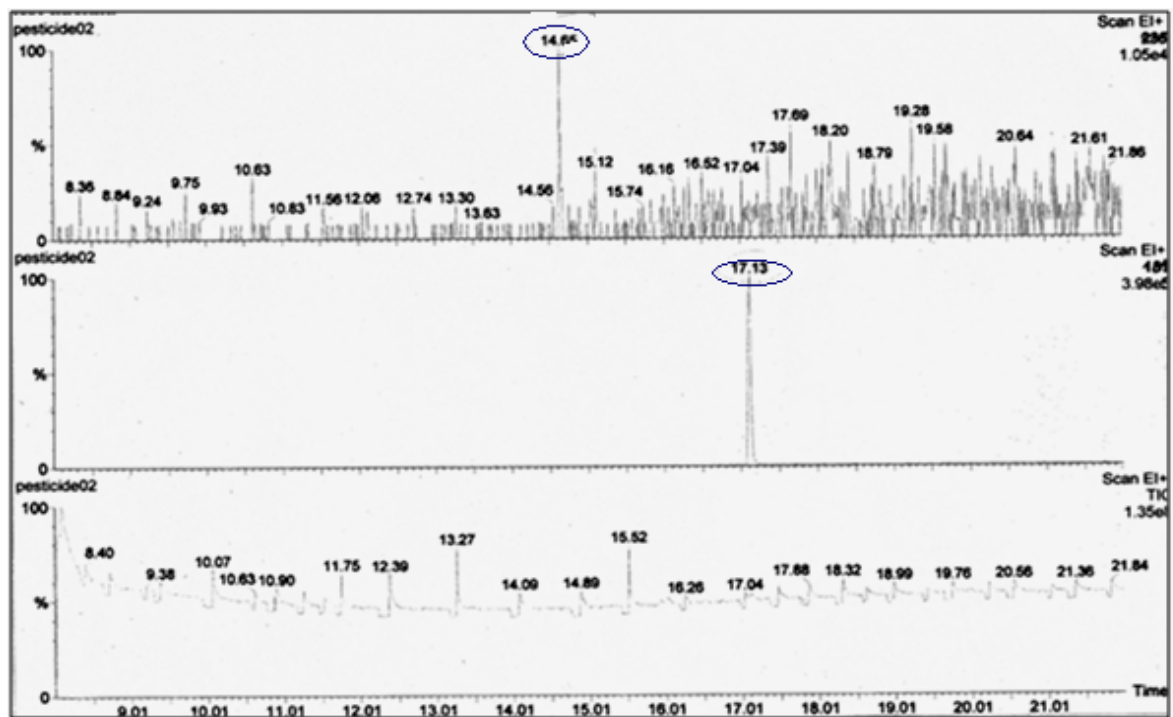


Figure.23 : Chromatogramme A du mélange standard DDT – Lindane

Tableau.13 : Récapitulatif des temps de rétention (DDT, Lindane)

	DDT	LINDANE
Temps de rétention	14.65	17.13

Identification du mélange standard

Nous avons pu mettre en évidence les deux composés simultanément les deux pics dans le chromatogramme B (figure.24) qui correspondent au lindane (17.08) et au DDT (24.76) et récapitulé dans le tableau 14.

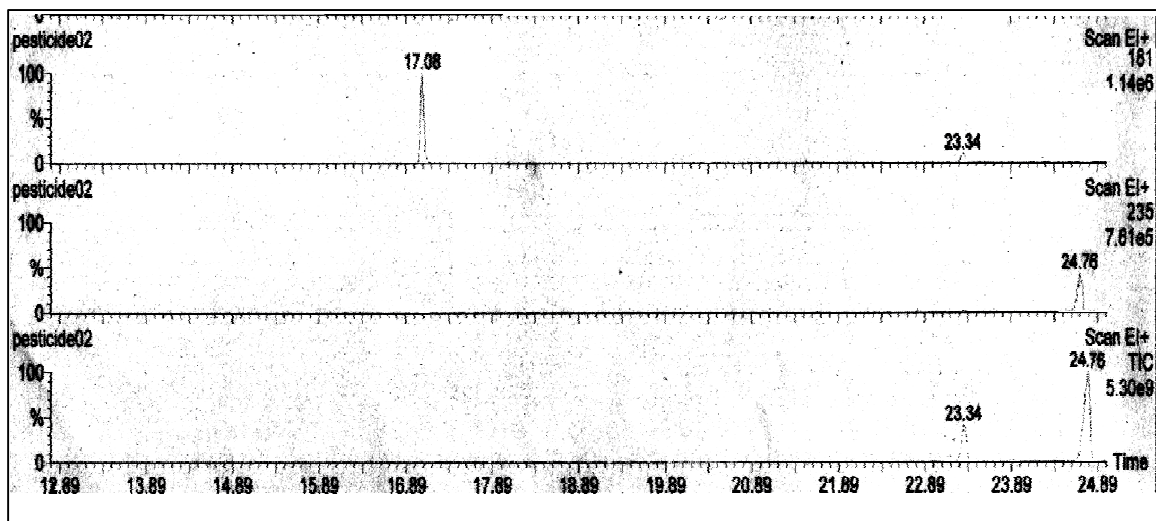


Figure.24 : Chromatogramme B du mélange standard DDT - Lindane

Tableau.14 : Temps de rétention des deux molécules avec le deuxième programme

	LINDANE	DDT
Temps de rétention	17.08	24.76

DDT technique

Le temps de rétention du DDT technique est 24.71, il se raccorde avec le temps de notre standard 4,4 ' DDT (figure.25).

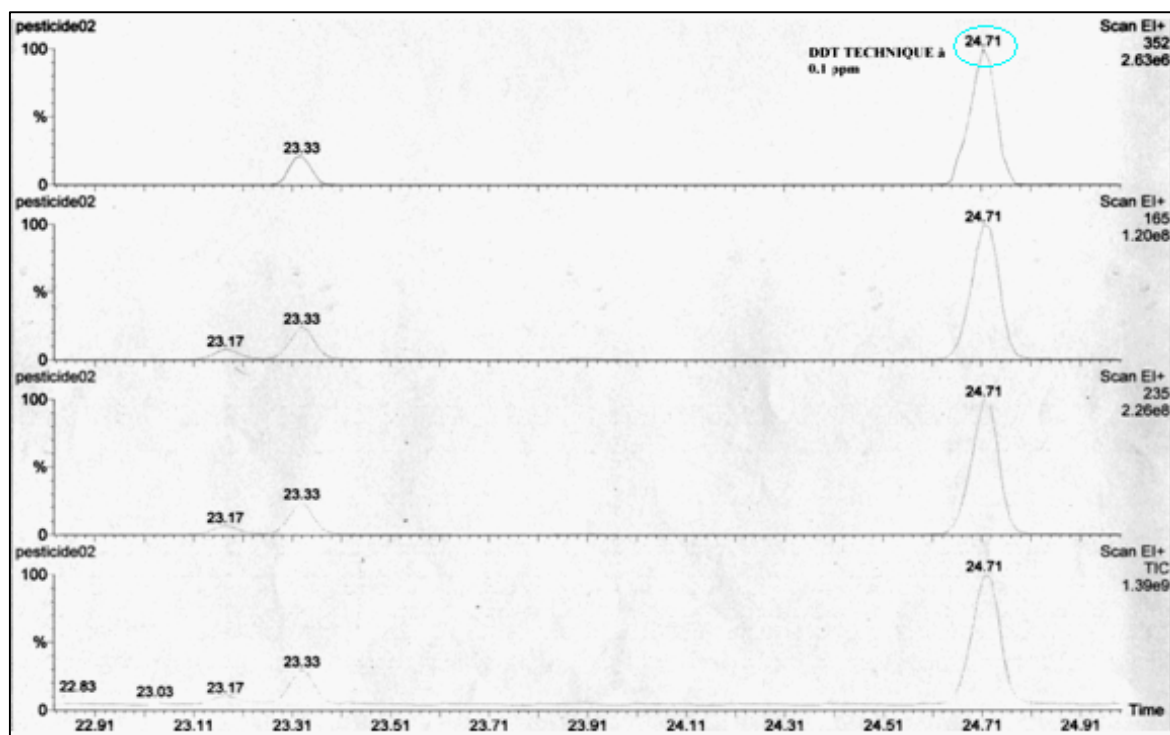


Figure.25 : Chromatogramme du DDT technique

Ceci confirme sa stabilité chimique ainsi que sa persistance depuis plusieurs années.

Le lindane à différentes concentration

Le lindane est identifié à toutes les concentrations : 1 mg.l⁻¹ (ppm) (figure.26), 0.1 ppm (figure.27), 50 ppb (figure.28) et 8 ppb (figure.29).

A 8 ppb, le lindane est identifiable mais non quantifiable (aire non intégrable par le logiciel).

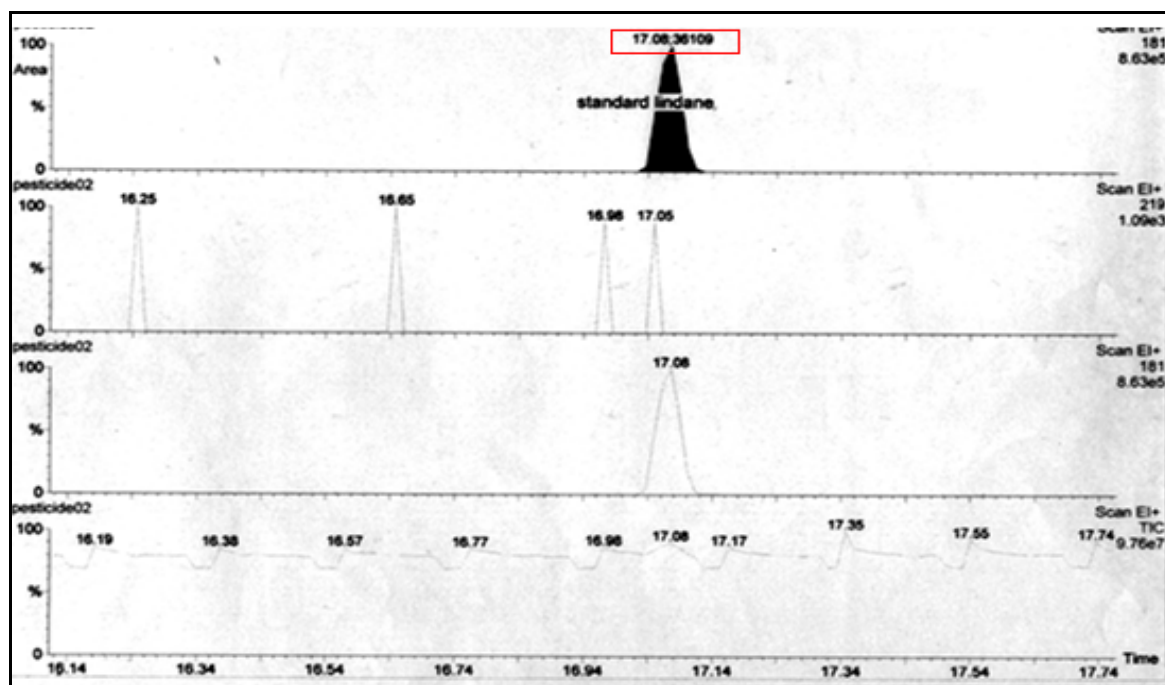


Figure.26 : Chromatogramme du lindane à 1 mg. l⁻¹

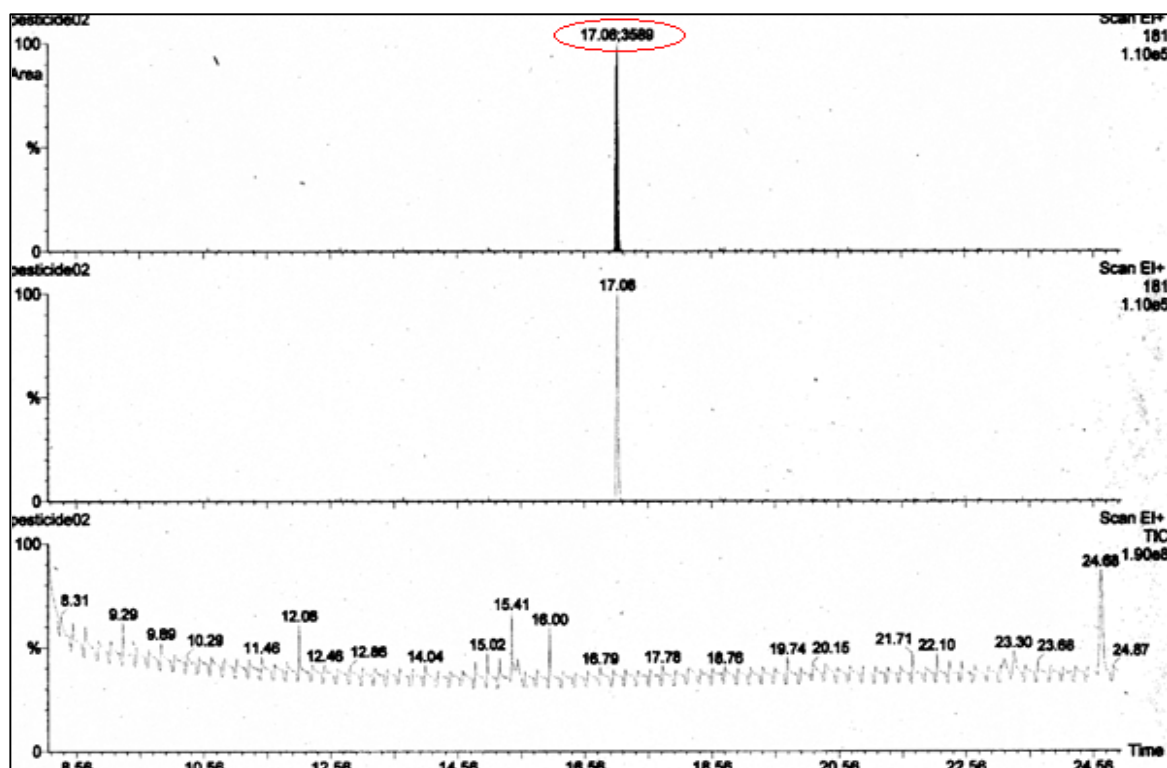


Figure.27 : Chromatogramme du lindane à 0.1 mg. l⁻¹

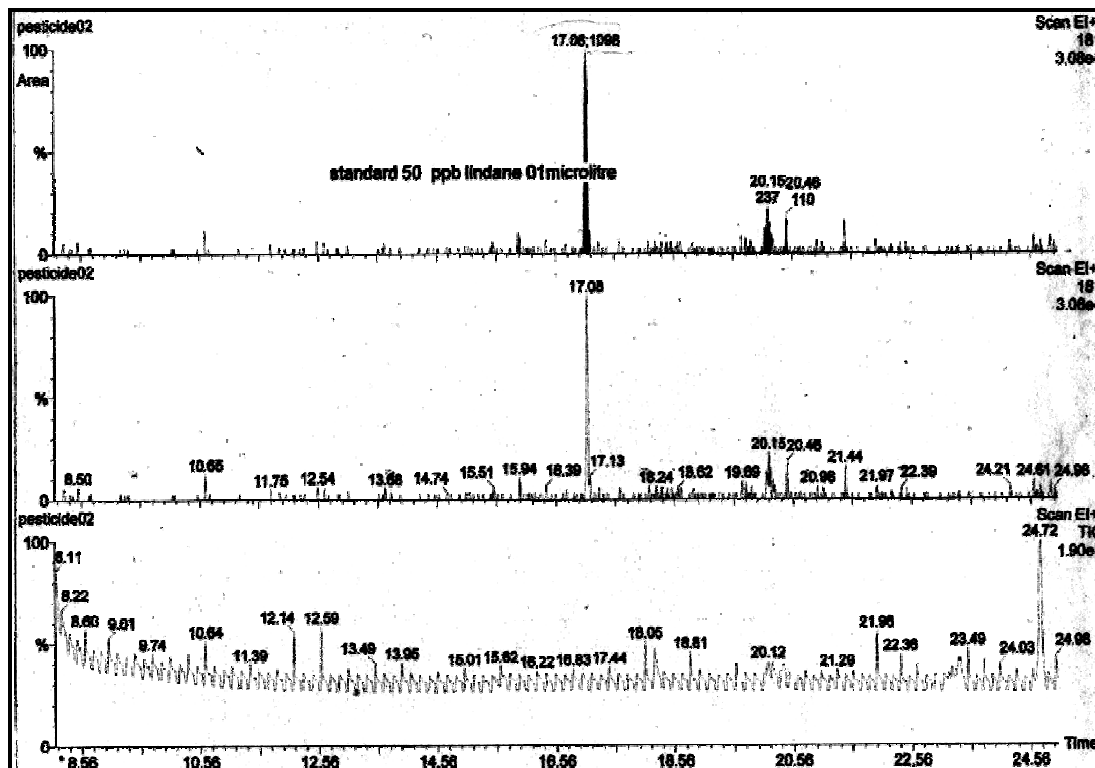


Figure.28 : Chromatogramme du lindane à 0.05 mg. l⁻¹

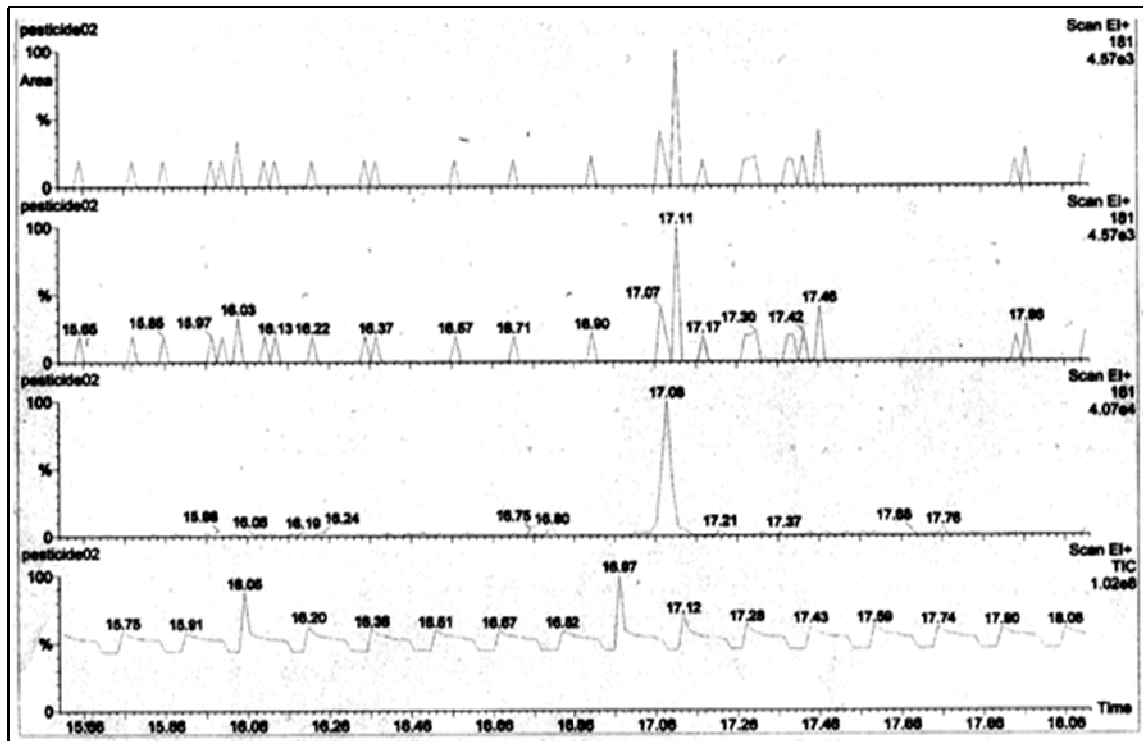


Figure.29 : Chromatogramme du lindane à 0.008 mg. l⁻¹

Essai n°1

Le chromatogramme obtenu (figure.30) permet d'établir à la fois la nature et la concentration approximative des composés présents dans les extraits de l'échantillon analysé.

Par ailleurs, le chromatogramme de l'échantillon analysé n'a présenté aucun pic des deux substances dans les conditions opératoires choisies.

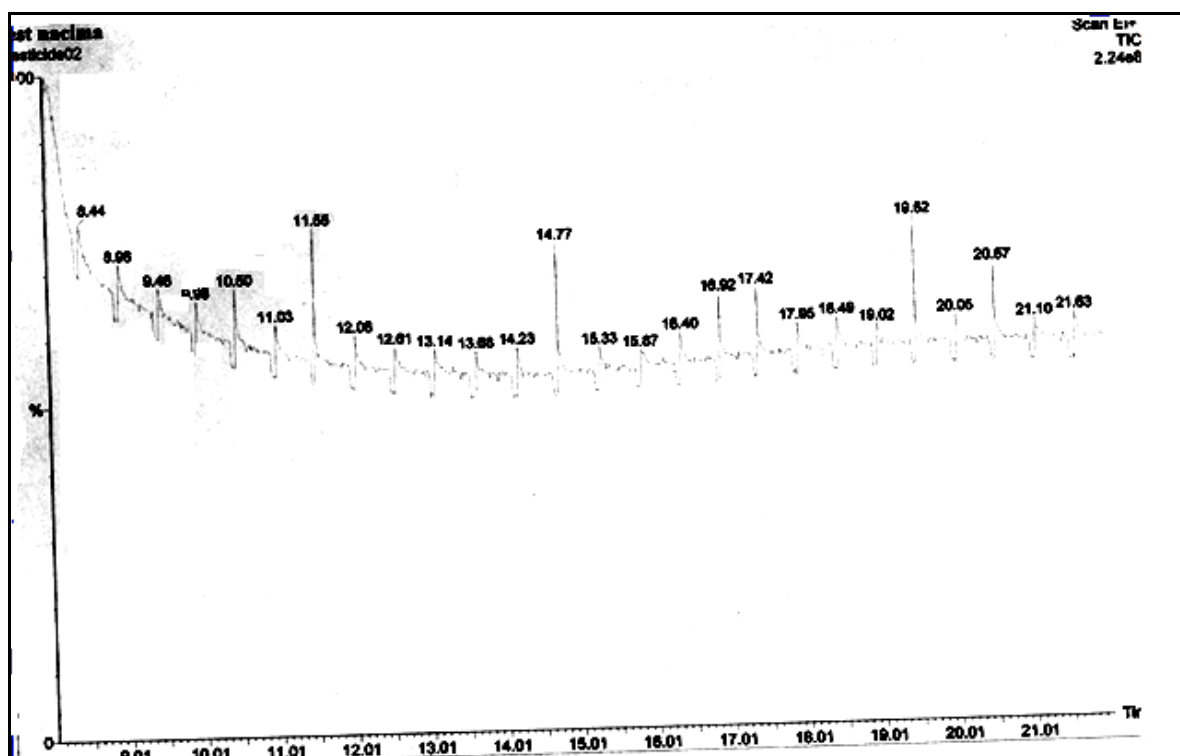


Figure.30 : Chromatogramme typique d'un échantillon analysé sans ajout de DDT et de lindane

Essai n°2

Les analyses chromatographiques des échantillons dopés par le DDT à 50 et 100 pb ont révélés la présence du pic de DDT (figures 31 et 32).

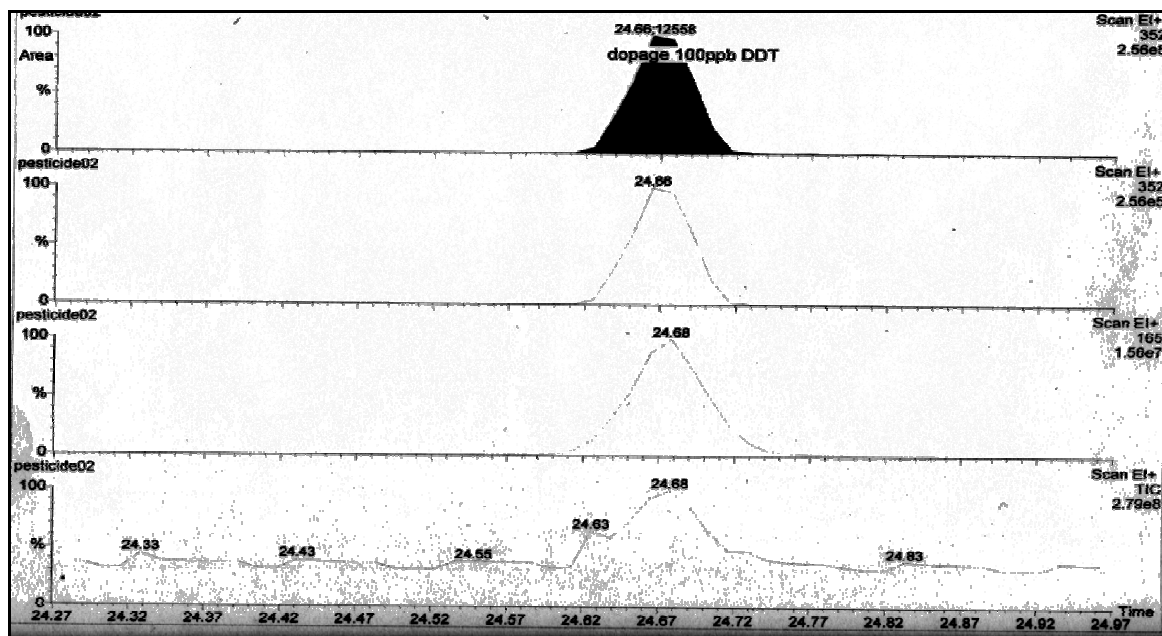


Figure.31 : Chromatogramme de l'échantillon dopé par 100 ppb de DDT

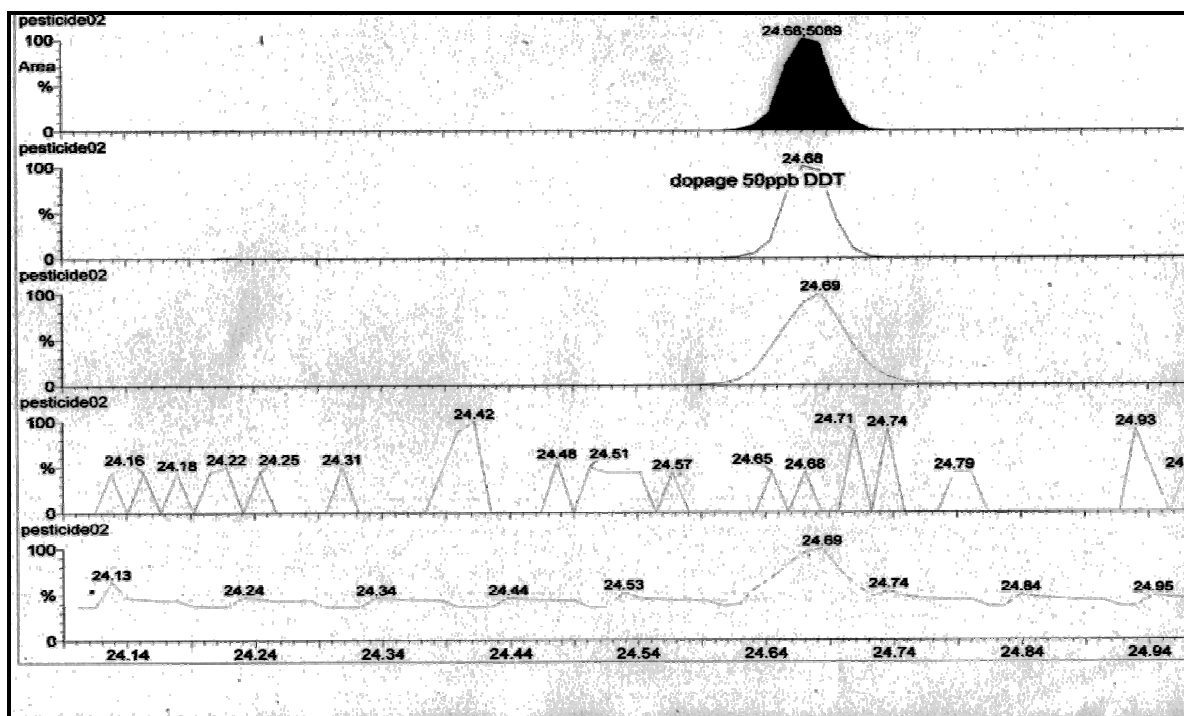


Figure.32: Chromatogramme de l'échantillon dopé par 50 ppb de DDT

Les analyses chromatographiques des échantillons dopés par le lindane à 50 et 100 ppb ont révélés la présence de lindane (figures 33 et 34).

Note : Ces résultats confirment l'efficacité de la technique d'extraction et de la purification.

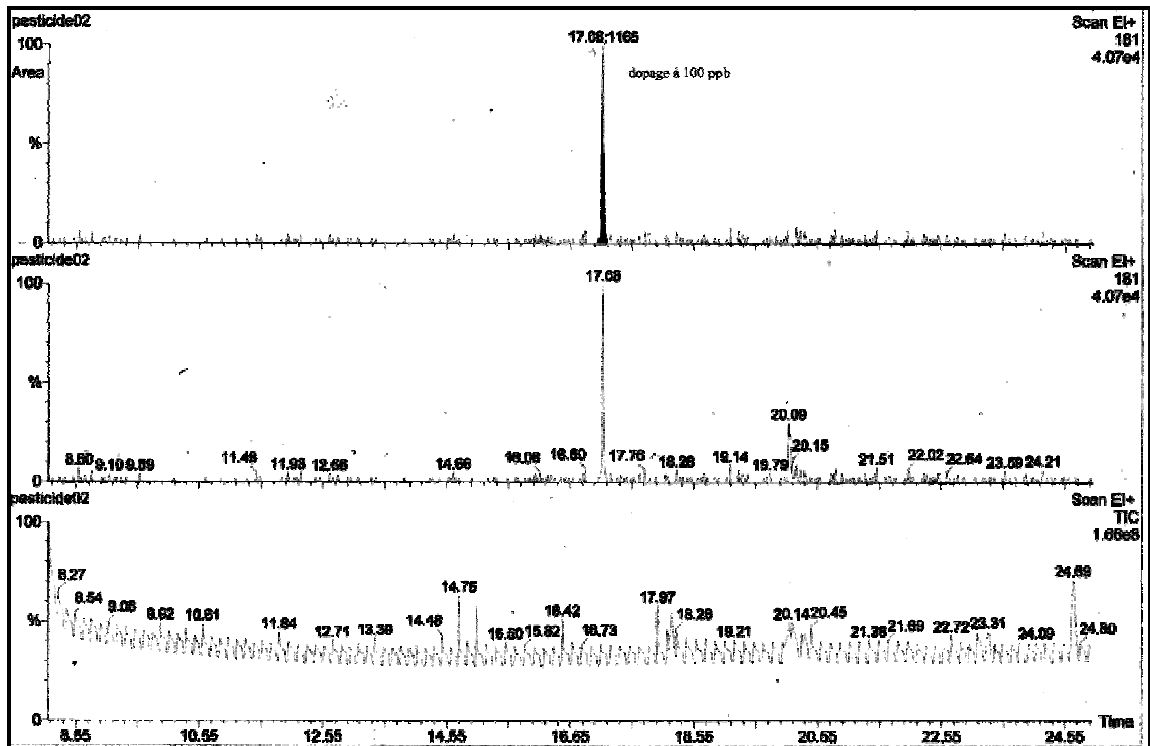


Figure.33: Chromatogramme de l'échantillon dopé par 100 ppb de lindane

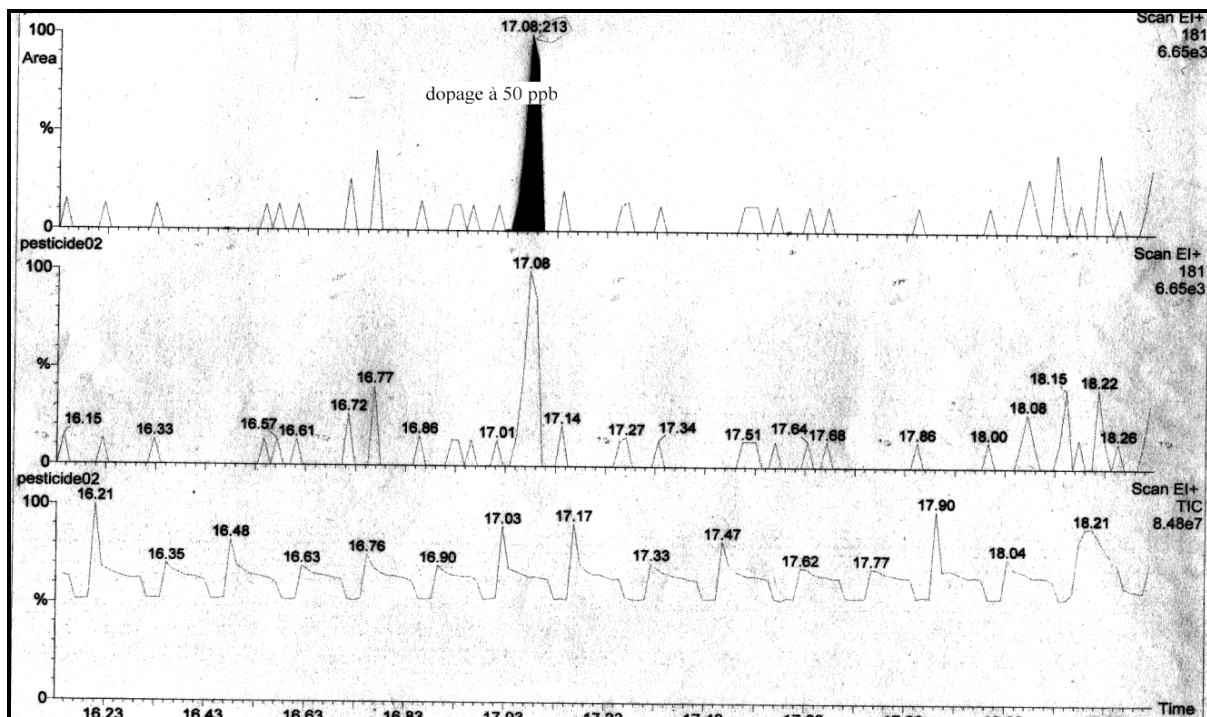


Figure.34 : Chromatogramme de l'échantillon dopé par 50 ppb de lindane

III.1.2. Résultats des analyses des échantillons

L'analyse des chromatogrammes et les spectres de masse récupérés après extraction de l'ensemble des échantillons n'ont montré aucune trace des deux insecticides recherchés.

Les analyses montrent l'absence de DDT et de lindane à des traces décelables dans nos conditions expérimentales. Néanmoins, il est à noter que 4 échantillons provenant de la région de Baraki contenaient un dérivé de l'atrazine : 3,5 diméthylamino-3,5-dihydroxy-1,2,4 -atrazine (figure.35).

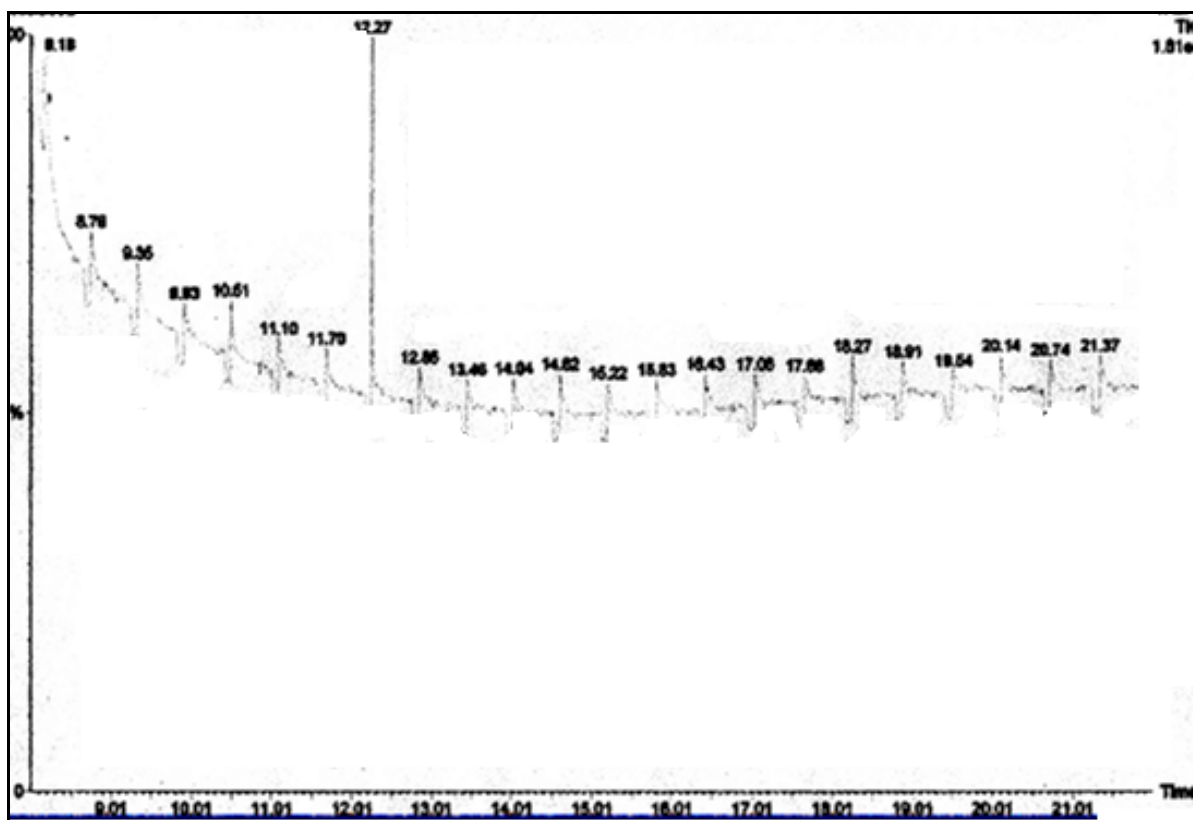


Figure.35 : Chromatogramme d'un des 4 échantillons de la région de Baraki
(Dérivé de l'atrazine : temps de rétention est de 12.27)

III.1.2.1. Taux de détection dans la région d'Alger

Les taux de détection de lindane, de DDT et de dérivé de l'atrazine sont représentés dans le tableau 15 et schématisés par la figure.36.

Tableau.15 : Le taux de détection dans la région d'Alger

Composé	DDT	lindane	Dérivé de l'atrazine
Taux de détection	0 %	0 %	23.52 %

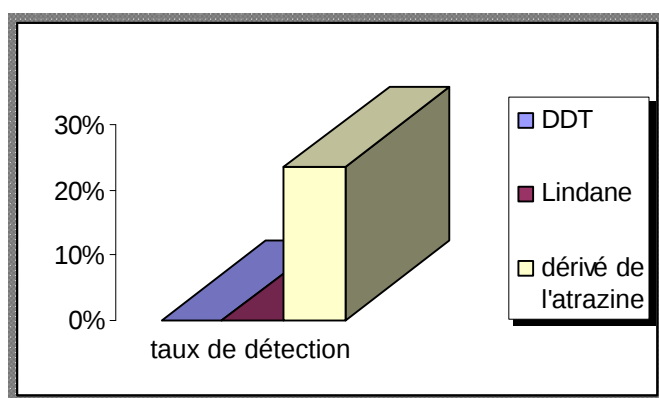


Figure.36 : Taux de détection dans la région d'Alger

III.1.2.1. Taux de détection dans les autres régions

Les taux de détection de lindane, de DDT et de dérivé de l'atrazine sont représentés dans le tableau 16 et schématisés par la figure.35

Tableau.16 : Taux de détection de DDT et de Lindane dans les autres régions

	DDT	Lindane
Taux de détection dans LAGHOUAT	0 %	0 %
Taux de détection dans DJELFA	0 %	0 %
Taux de détection dans ADRAR	0 %	0 %

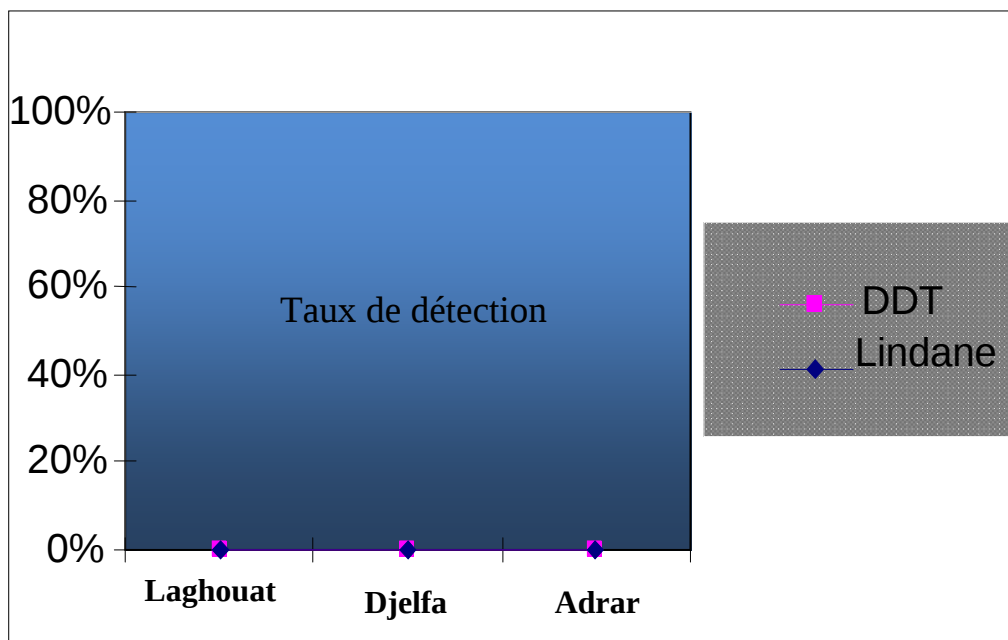


Figure.37 : Taux de détection de DDT et de Lindane dans Laghouat, Djelfa et Adrar

Récapitulatif

Le récapitulatif des résultats des analyses obtenus pour les 51 échantillons au niveau des 4 sites étudiés est rapporté dans le tableau 17 et schématisé par la figure 38.

Tableau.17: Taux de détection global

Composé	DDT	lindane	Dérivé de l'atrazine
Taux de détection	0 %	0 %	7.84 %

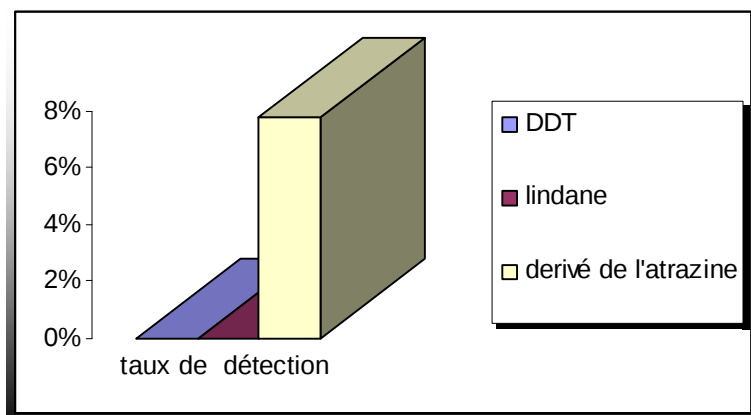


Figure.38 : Taux de détection global

Adoptant comme seuil de comparaison, les recommandations du codex OMS /FAO sur les limites maximales résiduelles qui sont de l'ordre 2 ppm (2 mg /kg) pour le lindane et 5 ppm (5mg /kg) pour le DDT. Il ressort que les échantillons analysés sont dans leurs totalités satisfaisantes. La contamination de la viande ovine par les deux composés organochlorés en particulier par le lindane est en nette diminution par rapport aux taux obtenus en 1985 ; en moyenne un taux de 14.46 ppb a été rapporté par Benouadah dans la région de Tiaret et des taux de l'ordre de 50 ppb, 30 ppb, 30 ppb et 90 ppb dans les régions de Tébessa, Souk Ahras, El Eulma et Chellala respectivement ont été rapportés par Alamir (figure.39).

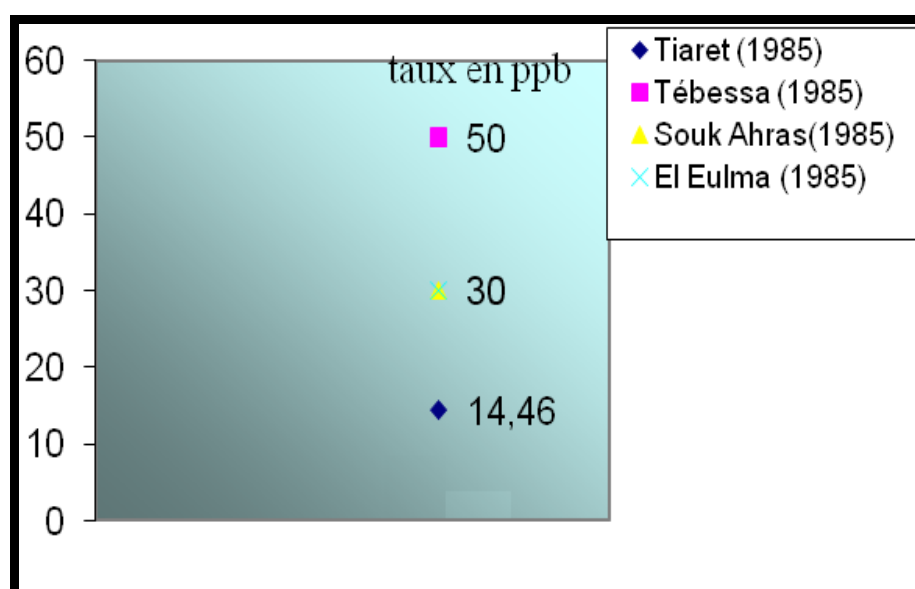


Figure.39 : Evolution du taux de lindane dans les graisses de mouton Algérien

Chapitre IV : Discussion

Les enquêtes menées dans les 3 sites : Alger, Laghouat et Djelfa (à l'exception de la wilaya d'Adrar à cause de l'absence des données) restent très limitée. Néanmoins elles permettent d'apporter quelques éléments d'estimation de la situation ; il en ressort que la lutte chimique est assurée par environ 154 fongicides, et 166 autres produits dont : 154 acaricides et insecticides, 06 produits utilisés comme nématicides, 04 comme raticides, et 02 produits utilisés en médecine vétérinaire (Bayvarol et Apistan).

Le DDT est encore utilisé mais ses utilisations sont méconnues.

Le dicofol utilisé comme acaricide (précurseur du DDT) et l'endosulfan sont des composés organochlorés apparemment largement utilisés.

Les pesticides organochlorés sont des produits très persistants et ubiquitaires, ils sont parmi les polluants les plus répandus et les plus détectés dans la plupart des organismes vivants ; ils se concentrent dans les tissus adipeux et se bioconcentrent dans la chaîne alimentaire.

Le DDT et ses métabolites ont été détectés dans les aliments partout dans le monde, c'est d'ailleurs probablement la principale voie d'exposition de l'ensemble de la population. Le DDT était le deuxième résidu le plus fréquemment mesuré et pouvait atteindre 0.410 mg/kg lors d'une enquête sur les résidus des pesticides dans les matières grasses et les œufs des animaux domestiques en Ontario au Canada (Anonyme., 2003). Par ailleurs, le DDT était le plus fréquemment détecté dans l'alimentation avec un taux de détection de 21% aux USA lors d'une enquête menée par l'Administration de l'Alimentation et des Médicaments (FDA) sur l'apport alimentaire total (Anonyme., 2003).

Les données bibliographiques montrent une réduction considérable de près de 90 % de l'exposition humaine à ce pesticide et aux composés apparentés au cours des trois dernières décennies, malgré la présence de DDT dans l'environnement ainsi que dans de nombreux aliments destinés à l'alimentation humaine et animale. Les aliments d'origine animale constituent la principale source d'exposition humaine, de récentes études indiquent une consommation alimentaire moyenne chez l'adulte et l'enfant comprise entre 5 et 30 ng /kg de poids corporel et par jour (EFSA., 2006).

Nos résultats montrent que les résidus de DDT et de lindane sont non décelables ; aucune valeur positive n'a été notée.

Cette diminution est due à la réduction et de l'utilisation des pesticides organochlorés dans le temps récent suite à leur interdiction et les mesures restrictives prises par l'état ; la réglementation algérienne qui va dans le sens de la réglementation internationale (la

convention de Stockholm est entrée en vigueur le 17 Mai 2004, l'Algérie l'ayant signée le 05 Septembre 2001) devrait protéger des impacts nuisibles des pesticides sur l'environnement et sur la santé. Les organochlorés aujourd'hui en grande partie sont remplacés par les composés organophosphorés et par les pyréthrinoïdes de synthèse, ils ont presque disparus de la panoplie des produits agrochimiques utilisés en Algérie, d'une part et d'autre part l'utilisation modérée des produits agrochimiques par rapport aux autres pays du monde au cours des dernières années, à titre d'exemple, l'utilisation du lindane avait atteint 14 tonnes par an en Algérie d'après Li et *al* (1996), alors qu'en France 1863 tonnes, le Canada 285 tonnes, l'Angleterre 77 tonnes, la Chine 100 tonnes. Tandis que la production du lindane avait atteint 72 tonnes en Algérie (Li., 1999).

Contrairement aux autres pesticides organochlorés, le DDT a une forte tendance d'accumulation dans les graisses, le lindane ne persiste pas dans l'environnement et dans les animaux vivants (Venant et *al.*, 1991), les résidus de lindane ne peuvent être retrouvés qu'après quelques semaines d'exposition des animaux, du fait que les mammifères procèdent à la métabolisation du lindane par élimination d'un HCl ; le pentachlorocyclohexane ou le trichlorobenzène formés sont transformés ou éliminés sous forme de chlorophénol ou sous forme de conjugués phénylmercapturiques (Lefeuvre., 1986) d'où l'intérêt de leur dosage dans les urines. Par ailleurs les résidus de pesticides organochlorés sont souvent non décelables dans les différentes études (Kan et Meijer., 2007).

La non détection de résidu de lindane dans les échantillons de graisses ovines est peut-être dû à une contamination probablement non récente.

Puisque l'apport alimentaire des pesticides va dépendre essentiellement de la concentration dans les plantes qui est généralement minimale (Manirazika et *al.*, 2002 ; Rind., 2002), les animaux herbivores dans les élevages extensifs ne présentent que peu de risque en terme de résidus de pesticides puisque ces animaux sont nourris qu'avec l'herbe ou de fourrages. A l'inverse, dans les pays développés où les animaux autrefois sont nourris d'une alimentation à base des graisses animales recyclées (farine animale ou de poisson), des taux très élevés ont été rapportés (Manirazika et *al.*, 2002), par conséquent la maîtrise de leur concentration dans l'alimentation des animaux dans ces pays est un maillon essentiel dans les stratégies pour la diminution de l'exposition à ces substances (Narbonne., 2002).

Le processus analytique habituellement utilisé pour la recherche des pesticides est souvent conditionné par:

La capacité d'échantillonnage et le coût élevé des méthodes d'analyse s'imposent devant le nombre des échantillons traités, il est probable que les résultats décrits auparavant obtenus sur les 51 échantillons ne soient pas représentatifs des valeurs actuelles de la contamination de la viande ovine par les résidus des deux composés le DDT et le lindane, de plus il existe plusieurs paramètres peuvent affecter les analyses des pesticides :

Les problèmes associés aux analyses des pesticides dans les matrices alimentaires riches en matières grasses sont bien connus, l'étape de la préparation de l'échantillon en particulier, l'extraction est cruciale dans la procédure analytique; à titre d'exemple une faible fraction lipidique peut masquer le signal de l'analyte recherché en diminuant la sensibilité du système chromatographique et elle peut même causer un dommage du détecteur , d'où l'intérêt d'éliminer les molécules de grande masse moléculaire lors de la purification (Ferrer et *al.*, 2005 ; Patel et *al.*, 2005 ; Guardia-Rubio et *al.*, 2006 ; Hercegova et *al.*, 2007 ; Przybylsk et Hommet., 2008).

Les erreurs au cours de la manipulation (extraction, purification, injection au système chromatographique) de l'échantillon conduisent aux pertes systématiques des analytes recherchés (Venant et *al.*, 1991 ; Frenich et *al.*, 2006) et l'aspect technique nécessite un savoir-faire analytique et une expérience de plusieurs années ainsi qu'un matériel analytique performant.

D'autre part la tendance actuelle de l'utilisation réduite des pesticides a conduit systématiquement à des concentrations faibles voire non décelables de résidus de pesticides dans la chaîne alimentaire d'où la nécessité de mettre en œuvre des méthodes plus sensibles pour atteindre des limites basses de détection (Domotorova et Matisova., 2007).

L'exposition de la population à l'atrazine est attribuable en une très vaste proportion à la voie orale, puisqu'elle résulte principalement de l'ingestion d'eau contaminée (l'OMS a fixé une valeur de 1µg / l dans les eaux de boisson) et dans une moindre mesure à partir de résidus dans les aliments (l'Agence Américaine de l'environnement (EPA) a fixé une LMR égale à 0.02 µg /kg dans les graisses animales ainsi que les dérivés de viandes (ATSDR., 2003).

L'abondance de résultats analytiques positifs vis-à-vis de la recherche d'atrazine dans l'eau dans la littérature scientifique nous fait penser qu'il s'agit d'une contamination probable de l'eau d'abreuvement par l'atrazine, elle est régulièrement retrouvée dans les eaux superficielles, à des teneurs souvent supérieures à celles recommandées. L'eau, qu'elle soit

d'origine souterraine ou superficielle, est donc une voie majeure d'entrée de l'atrazine au sein de la filière animale.

L'étude de sa structure et de ses propriétés physico-chimiques montre qu'il s'agit d'une substance capable de persister dans l'environnement et de se bioconcentrer, d'où sa présence dans les plantes notamment les céréales, les aliments de base des animaux d'élevage. Récemment elle a fait l'objet d'une évaluation toxicologique lors de la réunion conjointe FAO/OMS en 2007; c'est une molécule stable dans l'environnement, de faible solubilité dans l'eau, la valeur de son coefficient octanol – eau (k_{ow}) égale à 2,4 d'où le risque de sa bioconcentration dans les graisses (Bertrand et Duhem., 2004), son incorporation est envisagée dans la liste des Pops de la Convention de Stockholm (Narbonne., 2002). Baranowska et al (2006) ont pu la détecter dans les graisses du lapin mais pas dans les viandes à un taux de 26.7 µg/g.

Il est important de signaler que les analyses effectuées il y a plusieurs années faisant toutes ressortir des taux de résidus des organochlorés élevés, par contre depuis leur incrimination dans divers pathologies chez l'homme et leur interdiction, les taux ont diminué graduellement et les études récentes montrent des taux qui concordent avec nos résultats, à titre d'exemple :

- § En 1995, Un taux nul de détection des organochlorés et des organophosphorés dans les graisses (ovines, bovines) a été rapporté par la direction de la médecine du Royaume Uni (Mavis., 1996).
- § De même, lors d'un programme de surveillance des résidus de pesticides dans les viandes fraîches en Catalogne (Espagne), les organochlorés n'ont pas été détectés (Fontcuberta et al, 2008).
- § Au Royaume-Uni, aucun résidu organochloré n'a été retrouvé dans des échantillons de viandes, d'œufs et même dans l'alimentation de bébés (Pesticides Residues Committee, 2006).
- § En France, les résultats du plan de contrôle orienté réalisés en 1999 sur 726 échantillons de carcasses ovines au niveau de l'abattoir n'ont révélé aucune valeur positive de DDT (DGA., 2001)

Ces résultats ont une signification au-delà du contexte national et ou local. Néanmoins, la comparaison avec d'autres études est délicate, et elle doit être faite avec prudence car il y a de nombreux facteurs qui peuvent influencer les résultats et leurs interprétations : la méthode d'échantillonnage, le nombre des échantillons et leur source de prélèvement, les propriétés des pesticides analysés et les méthodes de laboratoires (extraction, la méthodologie analytique et les limites de détection et de quantification) ainsi que les contrôles de qualité sur la technique analytique (Fontcuberta et *al.*, 2008).

Il est important de signaler que les données collectées sur la recherche des résidus de pesticides sont davantage issues d'études ponctuelles, il s'agit donc de données locales ou liées à des sites particulièrement contaminés (Narbonne., 2002). A titre d'exemple les pays en voie de développement qui continuent d'utiliser les composés organochlorés en particulier le DDT en raison de leur faible coût et leur efficacité (Tanabe et *al.*, 1991) par conséquent, les problèmes d'environnement associés à ces contaminants toxiques dans ces pays sont d'une grande inquiétude, et même dans les pays de grande capacité industrielle de production des pesticides organochlorés tels que l'Inde qui les vendent au Bangladesh, aux Philippines et à l'Amérique latine, conduisant à un usage massif de composés organochlorés.

D'autre part il faut prendre en considération la volatilisation de ces composés qui cause leur propagation par leur transportation dans l'atmosphère à des latitudes plus élevées aux zones tempérées et même aux régions polaires (Carvalho., 2006).

D'autres travaux effectués à travers les différentes régions du monde font apparaître des taux positifs :

- § En Australie, le plan national de contrôle des résidus pesticides de 1989-1994 effectué sur 29269 échantillons de graisses ovines a révélé un taux de détection de DDT de 0.34 %, cependant un taux de 0.31 % a été enregistré sur 39854 échantillons de graisses bovines (Anonyme., 1995a).
- § D'après les données du ministère de l'agriculture sur les résidus de DDT dans les viandes en Allemagne, le DDT a été détecté à 100 % dans les 117 carcasses ovines (fraîches et congelées) (Anonyme., 1995b).
- § Lors d'un plan de contrôle de résidus de DDT de 1990-1994 en Nouvelle Zélande, le DDT a été détecté à 55.33 % (534/965) dans les échantillons de graisses des viandes d'agneau, à 47.8 % (258/548) dans les graisses des ovins adultes, à 42.02 % (319/759)

- dans les graisses bovins adultes et à 16.41 % (11/67) dans les graisses de chèvres (Anonyme., 1994).
- § Toujours en nouvelle Zélande, le biomonitoring de résidu de DDT au niveau des carcasses ovines de 1992 - 1993 dans une région où le DDT a été utilisé, le DDT a été détecté dans 98.26 % (396/403) des échantillons avec un taux de 3.22% (13/403) supérieur à 5 ppm (Anonyme., 1994).
- § En Norvège, le DDT a été détecté à 100 % dans 537 échantillons de graisses bovines ,149 échantillons de graisses ovines et 145 échantillons de graisses de volailles (Anonyme., 1996).
- § En USA, l'agence américaine de l'environnement (EPA) a rapporté des taux de détection de 1.87 %(6/320), 12.30 % (39/317) ,14.11% (81/574) ,100 % (900/900) en 1991, 1992,1993 et 1994 respectivement (Anonyme., 1995d).
- § En USA le rapport annuel de 1994 sur les résidus dans les viandes ovines, le DDT a été détecté dans 98.64 % (73 /74) importées et dans 100 % des viandes ovines locales (Anonyme., 1995e).
- § En Asie et en Egypte en particulier, les pesticides organochlorés sont extrêmement utilisés dans l'agriculture et en santé publique, des concentrations relativement élevées du DDT et de lindane ont été rapportées ; lors d'une récente étude effectuée sur 90 carcasses (30 carcasses camelines, 30 carcasses bovines et 30 carcasses ovines) prélevées dans la région de Charkia (Egypte), le taux total de détection de DDT de 54.4 % (49/ 90) a été enregistré sur les trois espèces avec une incidence de 43.3 %, 63.3 % et 56.7% et les taux moyens retrouvés sont de l'ordre de 25.4 ng/g, 36.3 ng/g et 25.3 ng/g dans les trois espèces respectivement cameline, bovine et ovine (Ibrahim Salam et Ali Morshedy., 2008). Un taux total de détection de lindane de 47.8% a été enregistré avec une incidence de 36.7%, 60.0% et 46.7% dans les trois espèces cameline, bovine et ovine respectivement dans la même étude.
- § Le DDT a été détecté dans 100 % et dans 90 % des échantillons de viande bovine et ovine respectivement par Al Omar et ses collaborateurs en Iraq en 1985.
- § Le DDT a été détecté avec une incidence de 96 % dans les viandes bovines et les organes (cœur, graisses rénales, et le foie) ; le lindane a été détecté dans 90% des échantillons au Nigeria en 1997 par Osibanjo et Adeyeye.
- § En Espagne le DDT a été détecté dans 88% des échantillons de viande et ses dérivées (Herrera et *al.*, 1996).

- § Le DDT a été détecté au Canada avec un taux de 21%, le lindane a été détecté avec un taux de moins de 10% dans les échantillons de graisses de différents animaux de boucheries (ovins, bovins, lapin et volaille) (Frank et *al.*, 1990).
- § Des teneurs de 100 ng/g et de 9.1 ng/g respectivement de DDT et de lindane ont été rapportées par Tanabe et ses collaborateurs (1991) à Bangkok (Thaïlande).
- § Des teneurs de 52 ng/g et 0.51 ng/g respectivement de DDT et de lindane ont été rapportées en Australie, Papouasie Nouvelle Guinée et dans les Iles Salomon (Kannan et *al.*, 1994).
- § Le lindane a été détecté dans 100% des viandes ovines et porcines et leurs dérivés en Espagne (Herrera et *al.*, 1994).
- § Des taux élevés sont rapportés également lors d'étude effectuée sur 24 échantillons des animaux de boucherie provenant de la Roumanie, les taux suivants sont avancés : 1337.3 ng/g de lindane et 1396.2 ng/g de DDT par (Covaci et *al.*, 2004).
- § Une étude menée en 1984 sur 50 carcasses ovines d'origine française, rapportée par Milhaud et Kolf- Clauw (1994) a montré un niveau moyen de contamination en lindane compris entre 0.005 et 0.67 mg/kg de matière grasse. Des niveaux supérieurs pouvant atteindre 9.5 mg/kg furent observés sur 17 % des 295 prélèvements réalisés sur des carcasses ovines importées.
- § Le plan de surveillance de la contamination des viandes par les résidus des substances chimiques, en France, a permis de conclure que le taux de détection du lindane est de 1.7% sur les ovins de plus de deux ans (DGA., 1997 ; OFIVAL., 1998).
- § En Espagne, que l'endosulfan, l'endosulfan sulfate et le dichloron ont été détectés dans trois échantillons différents, lors d'une enquête multi résiduaire menée sur 10 échantillons de graisses de moutons (Frenich et *al.*, 2006).
- § Les taux de détection de DDT et de lindane étaient respectivement de 0.067 mg / kg et de 0.025 mg / kg dans 100 échantillons de graisses bovines prélevés dans une zone endémique de Malaria en Mexique (Waliszewski et *al.*, 2004).
- § En Irlande, les analyses effectuées sur 49 carcasses ovines, ont montré que 33% des carcasses contenaient des résidus détectables, les taux de détection du DDT et de lindane étaient respectivement de 12 % et de 6% (Davern., 2001).

La technique qui a été utilisée pendant longtemps est l'extraction liquide/liquide qui est une méthode laborieuse ; consommatrice de temps et de grandes quantités de solvants. Cependant ce procédé présente plusieurs inconvénients tel que : coût élevé des solvants, toxicité éventuelle pour le manipulateur (Wan et Wong., 1996, Lehotay et *al.*, 2005 ; Raoux et *al.*, 1997 ; Beyer et Biziuk., 2008).

Afin de pallier l'ensemble de ces inconvénients, actuellement l'adoption de nouvelles techniques d'extractions et de purification a contribué à la réduction des quantités de solvants et même le temps d'analyse (l'extraction en phase solide, solid phase microextraction, l'extraction supercritique) (Wan et Wong., 1996, Lehotay et *al.*, 2005). La chromatographie par perméation de gel demeure la technique de choix pour la purification des pesticides dans les aliments riches en matière grasse (Raoux et *al.*, 1997 ; analytical application note 22410205 ; Patel et *al.*, 2005 ; Pang et *al.*, 2006). Une technique de purification sur une membrane semi perméable (MSE) semble efficace pour éliminer les graisses dans les aliments dans la détermination de 12 composées organochlorés (Surma et Grochowalski., 2008).

Les tendances au cours des dernières années ont été pour :

- § Miniaturiser et automatiser les protocoles, en simplifiant l'extraction et les étapes de purification en réduisant l'utilisation des solvants et les pertes toxiques (Wan et Wong., 1996 ; Hopper., 1999).
- § Le développement la chromatographie en phase liquide (pour les molécules thermolabiles)
- § Développer les couplages CG-SM et CL- SM et CG-SM- SM et CL-SM-SM (Truchot., 2003, Pang et *al.*, 2005), la CG-SM /SM constitue une approche permettant de réduire le bruit chimique de la matrice et ainsi augmenter le degré de confiance des résultats (Fay., 1998 ; Patel et *al.*, 2005).
- § L'inclusion de nombre aussi élevé de pesticides que possible dans une procédure unique (essai multi résiduaire) (FDA., 1994 ; Frenish et *al.*, 2005 ; Frenish et *al.*, 2006).
- § La sélectivité et éviter les effets de matrice, suppression des interférences potentielles
- § La bonne robustesse, la bonne précision, le faible coût, la haute vitesse, facile et Sécurité (faible quantité de solvants, utilisation moindre de solvants nocifs) (Domotorova et Matisova., 2007 ; Hercegova et *al.*, 2007).

Conclusion et perspectives

Bien qu'il ait été interdit dans la plupart des pays du monde, le DDT est encore utilisé comme moyen de contrôle du vecteur de paludisme, en particulier dans les zones endémiques, une utilisation étendue a été récemment tolérée par l'organisation mondiale de santé pour le contrôle due paludisme (OMS., 2006).

Il est important de signaler que les taux nuls des deux pesticides organochlorés (DDT, lindane) retrouvés dans notre étude sont inférieurs aux limites maximales résiduelles internationales et donc ils ne constituent pas un danger pour le consommateur algérien. Cependant, ils ne peuvent pas représenter le niveau réel de la contamination des ovins en Algérie, car cette étude a été réalisée dans des régions restreintes, il s'agit en effet d'une estimation qu'il serait souhaitable d'étendre par d'autres études spatio-temporelles afin de confirmer les valeurs obtenues et observer des éventuelles variations ou à travers d'autres études sur les autres pesticides organochlorés tel que le dicofol et l'endosulfan qui sont actuellement largement utilisés.

Une surveillance à l'échelle nationale continue et planifiée des denrées alimentaires demeure indispensable compte tenu de l'augmentation des échanges internationaux. Les denrées alimentaires d'origine animale, en particulier les produits de la mer (poisson et mollusques) sont en général plus contaminés que ceux d'origine végétale d'où une surveillance s'impose et demeure indispensable.

Bien que l'exposition des consommateurs via l'alimentation soit faible, il faut préciser que l'évaluation du risque liée aux pesticides devra être revue en fonction des données nouvelles sur les mécanismes moléculaires de toxicité (perturbation endocriniennes) prenant en compte les effets « cocktails » des molécules (Narbonne., 2002).

L'action pour la sécurité alimentaire doit donc faire porter des efforts sur les effets cumulatifs des pesticides d'où la nécessité d'analyse des principaux aliments contributeurs à l'apport alimentaire total du consommateur algérien.

L'agriculture intensive recourt à de nombreux pesticides appartenant à diverses familles chimiques dont le spectre de toxicité est très étendu, qui sont à l'origine de nombreuses pollutions, et de graves problèmes éco-toxicologiques. On a donc été conduit à rechercher d'autres méthodes et des stratégies alternatives telles que la lutte biologique et la sélection génétique (Carvalho., 2006). En Algérie un bio-pesticide, formulé à partir de *Metarhizium anisopliae* (champignon) a démontré son efficacité contre le criquet pèlerin en conditions réelles du terrain (FAO., 2005).

L'ancienneté des textes relatifs aux pesticides constitue un témoignage réel qu'une certaine conscience sur la préservation de l'environnement et de la santé humaine a toujours existé en Algérie. Mais, si on prend en considération les nouvelles données au temps actuel on remarque que ces textes sont peu dissuasifs et nécessitent d'être réactualisés.

Il n'existe pas de programmes de surveillance des pesticides dans l'environnement, ni les laboratoires sur lesquels ces programmes s'appuient pour les rendre réellement efficaces; il en est de même pour ce qui est des capacités nationales d'analyse des résidus de pesticides. Néanmoins, récemment des analyses effectuées sur des échantillons d'eau prélevés dans la région de Staoueli (Alger) ont montré que dans plus de 30 % des échantillons, la concentration de certaines molécules organochlorées (lindane, heptachlore, 2,4 DDT et 4,4-DDT, 2,4 et 4,4 -DDE) et des organophosphorés (diazinon, parathion), dépasse les valeurs guides préconisées par l'OMS (Moussaoui et *al.*, 2001).

Par ailleurs, dans le cadre du suivi de la pollution du littoral algérois et le lac de Reghaia réalisé par l'ISMAL (Institut des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral), les résultats obtenus montrent une utilisation frauduleuse récente du DDT dans des stations situées en face d'Oued Beni-Messous, les valeurs les plus élevées sont observées en face des embouchures des oueds de Reghaia, d'El-Hamiz, et particulièrement de l'oued El-Harrach. D'autres insecticides organochlorés ont été détectés (lindane, heptachlore, aldrine, Dieldrine, endrine, endosulfan), mais les concentrations rencontrées ne sont pas aussi élevées que celles retrouvées pour le DDT (Rouibah et *al.*, 2005).

De très nombreuses molécules susceptibles d'être retrouvées dans les graisses ne sont pas prises en compte, ou ne sont pas couvertes par les différentes techniques, il s'agit en particulier des herbicides (triazines) (Truchot., 2003) d'où l'intérêt d'approfondir les recherches de cet axe.

Ces quelques applications tentent de montrer à quel point la spectrométrie de masse se révèle comme étant une technique d'analyse conviviale et un outil analytique indispensable pour mener à bien des études dans le secteur agroalimentaire (2002 /657/CE).

L'analyse des résidus de pesticides est un sujet complexe en raison de la multiplicité des matrices à traiter, associée aux grand nombre de molécules utilisées (plus de 500 matières actives sont ou ont été commercialisées dans le monde) ; par conséquent les besoins en développement analytiques sont considérables (Truchot., 2003). La recherche et le dosage des

pesticides dans les denrées alimentaires aujourd'hui font appel à des techniques de plus en plus sophistiquées.

Il existe, au même titre que les analyses de pesticides, des besoins en validation importants de la part des laboratoires, des besoins de normalisation de méthodes ainsi que de la mise en place d'essais d'intercomparaison entre laboratoires. Néanmoins la normalisation, de par ses modalités de fonctionnement, nécessite des travaux et des délais pour la validation d'une méthode.

Les recherches sont actuellement de plus en plus orientées vers le perfectionnement des méthodes d'analyse de résidus pour la surveillance et le contrôle de la qualité des eaux et des aliments et à la protection et la réhabilitation de l'environnement et des ressources naturelles.

Références bibliographiques

A

- AARON J.-J, PERNOT.P, QUISFIT J. - P, TESSIER .D, PINART. J. 2001. Mise en évidence du transfert de pesticides d'origine agricole dans l'atmosphère de deux sites urbains et ruraux en région Ile de France .In XXXI congrès du groupe français des pesticides, Lyon ,15-17 mai 2001.
- ADDA. J, LE QUERE.J.L.1991. Techniques lourdes. In techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro alimentaires. Linden G. Vol. 2 : Linden G. Edition Lavoisier. Pp : 282-310.
- AGROCHEMICAL SERVICE. 2000. *Wood Mackenzie consultants limited* .Edinburgh, UK.
- AGRO WORLD CROP PROTECTION NEWS. 1997. N ° 278, Avril.
- AHMED.FARID E. 2001. Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks. *Trends in analytical chemistry*. Vol. 20, n° 11.
- ALAMIR. B, VENANT.A, RICHOU-BAC.L.1985.Evaluation des résidus de pesticides organochlorés. Cas des graisses de moutons algériens .*Recueil Médecine Vétérinaire* .61(1) : 51-55.
- ALBRECHT, P.MANCHON .1974. Environmental effect on metabolism of exogenous molecules in liver microsomes. *Annales de la Nutrition et de l'Alimentation*. 28: 351-361.
- AL-OMAR, M., AL-BASSOMY, M., AL-OGAILY, N., & AL-DIN SHEBL, D. 1985. Residue levels of organochlorine insecticides in lamb and beef from Baghdad. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 34: 509–512.
- ANGERS.J.P. 1986. Insectes insecticides santé, J.P. Angers. Colloque nationale mode d'action et utilisation des insecticides. 19-22 novembre, 1985. P.609.
- ANONYME.1986. Determination of chlorinated biphenyls and organochlorines pesticides. *Feresenius journal of analytical chemistry*. 337: 428-491.
- ANONYME. 1994. Submission to JMPR on the proposed changes to the ERL for DDT. Information on Monitoring DDT residue data for meat by the Ministry of Agriculture, New Zealand.
- ANONYME.1995 a. Information on national residue survey DDT residue data for the 1996 JMPR by Commonwealth Department of Primary Industries and Energy, Australia, March 21.
- ANONYME. 1995 b. Information on national residue survey DDT residue data for the 1996 JMPR by the Bundesministerium für Gesundheit, Germany, July 18.
- ANONYME . 1995c. Information on national residue survey DDT residue data for the 1996 JMPR by Thailand.

Références bibliographiques

- ANONYM .1995d. Information on national residue survey DDT residue data for the 1996 JMPR by the USA Environmental Protection Agency, Washington D.C., USA, February 3.
- ANONYME.1995e. Annual report of the working party on pesticide residues: 1994. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Health and Safety Executive, UK. Supplement to the Pesticides Register 1995, London HMSO.
- ANONYME. 1996. Information on national residue survey DDT residue data for the 1996 JMPR by Norwegian Food Control Authority, Norway, March 27, and April 30.
- ANONYME .2003. Bearing the burden, health implications of environmental pollutants in our bodies .A companion report to CDC's 2003. *Exposure report*. p:3
- AOAC (the Association of Analytical Chemists). 2005 Evaluation of several solvents for post extraction gel permeation chromatography cleanup for pesticides in animal fats. Application Note 22410205. Presented at the 2005 Pittsburgh conference on Analytical Chemistry and applied spectroscopy, Orlando, FL February 27-March 4.

B

- BARANOWSKA IRENA BARCHANSKA, HANNA PACAK, EWA.2006. Procedures of trophic chain samples preparation for determination of triazines by HPLC and metals by ICP-AES methods. *Environmental Pollution* .143: 206 - 211.
- BARR.D.B.2008. Biomonitoring of exposure to pesticides. *Journal of Chemical Health & Safety* .doi: 10.1016/j.jchas.2008.07.001.
- BARCELÓ .D, HENNION.M. – C. 1997. Trace determination of pesticides and their degradation products in water. *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*, vol. 19.Elsevier, Amsterdam, p. 542.
- BENOUDAH.A.1985. Optimisation d'une méthode d'analyse par chromatographie en phase gazeuse appliquée au dosage du lindane et de ses isomères • et • dans les graisses de moutons algériens. Diplôme d'étude approfondie de physicochimie biologique médicale et paramédicale Université de Paris XII (Créteil) Val de Marne. P : 71.
- BERTRAND S., DUHEM K.2004. Transferts de produits phytosanitaires dans le lait : Eléments de connaissances. *Rencontre Recherche Ruminants*.vol.11.
- BEYER ANGELIKA, BIZIUK MAREK.2008. Analytical Methods Applications of sample preparation techniques in the analysis of pesticides and PCBs. *Food Chemistry* .108: 669–680.

Références bibliographiques

- BOERJAN ML, FREIJNAGEL S, RHIND SM, MEIJER GAL. 2002. The potential reproductive effects of exposure of domestic ruminants to endocrine disrupting compounds. *Animal Science*. 74:3–12.
- BOUNIAS. M.1999. Traité de toxicologie générale: du niveau moléculaire a l'échelle planétaire. Publié par Springer. P: 804.
- BUCCINI .J. 2003. The development of a global treaty on persistent organic pollutants (Pops) .In *The Handbook of Environmental Chemistry*. Heidelberg .F. Vol.3. Part o. Persistent Organic Pollutants Ed .H .Fiedler. pp: 13 - 30.

C

- CALLE EE, FRUMKIN H, HENLEY SJ, SAVITZ DA, THUN MJ.2002. Organochlorines and breast cancer: review. *A Cancer Journal for Clinicians* .52 (5): 301–9.
- CALVET.R, GOUY, P. GAILIARD, BELAMIER.1996. Distribution des molécules de pesticides entre les phases solides et liquides du sol .signification du coefficient de distribution. In produits phytosanitaires process de transfert et modélisation dans les bassins versants, actes du séminaire national hydro systèmes, Nancy ,22-25.mai 1996,141-149.
- CHARLES. R.2004. Modelling pesticides residues. Thèse de doctorat .Faculté environnement naturel, architectural et construit institut des sciences et technologies de l'environnement .Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne. p : 235.
- CHARLIER .C, PLOMTEUX .G.2002. Pollution chimique de l'environnement et risque toxique pour l'homme. Le rôle particulier des dérivés pesticides organochlorés. *Annales de Biologie Clinique*. Volume 60, Numéro 1, 37-46, Janvier - Février 2002, Revues générales.
- CARVELHO.F.P. FOWLER, S.W., VILLENEUVE, J.-P., HORVAT, M.1997. Pesticide residues in the marine environment and analytical quality assurance of the results. In: *Proceedings of an International FAO/IAEA Symposium on the Environmental Behaviour of Crop Protection Chemicals*. IAEA, Vienna 1997. pp. 35–57.
- CARVELHO.F.P.2006. Review Agriculture, pesticide, food security and food safety. *Environmental science & Policy* .9: 685- 692.
- CLU.F.1991. Toxicologie : Données générales procédure d'évaluation : Organes cibles évaluation du risque .Edition Masson. P : 361.

Références bibliographiques

- CHAVERON. H.1999. Introduction à la toxicologie nutritionnelle. Publié par Technique & Documentation. P : 214.
 - COVACI ADRIAN, HURA, CARMEN SCHEPENS PAUL.2001.Selected persistent organochlorine pollutants in Romania .*The Science of the Total Environment*. 280: 143 -152.
 - COVACI.ADRIAN, GHEORGHE.ADRIANA, SCHEPENS.PAUL.2004. Distribution of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and α -HCH enantiomers in pork tissues. *Chemosphere* 56:757–766.
 - CURREN.M.S, KING. W.2002. Sampling and sample preparation for food analysis *Comprehensive Analytical Chemistry XXWIZ* J. Pawliszyn (Ed.).
-

D

- DAVERN.N.2001. Pesticides residues in food. Department of agriculture, food & rural development Pesticide control service - august 2001.Abbotstown, castleknock, Dublin 15, Ireland .P:70.
- DEBRAUWER .L, CHEVOLLEU.S, ZALCO.D, PARIS.A, TULLIEZ.J.2005. Detection of xenobiotics and chemical contaminants in the food chaine: focus on mass spectrometry based methods and their use for toxicological risk assessment in the field of food safety. *Sciences des aliments*. 25 : 273-283.
- DE GRAEVE.J, F.BERTHOU ET M.PROST avec la collaboration de P.ARPINO ET J .C. PROME.1985. Méthodes chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse Technologie et applications dans les domaines de l'environnement, la pharmacologie et la biochimie .Edition Masson .p : 381.
- DECRET EXECUTIF N° 99-156 du 7 Rabie Ethani 1420 Correspondant au 20 juillet 1999 modifiant et complétant le décret exécutif n° 95-405 du 9 Rajab 1416 correspondant au 2 décembre 1995 relatif au contrôle des produits phytosanitaires à usage agricole(JORA N °49 du 15-07-1999).
- DEKONING EP, KARMAUS W.2000. PCB exposure in utero and via breast milk: a review. *J Exp Anal Environ Epidem*.10:255–93.
- DIRECTION GENERALE DE L'ALIMENTATION.2001. Note de service DGAI /SDPA/N2001-8007 du 19 janvier 2001 consacrée au bilan des plans de contrôle des résidus chimiques réalisés en

Références bibliographiques

1999 en application de la directive 96/23. Ministère de L'agriculture et de la Pêche, Paris, 2001.P :29.

-DOMOTOROVA M., MATISOVA. E. 2007. Fast gas chromatography for pesticide residues analysis. *Journal of Chromatography A*. doi:10.1016/j.chroma.2008.08.063.

E

- EDDLESTON.M, BATEMAN.D.N.2007. Poisonous substances:pesticides.*Medecine* 35:12.

- EEA (European Environment Agency).2005.Environment and Health. *European Environment Agency*, EEA. Report N° 10.

- EFSA.2006. Avis du groupe scientifique sur les contaminants de la chaîne alimentaire suite à une demande de la commission concernant le DDT en tant que substance indésirable dans l'alimentation

animale question n° EFSA-Q-2005-182 adopte le 22 NOVEMBRE 2006 .*The EFSA Journal*, 433.

-EL BAKOURI. H .2005.Histoire des pesticides. *L'opinion*. n°14585, 8 mai.

-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. Thèse de doctorat en sciences & techniques. Université Abdelmalek Essaadi faculté des sciences & techniques .Tanger. P : 106.

EL BATAWI. M. A, ANOVA .F.P .1991. Human toxicology of pesticides, CRC. P: 208.

-EVEN.I., J.L.BERTA, J .L.VOLATIER .2002.Évaluation de l'exposition théorique des nourrissons et des enfants en bas age aux résidus de pesticides apportés par les aliments courants et infantiles agence française de sécurité sanitaire des aliments (France) Paris. P: 116.

F

- FAO .2002. Manual on development and use of FAO and who specifications for pesticides. Rome, Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture. Plant Production and Protection Paper No. 173.

-FAY .L.B.1998. Application of GC/Ms/Ms to food product analysis. *Analisis magazine*, 26, n°1.

-FERRER.CARMEN, GOMEZ M.JOSE,GARCÍA-REYES JUAN F. FERRER,IMMA, E. MICHAEL THURMAN, AMADEO R. FERNÁNDEZ-ALBA.2005. Determination of pesticide

Références bibliographiques

residues in olives and olive oil by matrix solid-phase dispersion followed by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*.1069 : 183–194

-FEINBERG .M, BERTAIL.P, TRESSOU.J, VERGER.P.2006.Fraudes alimentaires analyses des risques alimentaires.Collection sciences et techniques agroalimentaires. Edition Tec & Doc.Lavoisier.400 pages.

-FOOD AND AGRICULTURE ORGANISATION (FAO) .1978. Résidus des pesticides dans les produits alimentaires.Rapport de la reunion conjointe FAO / OMS, Rome.

-FAO/WHO.1997. PESTICIDE RESIDUES IN FOOD - Evaluation 1996; Part 1- residues. Sponsored jointly by FAO and WHO. Series title: FAO Plant Production and Protection Papers .P:142.

- FAO/WHO.2003. PESTICIDE RESIDUES IN FOOD. Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues Geneva, Switzerland,15–24 September 2003 Series title: FAO Plant Production and Protection Papers .p: 323.

- FAO/WHO.2007. PESTICIDE RESIDUES IN FOOD. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the environment and the WHO Core Assessment Group on pesticide residues Geneva, Switzerland, 18-27 september 2007.

- FDA, 1999. U.S. Food and Drug Administration Pesticide Analytical Manual. Vol I: Multiresidue methods, 3rd Ed., U .S. Department of Health and Human Services, Washington, DC.

- FONTCUBERTA M., J.F. ARQUÉS, J.R. VILLALBÍ, M. MARTÍNEZ, F. CENTRICH, E. SERRAHIMA, L. PINEDA, J. DURAN, C. CASAS. 2008. Chlorinated organic pesticides in marketed food: Barcelona, 2001–06 . *Science of the Total Environment*. 389: 52 - 57.

- FOURNIER. J.1988. Chimie des pesticides .1^{ère} édition, Culture & Techniques, Nantes. P : 351.

-FRANK, R., BRAUN, H. E., STONEFIELD, K. I., RASPER, J., & LUYKEN, H.1990.

Organochlorine and organophosphorus residues in the fat of domestic farm animal species, Ontario, Canada 1986–1988. *Food Additives and Contaminants* .7: 629–636.

- FRENICH. A.G., R. ROMERO-GONZALEZ, VIDAL J.L. M. , BOLANOS .P.P. ,CUADROS-RODRIGUEZ .B, HERRERA-ABDO. M.A. 2006. Characterization of recovery profiles using gas

Références bibliographiques

chromatography-triple quadrupole mass spectrometry for the determination of pesticide residues in meat samples. *Journal of Chromatography A*.1133: 315–321.

- FRENICH. A.G., BOLANOS .P.P. VIDAL. J.L. M.2007. Multiresidue analysis of pesticides in animal liver by gas chromatography using triple quadrupole tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography A*. 1153:194-202.

- Friedman .H.B.DDT(dichlorodiphényltrichloroethane): a chemist's tale. *Journal of chemical education*.5 (69): 362- 365.

- FRIES.GF.1982. Potential polychlorinated biphenyl residues in animal products from application of contaminated sewage sludge to land. *J Environ Qual*. 11:14–20.

G

- GARRY .V.F, SCHREINEMACHERS. D, HARKINS .M.E, GRIFFITH. J. 1996. Pesticide applicers, biocides, and birth defects in rural Minnesota. *Environmental Health Perspectives*. 104 (4): 394–9.

- GUARDIA-RUBIO M FERNANDEZ-DE CORDOVA, M.L, AYORA-CANADA.M.J., RUIZ-MEDINA. A.2006.Simplified pesticide multiresidue analysis in virgin olive oil by gas chromatography with thermionic specific, electron-capture and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*. 1108 : 231–239.

- GERVAISE. Y., F. BACHA, F. DAVID, A. PELLUCHON ET I. CARPENTIER .1998. L'apport du couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CPG/SM) dans les études environnementales. *Analisis magazine* , 26, n° 1 . Edp sciences

- GILLES.F.1991. Pesticides and the third world. *Journal of toxicology and environmental health*. 32:11-31.

- GIGER.W, Brunner PH, Schaffner C. 1984. 4-Nonylphenol in sewage sludge: accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants. *Science* .225:623–5.

H

- HAMON. M, F. PELLERIN, M.GUERNET, G.MAHUSIER.1990.Chimie analytique. Tome.3 méthodes spectrales et analyses organiques. 2^{ème} Edition Masson. P: 283.

Références bibliographiques

- HANDY .R.D, ABD-EL SAMEI HA, BAYOMY .M.F, MAHRAN .A.M, ABDEEN. A.M, ELELAMIMY .E.A.2002.Chronic diazinon exposure: pathologies of spleen, thymus, blood cells, and lymph nodes are modulated by dietary protein or lipid in the mouse. *Toxicology*. 172(1):13–34.
 - HEALY WB.1967. Ingestion of soil by sheep. *Proc N Z Soc Anim Prod*;27:109–20.
 - HEALY WB.1968. Ingestion of soil by dairy cows. *N Z J Agric Res* 11:487–99.
 - HERRERA, A., ARINO, A., CONCHELLO, P., LAZARO, R., BAYARRI, S., PEREZ-ARQUILLUE, C.1996. Estimates of mean daily intakes of persistent organochlorine pesticides from Spanish fatty foodstuffs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 56:173–177.
 - HERRERA, A., ARINO, A., CONCHELLO, M. P., LAZARO, R., BAYARRI, S., &PEREZ, C.1994. Organochlorine pesticide residues in Spanish meat products and meat of different species. *Journal of Food Protection*. 57: 441 - 444.
 - HAYES .W.J. 1991. Dosage and other factors influencing toxicity. In W.J. HAYES & E.R.LAWS: Handbook of pesticide toxicology .Academic Press, San Diego, CA, USA.
 - HENNION. J, BREWER .E, RULE .G.S.2003. Sample preparation for LC/MS/MS. *Anal Chem*. 640 A- 655 A, 1998.Holland .Patrick. T .Topic 2.1 Analysis of endocrine active substances in food and the environment. *Pure and Applied Chemistry*. Vol. 75, Nos. 11–12, pp. 1843–1857, IUPA.
 - HERCEGOVA.ANDREA, DOMOTOROVA .MILENA, MATISOVA. EVA.2007. Review Sample preparation methods in the analysis of pesticide residues in baby food with subsequent chromatographic determination. *Journal of Chromatography A*. 1153: 54–73.
 - HOPPER. M. L.1999. Automated one-step supercritical fluid extraction and clean-up system for the analysis of pesticide residues in fatty matrices. *Journal of Chromatography A*. 840 93 –105.
-

I

- INRA.2006.Pesticides, agriculture et environnement: réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. Rapport de l'expertise collective réalisée par l'Inra et le Cemagref à la demande du ministère de l'Agriculture et de la Pêche et du ministère de l'Écologie et du Développement durable Pesticides, agriculture et environnement : rapport d'expertise : Unité Expertise collective.

Références bibliographiques

J

- JENNEQUIN J-L., GIORGIO B.K, KRYSS S , MALLE. P , RICHARD OLE.2003. Produit de la mer In fraudes alimentaires approche réglementaire et méthodologie analytique. DUCAUSE C. J .Collection sciences & techniques agroalimentaires. Pp : 135-157.

K

- KAMEL F, HOPPIN J.A. 2004. Association of pesticide exposure with neurologic dysfunction and disease. *Environmental Health Perspectives*. 112(9):950–8.
- KAN C.A. ,MEIJER G.A.L.2007. The risk of contamination of food with toxic Substances present in animal feed . *Animal Feed Science and Technology* .133: 84 –108.
- KANNAN, K., TANABE, S., WILLIAMS, R. J., & TATSUKAWA, R. (1994).Persistent organochlorine residues in foodstuffs from Australia, PapuaNew Guinea and the Solomon Islands: Contamination levels and human dietary exposure. *Science of the Total Environment*. 153:29– 49.
- KAUSHIK.P et KAUSHIK.G.2006.An assessment of structure and toxicity correlation in Organochlorines pesticides. *Journal of hazardous materials* .doi:10.1016.jhazmet.2006.08.073.
- KITSON. FULTON G. LARSEN.BARBARA ET MCEWEN CHARLES N .1996. Gas chromatography and mass spectrometry a practical guide, Academic Press .P:192.
- KRIEGER N, WOLFF MS, HIATT RA, RIVERA M, VOGELMAN J, ORENTERICH N.1994.Breast cancer and serum Organochlorines: A prospective study among white, black, and Asian women. *Journal of the National Cancer Institute*. 86:589–99.

L

- LAUWERYS.R, HAUFROID.V, HUET P, LISON.D.2007. Toxicologie industrielle et intoxication professionnelles. Edition: 5. Publié par Elsevier Masson. P : 1252.
- LE BLANC.G.A.1995. Are environmental sentinels signaling ? *Environmental health perspectives*.103 : 808-890.

Références bibliographiques

- LEHOTAY S.G., MASTOVSKA .K.2005. Evaluation of two fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrixes. *Journal of Association for Official and Analytical Chemists International*. Vol.88, no.2.
- LEFEUVRE J.- C .1986 .Intensification de l'agriculture et usage des produits insecticides : évaluation des risques pour les équilibres biologiques, la faune et la santé humaine. In insectes insecticides santé, J.P. Angers. Colloque nationale mode d'action et utilisation des insecticides. 19-22 novembre, 1985. .pp : 7-70.
- LI, Y. F. (1999), Global gridded technical hexachlorocyclohexane usage inventories using a global cropland as a surrogate. *Journal of Geophysical Research* . 104(D19), 23,785–23,797.
- LI, Y.F., MCMILLAN, A., AND SCHOLTZ, M.T. 1996.*Environmental Science & Technology*. 30:3525-3533.
- LORIENT. D, J.C. LHUGUENOT ET A.VOILLEY.1991.Chromatographie In techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro alimentaires volume 2Coordinateur G.Linden édition Lavoisier .p : 520.

M

- MANIRAZIKA, AKIMBAMIJO.O, COVACI.A, ADERIRAN.A, CISSE.I, FALL.S.T, SCHEPENS.PAUL.2002. Persistent chlorinated pesticides in fish and cattle fat and their implications for human serum concentrations from Scene –Gambian region. *Journal of Environmental Monitoring*. 4: 609-617.
- MAHUSIER. G., M.HAMON, D.FERRIER ET P.PROGNON.1999. Chimie analytique (tome 2) méthodes de séparation. 3^{ème} édition –Masson. P: 346.
- MASTOVSKA.K, LEHOTAY.S.G.2004. Evaluation of common organic solvents for gas chromatographic analysis and stability of multiclass pesticide residues. *Journal of Chromatography A*. 1040: 259-272.
- MAVIS .1996. Pesticides News n°31, March.
- MEIJER. GAL, DE BREE JA, WAGENAAR JA, SPOELSTRA SF. 1999. Sewerage overflows put production and fertility of dairy cows at risk. *Journal of Environment Quality* .28:1381–3.
- Milhaud G., KOLF-CLAUW. M. 1994. Contamination de la viande, des abats et du lait par les pesticides et les polychlorobiphényles .in ruminants et santé publique *Le point vétérinaire*.26, (numéro spécial) :137-142.

Références bibliographiques

- MILNE. A.G. W .1994. Hand book of pesticides .Edition G. W –A .MILNE, CRC.P:402.
- MOUILLET .L.1991.Dosage des résidus de pesticides. *In* technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. J.-L. Multon. vol.3. Collection science et techniques. Pp : 305-316.
- MOUSSAOUI K. M., BOUSSAHEL R., TCHOULAK Y., HAOUCHINE O., BENMAMI M., DELACHI N. 2001. Utilisation, évaluation et impact des pesticides en Algérie. Journée Scientifique et Technique de l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, 05 juin 2001. Alger - Algérie.
- MOUVET.C.1996. La problématique du transfert des phytosanitaires vers les eaux souterraines In produits phytosanitaires process de transfert et modélisation dans les bassins versants, actes du séminaire national hydro systèmes, Nancy ,22-23.mai 1996,104-105.

N

- NARBONNE .J.F.2002. Risque, Expertise résidus phytosanitaires, PCB, dioxines dans les aliments : nouvelles approches pour la maîtrise du risque. *Oléagineux, corps gras, lipides* .volume 9.N°2 ,101-6, Mars-Juin 2002.

O

- OSIBANJO.O, A. ADEYEYE, 1997. Organochlorine pesticides in foodstuffs of animal origin in Nigeria. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*.58:206-212.

P

- PANG.GUO-FANG,CAO.YAN-ZHONG, JIN-JIE ZHANG, CHUN-LIN FAN, YONG-MING LIU, XUE-MIN LIGUANG-QUN JIA, ZENG-YIN LI, YU-QIU SHI, YAN-PING WU, TONG-TONG GUO.2006.Validation study on 660 pesticide residues in animal tissues by gel permeation chromatography cleanup/gas chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*.1125:1–30.
- PATEL. K., FUSSELL .R J. , HETMANSKI. M. , DAVID. M. , GOODALL. B, BRENDAN .J. K.2005. Evaluation of gas chromatography–tandem quadrupole mass spectrometry for the determination of organochlorine pesticides in fats and oils. *Journal of Chromatography A*.1068 : 289–296.

Références bibliographiques

- PERIQUET.A.1986. Toxicologie des résidus des pesticides. In toxicologie et sécurité des aliments. .Derache R. (Ed). 1^{ère} édition. Technique et documentation Lavoisier, Paris. pp : 320-327.
- PIHLSTRÖM.T.2003.Development of enhanced analytical methodology in pesticide chemistry.*ACTA Universitatis Upsaliensis*, Uppsala.
- PICÓ.Y, BLASCO. C, FONT. G.2004. Environmental and food applications of LC – tandem mass spectrometry in pesticide residue analysis: an overview. *Mass spectrometry reviews*. 23:45-85.
- PREVOT. A.1995. Les colonnes capillaires In Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse .TRANCHANT . J .4^{me}Edition Masson .pp :227-360.
- PRZYBYLSKI .C, HOMMET. F.2008. Evaluation of some parameters affecting troublesome pesticide analysis in gas chromatography–ion-trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*.1201:78–90.

R

- RAISBECK .M.F 2001.Organochlorine pesticides. In A.Small animal toxicology .Peterson. M. E, Talbot. P. PP: 796. Edition: illustrated publie par w.b. saunders,,pp :633-639.
- RAMADE .F .1979 . Ecotoxicologie, 2^{ème} Ed Masson paris. P: 228.
- RAMADE .F. 2000. Dictionnaire encyclopédique des polluants de l'environnement à l'homme Edscience international. Publié par Delmas et Cie. P : 690.
- RAMADE .F.1995. Elément d'écologie appliquée .Edscience international. P: 864.
- RAOUX RENEE, COUSTILLE JEAN-LOUIS, S. RAMBAUD.1997.Multi-cartridge extraction and cleanup method for the determination of organochlorine and organophosphorus pesticides and polychlorinated biphenyls in fats and oils.*Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. Volume 4, Number 1, 71-80, Janvier - Février 1997, Fondamental.
- RIAL - OTERO .R, GASPAR .E.M, MOURA.I, GAPELO.J.L .2007. Review chromatographic based methods for pesticide determination in honey: an overview. *Talanta* 71:503-514
- RIND.S.M.2002. Endocrine disrupting compounds and farm animals: their properties, action s and routes of exposure .*Domestic animal endocrinology* 23: 179-187.
- ROUESSAC. F., ROUESSAC A.2000. Analyse chimique – Méthodes et techniques instrumentales modernes. Dunod. 5^{ème} Ed. P: 430.

S

- SAFE .S.2004. Endocrine disruptors and human health: is there a problem. *Toxicology*. 205:3-10.
- SALLAM KHALID IBRAHIM, ALI MORSHEDY ALAA ELDIN MOHAMMED.2008. Organochlorine pesticide residues in camel, cattle and sheep carcasses slaughtered in Sharkia Province, Egypt. *Food Chemistry*. 108 :154–164.
- SERPINET.1995. Introduction à la chromatographie en phase gazeuse *In* Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Tranchant J. Edition Masson (4^{me} édition).pp : 1-12.
- SHARMAN M, READ WA, CASTLE L, GILBERT J. 1994. Levels of di-(2-ethylhexyl) phthalate esters in milk, cream, butter and cheese. *Food Addit Contam* .11:375–85.
- SHARPE .M .1999.Toward sustainable pesticides. *Journal of Environmental Monitoring*.1: 33–36.
- SMITH .A .G.2004. Toxicology of organochlorine insecticides. In *Pesticide Toxicology and International Regulation*. TIMOTHY. C., MARRS, BALLANTYNE .B.2004. Edition John Wiley and sons.
- SURMA-ZADORA .M, GROCHOWALSKI .A.2008. Using a membrane technique (SPM) for high fat food sample preparation in the determination of chlorinated persistent organic pollutants by a GC/ECD method. *Food Chemistry*. 111: 230–235.

T

- TANABE SHINSUKE, KANNAN A KURUNTHACHALAM MONTHIP S. TABUCANON, CHERDCHAN SIRIWONG .B, BYOSHINARI AMBE B & RYO TATSUKAWA. A.1 991. Organochlorine Pesticide and Polychlorinated Biphenyl Residues in Foodstuffs from Bangkok, Thailand. *Environmental Pollution*. 72:191-203.
- TAYLOR. M., KLAINE, S., CARVELHO, F.P., BARCELÓ, D., EVERAARTS, J. Pesticide .2003. Residues in Coastal Tropical Ecosystems. Distribution, Fate and Effects. Taylor and Francis, London. (Eds).
- TIMOTHY .C, MARRS, B .BALLANTYNE.2004.Pesticide Toxicology and International Regulation. Edition John Wiley and sons.
- TISSU.ISSUT.M., SEVERI.SEVERIN.F.,BENOIT-GUYOD.J.L, GACHET.M, ROCHAT.J. 1979. Les pesticides oui ou non? Presses universitaires: Grenoble.231 pages .
- TRANCHANT.J. 1995. Manuel pratique de la chromatographie gaz .4^{eme} Edition Masson. P : 700.

Références bibliographiques

- TRUCHOT .Eric.2003. Détection et dosage des résidus de pesticides dans les matières grasses. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. Volume 10, Number 4, 304-5, JUILLET-AOÛT 2003, Problématiques actuelles dans le domaine de l'analyse des oléagineux et des corps gras.

V

- VENANT .A, RICHOU-BAC L. 1981. Contamination des produits laitiers français par les résidus de composés organochlorés. *Lait* 61 : 619- 633.
- VENANT. A, BORREL. S. 1982 .Méthode rapide pour la détermination des résidus de composés organochlorés dans les produits laitiers et les graisses animales. *Analisis* 10 : 333-335.
- VENANT. A, BORREL. S, MALLET. J .1991. Évolution de la contamination du lait et des produits laitiers par les résidus de composés organochlorés. *Lait* .71 :107-116.
- VIALA .A.1998. Eléments de toxicologie. Publié par Tec & Doc, 1998.p :521.
- VON MUHLENDAHL K.E. 1999. Hormonally active Organochlorines and breast cancer: don't believe every abstract. *European Journal of Pediatrics* .158(7):603– 4.

W

- WALISZEWSKI.S.M, GMEZ-ARROYO.S, INFANZON.RM.CARVAJAL.O, VILLABOS-PIETRINI.R, TRUJILLO.P, MAXWELL.M.2004. Persistent Organochlorine pesticide levels in bovine fat from Mexic. *Food Additive Contamination* .21:774-80.
- WAN H.B, WONG.M.K.1996.Review Minimization of solvent consumption in pesticide residue analysis. *Journal of Chromatography A*. 754: 43-47.
- WAXMAN. MICHAEL. F. 1998. Agrochemical and pesticides safety handbook. Edited Gwa Milne CRC. P: 393.
- WELLS.D.E.1988. Extraction, clean up and group separation techniques in organochlorine trace analysis. *Pure & Applied Chemistry*. 6 (9):1437-1437. Printed in Great Britain. IUPAC.
- WEBER. J. B. 1991. Fate and behavior herbicides in soils. *Apple plant science*. 5: 2-3.
- WEBER.M.D. 1989. Organic contaminants in Canadian municipal sludges. *Waste Manage Res*. 7: 63–82.
- WINTER CARL. K.2000. Pesticide Residues. In *The Food Supply in food toxicology*. Helferich. W., Winter .C .K. Edited CRC.

Références bibliographiques

- WITIER.P.1995. Préparation de l'échantillon. In Manuel Pratique de Chromatographie en Phase Gazeuse. Tranchant J. 4^{ème} édition Masson .pp:83-125.
 - WOLFF MS, BERKOWITZ GS, BROWER S, SENIE R, BLEIWEISS IJ, TARTTER P.2000.Organochlorine exposures and breast cancer risk in New York City women. *Environmental Research*.84 (2):151–61
 - WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO).1982. DDT et dérivés : Critères d'hygiène de l'environnement, WHO, Genève, 1982.
 - WORLD WILDLIFE FUND (WWF).1998. Resolving the DDT dilemma. WWF Canada ET WWF US, Washington & Toronto.
-

Z

- ZIDANE HINDI.A.1999. Les bases et techniques d'analyses des résidus de pesticides, édition de l'université du Caire Ain Chams, p603.
- ZITCO.VLADIMIR.2003.Chlorinated pesticides Aldrin, DDT, ENDRIIN, Dieldrin, Mirex In the Handbook of Environmental Chemistry Vol.3 PART O Persistent Organic Pollutants Ed by H .Fiedler. pp: 47-90.
- ZROSTLÍKOVÁ.JITKA, LEHOTAY.STEVEN.J, HAJŠLOVA.JANÁ.2002. Simultaneous analysis of organ phosphorus and organochlorine pesticides in animal fat by gas chromatography with pulsed flame photometric and micro-electron capture detectors. *Journal of Separation Science*. 25:527-537.

Références électroniques

- ABID.2006. La lute contre le paludisme en Algérie .Le guide de la médecine et d e la santé en Algérie . Point de vue page consultée le 14-03-2007 .Site .Santamagreb.com (novembre 2006).
- ACIA .2006.Manuel des méthodes de l'hygiène des viandes. Chapitre 5 - Échantillonnage et analyses .Page consultée le 14-04-2007.Site :
<http://www.inspection.gc.ca/francais/anima/meavia/mmopmmhv/manf.shtml>
- ATSDR 2003 .toxicological profile for atrazine U.S. department of health and human services public health Service Agency for Toxic Substances and disease registry September 2003.Page consultée le 6-04-2008. Site: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp153.pdf>.

Références bibliographiques

- ATSDR.2002.toxicological profile for DDT, DDE, and DDD. U.S. Department of health and human services public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry September 2002. Page consultée le 02-08-2007. Site : <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp35-p.pdf>.
- DGA.1997. DIRECTION GENERALE DE L'ALIMENTATION – « résidus de substances chimiques » dans les viandes de boucherie. Plan de surveillance1997 (en ligne) .paris ministère de l'agriculture et de la pêche .DGAI ,1997. Page consultée le 03-07-2008. Site disponible sur Internet URL : [http : www.agriculture.gouv.fr/ alim/secu/plan /f3vbsc97.htm](http://www.agriculture.gouv.fr/alim/secu/plan/f3vbsc97.htm).
- FAO.2005. Page consultée le 12-12- 2006. Site : <http://www.fao.org/newsroom/fr/news/2005/103849/index.html>
- MCEWEN. KEN, DEEN BILL.1997. Étude sur les mécanismes d'établissement des prix et disponibilité des pesticides à usage agricole au Canada 1997 dernière mise à jour septembre 2008.Page consultée le 03-05-2007.Site : [http://www4.agr.gc.ca/AAFC-AAC/display afficher.do?id=1179942676505&lang=f](http://www4.agr.gc.ca/AAFC-AAC/display_afficher.do?id=1179942676505&lang=f).
- OFIVAL .2003. (Office interprofessionnel des viande – les services vétérinaires français .Situation zoono sanitaire de la France durant l'année 1998.activités de Contrôle de la chaîne alimentaire en France durant l'année 1998(en ligne).paris : office interprofessionnel des viandes ; 2003. Page consultée le 01-11-2008 Site disponible sur Internet.URL : [http://www.ofival .fr /présentation –gb/vetogb/fchygali.pdf](http://www.ofival.fr/présentation-gb/vetogb/fchygali.pdf).
- OMS. 2006 Page consultée le 02-10-2007.Site : <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2006/pr50/fr/index.html>.
- OMS/ IPCS.1991. Environmental Health Criteria n°124: Lindane. World Health Organisation, International Programme on chemical Safety. Page consultée le 01-10-2006.Site : <http://www.inchem.org/fullist.htm>.
- PESTICIDES RESIDUES COMMITTEE.2006. Pesticide residues monitoring report-2005; 2006.York. Page consultée le 2-05-2007 Site:Available:[http://www.pesticides.gov. uk/prc.asp? id=1673](http://www.pesticides.gov.uk/prc.asp?id=1673) (accessed: September 2006).
- RITTER .L, SOLOMON. K.R, FORGET.J, STEMEROFF.M, O'LEARY.C.1996.Les polluants organiques persistants, rapport d'évaluation. DDT , Aldrin, Dieldrine, Endrine, chlordane ,heptachlore, hexachlorobenzène, Mirex, Toxaphène, bi phényles chlorés, dioxines et furannes . Le programme international sur la sécurité des substances Chimiques(PISSC) dans le cadre du

Références bibliographiques

programme inter organisations de gestion écologiquement rationnelles des produits chimiques. Page consultée le 21-03-2006. Site : www.pops.int/documents/background/assesreport/FR/ritterfr.pdf.

- ROUIBAH M., BOULAHIDID M., BOUDEJELLAL B., EDDALIA N., OUNADI F. 2005. Contrat ISMAI-appl avril 2005 Institut des Sciences de la mer et de L'Aménagement du Littoral ISMAL Etude de la pollution du littoral algérois et du lac de Reghaia. Page consultée le 08-10-2008. Site : www.appl.dz/spip.php?article215 - 32k.

- UIPP. 2003. Union des industries de la protection des plantes. Page consultée le 22-12-2006. Site on line {[HTTP://www.UIPP.org](http://www.UIPP.org)}.

- UNEP. 2004. Stockholm convention on persistent organic compounds; 2004 Page consultée le 12-04-2007 Site. Available : <http://www.pops.int/>. (Accessed: November 2004).

- WHO. 2005. The recommended classification of pesticides by hazard and guide lines to classification-Guide lines international program on chemical Safety, 2005. Page consultée le 22-01-2007 Site http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_rev_3.pdf

Références bibliographiques

Liste des normes

- International Dairy Federation FIL 75B: 1983

Lait et produits laitiers Méthodes recommandée pour la détermination des résidus de pesticides organochlorés.

- Norme internationale l'ISO 3890-1 lait et produits laitiers –détermination des résidus de composés organochlorés (pesticides)-partie 1 : considération générales et méthodes d'extraction (ISO2000).

- Norme internationale l'ISO 3890-2 lait et produits laitiers –détermination des résidus de composés organochlorés (pesticides)-partie2: méthodes d'essai pour purification des extraits bruts et testes de confirmation (ISO2000).

- La Norme Officielle Mexicaine (NOM -004-ZOO-1994) : Official Mexican norm , control of toxic residues in meat fat , liver and kidney of bovines ,equine ,swine and sheep : in which will now be named fat , liver ,muscle and kidney in birds , bovines ,goats, deer ,equine , sheep and swine toxic residues maximum allowable limits and sampling procedures.

Annexes

Annexe I

Annexe I

*(Source : projet POP's –Algérie GF /ALG /02/001 Plan national de mise en œuvre (PNM)
Algérie – convention de Stockholm 2006).*



Photo1 : Non –conformité en matière de stockage



Photo2 : Non –conformité en matière de stockage



Photo3: Non –conformité en matière de stockage

Annexe II

Les produits phytosanitaires utilisés au niveau de chaque site (Alger, Laghouat, et Djelfa) répartis en :

§ Insecticides

§ Acaricides

LES INSECTICIDES

Wilaya	Match da/l	Dyptirex Da/Kg	Diazinon Da/Kg	Annate Da/g	Annate Da/l	Actarin Da/g	Clorofet Da/l	Vanish Da/l	Vapmalathion Da/l	Pyrical 5G Da/l
Alger										
Laghouat	1600									
Djelfa										

Wilaya	Deltacal Da/l	Cythrine 250 g Da/l	Cythrine 1L Da/l	Chlore périphose Da/l	Postane da/kg	Pencap Da/l	Volaton Da/Kg	Gardene Da/Kg	Phosamko 6SP(5)	Phosamko 6SP(1)
Alger										
Laghouat										
Djelfa					3087.16				3009.98	695.63

Wilaya	Alphithrine 25 ES da/l	Alphisol 35 ES da/l	Asmidon 3 %	Phosale da/l	Alphychlore	Lombdacythrine 2.5 EC da/l	Consult Da/l	Phobi-Mouche Da/l	Chess 40 WG Da/Kg	Torque S Da/l	Kangfu da/l
Alger											
Laghouat											
Djelfa	963	898.8	115.56	1926	706.2	1027.2					

Wilaya	Ponfudor Da/l	Commando Da/l	Methomil Da/l	Zolone Da/l	Zolone 35 Da/l	Tristar Da/l	Sumi Alpha da/l	Super Alpha Da/l	Agrolimacée Da/Kg	Mospilan Da/l	Mospilan 20 SP Da/Kg
Alger											
Laghouat											
Djelfa				118.13							

Wilaya	Cekufon Da/Kg	Curenox Da/Kg	Curenox(cuprosen) Da/Kg	Chek 10 Dec Da/l	Chek Da/l	P.P.S Da/L	Superas Da/U	Chlormedia Da/l	Beidazit Da/l	Terasaele	placitrine
Alger											
Laghouat											
Djelfa									250.38		

Wilaya	Talstar	Sefrazit Da/Kg	Yamatraze Da/Kg	Avaunt 150 SC Da/l	Cyper AS 25 EC Da/l	Transact	Mouch clac(PT6F) Da/U	Mouch clac vrac Da/U	Mouch clac sac Da/U	Nova clac 1 L Da/U	Ratuciac' vrac Da/U
Alger											
Laghouat											
Djelfa		269.64			1271.16						

Wilaya	Supermedia	Reldan Da/l	Reldan 40 Da/l	Methonate	Iannate 20liquideDA/L	Iannate 25 DA/Kg	Iannate P DA/Kg	Decis liquideDa/L	Decis expert Da/l	Decis 25 EC Da/l	Decis Da/kg
Alger											
Laghouat											
Djelfa											

Wilaya	Karate liquide Da/l	Karate ZeonDa/l	Karate 40 g Da/Kg	Confidor	Fidor Da/l	SherpaDA/L	Sherpa25DA/L	Dursban liquide Da/l	Dursban poudreDA/Kg	Dursban 4 (48 EC) Da/l	CypermethrineDa/l
Alger											
Laghouat											
Djelfa									224.7		

Wilaya	Methyl Da/Kg	Methyl paratox Da/l	Methyl sac da/Kg	Methyl boite Da/kg	Cupro Caffaro Da/Kg	Ultracidine 40 Da/l	Ultracide Da/l	Deltarine Da/l	Terminator	Fastac 5 EC Da/l	Selecron Da/Kg
Alger											
Laghouat											
Djelfa	68.05										

Wilaya	Selecron	Selecron Da/l	Actelic	Actelic Da/l	Malatox Da/l	Malatox Da/Kg	Agrinate 24 SL(da/l)	Agrinate 25Da/l	Agrinate Da/l	Vapco cypermtrune 10 Da/Kg	Pyricol Da/Kg
	720 EC-1 L Da/l		50 EC-1 L Da/l								
Alger											
Laghouat											
Djelfa					462.24						

Wilaya	Vapco diazinouDa/ flac	Vapco2 Da/ flac	Vapcomor Da/Kg	VapcopinDa/l	Vapcocidine Da/l	DDT Da/Qx	Ovipron Da/l	Thuodan Da/l	Deltametrine Da/l	Lebaycid Da/Kg	pychlorex da/l
Alger											
Laghouat											
Djelfa											

LES ACARICIDES

Wilaya	Dimethoate Da/l	Dimethoate 40 Da/l	Morestan Da/ Kg	Vapcomic Da/l	Bicolgol Da/l	Omite Da/l	Azoeston
Alger							
Laghouat							
Djelfa							

Wilaya	Dicofol Da/l	Dicofol 25 EC Da/l	Mitac Da/l	Vertimec-100ml Da/flc	Vertimec-250ml Da/flc	Vertimec 1 L Da/flc
Alger	12744					
Laghouat						
Djelfa						

Wilaya	Omite 57 EW Da/l	Alphacitin	Appolo Da/l	Polo-250ml Da/flc	Polo-1 L Da/flc	Peropal Da/U	Amitras
Alger							
Laghouat							
Djelfa	1926	7620.19					

Wilaya	Rufast da/l	Envidor Da/l	Abamectine Da/l	Abamectine 1,8 EC 1,1L Da/l	Abamectine 1,8 EC 100ml Da/l	Kaltane Da/l	Veralan Da/l
Alger							
Laghouat							
Djelfa			9319.11	980.38	2201.44		

Wilaya	Dictator Da/l	Pennstyl Da/l	Dipton	Tanilo	Vertan da/l	Danitol Da/l	Bye Bye Da/l
Alger							
Laghouat							
Djelfa			1155.6	1540.8	1284		

Annexe III

Les différents protocoles du nettoyage de la verrerie

1. Mélange sulfocarbonique

Dissoudre 30 g de bichromate de potassium dans 1l d'acide sulfurique concentré
La verrerie à nettoyer est mise dans le mélange sulfochromique pendant plusieurs heures, rincer successivement à l'eau naturelle et à l'eau distillée.

2. Mélange céto alcoolique

Obtenu en ajoutant 120 g de soude caustique ou de potasse caustique à 120 ml d'eau amené ensuite au litre au moyen d'alcool, ce mélange est plus efficace que le précédent la verrerie doit être maintenue dans ce mélange pendant une quinzaine de minutes .

Durée suffisante pour le dégraissage.

3. Divers

L'utilisation de solvants organiques tels que le tétrachlorure de carbone CCl_4 , ou l'acétone, permettent de dégraisser la verrerie.

Les dernières traces de graisses sont enlevées avec des solutions très oxydantes .ex KMnO_4 0.1N.

Après rinçage à l'eau distillée, la verrerie sera lavée avec un peu d'acétone et ensuite placée dans l'étuve pour un séchage complet.

Avant tout usage, les récipients en verre seront, dans la mesure de possible rincés avec un peu du liquide qu'ils doivent contenir.

Thème : Contribution à la recherche des résidus de pesticides organochlorés (DDT, lindane) dans les graisses ovines dans les régions : Alger, Laghouat, Adrar et Djelfa.

L'utilisation abusive des pesticides dans le secteur agricole durant les années 60 et 70 a généré d'importants stocks inutilisés (obsolètes) à travers le territoire national (1731 tonnes de produits, 197.3 tonnes rentrent dans la catégorie des polluants organiques persistants (Pop's), parmi lesquels 191 tonnes sont constitués par le DDT (96.8 %). Bien qu'encore relativement faible par rapport aux pays développés, l'utilisation des insecticides reste encore la catégorie de pesticides la plus utilisée en Algérie. Dans le but de faire un état des lieux sur la contamination par les résidus de pesticides organochlorés dans les élevages extensifs d'ovins, 51 échantillons de graisses perirénales ovines ont été prélevés.

Notre travail a consisté en l'application de la chromatographie gaz couplée à la spectrométrie de masse pour l'analyse et la recherche des deux types de composés de pesticides organochlorés le DDT et le lindane. En premier lieu nous avons étudié les temps de rétention des deux composés : le DDT et le lindane ainsi que leurs spectres de masse. Nous avons utilisé comme technique l'extraction liquide – liquide par mélange de deux solvants l'hexane et l'acétonitrile et pour la purification nous avons utilisé la chromatographie d'adsorption sur colonne de florasil désactivée à 2.5 %.

Les analyses chromatographiques ont montré l'absence de DDT et de lindane à l'état de trace. En adoptant comme seuil de comparaison, les recommandations du codex Alimentarius sur les limites maximales résiduelles, qui sont de l'ordre 2 ppm pour le lindane et 5 ppm pour le DDT, il ressort que les échantillons analysés sont dans leur totalité satisfaisante. Néanmoins, 4 échantillons provenant de la région de Baraki contenaient un dérivé de l'atrazine (herbicide) : 3,5-diméthylamino-3, 5-dihydroxy-1, 2,4-atrazine. La contamination de la viande ovine par les deux composés organochlorés en particulier par le lindane est en nette diminution par rapport aux taux obtenus en 1985. Cette diminution est due particulièrement à l'interdiction de leur utilisation.

Mots-clés : pesticides, résidus, DDT, lindane, graisses ovines, chromatographie gaz, spectrométrie de masse.

Theme: The assessment of fat sheep contamination by tow organochlorine pesticides (DDT, lindane) in Algiers, Laghouat, Djelfa and Adrar.

The misuse of pesticides in agriculture during the 60s and 70s has generated significant obsolete stocks throughout the country (1731 tonnes of products, 197.3 tons are Persistent Organic Pollutants (POP's) , including 191 tons made mainly with DDT (96.8% °). Although pesticides use in agriculture is relatively small comparing to the developed countries, insecticides are still the most pesticides commonly used in Algeria.

In order to access sheep contamination by organochlorine pesticides particularly with DDT and lindane, a total of 51 samples of perinephritic fat were analysed with the application of gas chromatography - mass spectrometry. Initially, we have studied the retention time of the two compounds and their mass spectra. Then the total of samples were analysed using the technique of liquid liquid extraction by using a mixture of two solvents hexane and acetonitrile and the adsorption chromatography on florisil deactivated at 2.5 % in clean up.

Chromatographic analysis have shown the absence of DDT and lindane traces, therefore levels did not exceed the maximum residue limit recommended by Codex Alimentarius (2 ppm for lindane and 5 ppm for DDT); so samples in their whole are acceptable. Nevertheless, it should be noted that 4 samples from Beraki's site contained a derivative of atrazine (herbicide): 3.5 dimethylamino-3, 5-dihydroxy-1, 2, 4-atrazine. The contamination of sheep meat by the tow organochlorine compounds especially lindane residue level is obviously lower comparing to levels obtained in 1985. This decrease is due mainly to their interdiction.

Keywords: *pesticides, residues, DDT, Lindane, sheep fat, gas chromatography, mass spectrometry.*

