



MICROFICHE N°

05574

République Tunisienne

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE

CENTRE NATIONAL DE

DOCUMENTATION AGRICOLE

TUNIS

الجمهورية التونسية
وزارة الزراعة

المركز القومي
للتوثيق الفلاحي
تونس

F 1

RIJKSUNIVERSITEIT GENT
FACULTEIT VAN DE LANDBOUWWETENSCHAPPEN

Academiejaar 1980 - 1981

**BEPALING VAN RESIDU'S VAN PESTICIDEN
OP GROENTEGEWASSEN**

**DETERMINATION DE RESIDUS DE PESTICIDES
SUR CULTURES MARAICHÈRES**

Promotors :

Prof. Dr. Ir. G. BOESMAN

Prof. Ir. R.H. KIPS

Werk van einde studien voorgedragen tot

het behalen van de graad van

Licentiaat in de Landbouwwetenschap

CHEBIL Abdelaziz

UNIVERSITE DE L'ETAT A GAND
Faculté des Sciences Agronomiques
Laboratoire de Phytopharmacie
Année Académique 1980-1981

DETERMINATION DE RESIDUS DE
PESTICIDES SUR CULTURES MARAICHERES

Mémoire présenté en vue de l'obtention du
diplôme de "Master degree" en sciences agronomiques

PAR CHEBIL ABDELAZIZ

REMERCIEMENTS

C'est pour moi un agréable devoir d'adresser mes remerciements les plus vifs à :

Monsieur le Professeur M. DE BOODT, Doyen de la Faculté des Sciences Agronomiques, et tous les Professeurs de cette Faculté pour la formation scientifique que j'ai acquise.

Monsieur le Professeur R.H. KIPS, Directeur du laboratoire de Phytopharmacie, d'avoir bien voulu m'accueillir dans son laboratoire et promouvoir mon travail. Il m'a beaucoup aidé à donner plus de vigueur au raisonnement et plus de clarté à l'expression. Qu'il trouve ici ma profonde reconnaissance.

Monsieur le Professeur G. BOESMAN, Directeur du laboratoire d'Horticulture, qui a été à l'origine de ma présence à Gent. Il m'a toujours soutenu et orienté.

Monsieur le Docteur W. DEJONCKHEERE, Chef de travaux du laboratoire de Phytopharmacie, qui a consenti à assumer la tâche difficile de m'encadrer. Avec autant de gentillesse que des idées il m'a, tout au long de ce travail, beaucoup aidé par ses directives et ses suggestions. Qu'il me soit permis encore une fois de lui exprimer mon extrême gratitude.

Tous les chercheurs et le personnel du laboratoire de Phytopharmacie pour l'aide, le service et l'accueil amical qu'ils m'ont toujours réservé.

Monsieur H. VAN BOST, pour avoir assuré la rude tâche de la dactylographie de ce mémoire. Qu'il trouve ici l'expression de mes sentiments les plus sincères.

L'Administration Générale à la Coopération au Développement qui m'a procuré la possibilité matérielle pour mon séjour en Belgique.

Que tous acceptent l'expression de ma très profonde gratitude.

Gent, septembre 1981.

CHEBIL Abdelaziz

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	3
1. INTRODUCTION	4
2. CONSIDERATIONS D'ORDRE GENERAL	4
2.1. Présentation et objet de la commission du Codex Alimentarius	4
2.2. Comité mixte FAO/OMS du Codex sur les résidus de pesticides	5
2.3. Définitions	5
2.3.1. Pesticide	5
2.3.2. Résidu de pesticide	6
2.3.3. Limite maximale codex de résidu "Tolérance"	6
2.3.4. Dose journalière admissible	6
2.3.5. Délai de carence	7
3. DEPOT DE PESTICIDES	7
3.1. Considérations générales	7
3.2. Evolution du dépôt	9
3.3. Conclusions	10
4. L'ANALYSE DES RESIDUS DE PESTICIDES	10
4.1. Schéma général des opérations d'analyse	11
4.2. Manipulations préalables au dosage	15
4.3. Préparation des échantillons	16
4.4. Extraction de la matière active	17
4.5. Purification des extraits	19
4.6. Méthodes de dosage des pesticides	21
5. MISE AU POINT D'UNE METHODE DE DOSAGE	29
5.1. Etapes de la mise au point	29
5.2. Rendement de la méthode	30
6. EXPRESSION DES RESULTATS	31
6.1. Evolution des dépôts de pesticides	31
6.2. Etablissement de la droite de régression	31
6.3. Décroissance journalière	32
6.4. Durée de demi-persistance	32
6.5. Délai de carence	32
6.6. Conclusions	32
7. OUVRAGES RECOMMANDES	33

PARTIE EXPERIMENTALE	34
1. INTRODUCTION	35
2. RESIDUS SUR TOMATES	35
2.1. Généralités	35
2.2. Bénomyl	36
2.3. Manèbe	40
2.4. Phosphamidon	42
2.5. Diméthoate	43
3. RESIDUS SUR EPINARDS	49
3.1. Introduction	49
3.2. Matériel et méthodes	50
3.3. Résultats	51
3.4. Discussion des résultats	51
4. RESIDUS SUR FRAISES	66
4.1. Introduction	66
4.2. Matériel et méthodes	68
4.3. Résultats	69
4.4. Discussion des résultats	69
5. RESIDUS SUR CULTURES HYDROPONIQUES	72
5.1. Introduction	72
5.2. Matériel et méthodes	73
5.3. Résultats	73
5.4. Discussion des résultats	74
6. RESIDUS SUR CONCOMBRE	76
6.1. Introduction	76
6.2. Matériel et méthodes	77
6.3. Résultats	78
6.4. Discussion des résultats	78

ANNEXES	82
I. METHODE DE DETERMINATION DES RESIDUS DE MANEBE DANS LES TOMATES	82
1. Principe	82
2. Réactifs	82
3. Appareillage	83
4. Droite d'étalonnage	83
5. Mode opératoire	83
II. METHODE DE DETERMINATION DES RESIDUS DE BENOMYL DANS LES TOMATES	86
1. Principe	86
2. Réactifs	86
3. Appareillage	87
4. Droite d'étalonnage	87
5. Mode opératoire	87
6. Essais à blanc	88
7. Expression des résultats	88
8. Limite de sensibilité et taux de récupération	88
9. Spectre d'absorption du BCM dans l'ultra-violet	89
III. METHODE DE DETERMINATION DES RESIDUS DE : IPRODIONE, VINCHLO- ZOLINE, PROCYMIDONE, TOLYLFLUANIDE ET DICHLORFLUANIDE SUR FRAISES; BROMOPROPYLATE ET PYRAZOPHOS SUR CONCOMBRES	91
1. Principe	91
2. Réactifs	91
3. Appareillage	92
4. Droites d'étalonnage	92
5. Mode opératoire	93
6. Essai à blanc	94
7. Taux de récupération	94
8. Conditions de dosage	94
9. Chromatogrammes des produits analysés	95
IV. METHODE DE DETERMINATION DES RESIDUS DE PHOSPHAMIDON ET DE DIMETHOATE SUR TOMATES ET D'ETRIDIAZOLE DANS LA SOLUTION NUTRITIVE	97
1. Principe	97
2. Réactifs	97
3. Appareillage	98
4. Droites d'étalonnage	98
5. Mode opératoire	99
6. Essai à blanc	99
7. Taux de récupération	100
8. Conditions de dosage	100
9. Chromatogrammes des produits analysés	101
DISCUSSION ET CONCLUSIONS GENERALES	102
RESUME EN ALGERIEN RESUME	106
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	108

INTRODUCTION

La protection phytosanitaire est une question délicate et complexe. On convient généralement qu'il faut faire appel, pour la résoudre, à tous les moyens biologiques, chimiques ou physiques disponibles, pris séparément ou réunis suivant les moyens et les possibilités. Le moyen le plus utilisé dans l'agriculture moderne est la lutte chimique donc le traitement avec des produits chimiques synthétisés. Tout traitement phytopharmaceutique laisse des dépôts sur, dans, ou en dehors des substrats traités. Ces dépôts sont une source potentielle de résidus de pesticides à la récolte et de pollution de l'environnement. En effet les pesticides évoluent sous l'action de divers facteurs, notamment les facteurs climatiques et les facteurs à action chimique ou biologique. Mais leur élimination totale du substrat traité n'est pas toujours réalisée, soit qu'ils possèdent une stabilité relativement élevée soit que le temps de carence (le délais entre le traitement et la récolte) n'est pas respecté. C'est pourquoi, les comités d'agrément au niveau national et certains groupes d'experts au niveau international, imposent aux utilisateurs des produits phytosanitaires des prescriptions de manière à limiter les résidus dans les produits consommés à un niveau toxicologiquement acceptable. Ces prescriptions et plus concrètement les limites maximales tolérables sur ou dans les fruits et les légumes, sont établies sur base de la dose journalière admissible (DJA) qui se définit comme étant la "quantité d'un pesticide qui, d'après l'ensemble des données toxicologiques connues, paraît pouvoir être ingérée chaque jour pendant toute la vie sans risques appréciables et sur base des bonnes pratiques agricoles dans lesquelles on accepte qu'il y a une dose maximale qui ne doit pas être dépassée pour obtenir une protection phytosanitaire suffisante".

Certes, pour éviter tout danger éventuel résultant de l'absorption de pesticides, l'idéal serait de pouvoir disposer de moyens de lutte sans utilisation de produits chimiques et on doit se réjouir du développement et de l'extension des études dans ce domaine. Mais à l'heure présente, il faut reconnaître que, à l'exception de quelques cas spécifiques, il n'est pas possible de produire, selon les lois économiques en vigueur, la quantité d'aliments nécessaires à la consommation mondiale sans faire appel à un stade ou autre de la production, aux produits chimiques de lutte contre les parasites. Le Dr. NORLAKE, prix Nobel de la paix, a fort bien situé ce problème de l'utilisation des pesticides dans l'optique de l'alimentation dans le monde. Les pesticides sont un 'mal

nécessaire" et ils le resteront aussi longtemps qu'aucune technique de lutte contre les organismes nuisibles, sans utilisation de produits chimiques, ne résoudra les problèmes de la protection des cultures.

Le présent mémoire est donc une contribution à une meilleure utilisation de ces produits en tenant compte surtout du problème des résidus.

Ce travail comporte deux parties : la première est une étude bibliographique où nous avons fait le point de la situation dans ce domaine de la phytothérapie, la deuxième partie de ce travail est une étude expérimentale où nous nous sommes familiarisés avec plusieurs techniques d'analyse utilisées dans la recherche des résidus sur différentes cultures. Les résultats obtenus nous permettront de déterminer l'incidence des conditions d'application des pesticides sur la teneur résiduaire de ces produits dans la plante qui devrait être propre à la consommation.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1. INTRODUCTION

La phytothérapie est une discipline en constante évolution dont l'intérêt a été largement démontré tant par les instances nationales qu'internationales, chargées d'assurer l'alimentation des populations.

A ces débuts, la recherche de composés chimiques caractérisés par leur efficacité vis à vis des parasites à détruire n'était accompagnée ou suivie que par des recherches restreintes sur la toxicologie et la stabilité à long terme. Par après, on s'est attaché à mieux connaître la persistance de ces produits et à établir les normes de leur utilisation et les résidus acceptables à la récolte de manière à prévenir les risques d'intoxication du consommateur.

Plus récemment, il apparaît que l'utilisation abusive de ces produits pourrait, par action directe ou indirecte, immédiate ou à terme, être préjudiciable aux écosystèmes qui constituent notre environnement.

Finalement les instances officielles se sont de plus en plus préoccupées des résidus des pesticides, autant dans le commerce national qu'international et un vaste réseau de laboratoires pour la recherche de ces résidus a été installé aussi bien pour le contrôle que pour des recherches sur le comportement des pesticides après des essais contrôlés à court et à long terme.

2. CONSIDÉRATIONS D'ORDRE GÉNÉRAL

2.1. Présentation et objet de la commission du Codex Alimentarius

La Commission FAO/OMS du Codex Alimentarius a pour but de mettre en oeuvre le programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires. Elle est composée des États Membres et Membres Associés de la FAO et/ou de l'OMS qui ont notifié aux deux organisations leur désir d'en faire partie.

Ce programme a pour objet de protéger la santé des consommateurs et d'assurer la loyauté des pratiques suivies dans le commerce, de promouvoir la coordination de tous les travaux en matière de normes alimentaires entrepris par des organisations internationales et gouvernementales, d'établir un ordre de priorité et de prendre l'initiative et la conduite du travail de préparation des projets de normes par l'inter-

médiaire des organisations compétentes et avec leur aide, de mettre définitivement au point les normes et, après leur acceptation par les gouvernements, de les publier dans un Codex Alimentarius soit comme normes régionales, soit comme normes mondiales.

2.2. Comité mixte FAO/OMS du Codex sur les résidus de pesticides

Le comité du Codex sur les résidus de pesticides est un organe intergouvernemental qui conseille la commission sur toutes les questions relatives aux résidus de pesticides. Il se réunit une fois par an et soumet des rapports à la commission. Ce comité a notamment les attributions suivantes :

- a) Etablir des limites maximales pour les résidus de pesticides dans des produits alimentaires déterminés ou dans des groupes de denrées;
- b) Préparer des listes prioritaires de pesticides à soumettre pour évaluation à la réunion conjointe FAO/OMS sur les résidus de pesticides.
- c) Examiner des méthodes d'échantillonnage et d'analyse pour le dosage des résidus de pesticides dans les aliments;
- d) Examiner d'autres questions en rapport avec l'innocuité des aliments qui contiennent des résidus de pesticides.

Un certain nombre de limites maximales pour les résidus de certains pesticides dans les denrées alimentaires est adopté après chaque réunion de la Commission mixte FAO/OMS. Ces limites maximales sont basées sur des données scientifiques et sur les conclusions de plusieurs réunions du groupe d'experts des résidus de pesticides et de l'environnement de la FAO et du Comité OMS d'experts des résidus de pesticide. Elles reposent sur les informations disponibles en ce qui concerne les résidus susceptibles d'être rencontrés après utilisation de pesticides conformément aux bonnes pratiques agricoles, ainsi que sur des renseignements toxicologiques et les doses journalières acceptables qui ont été établies pour les résidus de pesticides.

2.3. Définitions

2.3.1. Pesticide

Aux fins du Codex Alimentarius on entend par pesticide, toute substance ou mélange de substances destiné à repousser ou à combattre toute espèce de ravageur; ce terme englobe toute substance ou mélange de substances

utilisé en tant que régulateur de la croissance végétale, défoliant ou dessiccateur. Il ne s'applique ni aux engrais, ni aux antibiotiques ou produits utilisés à d'autres fins, telles que la stimulation de la croissance ou la modification du comportement reproductif.

2.3.2. Residu de pesticide

"Aux fins du Codex Alimentarius, on entend par résidu de pesticide toute(s) substance(s) présente(s) dans un produit alimentaire destiné à l'être humain ou aux animaux à la suite de l'utilisation d'un pesticide. Ce terme englobe également tous les dérivés déterminés, tels que produits de dégradation et de conversion, métabolites et produits de réactions qui sont jugés importants du point de vue toxicologique".

2.3.3. Limite maximale codex de résidu "Tolérance"

"Aux fins du Codex Alimentarius, on entend par limite maximale codex de résidu, la concentration maximale d'un résidu de pesticide que le Codex recommande d'autoriser légalement dans ou sur un aliment ou un produit alimentaire. La limite est exprimée en milligrammes de résidu de pesticide par kilogramme d'aliment ou de produit alimentaire".

2.3.4. Dose journalière admissible

La présence des résidus de pesticides dans nos aliments et dans notre environnement crée un risque de toxicité. Pour évaluer ce risque l'OMS a introduit le concept "dose journalière admissible" (DJA) qui se définit comme étant la quantité d'un pesticide qui, d'après l'ensemble des données connues paraît pouvoir être ingérée chaque jour pendant toute la vie sans risques appréciables. Des recherches toxicologiques sur animaux pendant une période de longue durée, jusqu'à 2 ans, permettent de déterminer cette DJA ne présentant pas de danger pour le consommateur.

$$DJA = \frac{D \times 60}{A \times B \times 0.4}$$

D : dose en mg/kg/jour ingérée quotidiennement par un animal expérimental et n'ayant montré aucun effet toxique.

A : premier coefficient de sécurité

A = 20 lorsque les animaux expérimentaux sont des rats;

A = 40 lorsque les animaux expérimentaux sont des chiens.

B : Deuxième coefficient de sécurité

B = 100 si les essais ont duré deux ans au moins

B = 500 si les essais ont duré moins de deux ans.

60 : Poids d'un individu moyen, exprimé en kg.

0.4 Poids maximum d'un aliment donné et consommé par jour (exprimé en kg).

2.3.5. Délai de carence

C'est l'intervalle de temps qui doit être respecté entre le dernier traitement et la récolte.

3. DEPOT DE PESTICIDES

3.1. Considérations générales

Les produits phytosanitaires peuvent se subdiviser en quatre groupes principaux, cités par ordre généralement décroissant de toxicité :

- insecticides, acaricides, molluscicides, rodenticides, nématicides,
- fongicides
- herbicides
- divers : régulateurs de croissance
inhibiteurs de germination,
répulsifs et attractifs.

La protection phytosanitaire est complexe. Dans certains cas, on pulvérise le pesticide uniquement sur la partie aérienne des plantes (traitement foliaire) dans d'autres cas, par contre, on l'applique sur le sol dépourvu de végétation, ou par traitement des denrées en vue de leur conservation (s'ilos de graines, tubercules de pomme de terre, etc...). Dans tous les cas ces traitements laisseront un dépôt, mais les problèmes ne se posent pas uniquement sur les substrats traités mais également en dehors de ces substrats. Ainsi, en traitant la partie aérienne des plantes, il est évident qu'un certain pourcentage du produit phytosanitaire se retrouve sur le sol. En traitant le sol, il faut comprendre que si, intentionnellement, on espère que, grâce à leurs propriétés systémiques certains pesticides, tel l'aldicarbe, protégeront la plante contre l'attaque des insectes, dans d'autres cas, par contre, des produits telle la dieldrine pourront se retrouver dans les plantes là où ils ne sont pas désirables. Si on y ajoute les quantités de pesticides utilisés dans un but de protection après la récolte p.ex., traitement

des entrepôts, des caisses d'emballage on constate que les sources de pollution sont aussi nombreuses que variées.

3.1.1. Constitution d'un dépôt de pesticides

Dans la lutte phytosanitaire, on doit déposer le pesticide là où les parasites se trouvent (lutte curative) ou sont susceptibles d'attaquer (lutte préventive). Ce dépôt doit rester disponible, en concentration suffisante aussi longtemps que l'objet à protéger risque d'être attaqué. Dans la constitution d'un dépôt divers facteurs entrent en jeu :

3.1.1.1. Type de formulation

Un même pesticide peut être formulé sous différentes formes : produits pulvérulents pour poudrage, poudres mouillables, solutions émulsifiable, suspensions concentrées, cartouches fumigènes, granules etc... Trop peu de recherches ont été réalisées pour définir, compte tenu des caractéristiques particulières de ces diverses formulations, celles qui assurent pour une culture donnée un dépôt minimum pour une efficacité maximale. Il est probable que dans le cas des poudres, en modifiant le diamètre des particules, on puisse obtenir une meilleure efficacité pour une dépense plus faible en matière active.

3.1.1.2. Le type de culture

Les surfaces végétales présentent des aspects très variés. Certaines sont difficiles à mouiller (p.ex. la feuille du chou et du poireau), d'autres, par contre, se mouillent très facilement (p.ex. la feuille du haricot et de la pomme de terre). Certaines sont glabres (p.ex. la feuille de la betterave), d'autres velues (p.ex. la feuille du tabac). On conçoit que la quantité de pesticides déposée dépendra de la morphologie des plantes.

3.1.1.3. Le mode de traitement

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

3.1.1.4. Dosage

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

- b. Le nombre de traitements devrait être fonction de l'efficacité recherchée et de la gravité de l'attaque.

3.1.1.5. Le moment de l'application

- a. Le traitement devrait être effectué de préférence au moment où les conditions climatiques et les pratiques culturales garantissent une efficacité maximale. Dans certains cas, il peut cependant être nécessaire de prendre des mesures aussitôt après la détection du ravageur.
- b. L'intervalle entre la dernière application et la récolte devrait être aussi long que possible de façon à réduire au minimum les résidus, sans perdre de vue l'importance du parasite, le degré de protection nécessaire pour une utilisation maximale du produit et la vulnérabilité de la culture traitée immédiatement avant la récolte. Il faut pour cela fixer officiellement des intervalles pré-récoltes, qui doivent être respectés.
- c. Selon le cycle de développement du parasite à combattre, un traitement de protection à court terme (faisant appel à des produits à faible rémanence) ou traitement à long terme (faisant appel à des produits à longue rémanence).

3.2. Evolution du dépôt

Dès que la matière active a été déposée, différents facteurs concourent à l'éliminer.

3.2.1. Facteurs mécaniques

- a. Erosion par la pluie et le vent : la pluie peut provoquer un lessivage du produit et une redistribution du dépôt initial vers les parties basses et le sol.
- b. Nature et forme du substrat : dans les traitements sous verre, on constate que pour une même dose appliquée à l'are, la valeur du dépôt initial et la manière dont il évolue diffèrent grandement sur tomates comparé aux laitues.

3.2.2. Facteurs physico-chimiques

- a. Solubilisation et volatilisation : la vitesse d'élimination du produit est fonction de sa solubilité dans l'eau et de sa tension de vapeur.
- b. Oxydation, hydrolyse et autres réactions chimiques peuvent transformer progressivement le produit initial en un ou plusieurs métabolites ayant une toxicité différente.

- c. Propriétés systémiques qui sont de nature à influencer l'évolution d'un dépôt en raison du cheminement du produit dans la plante.
- d. Croissance du végétal.

C'est un facteur très important dans l'évolution de la teneur en résidus. En effet si le jour du traitement on a retrouvé en moyenne : 100 µg de produit dans des fruits d'un poids moyen de 5 g, la valeur du dépôt initial sera de :

$$R_0 = \frac{100 \mu\text{g}}{5 \text{ g}} = 20 \text{ ppm}$$

En acceptant l'hypothèse qu'il s'agit d'un produit stable et qu'aucun facteur mécanique ou physico-chimique n'intervient pour provoquer une diminution du dépôt, on retrouve au moment de la récolte : 100 µg de produit dans des fruits dont le poids moyen est de 200 g. La valeur du résidu à la récolte sera dans ces conditions :

$$R_0 = \frac{100 \mu\text{g}}{200} = 0.5 \text{ ppm}$$

La quantité de produit est restée la même mais sa concentration dans les fruits est quarante fois plus faible.

3.3. Conclusion

Tout traitement laisse un dépôt non seulement sur le substrat traité, mais aussi en dehors de ce substrat. Quantitativement, les dépôts peuvent varier dans de larges proportions en fonction des facteurs définis ci-dessus et ces variations montrent toute la complexité des études sur les dépôts de pesticides.

En protection phytosanitaire raisonnée, en vue de limiter les dépôts, on doit rechercher les techniques capables, non pas d'éliminer totalement les parasites présents, mais de réduire leur population à un niveau tel que les dommages qu'ils causent soient économiquement supportables. En d'autres termes, on doit rechercher le dépôt suffisant pour assurer une protection satisfaisante.

4. L'ANALYSE DES RESIDUS DE PESTICIDES

Un des problèmes primordiaux, aussi bien pour les autorités nationales qu'internationales, restera toujours une large surveillance et l'évaluation d'un programme concernant l'extention et l'importance accordée à la contamination de l'homme et de son environnement par les pesticides et leurs métabolites. Il est donc très important d'avoir des méthodes

d'analyse propres pour chaque groupe de pesticides ou même une méthode d'analyse spécifique pour un pesticide donné. Les problèmes de mise au point des méthodes d'analyse des résidus de pesticides requièrent un personnel spécialisé. En effet ces méthodes imposent des manipulations délicates et difficiles et exigent des appareillages très élaborés, relativement coûteux. De plus, le nombre de produits phytosanitaires disponibles dans le commerce et susceptibles d'être utilisés est élevé et enfin il y a la grande diversité des productions végétales servant, soit à l'alimentation humaine, soit à l'alimentation animale.

4.1. Schéma général des opérations d'analyse

Lorsque l'échantillon entre au laboratoire, il reçoit un numéro d'ordre et est répertorié dans un livre d'analyses dans lequel sont notés :

- la date de réception;
- la provenance de l'échantillon;
- l'historique de l'essai si connu;
- le poids d'échantillon et le nombre d'objets qu'il comporte.

Suivant la nature des produits à doser et de la nature végétale sur laquelle ils ont été déposés, l'échantillon peut être traité de différentes manières qui sont schématisées dans le tableau 1.

4.1.1. Ordre de grandeur des résidus

Les résidus de pesticides sont exprimés en ppm (parties par million).

La valeur moyenne des concentrations du produit que l'on retrouve normalement dans des végétaux traités se situe entre 0,01 ppm et 10 ppm.

La limite inférieure de détermination dépend :

- de la nature du produit à analyser;
- des caractéristiques de la matière végétale;
- de la sensibilité de la méthode de dosage.

4.1.2. Doses tolérées (Tolérances)

Après consultation des dossiers biologiques, toxicologiques et d'analyse de résidus, le législateur fixe, pour chaque produit, une valeur maximale tolérée. Elles ont été établies sur la base d'un bon respect des conditions d'application. Tout dépassement de cette valeur dans des denrées consommables trouvées sur le marché peut faire l'objet de sanctions vis-

Tableau I

ÉCHANTILLONNAGE		Arrivée de l'échantillon au laboratoire	
	STOCKAGE		Température ordinaire Pas de stockage possible
Surgélateur	Réfrigérateur		
	PRÉPARATION		
Lavage	Pelage	Dessiccation à l'étuve Lyophilisation	Mouture Découpage grossier
		EXTRACTION DE LA MATIÈRE ACTIVE	
Rinçage superficiel par un solvant	Macération	Homogénéisation (mixer)	Soxhlet Hydrolyse acide ou basique
		PURIFICATION	
Chromatographie sur colonne sur couche mince			Partition liquide-liquide
		ESSAI	
Détecteurs spécifiques reliés au chromatographe en phase gazeuse		Spectrophotométrie UV Visible Infrarouge	Fluorimétrie
Méthodes polarographiques		Méthodes enzymatiques	Méthodes potentiométriques
		EXPRESSION DES RÉSULTATS	

Tableau 2 - Evaluation des erreurs pouvant intervenir depuis l'application jusqu'à la détermination finale (Résidu à la récolte).

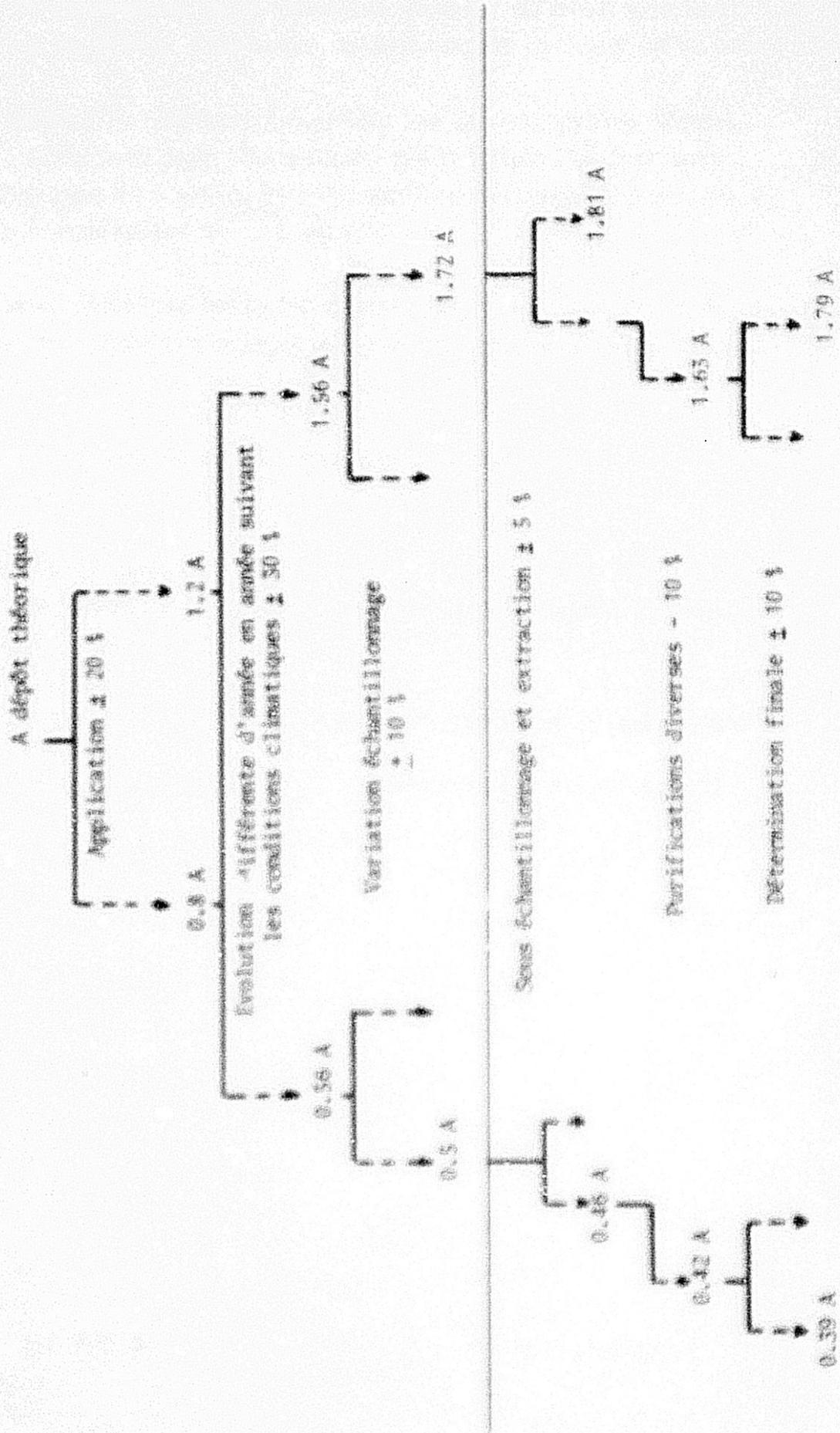
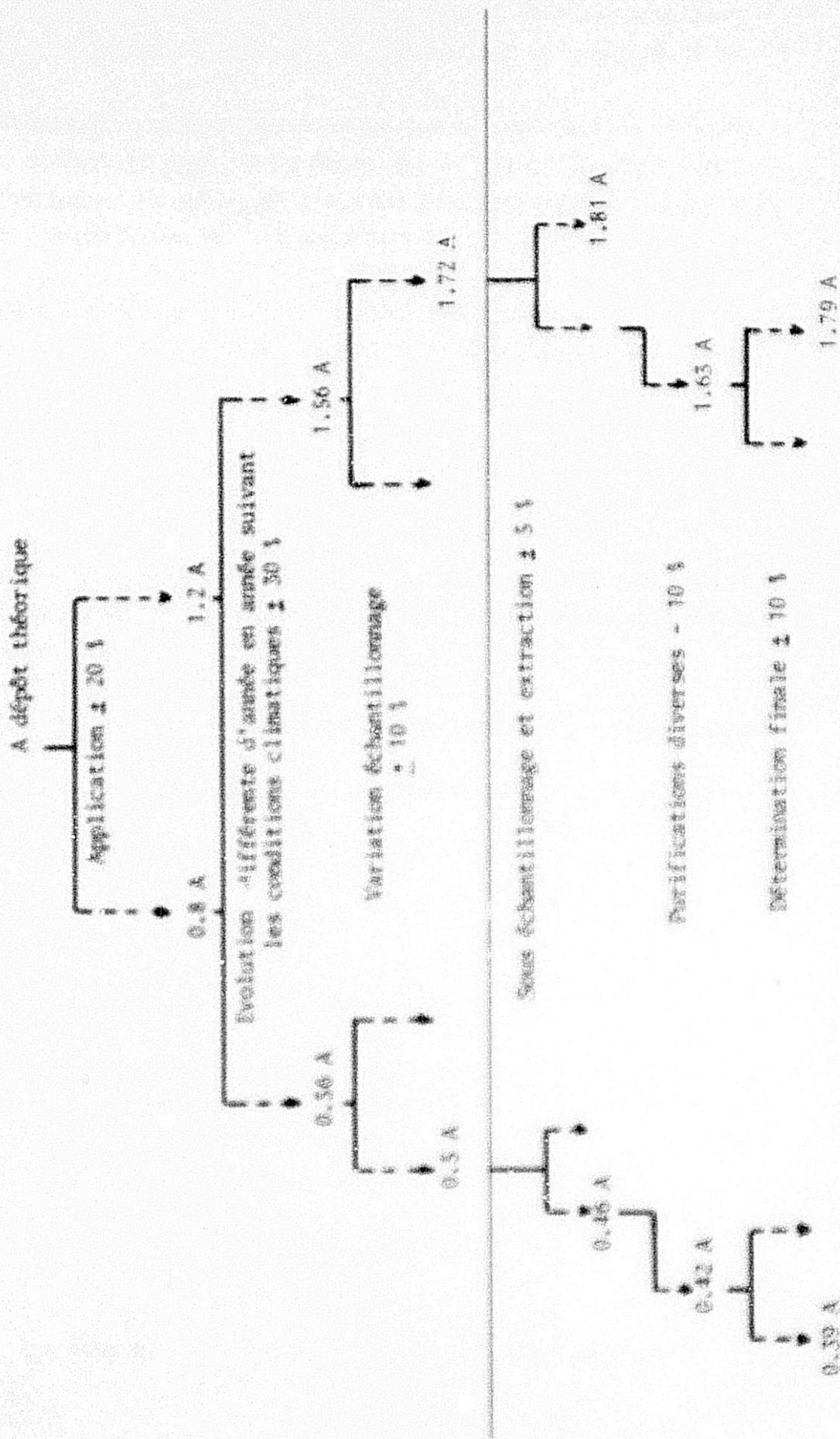


Tableau 2 - Evaluation des erreurs pouvant intervenir depuis l'application jusqu'à la détermination finale (Résidu à la récolte).



à-vis du producteur, et seront vraisemblablement dû à une mauvaise utilisation du produit (Surdosage, ou non respect du délai de carence).

Malheureusement il n'existe actuellement pas de coordination efficace entre les différents pays. Ces valeurs des tolérances peuvent donc varier d'un pays à un autre, ce qui complique les mesures à prendre au niveau de l'exportation ou de l'importation.

D'autre part, selon les conditions climatiques d'une année à l'autre et d'un essai à l'autre les valeurs que l'on obtient peuvent être assez différentes.

Le tableau 2 reprend un schéma des erreurs pouvant intervenir dans l'établissement du résultat final.

Le niveau d'hétérogénéité du dépôt initial, sur une même culture ayant reçu des traitements à des doses d'application identiques, est hautement significatif. (Tableau 3).

TABLEAU 3 - Niveau d'hétérogénéité du dépôt initial \bar{R}_0 = dépôt initial moyen

Traitement à 5 g de produit à l'are		Traitement à 7.5 g de produit à l'are	
0.9 (27 %)		2.1 (44 %)	
1.0		2.4	
1.3		2.4	
2.2		2.8	
2.5		3.0	
2.7		3.6	
3.3	$\bar{R}_0 : 3.3$	3.6	$\bar{R}_0 : 4.8$
3.8		4.2	
4.0		4.5	
4.4		5.4	
4.4		6.6	
4.6		6.7	
5.0		7.2	
5.8 (176 %)		10.0 (208 %)	

Il est donc nécessaire pour pouvoir établir une tolérance en matière de résidus, de disposer de données provenant d'expérimentations diverses.

L'expression des résultats ne permet de toute manière que de fixer un ordre de grandeur des teneurs susceptibles d'être retrouvées.

Le tableau 2 permet de constater que à partir de l'entrée des échantillons au laboratoire la valeur trouvée peut différer de la valeur réelle de 25 à +5 % tenant compte des diverses opérations réalisées dans l'analyse ce qui signifie que pour une valeur réelle de 1 ppm :

- la valeur minimale retrouvée sera de 0.75 ppm
- la valeur maximale retrouvée sera de 1.05 ppm.

C'est la raison pour laquelle on procède toujours pour des études permettant d'établir un dossier officiel :

- à des répétitions de l'expérimentation au champ (de 2 à 4 répétitions),
- à des répétitions de dosage (2 répétitions) ce qui correspond à une moyenne de 4 à 8 dosages par type d'application.

4.2. Manipulations préalables au dosage

4.2.1. Échantillonnage

Le poids de l'échantillon soumis au laboratoire ne doit pas être inférieur à :

- 500 g pour les produits de petites dimensions ou de faible densité (cerises, fraises....)
- 2 kg et au moins 5 pièces pour les produits de grandes dimensions (choux, melons,)
- 1 kg et au moins 10 pièces pour les autres produits (pommes, poires, oranges).

Chaque échantillon doit être accompagné d'un bulletin indiquant la nature et l'origine de l'échantillon, la date et le lieu de prélèvement.

4.2.2. Traitement préalable des échantillons

Les racines sont nettoyées par un brossage sous courant d'eau; s'il s'agit de légumes généralement consommés sans pelure (carottes, pommes de terre,) ils sont pelés, la pelure et la pulpe constituent respectivement deux sous-échantillons.

Les betteraves sucrières et les chicons sont séparés en deux :

- La partie destinée à l'alimentation humaine (racines de betteraves et feuilles de chicons).
- La partie destinée à l'alimentation du bétail (collets et feuilles de betteraves, racines de chicons).

4.2.3. Stockage des échantillons

En principe il faut toujours éviter que des échantillons doivent être conservés au laboratoire avant l'analyse. Mais il n'est pas toujours possible de les traiter immédiatement et comme les produits phytosanitaires qui ont été appliqués sont susceptibles de se dégrader un stockage approprié est souvent nécessaire.

D'une manière générale, et sauf indications contraires, les produits récoltés secs (graines, pailles) sont conservés tels quels à température ordinaire, les autres végétaux sont conservés en surgélateur à -20°C (cette méthode de stockage bloque le mieux tous les processus de décomposition); néanmoins, il arrive qu'elle ne convienne pas pour certains produits. L'analyse doit alors être faite immédiatement (dithiocarbamates sur laitues).

Dans certains cas particuliers, le produit est rapidement dégradé sur le végétal, mais se conserve très bien dans un solvant organique. Ainsi on peut rapidement procéder à l'extraction de la matière active et les extraits peuvent être entreposés en chambre froide jusqu'au dosage.

4.3. Préparation des échantillons

Selon la nature des échantillons et les substances à rechercher, on peut opter pour différents modes de préparation. Si le produit forme un dépôt extracuticulaire, un lessivage superficiel suffit; lorsqu'il s'agit d'un résidu cuticulaire (cas le plus courant) le produit doit être extrait de l'intérieur des cellules.

Les fruits et les légumes sont le plus souvent découpés grossièrement à l'aide d'un hacheur mélangeur industriel qui permet à l'analyste de prélever un sous-échantillon représentatif et homogène.

L'échantillon est alors :

- extrait directement
- séché à l'étuve lorsque le dosage est fait après minéralisation, exemple : dosage des bromures totaux dans les plantes cultivées sous verre (laitue, tomate).
- Lyophilisé : dosage de produits thermiquement labiles et solubles dans l'eau.

Les graines et les pailles sont moulues finement. La terre est séchée à température ordinaire, broyée dans un mortier et tamisée (maille de 2 mm) ou passée au broyeur à marteau.

4.4. Extraction de la matière active

Une extraction idéale devrait permettre d'isoler complètement le produit à doser de la matière végétale où il a été déposé.

En analyse de résidus il faut accepter un compromis. Le rapport masse végétale sur produit à doser étant généralement supérieur à 10^6 , l'extraction du pesticide entraînera toujours une dissolution partielle de la matière végétale pouvant interférer dans le dosage.

4.4.1. Solvants utilisés

Pour les composés non polaires et solubles dans les graisses : hexane, éther de pétrole (P.E. 40-60°C) utilisés seuls ou en mélange avec l'acétone.

Pour les composés plus polaires tels que les organophosphorés et les carbamates : méthanol, dichlorométhane, chloroforme, acétonitrile, benzène.

Plus le solvant est polaire plus grande est la quantité de matières étrangères co-extraites, ce qui complique les opérations ultérieures de purification.

Très souvent l'extraction de matériel frais se fait en présence de sulfate de sodium anhydre pour deux raisons :

- assurer un meilleur contact entre le solvant non miscible et le produit à extraire.

- libérer les composés légèrement solubles dans l'eau.

Le rapport : volume de solvant d'extraction (en ml) sur poids d'échantillon (g) est toujours supérieur ou égal à 2.

4.4.2. Matériel et méthodes

a. Extraction superficielle

En général l'échantillon est introduit dans des flacons de verre à large goulot et après avoir ajouté le solvant d'extraction on agite mécaniquement pendant un temps déterminé (15 à 60 min). Pour des produits thermostables comme les organo-chlorés on procède à une extraction chaude dans un appareil de reflux.

b. Extraction par macération

A une aliquote de l'échantillon préalablement découpé et mélangé on ajoute du sulfate de sodium anhydre (matériel frais) et le solvant d'extraction. On agite pendant 15 à 60 min et on laisse macérer pendant la nuit avant de filtrer sur filtre plissé.

c. Extraction par homogénéisation de la matière végétale avec le solvant d'extraction.

C'est la méthode d'extraction que l'on suit pour les produits systémiques ou pénétrants. Elle se pratique avec un appareil type mixer (couteaux se trouvant dans le bol de l'appareil) ou Sorvall (les couteaux sont fixés sur une tige plongeant dans le récipient contenant l'échantillon).

Dans le cas de produits inconnus, c'est généralement l'homogénéisation que l'on choisit, parce que c'est la méthode d'extraction la plus efficace, mais elle a le désavantage de nécessiter par la suite de nombreuses purifications.

Une partie aliquote de l'échantillon préalablement découpé est introduite dans le bol du mixer avec du sulfate de sodium et de la célite (silicate de diatomée qui facilitera la filtration ultérieure) et le solvant.

On homogénéise pendant 1 à 2 minutes, on filtre sous vide sur entonnoir de Büchner ou sur verre fritté.

Généralement, le gâteau est repris, réextrait et filtré. Le matériel et le filtre sont rincés, les filtrats et les rinçages sont réunis et constituent l'extrait primaire.

d. Extraction par soxhlet

Son efficacité est supérieure encore à celle de l'homogénéisation mais elle ne peut être appliquée qu'à l'extraction de produits thermiquement stables.

Elle nécessite, en outre, plus de verrerie et un temps de manipulation plus long.

Une aliquote de l'échantillon haché est introduite dans une cartouche préparée au moyen d'un papier filtre épais.

Le produit est extrait par percolation du solvant à travers la cartouche et par macération de l'échantillon entre deux siphonages.

Cette méthode est la meilleure dans le cas de l'extraction de pesticides organo-chlorés liposolubles dans de la viande ou du poisson.

La viande est hachée, mélangée à du sulfate de sodium dans un mortier jusqu'à obtention d'une poudre sèche.

On remplit la cartouche d'extraction avec ce mélange et on extrait par de l'éther de pétrole (P.E. 40-60°C).

e. Hydrolyse basique ou acide

Une partie aliquote de l'échantillon est introduite dans un ballon de distillation, on y ajoute un agent d'hydrolyse (alcali ou acide) et on distille le dérivé d'hydrolyse que l'on recueille quantitativement et que l'on dose.

4.5. Purification des extraits

Une fois extraite quantitativement du matériel végétal, la matière active doit être séparée des substances co-extraites interférentes.

Les méthodes de purification les plus courantes sont la partition entre deux liquides non miscibles et la chromatographie sur colonne ou couche mince.

4.5.1. Partition liquide-liquide

Cette technique est utilisée dans un grand nombre de méthodes de purification.

Il incombe à l'analyste de faire le choix des solvants qu'il va mettre en oeuvre. Ce choix dépendra du solvant d'extraction et de la solubilité du ou des produits à doser.

La majorité des pesticides sont très peu solubles dans l'eau mais bien solubles dans des solvants organiques.

Lorsque l'acétonitrile, le méthanol ou l'acétone ont été choisis comme solvants d'extraction on peut procéder de la manière suivante :

A une partie aliquote de l'extrait primaire on ajoute de l'eau (2 à 5 fois le volume d'extrait) et un solvant non miscible dans lequel le pesticide est soluble (éther de pétrole, dichlorométhane, benzène).

On procède ensuite à une ou plusieurs extractions de la phase aqueuse par le solvant organique.

Certains pesticides ont la particularité d'être solubles en milieu aqueux, acide ou basique; en jouant sur la valeur du pH, on peut déplacer le coefficient de partage du produit de la phase organique vers la phase aqueuse et inversement.

4.5.2. Chromatographie sur colonne

L'extrait déposé en tête de colonne est élué avec un solvant convenable et on recueille la fraction contenant le pesticide à doser.

4.5.2.1. Adsorbants

Les adsorbants les plus utilisés en analyse de résidus sont :

- Oxyde d'aluminium (acide, neutre ou basique)
- Gel de silice
- Florisil (silicate de magnésium synthétique)
- Attaclay (mélange complexe naturel de silicate de magnésium et d'alumine), charbon actif.
- Celite (silicate de diatomée, produit naturel dont l'activité est considérablement plus faible que celle des silicates synthétiques).

Ces adsorbants sont utilisés seuls ou en mélange. Certains d'entre eux (oxyde d'aluminium et florisil) peuvent être additionnés d'eau ce qui en modifie l'activité.

4.5.2.2. Solvants

Ether de pétrole

Hexane

Acétate d'éthyle

Chlorure de méthylène

Chloroforme

Ether éthylique

Ces solvants sont utilisés seuls ou en mélange. Généralement on opère avec des solvants de polarité croissante afin de mieux cerner la fraction contenant les pesticides, ce qui permet d'éliminer le maximum de substances étrangères.

4.5.2.3. Paramètres à définir et à maîtriser

Adsorbants : nature

activité

granulométrie

poids

Solvants : nature

volume

vitesse d'écoulement

Matériel : colonne

micro-colonne : diamètre de 3 à 5 mm, hauteur de 3 à 15 cm.

colonne classique : diamètre de 7 à 3 cm, hauteur de 10 à 50 cm.

4.6. Méthodes de dosage des pesticides

Au fur et à mesure de l'évolution de la technique et des pré-occupations phytosanitaires, l'arsenal des moyens d'analyse s'est développé et n'a cessé de s'amplifier.

Les techniques qui ont été utilisées depuis le début de la phytopharmacie sont reprises ci-dessous dans l'ordre chronologique de leur apparition :

Méthodes optiques

Méthodes gravimétriques

Méthodes potentiométriques

Méthodes spectrophotométriques

Méthodes polarographiques

Quelques phases stationnaires couramment utilisées et classées par ordre croissant de sélectivité sont reprises ci-dessous.

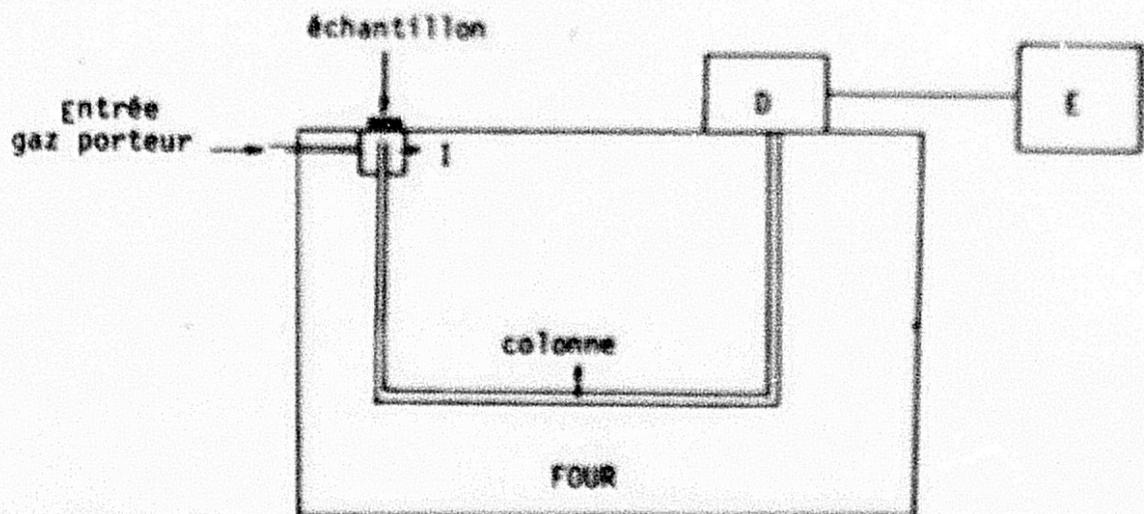
1. OV 1
SE 30 Méthylsilicone
DC 200
2. OV 17 50 % phényl silicone
3. OV 210 50 % trifluoropropyle méthylsilicone
QF 1
4. Carbowax 20 M
5. Succinate d'éthylène glycol
Succinate de diéthylène glycol.

4.6.1.3. Limites de la méthode

Les molécules qui peuvent être séparées par cette technique doivent être suffisamment volatiles pour être vaporisées complètement et entraînées par le gaz porteur aux températures de travail (situées en analyse des résidus entre 100 et 300°C) et thermiquement stables. La chromatographie en phase gazeuse fait partie des méthodes de séparation, soit des pesticides entre eux, ou du pesticide à doser et du végétal qui l'accompagne.

A la sortie de la colonne, l'éluant passe dans une chambre de détection où le passage du produit est converti en signal électrique. Un schéma de principe d'un chromatographe en phase gazeuse, peut être représenté de la manière suivante :

SCHEMA DE PRINCIPE D'UN CHROMATOGRAPHE EN PHASE GAZEUSE

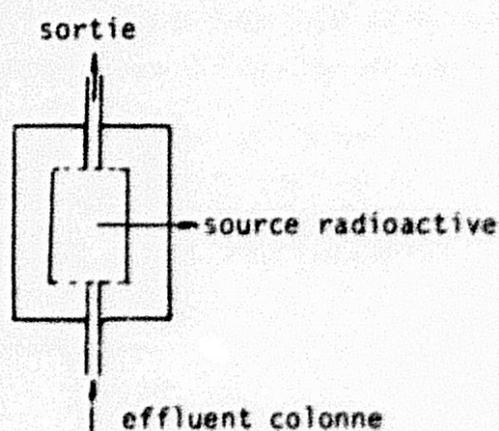


I : chambre d'injection
D : détecteur
E : enregistreur

4.6.1.4. Types de détecteurs utilisés en analyse de résidus

a. Détecteur à capture d'électrons

Sous l'effet du rayonnement d'une source radioactive, le gaz vecteur est excité et fournit un courant d'électrons appelé courant de repos. Quand un soluté passe dans le détecteur, les électrons libres ont tendance à être captés par les composés électrophiles, ce qui occasion-



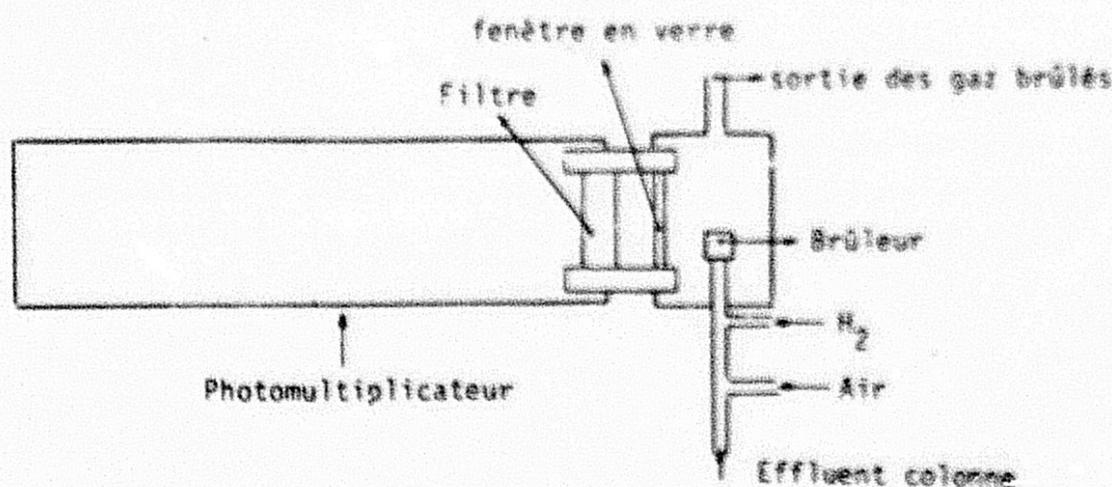
ne une diminution du courant de repos qui est amplifiée et mesurée. C'est le détecteur le plus sensible actuellement et il est hautement sélectif. Ces deux qualités en font le détecteur le plus utilisé en analyse de résidus de pesticides. Sa sélectivité limite son domaine d'application aux composés comportant des groupements halogènes ou nitrés, susceptibles de capter des électrons de faible énergie pour former des ions chargés

négativement. Sa sensibilité est de 1 pg.

b. Détecteur à photométrie de flamme

Le soluté élué de la colonne chromatographique est brûlé dans une flamme riche en hydrogène.

Les atomes de soufre et de phosphore se trouvent excités et donnent les raies caractéristiques de ces éléments. Des filtres interférentiels permettent de sélectionner la longueur d'onde désirée 526 nm pour le phosphore et 394 nm pour le soufre.

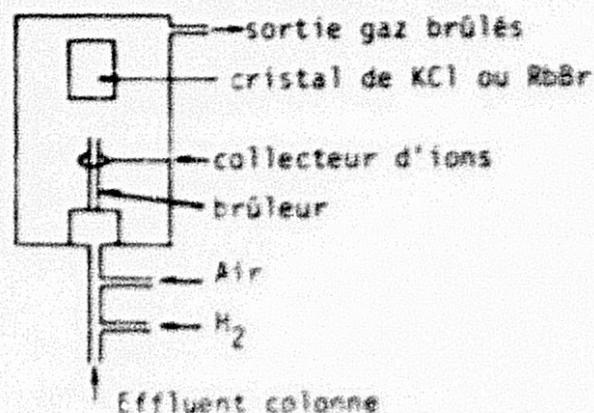


Lorsqu'un échantillon passe dans la flamme, il se produit une émission lumineuse due à l'excitation de certains atomes dans le processus de

combustion. Cette émission est collectée et amplifiée par un photomultiplicateur. Ce détecteur permet de mesurer sélectivement les émissions lumineuses provoquées par la combustion du phosphore ou du soufre avec une sensibilité de 10 pg pour le phosphore et de 100 pg pour le soufre.

c. Détecteurs thermoioniques

Le degré d'ionisation des composés phosphorés ou azotés est fortement accru lorsque les ions de métaux alcalin comme le potassium ou le rubidium sont présents dans une flamme riche en hydrogène.



Le courant ionique qui se forme est collecté par une électrode et dirigé vers un amplificateur. Ces détecteurs sont utilisés pour le dosage des composés contenant des atomes de phosphore ou d'azote, avec une sensibilité de 10 pg pour le phosphore (P) et de 60 pg pour l'azote (N).

d. Spectrométrie de masse

La sensibilité de ce détecteur est semblable à celle de la capture d'électrons (de l'ordre du picogramme). C'est un appareil complètement automatisé qui en fait le détecteur idéal pour les études de pollution, de multi-détection et d'évolution des produits en rétabolites.

Le couplage chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse permet de concilier la résolution du chromatographe en matière de séparation et les qualités du spectromètre de masse en ce qui concerne l'identification des produits.

4.6.1.5. Elargissement des possibilités de la chromatographie en phase gazeuse.

On peut estimer à un tiers la proportion de produits phytopharmaceutiques actuellement sur le marché, qui peuvent être dosés par chromatographie en phase gazeuse. Mais il est, en outre, possible d'étendre les possibilités de cette technique en convertissant certains composés polaires, solubles dans l'eau ou thermiquement instables en dérivés volatiles et stables en utilisant des réactifs de :

- a. Alkylation
- b. Silylation
- c. Acylation
- d. Hydrolyse
- e. Oxydation

Certains réactifs d'alkylation et d'acylation ont, sur les autres procédés, l'avantage de greffer sur la molécule des groupements comportant des atomes d'halogènes, ce qui augmente la sensibilité de détection de ces produits par capture d'électrons.

a. Alkylation

Substitution d'un groupement alkyl à l'hydrogène actif d'un composé. La méthylation fait partie des réactions d'alkylation; le réactif de méthylation le plus utilisé est le diazométhane, produit gazeux à température ordinaire qui présente l'inconvénient d'être toxique et explosif.

Plusieurs produits sont des précurseurs de diazométhane en présence de potasse. La méthylation s'opère directement par barbotage du diazométhane dans la solution à méthyler ou par addition d'un volume déterminé d'éther éthylique saturé en diazométhane.

b. Silylation

Substitution d'un groupement triméthylsilyl à l'hydrogène actif d'un composé.

c. Acylation

Substitution d'un radical acyle à l'hydrogène actif d'un composé.

d. Hydrolyse

Certains composés donnent naissance par réaction d'hydrolyse à des dérivés thermiquement stables.

e. Oxydation

Certains composés donnent naissance par réaction d'oxydation à des dérivés donnant des réponses reproductibles en chromatographie en phase gazeuse.

4.6.2. Méthodes spectrophotométriques

Ces méthodes sont basées sur les propriétés qu'ont certaines substances d'absorber de l'énergie radiante à des longueurs d'onde déterminées.

La mesure de la densité optique ou de l'extinction est proportionnelle au nombre de molécules se trouvant dans le trajet lumineux, c'est-à-dire à la concentration de la solution.

L'énergie radiante est généralement subdivisée en 3 régions couvrant les longueurs d'ondes suivantes :

- ultra-violet : de 150 nm à 400 nm
- visible : de 400 nm à 800 nm
- infra-rouge : de 800 nm à 16 μ .

4.6.2.1. Spectrophotométrie d'adsorption dans l'ultra-violet

Cette méthode optique est utilisée pour le dosage des molécules qui absorbent les rayons dont les longueurs d'ondes se situent entre 185 et 400 nm.

Elle est relativement peu généralisée en analyse de résidus pour deux raisons :

- sa sensibilité médiocre
- la nécessité de procéder à des nombreuses purifications en raison du nombre important de substances qui pourraient interférer dans le dosage.

Des interférences peuvent affecter l'estimation exacte des teneurs; ces interférences peuvent provenir d'une mauvaise qualité des solvants ou d'une purification insuffisante.

Il est donc indispensable, pour les déterminations par spectrophotométrie d'absorption dans l'ultra-violet, de balayer le spectre d'absorption de 200 à 400 nm afin de retrouver le spectre caractéristique du produit que l'on dose.

Les produits de la famille des benzimidazoles dont l'application est actuellement largement répandue se dosent par cette méthode. Ces produits sont appliqués notamment en cultures maraîchères, sur céréales et dans le traitement de conservation des agrumes.

La limite de sensibilité de cette méthode est de 0.05 ppm.

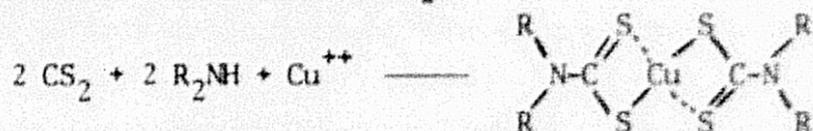
4.6.2.2. Spectrophotométrie d'absorption dans le visible.

Spectrophotométrie d'absorption dans le visible. Ces méthodes dites colorimétriques sont utilisées pour le dosage soit de molécules colorées (p.ex. drazoxolon) soit de molécules pouvant donner naissance à des dérivés colorés (p.ex. les dithiocarbamates). Pour les dithiocarbamates fongicides et le thirame une méthode a été normalisée à l'échelle internationale.

- Principe de la méthode

En milieu acide, les dithiocarbamates et le thirane se décomposent en libérant du CS_2 ; celui-ci, en présence d'une solution éthanolique d'une alkylamine et d'acétate de cuivre, forme un complexe, le N-N'-bis(2-hydroxyléthyl) dithiocarbamate de cuivre.

Ce dernier, coloré en jaune, donne un pic d'absorption dont le maximum est situé à 435 nm. Cette méthode n'est pas spécifique, les résultats obtenus sont exprimés en CS_2 .



4.6.3. Méthodes enzymatiques

Les composés organophosphorés et les carbamates substitués ont une propriété pharmacologique commune, qui est leur facilité d'inhiber l'activité d'un groupe d'enzymes du sérum sanguin dans l'hydrolyse des esters de la choline.

Cette propriété en fait des produits à haute toxicité pour les insectes mais aussi pour les mammifères.

Elle a servi de base à une méthode de dosage très sensible basée sur l'inhibition des cholinestérases.

- Principe de la méthode

L'inhibiteur à doser est laissé pendant un temps déterminé et à une température rigoureusement constante en réaction avec les cholinestérases présentes dans un sérum sanguin.

Les cholinestérases sont ensuite mises en réaction avec de l'acétylcholine dont l'excès est dosé par colorimétrie après formation d'un dérivé coloré avec l'hydroxylamine et le chlorure ferrique. Le maximum d'adsorption se situe à 540 nm.

Le pourcentage d'inhibition (I %) est calculé au moyen de la formule suivante :

$$I \% = 100 \frac{E'' - E'}{E'' - E}$$

où :

E' : densité optique résultant d'un essai réalisé sans inhibiteur.

E'' : densité optique résultant d'un essai réalisé sur l'échantillon à doser.

E : densité optique résultant d'un essai réalisé sans cholinestérase.

5. MISE AU POINT D'UNE METHODE DE DOSAGE

Une méthode de dosage doit être simple, sensible et reproductible.

Simple : chaque manipulation comportant un risque d'erreurs, celles-ci doivent être limitées au maximum.

Sensible : une méthode de dosage doit permettre de descendre au moins 5 fois plus bas que la limite inférieure basée sur la tolérance. Si l'on dose un produit dont la tolérance est de 0.05 ppm, il faut que la méthode permette d'atteindre 0.01 ppm.

Reproductible : des répétitions d'analyses ne doivent pas engendrer des différences de plus de 10 %. Exemple : pour une valeur absolue de résidu de 1 ppm, l'écart maximum toléré est de 0.9 à 1.1 ppm.

5.1. Etapes de la mise au point

L'analyste doit disposer de la matière active à doser, de sa formule, de quelques données sur sa solubilité dans les solvants usuels, d'échantillons de végétal non traité : témoin.

- Connaissant la formule du produit, il peut s'orienter vers une ou plusieurs des méthodes de dosages qui ont été mentionnées.
- Des solutions de produits purs de différentes concentrations sont préparées de manière à établir une courbe d'étalonnage et de déterminer la limite de sensibilité du dosage.
- Les données de solubilité du produit et la nature de l'échantillon végétal permettent de sélectionner une méthode d'extraction.
- On procède à un essai de dosage sur l'extrait primaire (tel quel ou concentré).
- Si l'extrait est trop chargé de matière végétale, des interférences viennent masquer le signal du produit.

- On procède alors au choix de la méthode de purification en travaillant sur le produit pur de manière à sélectionner le solvant de partition ou les conditions de chromatographie sur colonne.
- La récupération des opérations de purification doit être de 80 %.
- On applique ces techniques à l'extrait végétal et on sélectionne celles qui seront les plus efficaces pour l'élimination de matières étrangères co-extraites.
- on établit une courbe d'étalonnage sur matériel végétal.
- pour des composés inconnus dont on ne connaît pas la tolérance, on essaie d'atteindre une limite de 0.01 ppm.

Exemple de courbe d'étalonnage :

Témoin : 20 g de matière végétale

Témoin + 0.2 ug de produit (0.01 ppm)

Témoin + 0.5 ug de produit (0.025 ppm)

Témoin + 1 ug de produit (0.05 ppm)

Témoin + 2 ug de produit (0.1 ppm)

Lorsqu'il s'agit de composés connus pour lesquels une tolérance a été fixée comme dans le cas de contrôle de marché (soit T : tolérance)

Courbe d'étalonnage : témoin

témoin + $\frac{1}{4}$

témoin + $\frac{T}{2}$

témoin + T

témoin + 2.T

5.2. Rendement de la méthode

On compare la courbe d'étalonnage établie avec le produit pur et celle obtenue avec l'échantillon végétal enrichi.

En analyse de résidus on considère comme valable tout rendement supérieur à 80 %. Dans certains cas les opérations précédant le dosage sont nombreuses, elles entraînent des pertes successives préjudiciables au rendement, cela peut être admis à condition que les résultats sont reproductibles.

Le rendement ne peut, en aucun cas, être inférieur à 60 %.

6. EXPRESSION DES RESULTATS

En analyse de résidus, les résultats sont le plus souvent exprimés en ppm (part par million) c'est-à-dire en ug de produit retrouvé par gr d'échantillon.

En analyse de dépôts, dans le cas où l'on étudie la répartition des produits au moment du traitement, le dépôt est exprimé en mg/dm^2 ce qui correspond à la dose appliquée en kg/ha .

6.1. Evolution des dépôts de pesticides

L'évolution des dépôts en fonction du temps peut être considérée comme une réaction irréversible suivant une loi exponentielle qui répond à l'équation suivante :

$$R = R_0 \cdot 10^{-Kt}$$

où : R = résidu retrouvé t jours après l'application du produit (exprimé en ppm).

R_0 = valeur du dépôt initial (exprimé en ppm)

K = constante : coefficient de dégradation.

t = temps écoulé entre le jour de l'application et le jour du prélèvement (exprimé en jours).

En remplaçant les valeurs trouvées par leurs logarithmes, on obtient l'équation d'une droite :

$$\log R = \log R_0 - Kt$$

$$Y = b + ax$$

Dans le cas d'évolution de dépôts a est négatif puisqu'il s'agit toujours d'une décroissance.

6.2. Etablissement de la droite de régression

$$Y = \frac{\text{SPE } xy}{\text{SCE } x} (x - \bar{x}) + \bar{y}$$

où : SPE xy : somme du produit des écarts en xy ($xy - \frac{x \cdot y}{n}$)

SCE x : somme des carrés des écarts en x $(x^2 - \frac{(x)^2}{n})$

\bar{x} : moyenne des valeurs de y

n : nombre des valeurs observées.

6.3. Décroissance journalière

L'équation de la droite permet à partir de la valeur de a, de déterminer la vitesse de dégradation du produit.

Décroissance journalière exprimée en %

$$= (1 - a') \times 100$$

où : $a' = 10^a$

6.4. Durée de demi-persistance : t 1/2

La valeur du dépôt initial, représente la valeur de R pour t = 0. Dans l'étude de l'évolution d'un dépôt, sa vitesse de dégradation est généralement estimée par la valeur de sa demi-persistance qui correspond à la valeur de t lorsque $R = \frac{R_0}{2}$

6.5. Delai de carence : D.C.

La connaissance de la tolérance et de la vitesse de dégradation du produit permet de fixer un délai de carence (intervalle de temps devant séparer le jour du dernier traitement de celui de la récolte).

La vitesse de dégradation des produits étant fortement influencée par les conditions climatiques, la valeur du délai de carence ne peut être déterminée qu'après plusieurs essais.

6.6. Conclusion

La recherche des résidus de pesticides n'est devenue effective que depuis quelques années seulement, et son évolution, tant en ce qui concerne le type de pesticides à détecter que l'appareillage disponible à cet effet, a été si rapide qu'une adaptation des méthodes d'analyse doit continuellement intervenir et ce, le plus rapidement possible.

7. OUVRAGES RECOMMANDÉS

- Analytical methods for pesticides, plant growth regulators and food additives. Zweig, G. & J. Sherma. Academic Press, New York (Vol 1-11).
- Résidus de pesticides. Aperçu et discussion des résultats de la recherche de résidus effectuée en Belgique (1979). Dejonckheere, W., Laboratoire de Phytopharmacie, Gand, Belgique.
- Guide concernant les limites maximales. Codex pour les résidus de pesticides CAC/PR-1978. O.M.S. Genève, F.A.O. Rome : 1ère édition.
- Methodensammlung zur Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln. 5. Lieferung (1979). Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstrasse, Federal Republic of Germany.
- Pesticide Manual. Charles R. Worthing, British Crop Protection Council. Ed. 6, 1979.
- Pesticide Analytical Manual Food and Drug Administration. Washington D.C., June, 1979.
- Canadian Manual on Analytical Methods for Pesticide Residues in Foods. Health Protection Branch, Ministry of National Health and Welfare Ottawa, 1973.
- Laboratory Manual for Pesticide Residue Analysis in Agricultural Products, compiled by R.B. Maybury, Pesticide Laboratory, Food Production and Inspection Branch, Agriculture Canada, Ottawa, Ontario K1A 0C5, Canada, 1980.
- Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 13th ed. , 1980.

1. INTRODUCTION

Tant dans le secteur des légumes cultivés sous verre que dans celui des cultures de plein air, sont apparus des problèmes phytosanitaires graves, dus à l'extension de la monoculture, qui rendent la production d'une espèce végétale désirable impossible sans utilisation de pesticides.

L'utilisation grandissante des pesticides pose un problème du fait de la présence de leurs résidus dans les produits alimentaires et de la pollution de l'environnement. D'où, il ressort qu'il faut disposer d'un outil analytique capable d'aborder tous les problèmes résultants de l'utilisation des pesticides.

Le but du travail expérimental est d'analyser les résidus à différents moments après le traitement pesticide. Afin de se familiariser avec les méthodes d'analyse les plus utilisées, des pesticides appartenant à des familles chimiques différentes ont été choisis et utilisés sur plusieurs cultures maraîchères. Les doses appliquées varient pour un même pesticide et sur une même culture.

La présentation de la partie expérimentale est chronologiquement ordonnée. Chaque expérimentation comporte une seule culture, traitée avec différents pesticides à des doses différentes. L'évolution des résidus et l'influence des doses appliquées seront discutées.

2. RÉSIDUS SUR TOMATES

2.1. Généralités

- Lieu des expérimentations : Afunee
Le Tableau 1, représente le schéma expérimental
- Conditions culturales : culture en serre de verre non chauffée irriguée par submersion.
- Les sésocoles utilisés dans les tableaux sont les suivants :

- I, II et III : numéros des parcelles élémentaires.
 B1 : parcelle traitée par une dose simple de bénomyl
 B2 : parcelle traitée par une dose double de bénomyl
 M1 : parcelle traitée par une dose simple de manèbe
 M2 : parcelle traitée par une dose double de manèbe
 F1 : parcelle traitée par une dose simple de phosphamidon
 F2 : parcelle traitée par une dose double de phosphamidon
 D1 : parcelle traitée par une dose simple de diméthoate
 D2 : parcelle traitée par une dose double de diméthoate

- Dispositif expérimental

L'essai se présente en trois parcelles, chacune divisée en deux sous-parcelles, subdivisées en parcelles élémentaires dont le nombre est égal au nombre des produits utilisés, plus une parcelle élémentaire pour le témoin, de façon que chaque sous-parcelle comprenait les divers produits à une des deux concentrations plus un témoin.

- Les traitements

Les premières pulvérisations ont été appliquées le 9 juin 1980, au moment de l'apparition du premier bouquet, suivi d'un traitement une fois toutes les deux semaines pour assurer une protection continue de la culture.

- Les prélèvements

Six échantillons de tomates ont été prélevés trois du premier et trois du troisième bouquet.

2.2. Bénomyl

2.2.1. Généralités

Le bénomyl est un fongicide systémique appliqué en cultures maraîchères pour lutter contre le Botrytis et d'autres champignons.

Matière active : Bénomyl est le nom commun du (butylcarbamoyl-1 benzimidazolyl-2) carbamate de méthyle.

Formule brute : $C_{14}H_{18}N_4O_3$

Formule de structure

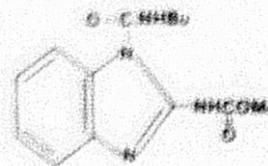
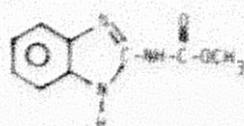


TABLEAU 1 - Schéma expérimental

Date de plantation : 13.5.1980
 Date floraison du 1er Bouquet 9.6.1980
 Date floraison du 5ème Bouquet 6.7.1980

Traitements	Pesticide appliqué	Dose en g de m.a. appliquée par are	Date d'application et nombre de jours après la plantation			
			9.6.80 27	26.6.80 41	7.7.80 55	4.8.80 83
I B ₁ B ₁ II B ₁ III B ₁	Benlate 50 % de bénomyl	4	+	+	+	+
I B ₂ B ₂ II B ₂ III B ₂	id.	8	+	+	+	+
I M ₁ M ₁ II M ₁ III M ₁	Mangaline 80 % de manèbe	17,5	+	+	+	+
I M ₂ M ₂ II M ₂ III M ₂	id.	35	+	+	+	+
I F ₁ F ₁ II F ₁ III F ₁	Dimecron 200 g de phosphamidon par litre	2	+	+	+	+
I F ₂ F ₂ II F ₂ III F ₂	id.	4	+	+	+	+
I D ₁ D ₁ II D ₁ III D ₁	Diméthiate Bayer 10 100 g de diméthiate par litre	3	+	+	+	+
I D ₂ D ₂ II D ₂ III D ₂	id.	6	+	+	+	+

Ce produit donne naissance à un produit de scission le 2(methoxy-carbamoyl)-benzimidazole (BCM) qui a comme formule brute : $C_9H_9N_3O_2$ et comme formule de structure :



Produit formulé : poudre mouillable contenant 50 % de matière active.

2.2.2. Les analyses

Différentes méthodes ont été proposées pour l'analyse des résidus du bénomyl, e.a. par fluorimétrie après transformation du bénomyl en 2-AB (2 aminobenzimidazole), méthode développée par PEAS et al (1) et MARTENS et al (2). MESTRES (3) et CNAEGI et al (4), ont proposé une méthode spectrophotométrique où le bénomyl est transformé en BCM au cours de l'analyse. STEURBAUT et al (5) ont démontré que les résultats obtenus par les différentes méthodes ne diffèrent que de peu et que la méthode par spectrophotométrie dans l'ultra-violet proposée par MESTRES est la plus simple et donne les résultats les plus reproductibles. DELONCHÈRE et al (6) ont simplifié la méthode et amélioré le rendement en modifiant la procédure d'extraction.

a. Méthode

La méthode utilisée est celle décrite par DELONCHÈRE et al. (6).

b. Principe de la méthode

Elle consiste en une extraction par l'acétate d'éthyle en milieu ammoniacal des dérivés du noyau benzimidazole tel que le bénomyl. Dans les conditions de la méthode d'analyse, le bénomyl est transformé en BCM lors de l'extraction.

Le BCM est soluble en milieu aqueux acide, mais insoluble en milieu alcalin. L'extrait acétate d'éthyle est purifié par agitation en milieu alcalin et élimination de la phase alcaline.

Le BCM est alors extrait de l'acétate d'éthyle par une solution acide et déterminé par absorption en ultra-violet.

Dosage : spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet. Cellule 1 cm en quartz. Enregistrement du spectre de 310 nm à 250 nm pour le BCM : 2 pics d'absorption de maximums 280 - 273 nm.

c. Limite de sensibilité : 0.05 ppm.

d. Rendement de la méthode : + 90 %.

e. Schéma détaillé (voir, annexe II).

2.2.3. Résultats

Les résultats sont repris aux tableaux 2.1 et 3, le tableau 2.1 donnant un aperçu général des résultats.

2.2.4. Discussion des résultats

Sur tomate le bénomyl est utilisé surtout pour lutter contre l'Antracnose.

La FAO/OMS a fixé une tolérance sur tomates pour le bénomyl transformé en BCM (5 ppm). Les prescriptions belges pour l'utilisation sur tomates sont 40 g de bénomyl dans 10 litres d'eau/are avec un temps de carence de 3 jours. Les résultats d'analyses effectuées sur des échantillons prélevés à partir du premier et du troisième bouquet, même le jour suivant le dernier traitement, n'ont guère dépassé la limite de tolérance, aussi bien avec une dose simple qu'avec une dose double. La plus grande concentration enregistrée est de 4.9 ppm de BCM, avec l'application d'une dose double et un jour après le dernier traitement. On constate une diminution nette en résidus de bénomyl en fonction du temps, aussi bien au niveau du premier que du troisième bouquet, et après l'application d'une dose simple ou double. Les concentrations en ppm de bénomyl exprimé en BCM sont inférieures sur les tomates prélevées à partir du troisième bouquet à celles prélevées à partir du premier et ceci pour le même nombre de jours après le dernier traitement et les mêmes doses. Cette différence s'explique par le fait que pendant la période de croissance des tomates au niveau du premier bouquet, les conditions climatiques étaient médiocres et les tomates obtenues sont petites, ce qui réduit le facteur de dilution du pesticide sur les fruits. Par contre, les conditions climatiques étaient meilleures et

favorables pour le développement des tomates au niveau du troisième bouquet, ce qui provoque une dilution plus prononcée. Dans le tableau 2.1 on peut voir les différences des poids moyens des tomates du premier et du troisième bouquet.

2.3. Manèbe

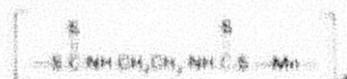
2.3.1. Généralités

Le manèbe est un fongicide utilisé contre diverses maladies fongiques des végétaux. En cultures maraîchères il est utilisé contre l'antracnose, la rouille, le mildiou et la septoriose.

Matière active : manèbe est le nom commun de : N,N'-éthylène bis (dithiocarbamate) manganéux.

Formule brute : $(C_4H_6MnN_2S_4)_x$

Formule de structure :



Produit formulé : poudre mouillable contenant 80 % de matière active.

2.3.2. Les analyses

La méthode officielle belge pour l'analyse des dithiocarbamates est basée sur leur décomposition dans un milieu acide suivie d'un dosage du CS_2 produit par une méthode spectrophotométrique. Cette méthode a été décrite par HEROWITZ (10), RAW (8), LOWEN et PEASE (9), LIVITSKY et LOWEN (10), LOWEN (11), ZWETG et SHERMA (12). Les méthodes dont l'utilisation est conseillée par la FAO/OMS sont celles de KEPPEL (13) et de MESTRES (15).

a. Méthode

La méthode utilisée est la méthode normalisée belge de détermination des résidus de dithiocarbamates et de thirame (14).

2.4. Phosphamidon

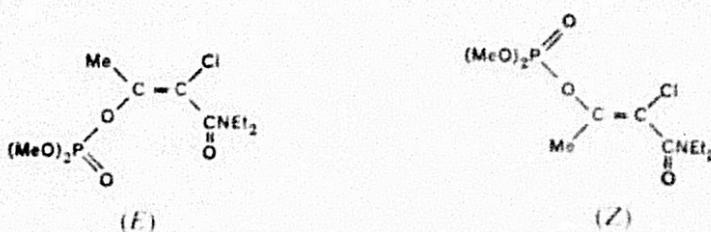
2.4.1. Généralités

Le phosphamidon est un insecticide systémique utilisé contre les pucerons des arbres fruitiers, la mouche de l'olivier, le carpocapse des pommes et des poires, la mouche de la betterave et contre diverses chenilles des arbres fruitiers.

Matière active : phosphamidon est la nom commun du phosphate de (chloro-2diéthylcarbamoyl-2-méthyl-1 vinyle) et de diméthyle.

Formule brute : $C_{10}H_{19}ClNO_5P$

Formule de structure :



Produit formulé : liquide huileux, incolore et inodore (Dimécron), contenant 200 g de phosphamidon par litre de produit formulé.

2.4.2. Les analyses

Plusieurs méthodes existent pour l'analyse de cet organophosphoré. Les méthodes dont l'utilisation est conseillée par la FAO/OMS, sont celles proposé par ABBOTT (16) et MESTRES (17).

a. Méthode

C'est la méthode utilisée dans le laboratoire de Phytopharmacie de la Faculté des Sciences Agronomiques qui est valable pour les analyses des organo-phosphorés sur fruits et légumes.

b. Principe de la méthode

La méthode consiste en une extraction avec l'acétone, une dilution de l'extrait avec de l'eau et l'extraction répétée de la phase aqueuse avec 50 ml de dichlorométhane. Les composés organophosphorés se retrouvent dans la phase de dichlorométhane. Après séchage sur sulfate de sodium anhydre on détermine les résidus par chromatographie en phase gazeuse et une détection spécifique par photométrie de flamme.

- c. Limite de sensibilité : 0.1 μ g
- d. Rendement de la méthode : 85 à 90 %.
- e. Schéma détaillé (voir annexe IV)

2.4.3. Résultats

Les résultats sont repris aux tableaux 2.3 et 3, le tableau 2.3 donnant un aperçu général sur les résultats obtenus.

2.4.4. Discussion des résultats

Le phosphamidon est un insecticide systémique utilisé surtout en agriculture, mais son utilisation n'est pas autorisée sur les cultures légumières dans plusieurs pays.

La FAO/OMS a fixé une tolérance sur tomates de 0.1 ppm, exprimant la somme des résidus de cis- et trans-phosphamidon. Les prescriptions de l'utilisation du phosphamidon sur tomates sont 2 g de phosphamidon dans 10 l d'eau par are et un temps de carence de 28 jours.

Les résultats des analyses effectuées sur des échantillons prélevés à partir du premier bouquet traité à la dose de 2 g/10 l/are, montrent que les résidus trouvés 14 jours après le dernier traitement sont inférieurs à la tolérance de 0.1 ppm (0.068 ppm). Les résultats de la même dose appliquée sur le troisième bouquet et 14 jours après le dernier traitement, confirment ceux trouvés au niveau du premier bouquet (0.03 ppm).

Pour la dose double (4 g de phosphamidon dans 10 l et par are), on n'a pas enregistré des concentrations de résidus inférieures à la tolérance de 0.1 ppm aussi bien au niveau du 1er que du 3ème bouquet et ce 14 jours après le dernier traitement.

Les résidus trouvés sur le 1ère bouquet sont supérieurs à ceux trouvés sur le 3ème pour des doses identiques et le même nombre de jours après le dernier traitement. Ce phénomène s'explique par le fait que le poids d'une tomate au niveau de 3ème bouquet est supérieur à celui du 1er bouquet, donc c'est un simple phénomène de dilution du produit sur les tomates.

2.5. Diméthoate

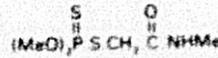
2.5.1. Généralités

Le diméthoate est un insecticide systémique, appartenant à la famille des organophosphorés, utilisé surtout pour lutter contre les mouches phytoparasitaires. Ce produit est aussi utilisé comme acaricide.

Matière active : diméthoate est le nom commun du dithiophosphate de 0,0-diméthyle et de S-(méthyl carbamoylméthyle).

Formule brute : $C_5H_{12}NO_3PS_2$

Formule de structure :



Produit formulé : liquide huileux, contenant 100 g de diméthoate par litre de produit formulé.

2.5.2. Les analyses

Plusieurs méthodes existent pour l'analyse des résidus de ces organophosphorés. Les méthodes dont l'utilisation est conseillée par la FAO/OMS, sont celles de : ABBOTT (16), MESTRES (17) et PANEL (18).

a. Méthode

La méthode est la même que celle utilisée pour l'analyse des résidus de phosphamidon.

b. Principe de la méthode : voir phosphamidon.

c. Limite de sensibilité : 0.1 ug

d. Rendement de la méthode : 85 à 90 %.

e. Schéma détaillé (voir annexe IV)

2.5.3. Résultats

Les résultats sont repris aux tableaux 2.4 et 3, le tableau 2.4 donnant un aperçu général des résultats.

2.5.4. Discussion des résultats

Le diméthoate est modérément dangereux. Il est métabolisé en ométhoate. La FAO/OMS a fixé une tolérance et une dose journalière acceptable respectivement de 1 ppm (teneur totale en diméthoate et ométhoate), et de 2 mg/kg de poids corporel. Selon les prescriptions sur l'utilisation de ce produit en cultures maraîchères, la dose normale d'application est de 3 gramme de matière-active diluée dans 10 l d'eau et pulvérisée sur un are de culture avec un temps de carence de deux semaines.

Les résultats obtenus sur des échantillons prélevés aussi bien à partir du 1er bouquet, que du troisième traité à la simple dose montrent que les résidus trouvés 2 semaines après le dernier traitement, sont inférieurs à la tolérance de 1 ppm. Par contre, après l'application d'une double dose (6 g/10 l/are), les résidus trouvés sont tous supérieurs à 1 ppm, même 2 semaines après la dernière application.

A noter une décroissance rapide des résidus de ce produit. (par exemple de 13 ppm à 0.05 ppm en 14 jours pour la dose simple).

Le facteur dilution a joué son rôle. En effet du fait que le poids moyen d'une tomate de 3ème bouquet est supérieur à celui du 1er, les résidus trouvés après une même durée et pour une même dose sur le 3ème bouquet sont inférieurs à ceux du premier.

TABLEAU 3 - Concentrations en ppm au niveau de 1er et 3ème bouquet et nombre de jours après le dernier traitement

Nombre de jours après le dernier traitement	1er bouquet		3ème bouquet	
	dose normale	dose double	dose normale	dose double
A. Bénomyl				
1	3.62	4.88	2.24	4.18
7	3.67	4.82	2.26	3.96
14	2.72	3.73	1.44	3.00
B. Manèbe				
1	5.63	12.84	3.84	12.36
7	3.94	8.97	5.78	12.64
14	3.62	8.50	-	-
C. Phosphanidon				
1	1.42	3.45	0.79	2.15
7	0.42	1.00	0.29	0.28
14	0.07	0.44	0.03	0.14
D. Diméthoate				
1	13.00	37.00	6.14	12.32
7	2.74	10.88	2.67	3.67
14	0.94	7.54	0.74	1.70

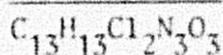
3. RESIDUS SUR EPINARDS

Parmi les maladies cryptogamiques sur cultures légumières, Botrytis cinerea, l'oïdium et le mildiou, occupent une place importante et causent des sérieux problèmes sur ces cultures. Depuis plusieurs années, des fongicides tel que le bénomyl, le thirame, le manèbe et le captafol ont été proposés pour lutter contre ces parasites. Récemment la gamme des fongicides disponibles a été élargie par l'introduction de l'iprodione et de la vinchlozoline dans quelques pays.

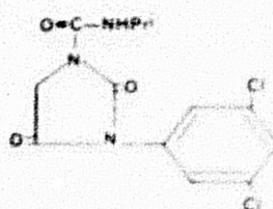
3.1. Introduction

Iprodione est le nom commun du : isopropylcarbamoyl-1(dichloro-3,5 phényl)-3 hydantoïne.

Formule brute :

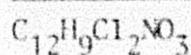


Formule de structure

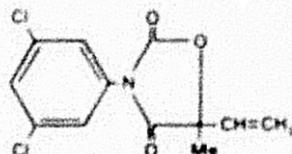


Vinchlozoline est le nom commun du : (3-(3,5-dichlorophényl)-5-méthyl-5-vinyl-1,3 oxazolidine-2,4-dione.

Formule brut :



Formule de structure :



L'iprodione et la vinchlozoline sont deux fongicides appartenant au groupe des dicarboximides. Ces deux produits ont une action de contact préventive et curative. En Belgique, l'iprodione et la vinchlozoline ont été introduit en 1979 pour combattre le Botrytis et le Sclerotinia sur laitue. Les produits formulés se présentent sous forme de poudres mouillables. Les prescriptions pour ces produits sont :

- Iprodione

Formulation : 50 % poudre mouillable (Rovral)

Dose : 3 x 15 g de formulation/are = 3 x 7.5 g d'iprodione/are

Tolérance : 5 ppm.

- Vinchlozoline

Formulation : 50 % poudre mouillable (Ronilan)

Dose : 10 g de formulation/are = 5 g de vinchlozoline/are

Tolérance : 2 ppm.

Peu de travaux ont été entrepris à propos de l'évolution de ces substances sur les légumes.

Dans cette étude, on a suivi l'évolution des résidus de ces deux fongicides appliqués sur une culture d'hiver d'épinards en serre non chauffée, jusqu'à la récolte et après un nombre d'applications et des doses différentes. Une étude statistique a été réalisée après une seule application de chaque fongicide à différentes doses durant la culture, pour déterminer la demi-vie, le temps de carence, la droite de régression et l'équation de décroissance de chaque produit.

3.2. Matériel et méthodes

3.2.1. Données sur la culture

Les épinards ont été cultivés dans une serre en verre non chauffée.

- date de semis : début novembre 1980.
- irrigation : arrosage manuel.

3.2.2. Traitements fongiques

Les fongicides utilisés, les doses et les dates de leur application figurent dans le tableau 4.

3.2.3. Echantillonnages et détermination de résidus

L'échantillonnage et les analyses ont été effectuées 0, 6, 13, 20, 27, 34, 41 et 48 jours après les dernières applications.

Chaque analyse a été réalisée sur un échantillon de 20 plantes d'épinards, provenant d'une parcelle élémentaire ayant subi l'un des traitements (I1, I2, I3, I4, I5, V1, V2, V3, V4 ou V5). L'échantillon est haché et homogénéisé avant de prélever un sous-échantillon de 50 g pour l'analyse.

3.2.4. Méthode

La méthode utilisée pour la détermination des résidus d'iprodione et de vinchlozoline, est celle proposée par W. DEJONCKHEIRE et al (19) qui est la Méthode Normalisée Belge de détermination des résidus de pesticides organo-chlorés.

- Principe de la méthode

La méthode consiste en une extraction des composés organo-chlorés par un mélange éther de pétrole-acétone, suivie d'un lavage à l'eau qui élimine l'acétone et certaines impuretés de l'extrait. Après séchage, la phase éther de pétrole est injectée en chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à capture d'électrons.

- Schéma détaillé (voir annexe III).

3.3. Résultats

Les tableaux 5, 6, 7, 8, 9, 10 et 11 contiennent respectivement le poids moyen d'une plante au cours de la culture (tableau 5), les concentrations en ppm dans la masse entière des plantes à différentes dates d'échantillonnages, (iprodione, tableau 6, vinchlozoline, tableau 8) la quantité en ug par plante à différentes dates d'échantillonnage (iprodione, tableau 7, vinchlozolin, tableau 9), l'évolution des résidus en ug par plante et en ppm en fonction du temps (jours) après application d'une seule dose de pesticide (Tableau 10) et la demi-vie la décroissance journalière, le délai de carence et le coefficient de corrélation calculé à partir des concentrations en ppm (Tableau 11).

3.4. Discussion des résultats

La croissance des épinards était très lente et le cycle de la culture était plus long que dans des conditions plus favorables.

Plus de quatre mois après le semis (début novembre) le poids moyen d'une plante n'atteint que de 5 g. Ce retard de croissance et de développement de la plante est dû aux conditions de température et de luminosité durant cette période hivernale.

L'évolution du poids moyen d'une plante d'épinard à partir de ce stade de 5 g jusqu'à la récolte se retrouve au tableau 5 et est représentée graphiquement (fig. 1). Le poids moyen d'une plante à la récolte n'est que de 27.55 g faible par rapport à une culture de saison. Les conclusions qu'on peut tirer des résultats sont exposées dans les points suivants.

- a. Après une seule application d'une dose simple ou double de vinchlozoline (V1, V4) ou d'iprodione (I1, I4) et avec un délai de carence de 6 semaines (délai de carence recommandé sur une culture de laitue, la quantité des résidus pour chaque traitement (I1, I4, V1 et V4) est inférieure aux tolérances fixées (5 ppm pour l'iprodione et 2 ppm pour la vinchlozoline). Les quantités des résidus pour chacun des traitements (I1, I4, V1 et V4), sont respectivement 3.49, 3.26, 0.72 et 0.72 ppm donc sensiblement égales pour les deux produits. C'est uniquement après l'application d'une dose simple de vinchlozoline qu'on a enregistré une quantité de résidu (1.53 ppm), inférieure à la tolérance de 2 ppm, 34 jours après l'application. Pour l'iprodione et pour la double dose de vinchlozoline, les quantités de résidus ne sont inférieures aux tolérances que 41 jours après la dernière application (tableau 10).
- b. Pour les traitements I2, I3 et I5, respectivement 2 doses simples, une dose simple plus une dose double et 2 doses doubles d'iprodione, les résidus étaient encore supérieurs à 5 ppm 41 jours après la dernière application (Tableau 6).
- c. Pour les traitements V2, V3 et V5, respectivement 2 doses simples, une dose simple plus une dose double et 2 doses doubles de vinchlozoline, les résidus étaient inférieurs à 2 ppm 34 jours après la dernière application pour V2 (1.39 ppm) et 41 jours après la dernière application pour V3 (0.76 ppm), mais les résidus dépassent encore la tolérance pour V5 41 jours après la dernière application (tableau 8).
- d. Le tableau 11 montre les résultats obtenus à partir de l'analyse statistique des chiffres portant sur la demi-vie, la décroissance journalière, le délai de carence et le coefficient de corrélation calculés à partir des concentrations en ppm, après une seule application de chacun des deux produits à une dose simple ou double. Il en



SUITE EN

F 2