

Université catholique de Louvain

Faculté d'Ingénierie biologique, agronomique et environnementale



Détermination et utilisation des facteurs de transformation des résidus de pesticides suite au processing de fruits et légumes

Thèse présentée par Aurore Bonnechère en vue de l'obtention du grade de
Docteur en Sciences Agronomiques et Ingénierie Biologique

Président : Prof. J. Mahillon

Promoteurs : Prof. C. Bragard

Dr. V. Hanot

Lecteurs : Prof. Y. Larondelle

Dr. L. Pussemier

Ir. J. Van Loco

Louvain-la-Neuve – 2012

Remerciements

En ces temps de rédaction, je ne peux oublier de remercier toutes les personnes sans qui ce travail n'aurait pas pu voir le jour...

Je remercie mon promoteur, le Professeur Claude Bragard, qui m'a donné l'opportunité de réaliser cette thèse et qui m'a fourni de précieux conseils, particulièrement lors de la rédaction.

Je tiens à exprimer ma plus vive reconnaissance à mon co-promoteur, le Dr Vincent Hanot qui m'a accueillie au sein du service Pesticides, pour sa confiance en moi au travail, son dévouement, ses compétences et ses conseils ainsi que pour sa disponibilité. Mille mercis !!!

Je remercie les lecteurs et membres du jury de ma thèse, le Dr Luc Pussemier et Monsieur Joris Van Loco pour l'honneur qu'ils m'ont fait d'avoir accepté le rôle de lecteurs et pour m'avoir aiguillée lors de l'épreuve de confirmation. Merci également au Professeur Yvan Larondelle et au Professeur Jacques Mahillon d'avoir accepté de faire partie du jury de cette thèse.

J'aimerais en outre remercier Thomas Bedoret ainsi que Pierre Loriau pour tout le travail fourni lors de la réalisation des cultures ainsi que pour leur sympathie tout comme Sabine Blin pour le transport des commodités ! Un grand merci également au Professeur Marc Hendrickx de m'avoir accueillie au sein de son équipe à la KUL ainsi qu'à Margot De Haes et Ruben Jolie pour leur aide lors des transformations. J'aimerais également remercier Ruben pour ses conseils avisés lors de la rédaction d'articles.

Merci aussi à Martine Deridder et Marie-Anne Van den Bergh pour toutes les analyses qu'elles ont effectuées et pour leur gentillesse. Par ailleurs, je remercie Martine Vanhouche, Jessica Marchi et Séverine Goscinny pour leur aide et surtout pour tous les bons moments passés en leur compagnie.

Je remercie profondément Laurence Delbrassinne pour son aide, son soutien et son amitié. Les nombreux moments passés ensemble lors du retour sur les bancs de l'université, ainsi que les longues discussions à propos des doutes qui nous envahissaient concernant nos thèses respectives m'ont permis d'y voir plus clair. Merci d'avoir toujours été là et prête à passer du temps pour chercher des solutions !

Je voudrais exprimer toute ma gratitude à mes parents pour la confiance qu'ils me témoignent depuis toujours et pour leurs encouragements. Sans eux, je ne serais pas qui je suis et n'aurais pas la vie que j'ai. Je leur adresse un million de mercis !!!

Je ne peux oublier mon petit frère Bruno, « ostéopatissier » sensationnel mais également statisticien toujours là et prêt à aider sa sœur. Un tout grand merci « ironbrother » !

Je tiens à remercier tout particulièrement mon mari Christophe pour son amour, sa patience et ses encouragements! Merci de me supporter avec mon stress et d'avoir été la petite fée du logis lorsque j'étais trop occupée à rédiger ce travail !

Pour finir, un tout grand merci à mes amis et au reste de ma famille pour leurs encouragements ainsi qu'à Martine Bronzin pour sa relecture littéraire.

Merci à tous et aux oubliés...

Résumé

La teneur en résidus de pesticides des fruits et légumes est influencée par le lavage, l'épluchage et la cuisson. Les facteurs de transformation, traduisant la variation de concentration des résidus lors de ces processing, permettent d'affiner l'évaluation du risque pour les consommateurs.

Quatre commodités (carotte, céleri, épinard et melon) ont été choisies en association avec un panel de pesticides (acetamiprid, azoxystrobine, boscalid, carbendazim, chlorpyrifos, λ -cyhalothrine, cyromazine, deltamethrine, difenoconazole, dimethoate, imazalil, iprodione, linuron, mancozeb, maneb, phenmedipham, pirimicarb, propamocarb, tebuconazole, thiamethoxam), sur base des matrices les plus consommées et de la fréquence élevée de détection de ces pesticides.

Pour certaines combinaisons commodité-pesticide-transformation, des réductions considérables de concentrations en résidus ont été observées : jusqu'à 90% lors du lavage et l'épluchage, 70% lors du blanchiment et 99% lors de la stérilisation. En revanche, d'autres combinaisons n'ont conduit à aucune réduction, voire à l'apparition de composés plus toxiques. En effet lors de la stérilisation des épinards, la dégradation du maneb a entraîné l'apparition d'éthylèthiourée.

La variabilité, parfois très forte, des facteurs de transformation déterminés pour une même combinaison nous amènent à questionner la réglementation actuelle, basée sur l'évaluation de deux facteurs de transformation uniquement. Si les propriétés physico-chimiques des pesticides permettent d'expliquer les facteurs de transformation obtenus pour un légume feuille comme l'épinard, nos travaux illustrent la multiplicité des paramètres influençant les facteurs de transformation, par exemple le moment d'application des pesticides ou le choix variétal. Ces éléments laissent entrevoir la pertinence d'une réévaluation des pratiques agricoles en vue de circonscrire davantage les risques pour le consommateur.

Table des matières

Avant-propos	1
Chapitre 1: Objectifs et stratégie expérimentale	7
Chapitre 2: Etat des connaissances	11
1. Normes relatives aux résidus de pesticides dans l'alimentation	11
2. Toxicité des pesticides	16
3. Absorption et transfert des substances actives dans la plante	23
A. Influence de la structure de la plante	24
B. Absorption et transfert à partir du sol	27
<i>Disponibilité dans le sol</i>	27
<i>Absorption à partir du sol</i>	28
<i>Translocation des racines vers les parties aériennes</i>	28
C. Absorption à partir des feuilles	30
D. Transfert des pesticides vers les fruits et légumes	32
E. Influence du type de pesticides sur le transfert dans la plante	32
4. Substances actives étudiées	33
A. Les insecticides	34
<i>Organophosphorés (chlorpyrifos, dimethoate, omethoate)</i>	35
<i>Carbamates (pirimicarb)</i>	35
<i>Pyréthroïdes (λ-cyhalothrine, deltaméthrine)</i>	36
<i>Néonicotinoïdes (acetamiprid, thiaméthoxam)</i>	37
<i>Triazine (cyromazine)</i>	37

B. Les fongicides	40
<i>Benzimidazole (carbendazim)</i>	41
<i>Carbamates (propamocarb)</i>	41
<i>Triazoles et imidazoles (difenoconazole, tebuconazole, imazalil)</i>	42
<i>Dithiocarbamates (maneb, mancozeb)</i>	42
<i>Carboxamides (boscalid)</i>	43
<i>Strobilurines (azoxystrobine)</i>	43
<i>Dicarboximides (iprodione)</i>	44
C. Les herbicides	46
<i>Phenylcarbamates (chlorpropham, phenmedipham)</i>	46
<i>Urées (linuron)</i>	46
5. Méthodes d'analyse des résidus de pesticides	47
A. Méthodes multi-résidus	48
B. Méthodes spécifiques	49
6. Transformations des fruits et légumes	50
A. Lavage	54
B. Epluchage	58
C. Cuisson	60
<i>Blanchiment</i>	61
<i>Cuisson au micro-ondes</i>	61
<i>Stérilisation</i>	62
<i>Types de cuisson variés non utilisés dans notre étude</i>	62
Chapitre 3: Approche méthodologique	67
1. Choix des commodités	67
2. Production des commodités	68

A. Culture	68
<i>Epinards</i>	69
<i>Melons</i>	69
<i>Carottes</i>	69
<i>Céleris</i>	69
B. Récolte	74
<i>Epinards</i>	74
<i>Melons</i>	74
<i>Carottes</i>	74
<i>Céleris</i>	74
3. Transformation des commodités	75
A. Epinards	75
<i>Vue d'ensemble des procédés et des étapes d'échantillonnage</i>	75
<i>Echantillon non transformé</i>	76
<i>Lavage</i>	76
<i>Blanchiment</i>	76
<i>Cuisson au micro-ondes</i>	78
<i>Stérilisation</i>	78
B. Melons	79
<i>Vue d'ensemble des procédés et des étapes d'échantillonnage</i>	79
<i>Echantillon non transformé</i>	81
<i>Epluchage</i>	81
C. Carottes	82
<i>Vue d'ensemble des procédés et des étapes d'échantillonnage</i>	82
<i>Echantillon non transformé</i>	82

<i>Lavage</i>	84
<i>Epluchage</i>	84
<i>Blanchiment</i>	84
<i>Cuisson au micro-ondes</i>	85
<i>Pasteurisation</i>	85
<i>Stérilisation</i>	85
D. Céleris	86
<i>Vue d'ensemble des procédés et des étapes d'échantillonnage</i>	86
<i>Echantillon non transformé</i>	86
<i>Lavage</i>	88
<i>Blanchiment</i>	88
<i>Cuisson au micro-ondes</i>	89
<i>Stérilisation</i>	89
4. Analyse des commodités	89
A. Matériels	90
<i>Pesticides</i>	90
<i>Solvants et réactifs</i>	91
B. Analyse des dithiocarbamates	92
<i>Préparation des échantillons</i>	92
<i>Appareillage</i>	93
<i>Conditions chromatographiques</i>	93
C. Analyse des composés par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse	94
<i>Préparation des échantillons</i>	94
<i>Appareillage</i>	95

<i>Conditions chromatographiques</i>	95
<i>Paramètres du spectromètre de masse</i>	95
D. Analyses des composés par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse	97
<i>Préparation des échantillons</i>	97
<i>Appareillage</i>	98
<i>Conditions chromatographiques</i>	98
<i>Paramètres du spectromètre de masse</i>	98
E. Analyse de la mélamine	100
<i>Préparation des échantillons</i>	100
<i>Appareillage</i>	101
<i>Conditions chromatographiques</i>	101
<i>Paramètres du spectromètre de masse</i>	101
F. Méthode d'analyse pour l'éthylènenethiourée (ETU)	102
<u>Développement de la méthode</u>	102
<i>Chromatographie</i>	102
<i>Extraction</i>	105
<i>Purification</i>	107
<u>Validation de la méthode</u>	111
<i>Limite de détection et de quantification (LOD et LOQ)</i>	113
<i>Linéarité</i>	113
<i>Effet de matrice</i>	114
<i>Précision et rendements</i>	115
<i>Stabilité lors de l'extraction</i>	116
Chapitre 4: Détermination des facteurs de transformation	119

1. Détermination des facteurs de transformation pour les épinards	122
A. Echantillon non transformé	122
B. Lavage	125
C. Blanchiment	128
D. Cuisson au micro-ondes	129
E. Stérilisation	130
F. Facteurs de transformation pour la combinaison des transformations	131
2. Détermination des facteurs de transformation pour les melons	133
3. Détermination des facteurs de transformation pour les carottes	140
A. Echantillon non transformé	140
B. Lavage	145
C. Epluchage	148
D. Blanchiment	149
E. Cuisson au micro-ondes	149
F. Pasteurisation	150
G. Stérilisation	150
H. Facteurs de transformation pour la combinaison des transformations	151
4. Détermination des facteurs de transformation pour les céleris	154
Chapitre 5: Discussion générale	165
1. Comparaison des facteurs de transformation étudiés avec ceux retrouvés dans la littérature	167
A. Lavage	167
B. Epluchage	169
C. Cuisson	171

<i>Blanchiment</i>	171
<i>Cuisson au micro-ondes</i>	172
<i>Stérilisation</i>	173
2. Relations entre les facteurs de transformation, certaines propriétés des pesticides et le type de matrices	175
A. Comparaison entre variétés et entre matrices	175
B. Analyse en composantes principales	181
C. Facteurs de transformation obtenus dans notre étude et propriétés physico-chimiques	182
D. Les facteurs de transformation et les propriétés physico-chimiques peuvent-ils conduire à un modèle ?	184
3. Exposition du consommateur aux résidus de pesticides : exemple de l'utilisation des facteurs de transformation	197
Chapitre 6: Conclusions et perspectives	203
Chapitre 7: Bibliographie	213
Annexe I : Revue de la littérature sur les facteurs de transformations	223
Annexe II : Tests des méthodes d'analyses pour les épluchures	231
A. Analyse des dithiocarbamates	231
B. Analyse du chlorpyrifos sur les épluchures de carottes (GC-ECD, GC-NPD)	231
C. Multi-LC-MS/MS	232
Annexe III : Estimation de l'ingestion des résidus de pesticides étudiés dans ce travail	235
Annexe IV : Publication Ethylèthiourée	237
Annexe V : Publication Epinard	237
Annexe VI : Publication Melon	237
Annexe VII : Publication Carotte	237

Liste des abréviations

- AFSCA : Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire
- AJMT : Apport journalier maximum théorique
- APCI : Ionisation chimique à pression atmosphérique
- ARfD : Acute Reference Dose
- BPA : Bonnes Pratiques Agricoles
- CAC : Commission du Codex Alimentaire
- CL: Concentration létale
- DAR: Draft Assessment Report
- DJA : Dose journalière acceptable
- DL: Dose létale
- DTC: Dithiocarbamates
- DT : temps de dégradation
- EBDC : Ethylène bidithiocarbamate
- EFSA : Autorité Européenne de Sécurité des Aliments
- ESI : Ionisation par électrospray
- ETU : Ethylènenithiourée
- FAO : Organisations de l'Alimentation et de l'Agriculture
- FI : Facteur de variabilité intra- et inter-espèces
- FID : Détecteur d'ionisation par flamme
- GC : Chromatographie gazeuse
- HPLC : Chromatographie liquide haute performance
- JMPR : « Joint Meeting on Pesticide Residue »
- LC : Chromatographie liquide
- LMR : Limite Maximale de Résidus
- LOD : Limite de détection
- LOQ : Limite de quantification
- MS : Spectrométrie de masse
- NOAEL : « No Observed Adverse Effect Level »
- OMS : Organisation mondiale de la santé

- PDA: Photodiode Array
- PF : Processing factor = Facteur de transformation
- PHI : « Pre-Harvest Interval »
- PPR : Unité d'examen par des pairs de l'évaluation des risques des pesticides
- PTU : Propylèthiourée
- SIM : Mode d'ionisation sélective
- SPE : Extraction sur phase solide
- TOF : Détecteur à temps de vol
- UHPLC : chromatographie liquide ultra haute performance
- UIPP : Union des industries de la protection des plantes

Glossaire

- Apport Journalier Maximum Théorique (AJMT) : quantité maximum de résidus qu'un individu est susceptible d'ingérer quotidiennement dans son alimentation à partir des teneurs en résidus par culture (mg/kg) et de la part de la denrée considérée dans la ration journalière (g/jour).
- Acute Reference Dose (ARfD) : quantité d'un composé donné, exprimée par kilogramme de poids corporel, qui peut être ingérée durant un laps de temps court, généralement d'une journée, sans que cela ne génère des problèmes de santé.
- Dose Journalière Acceptable (DJA) : dose journalière acceptable, exprimée en mg/kg de poids corporel, qui lors de l'ingestion quotidienne, durant une vie entière, paraît sans risque appréciable pour la santé du consommateur sur base des faits révélés par l'étude toxicologique.
- Dose Létale (DL50): dose déterminant la mort de 50% des animaux de l'expérimentation.
- Draft Assessment Report (DAR): monographie pour chaque substance active.
- Limite Maximale de Résidu (LMR) : concentration maximale du résidu d'un pesticide autorisée dans ou sur des denrées alimentaires ou aliments pour animaux, fixée sur base des BPAs et de l'exposition la plus faible possible permettant de protéger tous les consommateurs vulnérables.
- « No Observed Adverse Effect Level » (NOAEL): la plus grande concentration d'un toxique détectable qui ne présente pas d'effet délétère sur un organisme cible sous des conditions d'exposition définies.
- Pesticide : ensemble de « substances, préparations, micro-organismes et virus destinés à assurer la destruction ou à prévenir l'action des animaux, végétaux, micro-organismes ou virus nuisibles »
- Processing Factor = Facteur de transformation (PF) : rapport entre la concentration de pesticide dans la commodité transformée et la concentration de pesticide dans la commodité non transformée.
- « Pre-Harvest Interval » (PHI) : temps entre la dernière application du pesticide et la moisson des commodités non transformées.

- Temps de Dégradation (DT50): temps de dégradation de 50 % de la substance active dans l'eau, exprimé en jours ou en heures à un pH donné et déterminé par un test en laboratoire.

AVANT-PROPOS

En Belgique, l'arrêté royal du 28 février 1994 définit les « pesticides » comme un ensemble de « substances, préparations, micro-organismes et virus destinés à assurer la destruction ou à prévenir l'action des animaux, végétaux, micro-organismes ou virus nuisibles » [Moniteur belge, 1994].

Au sein des pesticides, nous trouvons d'une part, les « biocides » regroupant des insecticides et rodenticides à usage domestique et industriel, des produits de protection du bois, des désinfectants,... D'autre part, les « pesticides à usage agricole » qui peuvent être utilisés dans différentes circonstances (jardinage, agriculture, entretien des parcs et espaces verts...) constituent un deuxième groupe. Ces pesticides à usage agricole se répartissent en deux catégories :

- Les « produits phytopharmaceutiques » utilisés essentiellement pour la protection des végétaux ainsi que la destruction des végétaux indésirables.
- Les « autres pesticides susceptibles d'être utilisés en agriculture » qui comprennent les adjuvants (mouillants, adhésifs phytoprotecteurs...) [Moniteur belge, 1994].

En plus de cette nomenclature complexe, les produits phytopharmaceutiques sont non seulement composés des substances actives responsables de l'activité du produit mais également d'adjuvants, des agents mouillants,... Ces différents agents confèrent des caractéristiques essentielles au produit phytopharmaceutique en lui donnant un certain pouvoir pénétrant au niveau de la cuticule de la plante ou un meilleur étalement lors de la pulvérisation.

Tous ces facteurs ainsi que la complexité de la nomenclature démontrent l'ambivalence du terme « pesticide » qui recouvre un très large champ d'application. Dans le cadre de cette thèse, nous nous concentrons

uniquement sur les « produits phytopharmaceutiques » utilisés pour la protection des végétaux ainsi que la destruction des végétaux indésirables.

Lorsque nous aborderons le terme « pesticide » dans ce travail, il renverra aux substances actives de produits phytopharmaceutiques. Lors des essais en champ, Redebel a appliqué des produits formulés contenant des agents mouillants, adjuvants et autres. Cependant, l'analyse des facteurs de transformations (PFs) ne vise que les substances actives.

La lutte contre les organismes nuisibles aux cultures ou pour contrôler les adventices est une étape essentielle pour les productions agricoles. Depuis, 1950, elle fait appel à l'utilisation accrue de pesticides qui sont certes bénéfiques pour les systèmes de productions mais qui peuvent également être responsables d'effets nocifs sur la santé humaine et pour l'environnement. Par conséquent, une expertise pertinente du rapport « risques-pesticides » doit être réalisée par les pouvoirs publics mais également par la profession agricole à l'aide des connaissances en permanente évolution. Des stratégies sont établies de manière à réduire continuellement l'impact des pesticides sur la santé publique et l'environnement et donc les risques associés, tout en assurant la protection nécessaire aux cultures [Regnault-Roger, 2005].

Pour démontrer l'importance de l'utilisation des pesticides, voici quelques chiffres de l'Union des industries de la protection des plantes (UIPP). Pour toutes cultures confondues, les herbicides sont les pesticides les plus utilisés dans le monde avec 45% du tonnage mondial en 2010. A utilisation égale (26%), nous avons les insecticides et les fongicides (Fig.1).

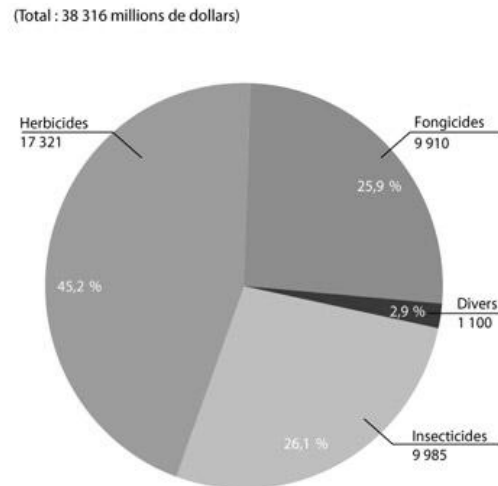


Fig.1: Répartition du marché mondial par catégories de pesticides pour l'année 2010 (Données de l'UIPP : <http://www.uiipp.org/Services-pro/Chiffres-cles/Reperes-monde-et-Europe>). La catégorie « divers » reprend les acaricides, rodenticides... Source : Phillips Mc Dougall AgriServices.

En ce qui concerne la Belgique, le tableau des ventes des pesticides de 1997 à 2005 cité sur Eurostat, clé d'accès à la statistique européenne, ainsi que les données rapportées dans le rapport sur l'usage des pesticides en Région Wallonne de 1992 à 2004, nous apprennent qu'au cours de cette période, 9400 tonnes de matières actives ont été vendues en moyenne chaque année [Eurostat EC European statistical database, 2011; Marot *et al.*, 2008]. Dans ces 9000 tonnes, on retrouve entre 2000 et 3000 tonnes de fongicides, entre 4500 et 5500 tonnes d'herbicides, entre 800 et 1000 d'insecticides et entre 750 et 1200 d'autres pesticides toutes cultures confondues [Eurostat EC European statistical database, 2011]. Au vu de ce dernier chiffre, il semblerait que l'utilisation de pesticides soit en légère baisse mais ceux-ci restent cependant très exploités. En terme d'hectares de terre cultivée, la Belgique est le deuxième pays le plus consommateur de pesticides après les Pays-Bas en raison d'une forte activité horticole et maraîchère dans ces deux pays [Merhi, 2008]. Selon le Tableau de bord de l'environnement wallon (2010), trois quarts des pesticides appliqués en 2008 en Belgique concernent six grandes cultures (37,5 kg pesticide/ha) avec les apports les plus importants pour les

pommes de terre (16,3 kg pesticide/ha), les betteraves (6,6 kg pesticide/ha) et les légumes de plein champ (10,1 kg pesticide/ha) [Direction générale opérationnelle de l'Agriculture, 2010]. En termes de superficie agricole, 16200 ha sont consacrés à la culture fruitière dont 93% sont occupés par des vergers et 9700 ha à la culture légumière. Ces deux types de cultures sont intensément traités avec en moyenne entre 6 et 18 traitements par culture. La contamination des fruits et légumes par les pesticides se produit en période de culture. Par conséquent les fruits et légumes vendus, commodités peu transformées avant la consommation, sont une niche privilégiée pour les résidus de pesticides [Observatoire bruxellois de la consommation durable, 2006; Direction générale opérationnelle de l'Agriculture, 2010]. Dès lors, des contrôles sont effectués constamment pour mesurer les concentrations retrouvées dans les denrées alimentaires dont les fruits et légumes représentent une grande partie des programmes de contrôle et ainsi assurer la sécurité du consommateur en vérifiant le bon respect des normes. En Belgique, cette veille toxicologique est réalisée par l'Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA). En 2010, le Comité scientifique de l'AFSCA a publié un avis montrant qu'en 2008, environ 72% des 1413 échantillons de fruits et légumes contrôlés contenaient des résidus de pesticides. Dans 6% des échantillons, les normes étaient dépassées mais comme nous le verrons par la suite, ceci n'implique pas nécessairement un problème de sécurité alimentaire. Cependant, en considérant l'exposition aux résidus des pesticides sur base des données d'une enquête belge de consommation alimentaire et des données de monitoring des pesticides, il ressort que l'exposition chronique de la population adulte belge est globalement sous contrôle, même chez ceux qui ont une consommation importante ou fréquente de fruits et légumes [Claeys *et al.*, 2008; Comité scientifique de l'AFSCA, 2010].

Comme le montre cet avis du Comité scientifique de l'AFSCA, parmi les centaines d'analyses réalisées chaque année, des dépassements des normes en vigueur sont régulièrement observés et c'est une des principales raisons de l'augmentation de l'intérêt pour l'alimentation biologique. Beaucoup de consommateurs la perçoivent comme plus saine et plus sûre. En effet,

certaines cultures biologiques contiennent moins de résidus chimiques et de nitrates que les cultures conventionnelles mais les contaminants environnementaux comme les métaux lourds ou les contaminants naturels comme les mycotoxines sont présents dans n'importe quel type de culture [Plan National Nutrition Santé, 2011; Pussemier *et al.*, 2006]. Afin de mieux évaluer les quantités de pesticides réellement ingérées lors de la consommation de commodités contenant des résidus de pesticides, le principe des facteurs de transformation est appliqué. Ceux-ci sont calculés en faisant le rapport de la concentration d'un résidu de pesticide mesurée dans la commodité transformée sur celle dans la commodité brute :

$$PF = \frac{\text{niveau de résidu dans le produit transformé}}{\text{niveau de résidu dans le produit agricole brut}}$$

Chapitre 1: OBJECTIFS ET STRATÉGIE EXPÉRIMENTALE

L'objectif de ce travail est de contribuer à une meilleure compréhension des risques encourus par le consommateur en affinant la connaissance de facteurs de transformation pour des commodités essentielles de la diète moyenne d'un consommateur belge et européen, facteurs pour lesquels il n'existe actuellement pas de données publiées disponibles. En effet, lors de la consommation de fruits et légumes, le consommateur ingère des résidus de pesticides. Par conséquent des calculs d'ingestion sont réalisés pour déterminer la toxicité aigüe liée à l'ingestion de l'aliment contaminé. Ce calcul peut être affiné à l'aide du facteur de transformation étant donné que la plupart des commodités subissent une transformation avant d'être consommées, comme par exemple un lavage, un épluchage ou une cuisson.

Le caractère innovant de cette thèse est d'aller au-delà de la détermination de facteurs de transformation (PFs). Pour ce faire, les commodités ont été cultivées sur base d'essais surveillés en champ. Contrairement à une étude réalisée uniquement au laboratoire, les études en champs permettent d'étudier également l'influence de certains paramètres tels que les moments d'application, les doses appliquées, la pluviosité,... sur le niveau de résidus retrouvé.

Jusqu'à présent une collection de PFs est disponible et a été relevée dans notre étude pour les combinaisons étudiées. Outre la détermination de PFs, l'approche adoptée a été de mettre en évidence les relations entre les propriétés physico-chimiques des pesticides, leur tendance à être réduits ou concentrés suite à une transformation ainsi l'influence des moments d'application et des variétés. Les différentes approches abordées lors de la discussion permettent d'aider à l'évaluation de la pertinence des PFs de la littérature, ainsi que de comprendre le comportement de chaque pesticide suite aux transformations d'un type de commodité. Cette thèse comprend également une discussion allant vers l'évaluation des risques et montrant les limitations d'une vision globale des PFs.

Chapitre 1 : Objectifs de la recherche

Avant de poursuivre la lecture de ce travail, voici un petit aperçu de la structure de cette thèse (Fig.2). Cinq chapitres composent la suite de celle-ci. Le chapitre 1 reprend l'état des connaissances.

Le chapitre 2 comprend toute la méthodologie ainsi que les matériels, les méthodes employées et le développement de méthodes entrepris. Il est aussi bien axé sur le choix des commodités, que sur la production et les transformations de celles-ci, de même, sur l'analyse des résidus de pesticides dans ces commodités.

Grâce à cette mise en œuvre, des PFs ont pu être calculés et interprétés dans le chapitre 3 divisé en quatre parties, chacune d'entre elles étant dédiée à une commodité spécifique.

Finalement, l'avant-dernier chapitre apporte une vision critique des résultats obtenus.

Pour clôturer la thèse, les conclusions et perspectives prennent place (Fig.2).

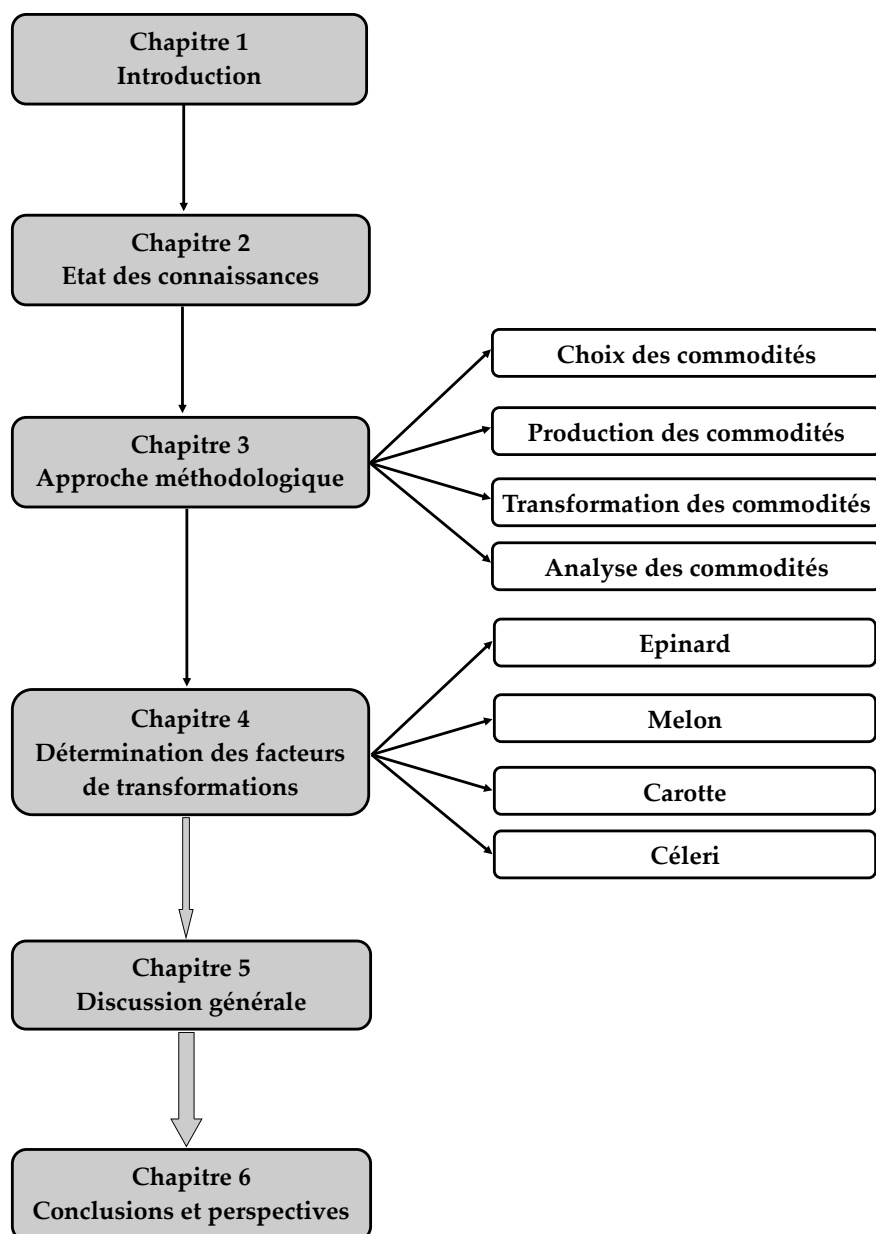


Fig.2: Structure générale et organisation en chapitre de la thèse

Chapitre 2: ETAT DES CONNAISSANCES

1. NORMES RELATIVES AUX RESIDUS DE PESTICIDES DANS L'ALIMENTATION

Depuis l'utilisation des pesticides, les gouvernements ont dû établir des limites légales pour les résidus des pesticides sur les denrées alimentaires pour permettre de gérer les risques dans un double objectif : tenter de réduire la toxicité des produits disponibles et diminuer les quantités employées. Les aliments contenant des concentrations de résidus de pesticides dans ces limites sont considérés comme sains. Ces limites sont appelées les limites maximales de résidus (LMR) et étaient initialement établies nationalement. Depuis 1976, une première harmonisation a eu lieu avec la Communauté Européenne. Cependant 10 ans auparavant, au niveau mondial, une première initiative d'établissement de standards internationaux avait été entreprise par la Commission du Codex Alimentaire (CAC). Cette Commission a été créée en 1963 par l'Organisation de l'Alimentation et de l'Agriculture (FAO) et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) afin d'élaborer des normes alimentaires, des lignes directrices et d'autres textes, tels que des Codes d'usages, dans le cadre du programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires. Les buts principaux de ces programmes sont la protection de la santé du consommateur, la promotion des pratiques loyales dans le commerce des aliments et la coordination de tous les travaux de normalisation ayant trait aux aliments, travaux entrepris par des organisations aussi bien gouvernementales que non gouvernementales. Un des corps subsidiaires de la CAC, le Comité du Codex des résidus de pesticides (CCPR) est responsable de l'élaboration des LMRs et travaille en étroite collaboration avec des scientifiques indépendants pour former le Joint FAO/OMS Meeting on Pesticide Residues (JMPR). Chaque année les rapports des JMPRs sont publiés (Fig.3). Ces réunions permettent donc de transmettre l'avis d'experts scientifiques

indépendants à la Commission et aux comités spécialisés afférents [2012a; 2012b; 2012c; Regnault-Roger, 2005; Van Eck, 2004].

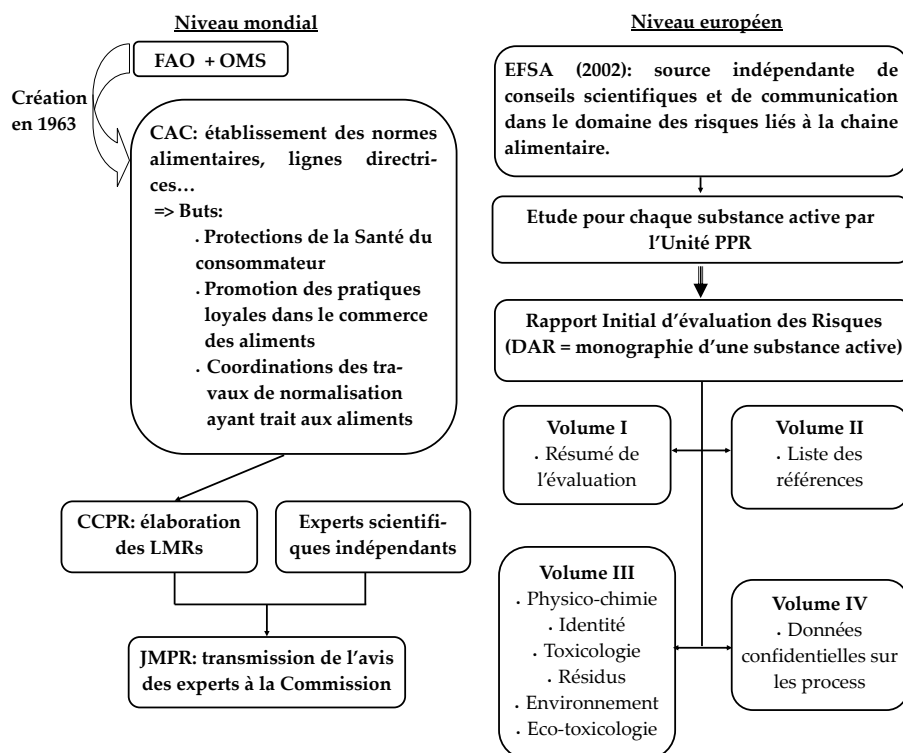


Fig.3: Organigramme reprenant les différentes organisations gérant la réglementation des pesticides à l'aide de l'établissement de monographies

Etant donné le danger potentiel qu'implique l'utilisation de pesticides à l'égard des consommateurs, celle-ci est devenue très règlementée. L'EFSA, l'Autorité européenne de sécurité des aliments, a été créée en janvier 2002 en réponse à plusieurs crises alimentaires survenues en Europe. Cet organisme a vu le jour afin de garantir à la population une alimentation de qualité. L'EFSA est une source indépendante de conseils scientifiques et de communication dans le domaine des risques liés à la chaîne alimentaire. Son objectif est d'être reconnu au niveau international en tant qu'organisme européen de référence pour l'évaluation des risques liés à la sécurité des aliments destinés à l'alimentation humaine et animale, à la santé et au bien-être des animaux, à la nutrition ainsi qu'à la protection et à la santé des

plantes [Robin, 2011; Van Eck, 2004]. C'est ainsi que dans l'Union européenne, un produit phytosanitaire n'est autorisé qu'après avoir passé une série de tests montrant qu'aucun effet néfaste sur les consommateurs, les exploitants ou toute personne susceptible d'y être exposée, n'a lieu, qu'il n'y a pas d'incidences graves sur l'environnement tout en assurant une efficacité suffisante. L'unité d'examen par des pairs de l'évaluation des risques des pesticides de l'EFSA est l'unité PPR (Fig.3). Pour chaque substance, un projet de Rapport Initial d'évaluation des Risques (Draft Assessment Report : DAR) est produit par un Etat membre désigné, puis un examen par des pairs est mené par l'ensemble des Etats membres. Une décision législative concernant l'inclusion de la substance dans la liste positive des substances actives autorisées dans la Communauté est alors prise [Regnault-Roger, 2005; Van Eck, 2004]. L'étude de métabolisme décrite dans les DARs a pour objectif de définir les composés majeurs des résidus et leur distribution dans le système (plantes, animaux, humains), d'indiquer quel composé du résidu doit être compris dans la définition du résidu et requiert un développement de méthode et une analyse de résidu, et de démontrer l'efficacité des procédures d'extraction et par conséquent de valider les méthodes d'analyse de résidus de pesticides. La définition du résidu de pesticide ne se réfère donc pas uniquement à la substance active mais également à tout dérivé du pesticide (métabolites, produits de réactions, impuretés...) considéré comme pertinent d'un point de vue toxicologique. En fait, deux définitions de résidus de pesticides peuvent être distinguées : l'une analytique qui est d'application pour les analyses de routine et l'autre toxicologique qui inclut les composés adéquats d'un point de vue toxicologique pour l'évaluation du risque [Skidmore & Ambrus, 2004; Van Eck, 2004].

Chaque substance possède donc sa monographie divisée en plusieurs volumes (Fig.3):

- Volume I : résumé de toute l'évaluation (informations sur les usages, la composition, avis des différents experts,...)
- Volume II : liste des références

Chapitre 2 : Etat des connaissances

- Volume III : physicochimie, identité, toxicologie, résidus, environnement, éco-toxicologie
- Volume IV : données confidentielles concernant les procédés

Les études de comportement des résidus de pesticides, la présence de métabolites relevant du point de vue toxicologique et les effets des procédés ménagers sur la nature et les niveaux de ces résidus sont nécessaires pour l'évaluation du risque de l'exposition à ces LMRs pour le consommateur [Skidmore & Ambrus, 2004; Van Eck, 2004; Watson, 2004]. Celles-ci sont déterminées lorsque les quantités maximales de pesticides sont appliquées suivant les « Bonnes Pratiques Agricoles » (BPA) lors d'essais supervisés. Ces LMRs se retrouvent pour toutes les cultures et tous les pesticides dans une base de données sur le site web de la Commission [DG SANCO, 2008; Van Eck, 2004]. Elles s'appliquent aux produits frais mais aussi aux produits transformés. Pour ces derniers, il faut tenir compte d'une diminution potentielle de la concentration en résidus lors des transformations (nettoyage, cuisson, épluchage...) [Holland *et al.*, 1994; Kaushik *et al.*, 2009; Timme & Walz-Tylla, 2004].

Depuis, le 26 avril 2004, les LMRs ne sont plus établies qu'au niveau européen. Elles sont exprimées en mg/kg et fixées au terme d'un processus comprenant quatre étapes [Regnault-Roger, 2005; Timme & Walz-Tylla, 2004; Tomerlin & Petersen, 2004]:

- (1) La première étape de l'expertise d'un pesticide donné consiste à mesurer la quantité de ses résidus et éventuellement de ses produits de dégradation qui persiste sur chaque commodité après la récolte. Pour ce faire, des essais de résidus agricoles surveillés établissent le niveau sur une récolte agricole à traiter avec un pesticide lorsque les conditions d'utilisation indiquées sur l'emballage sont respectées.
- (2) Ensuite, les experts estiment l'exposition potentielle des consommateurs. Ils se fondent sur des enquêtes visant à déterminer quels fruits, légumes et céréales ainsi que leurs quantités sont

consommés quotidiennement, en tenant compte des habitudes alimentaires qui varient d'un pays à l'autre. La consommation moyenne pour chaque commodité est estimée selon 13 modèles de régimes alimentaires.

- (3) Les données d'essais toxicologiques réalisés pour chaque substance active tiennent compte de la dose journalière admissible (DJA). Cette dose correspond à la dose la plus haute qui ne produirait aucun effet défavorable au cours d'une période d'exposition de durée de vie et tout en appliquant les facteurs de sécurité appropriés.
- (4) Si la consommation journalière des consommateurs évaluée pour toutes les matières premières calculées au point (2) est inférieure à la DJA calculée au point (3) le niveau de résidu au point (1) est choisi comme LMR. Si la consommation calculée est plus haute, les conditions d'utilisation décrites au point (1) doivent être modifiées pour réduire le niveau de résidu dans la commodité brute. S'il n'est pas possible d'employer ce pesticide sur cette récolte, la LMR est établie à la limite de détermination.

Depuis Septembre 2008, un nouveau règlement communautaire (Règlement (CE) 396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005) définissant de nouvelles règles applicables aux résidus de pesticides est entré en vigueur. Il couvre tous les produits agricoles destinés à l'alimentation humaine ou animale. Ce règlement reprend tous les pesticides qui ont été ou sont toujours utilisés dans l'agriculture, dans l'UE ou à l'extérieur de celle-ci. Si un pesticide n'est pas cité dans la liste, la limite maximale de résidus est de 0,01 mg/kg [Règlement 396/2005, 2005].

Pour vérifier l'application effective et uniforme de ces limites, la Commission possède trois instruments :

- Le programme communautaire pluriannuel de suivi coordonné qui établit, pour chaque Etat membre, les principales combinaisons de

cultures et de pesticides à surveiller et le nombre minimal d'échantillons à prélever.

- Les laboratoires communautaires de référence qui coordonnent les études, forment le personnel, développent des méthodes d'analyse...
- L'Office alimentaire et vétérinaire de la Commission qui réalise des inspections dans les Etats membres pour analyser et évaluer les procédures de contrôle [Règlement 396/2005, 2005].

2. TOXICITE DES PESTICIDES

Les effets néfastes des produits phytopharmaceutiques sur la santé humaine constituent un vaste sujet du fait de la grande diversité de substances actives mises sur le marché. Les pesticides sont des produits biologiquement actifs et donc toxiques pour certains organismes. Le contact de ces substances avec des cibles non visées, l'homme par exemple, risque d'entraîner des troubles plus ou moins graves chez ces dernières. L'homme est soumis à deux expositions différentes : la première est une exposition potentiellement élevée lors de l'application des pesticides tandis que la seconde est liée à la consommation d'aliments contaminés par des résidus. Cette deuxième exposition est généralement faible mais répétée [Regnault-Roger, 2005].

Les pesticides ont une certaine toxicité. Cette toxicité est la faculté que possède une substance d'engendrer par pénétration dans l'organisme, en une seule fois ou par des doses répétées, des altérations passagères ou durables d'une ou plusieurs fonctions de cet organisme. Il ne faut toutefois pas confondre la « toxicité d'un produit » et le « risque d'intoxication par ce produit ». Le risque est la probabilité que les effets toxiques d'un produit se manifestent dans un contexte particulier (conditions d'utilisation, lieu de résidence, accidents,...). Les études de risque tiennent compte à la fois de la toxicité et de l'exposition (durée et intensité de contact avec la substance)

Chapitre 2 : Etat des connaissances

[Davies *et al.*, 2004]. C'est ainsi qu'un dossier toxicologique est réalisé pour toute nouvelle substance sur le marché pour déterminer la dose létale (DL₅₀), les risques d'intoxication subaiguë et chronique (état de santé, nutrition, poids, analyse de sang, d'urine, coupes histologiques) et le modèle d'exposition. Selon la façon dont le produit doit être utilisé, il faut essayer de calculer l'exposition de l'utilisateur [Davies *et al.*, 2004; Merhi, 2008].

Nous allons passer en revue les seuils de toxicité et les doses acceptables ou de référence. Les seuils de toxicité sont, entre autres, abordés avec les termes suivants : DL₅₀ et «No Observed Adverse Effect Level» (NOAEL). L'organigramme de la Figure 4 reprend ces termes et leur implication dans les étapes pour l'évaluation du risque pour le consommateur de l'introduction d'un pesticide sur le marché.

La DL₅₀ (dose létale 50 = dose déterminant la mort de 50% des animaux de l'expérimentation) permet de classer les toxiques en catégorie de danger en considérant la toxicité réelle aiguë par voie orale et dermale chez le rat. Pour les préparations dont le diamètre des particules n'excède pas 50 µm, les valeurs doivent être déterminées par les essais respiratoires (Tableau 1) [Merhi, 2008; Robin, 2011; Singh, 2012; Watson, 2004].

Tableau 1 : Catégories de danger suivant la DL ou la CL [Singh, 2012]

Toxicité	Catégorie de danger	Préparations solides	Préparations liquides	Gaz
DL ₅₀ orale en mg/kg de poids du corps	Très toxique Toxique Nocif	Jusque 5 5-50 50-500	Jusque 25 25-200 200-2000	
DL ₅₀ dermale en mg/kg de poids du corps	Très toxique Toxique Nocif	Jusque 10 10-100 100-1000	Jusque 50 50-400 400-4000	
CL ₅₀ en mg/kg d'air	Très toxique Toxique Nocif			Jusque 0.5 0.5-2 2-20

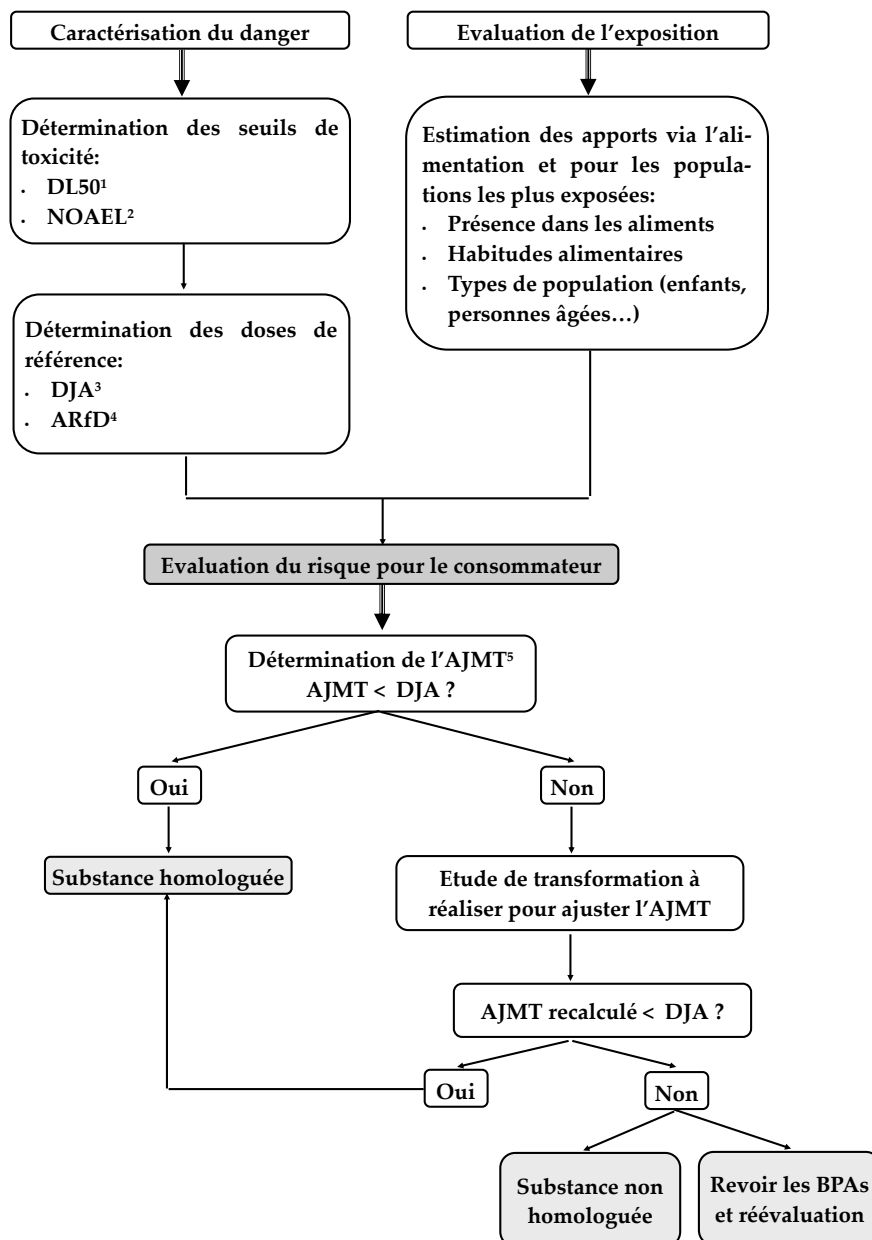


Fig.4 : Organigramme de l'évaluation du risque pour le consommateur. Toutes les données toxicologiques (DL50, NOAEL...) se retrouvent dans les DARs. ¹DL50 : dose létale pour 50% des animaux ; ²NOAEL : no observed adverse effect level ; ³DJA : dose journalière admissible ; ⁴ARfD : acute reference dose ; ⁵AJMT : apport journalier maximum théorique.

Note : les risques sont évalués pour une seule substance active et les risques pour des substances actives cumulées ne sont actuellement pas évalués.

Le NOAEL permet d'estimer le niveau d'exposition à une substance le plus élevé possible sans effet nocif. Par conséquent, c'est la plus grande concentration d'un toxique détectable sur un organisme cible sous des conditions d'exposition définies ne provoquant pas d'effet délétère (altération de morphologie, de capacité fonctionnelle, de croissance). Cette valeur est déterminée par expérimentation ou par observation. Pour une même substance, plusieurs NOAELs pourront être établies suivant les conditions d'exposition définies comme par exemple le laps de temps d'exposition [Davies, 2004; Singh, 2012; Watson, 2004].

Une fois les seuils de toxicité déterminés pour chaque pesticide, il faut calculer les doses acceptables (DJA) ou de référence (ARfD) pour évaluer la sécurité du consommateur. C'est alors qu'interviennent la DJA et l'ARfD. La DJA est la dose journalière acceptable, exprimée en mg/kg de poids corporel, qui lors de l'ingestion quotidienne, durant une vie entière, paraît sans risque appréciable pour la santé du consommateur sur base des faits révélés par l'étude toxicologique. Elle est déterminée en divisant le NOAEL (déterminé pour une durée d'exposition d'une vie) par le facteur de variabilité inter- et intra-espèces (FI). Ce facteur de sécurité est en général fixé à 100. En effet, de cette façon il tient compte d'un facteur 10 pour l'extrapolation inter-espèces et d'un autre facteur 10 pour la variabilité de réponses au sein de la population humaine. L'ARfD est quant à elle, la quantité d'un composé donné, exprimée par kilogramme de poids corporel, qui peut être ingérée durant un laps de temps court, généralement une journée, sans que cela ne génère des problèmes de santé. Elle est déterminée de la même manière que la DJA mais en prenant en compte le NOAEL déterminé pour une durée d'exposition d'une journée) [Comité scientifique de l'AFSCA, 2010; Davies *et al.*, 2004; Travis *et al.*, 2004] .

C'est sur base de ces données que des normes pour l'alimentation vont être établies comme la LMR. Pour rappel, c'est une concentration maximale du résidu d'un pesticide autorisée dans ou sur des denrées alimentaires ou aliments pour animaux, fixée sur base des BPAs et de l'exposition la plus faible possible permettant de protéger tous les consommateurs vulnérables..

Pour vérifier que cette LMR soit sûre pour le consommateur, il faut également estimer l'apport journalier maximum théorique (AJMT). C'est donc la quantité maximum de résidus qu'un individu est susceptible d'ingérer quotidiennement dans son alimentation à partir des teneurs en résidus par culture (mg/kg) et de la part de la denrée considérée dans la ration journalière (g/jour). Ce calcul tient compte de la totalité des denrées alimentaires dans lesquelles une substance active est homologuée. Il est nécessaire d'entreprendre des études de transformation des denrées (lavage, cuisson, épluchage...) lorsque l'Ajmt est supérieur à la DJA. L'étude des PFs permet d'affiner la connaissance des résidus sur une culture et peut conduire à une homologation de produits pour lesquels l'Ajmt aurait été supérieure à la DJA [Davies *et al.*, 2004; Tomerlin & Petersen, 2004].

Toutes ces étapes concernant l'évaluation du risque pour le consommateur sont nécessaires étant donné que les résidus de pesticides pénètrent dans notre organisme par diverses voies (orales, respiratoires ou cutanées). Les pesticides qui sont le plus souvent retrouvés dans notre organisme sont les plus persistants et ceux qui possèdent des propriétés de bioaccumulation car ils se concentrent dans les graisses à des concentrations de plus en plus élevées au fil des années [Lauwerys *et al.*, 2007]. Suivant l'exposition à laquelle l'individu est soumis, trois types d'intoxications peuvent être distingués suivant la rapidité d'apparition, la sévérité et la durée des symptômes ainsi que la rapidité d'absorption des toxiques:

- Intoxication aiguë : les symptômes apparaissent dans la journée et sont dus à des expositions de courtes durées et à une absorption rapide du toxique sur une période ne dépassant pas 24 heures ;
- Intoxication subaiguë : l'exposition est fréquente ou répétée sur une période de plusieurs jours ou semaines et les symptômes apparaissent dans la semaine ;
- Intoxication chronique : les symptômes ne font surface que plusieurs années plus tard suite à une exposition répétée sur

une longue période de temps (laboratoire, champ, industrie...). Les signes d'intoxications apparaîtront soit parce que le toxique s'accumule dans l'organisme, soit parce que les effets causés par les expositions répétées s'additionnent sans accumulation dans l'organisme [Lauwerys *et al.*, 2007].

Les substances actives pénètrent dans le corps par inhalation, par ingestion, de manière cutanée ou oculaire. Pour l'utilisateur de produits phytopharmaceutiques, plusieurs facteurs vont influencer les effets sur l'organisme. Les produits solides causeront peu ou pas d'accident alors que les poudres inhalées et les liquides absorbés par la peau donneront plus facilement des intoxications. Les composés liposolubles franchiront plus facilement les membranes cellulaires que les non-liposolubles. De plus, le solvant ou les substances qui véhiculent le toxique faciliteront le passage de ce dernier s'ils érodent l'épiderme. Un phénomène de synergie ou d'antagonisme avec la prise d'une autre substance (médicaments, aliments,...) peut également favoriser ou contrer l'entrée des toxiques dans l'organisme. De plus, des influences génétiques (manque d'enzymes), de l'environnement (exposition au soleil), de l'âge, de l'état de santé... ont également été observées [Juraske *et al.*, 2009, Lauwerys *et al.*, 2007].

Les pesticides possèdent tous une toxicité d'intensité variable pour l'homme. Plusieurs études traitent de la santé suite à une exposition aux pesticides et décrivent des effets tels qu'une augmentation de l'infertilité masculine et féminine mais également la possibilité de transmission des résidus de pesticides de la mère à l'enfant durant la grossesse. Cette exposition peut entraîner des fausses couches, des retards de croissance, des malformations... Ils sont aussi responsables d'effets immunosuppresseurs entraînant des cancers, des allergies, des réponses auto-immunes et la suppression de la fonction immunitaire ainsi qu'une plus grande sensibilité aux agents pathogènes. De faibles quantités de pesticides peuvent affecter les fonctions et le développement du système nerveux et perturber le système endocrinien en interférant avec la synthèse, l'excrétion, le transport, les liaisons, l'action ou l'élimination d'hormones naturelles. Ils peuvent

également conduire à la mort lors d'une intoxication volontaire ou accidentelle [Bolognesi & Merlo, 2011; Cherin *et al.*, 2012; de Jaeger *et al.*, 2012; Fortes & Aprea, 2011].

La Figure 5 résume les voies d'intoxication, les facteurs jouant un rôle dans le déclenchement et les différents types d'intoxication.

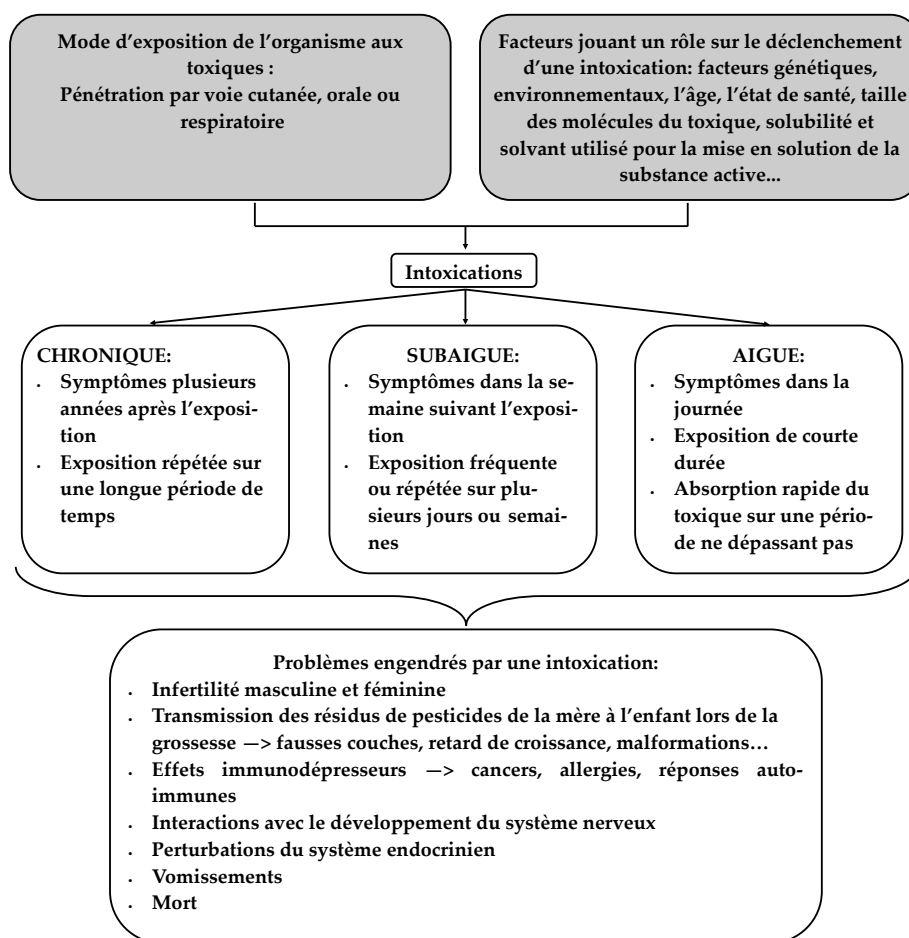


Fig.5: Récapitulatif des facteurs entrant en jeu lors d'une intoxication ainsi que les différents et symptômes liés à ces intoxications [Bolognesi, 2011; Cherin, 2012; de Jaeger, 2012; Fortes, 2011; Lauwerys, 2007; Regnault-Roger, 2005]

Pour conclure cette partie sur la toxicité, il faut rappeler que la toxicité varie énormément d'une molécule à l'autre. Il n'est donc pas possible de

généraliser les effets observés pour une molécule à une autre. Par conséquent, toute molécule doit être expérimentée et un dossier établi avant d'être mise sur le marché mais néanmoins, un certain empirisme subsiste.

Tous les dossiers reprenant les études biologiques (efficacité agronomique de la préparation et sélectivité du produit à l'égard des végétaux environnants) et les études toxicologiques (toxicité du produit sur l'homme et l'environnement) sont nécessaires pour l'autorisation de mise sur le marché d'un pesticide mais ne prennent cependant pas en compte la problématique actuelle, à savoir que la population générale est exposée à des mélanges de résidus de pesticides dans l'alimentation ou dans l'environnement, et d'une manière plus générale encore, à toute une série de molécules chimiques. En effet, les connaissances en matière d'effets combinés des pesticides sont encore fort lacunaires. Jusqu'à présent, les modèles expérimentaux utilisés pour étudier le risque toxicologique des pesticides, tout comme les compléments alimentaires, concernent un seul produit et, malheureusement, il n'existe pas de règle générale qui permette de prédire la toxicité associée à un mélange donné de pesticides. Des études ont déjà montré que l'exposition à des combinaisons de substances actives peut provoquer une réponse toxicologique significativement plus faible ou plus élevée que la somme des réponses induites par les composants du mélange pris individuellement. Ces effets sont dus aux interactions toxicologiques encore peu connues. Par conséquent, les éventuels effets néfastes d'un mélange de contaminants peuvent résulter d'interactions complexes impliquant leur métabolisme, leurs différents modes d'action ou leurs différentes cibles et ne sont jusqu'à présent pas pris en compte lors de l'étude d'une substance active pour l'homologation de celle-ci [Merhi, 2008].

3. ABSORPTION ET TRANSFERT DES SUBSTANCES ACTIVES DANS LA PLANTE

Quand un pesticide est appliqué, il entre dans un environnement étranger et devient l'objet de différentes réactions biologiques, chimiques et physiques.

Ces réactions peuvent modifier sa nature chimique. Ces nouveaux composés sont appelés des métabolites ou des produits de dégradation et acquièrent d'autres propriétés que les composés parents. L'évaluation du risque de contamination des végétaux pour l'environnement et la santé demande donc une bonne caractérisation des transferts de ces produits à l'intérieur de la plante. Ces transferts sont bien identifiés pour les molécules parentes mais peu de données existent sur la mobilité des métabolites, particulièrement en direction de la sphère reproductive, fleurs et fruits. Le transport des produits phytopharmaceutiques dans la plante, du sol vers les parties aériennes ou des feuilles vers les fruits ou fleurs peut être expliqué par les propriétés physico-chimiques de la substance considérée. Les métabolites produits sont stockés dans les vacuoles et les parois cellulaires des végétaux étant donné l'absence d'organes d'excrétion dans la plante [Al-Sayed, 2007; Skidmore & Ambrus, 2004].

A. INFLUENCE DE LA STRUCTURE DE LA PLANTE

Toute substance étrangère à un organisme va y pénétrer par les racines ou les feuilles. Pour que l'eau et les solutés absorbés par les cellules externes des racines puissent se rendre aux cellules internes, trois voies de transport radial peuvent être empruntées (Fig.6). La première (a) consiste à franchir plusieurs fois la membrane plasmique et les parois des cellules qui se trouvent sur leur parcours. L'autre voie de transport (b) est celle qui consiste à voyager via le symplaste c'est-à-dire l'ensemble du cytoplasme des cellules mises en réseau par les plasmodesmes. Pour finir, la dernière voie empruntable (c) est celle qui emprunte l'apoplaste, la voie continue formée par les parois cellulaires, les interstices qu'elles délimitent et les cellules mortes du xylème [Al-Sayed, 2007; Campbell, 1995].

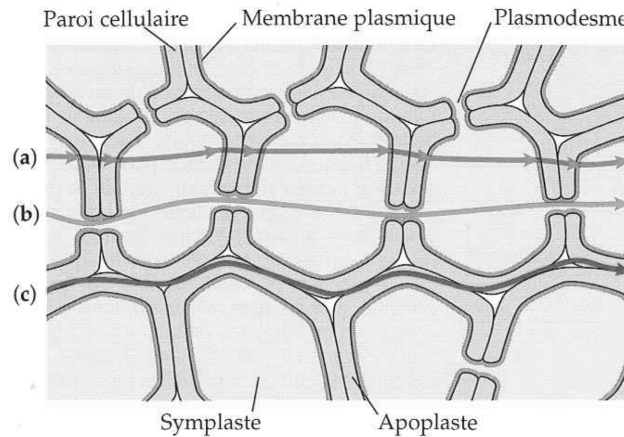


Fig.6 : Les trois voies de transport radial [Campbell, 1995]

Pour pouvoir être transporté sur de longues distances, c'est-à-dire des racines aux feuilles, le courant de masse, mouvement d'un fluide sous pression, permet à l'eau et aux solutés de se déplacer dans les conduits vasculaires : le phloème et le xylème (Fig.7). Le xylème est premièrement concerné par le transport de l'eau à partir des racines, alors que le phloème transporte les nutriments depuis les feuilles matures et les racines vers les jeunes feuilles et racines et permet le développement des fruits et des semences. Dans le phloème, une pression s'exerce à l'extrémité du tube criblé, ce qui force la sève à se rendre à l'autre extrémité du tube. Dans le xylème, la transpiration au niveau des feuilles réduit la pression, créant ainsi une tension qui permet le transport vertical [Campbell, 1995; Skidmore & Ambrus, 2004].

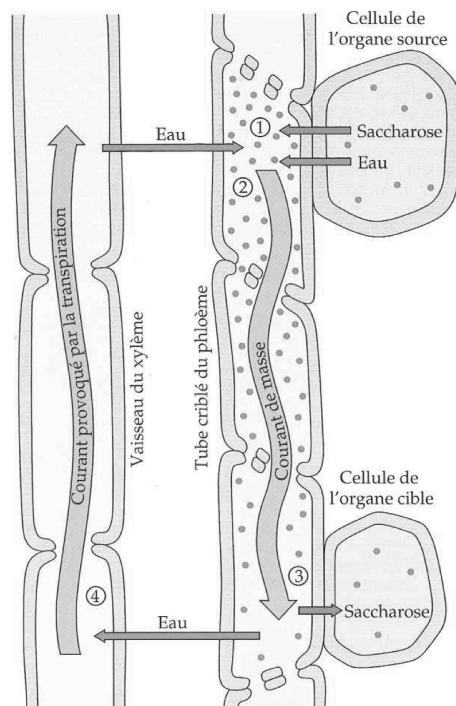


Fig.7 : Courant de masse dans un tube criblé : xylème (portion du tissu conducteur en forme de tube, non vivante, qui transporte l'eau et les minéraux des racines aux feuilles) et phloème (portion de tissu vasculaire composée de cellules vivantes disposées dans des tubes allongés ; achemine le saccharose et les autres nutriments organiques dans l'ensemble de la plante) [Campbell, 1995]

La vitesse d'écoulement de l'eau dans le xylème est 50 à 100 fois plus importante que celle dans le phloème. Le xylème a un pH similaire à la plupart des tissus de la plante (pH 5-6) alors que celui du phloème est alcalin (> 8). La rétention des composés dans le xylème est régie par le coefficient de partage octanol-eau, $\log K_{ow}$. Il permet d'évaluer la lipophilie d'un composé et est calculé en faisant le quotient de la concentration du pesticide retrouvée dans l'octanol et de celle retrouvée dans l'eau. Le K_{ow} est souvent exprimé sous forme d'un logarithme et retrouvé sous la forme de $\log P$ ou $\log K_{ow}$. Cette valeur permet de caractériser la polarité d'un pesticide. En effet, la molécule se retrouve dans le milieu qui a la même polarité qu'elle. Si $\log K_{ow} > 3$: la substance est considérée comme liposoluble et donc bioaccumulable. L'octanol est utilisé pour mesurer le K_{ow} car c'est un solvant qui possède une polarité très similaire à celle des

membranes lipidiques et donc permet de mesurer la capacité à se bioaccumuler dans les organismes vivants. Pour rester dans le xylème et être accumulé aux pointes et bords des feuilles, le coefficient de partage d'un composé non ionisé est optimum à 1,8 [Al-Sayeda, 2007; Satchivi, 2001; Skidmore, 2004] .

B. ABSORPTION ET TRANSFERT A PARTIR DU SOL

Un transfert des pesticides contenus dans le sol vers la plante peut exister comme observé dans le cadre de la thèse d'Al-Sayeda [Al-Sayeda, 2007]. En effet, ce dernier a montré qu'un pesticide, en l'occurrence l'imidaclopride (systémique), appliqué sur le sol peut se retrouver dans le plant de tomate et dans le fruit. Le chercheur a observé que le taux d'adsorption par les plants de tomates de résidus d'imidaclopride du sol a diminué proportionnellement avec l'âge de la contamination du sol, avec une demi-vie de 63 jours. Il a également mis en évidence que l'accumulation dans les fruits est beaucoup plus faible que celle dans les feuilles [Al-Sayeda, 2007; Al-Sayeda *et al.*, 2007]. Juraske *et al.* ont également réalisé une étude sur la combinaison imidaclopride et tomates. Ils ont observé que la concentration de résidus d'imidaclopride sur les tomates est cinq fois plus importante lorsque ce dernier a été appliqué de manière foliaire que par un traitement du sol [Juraske *et al.*, 2009].

Les facteurs pouvant influencer l'absorption à partir du sol sont décrits ci-dessous mais ce type de transfert n'a pas été considéré dans le cadre de cette thèse étant donné qu'il est assez limité et que nous voulions nous concentrer sur les pesticides choisis qui ont tous été appliqués sur les plants et non sur le sol. Nous n'avons par conséquent pas recherché d'autres pesticides qui auraient été appliqués lors de cultures précédentes.

Disponibilité dans le sol

Un pesticide présent dans le sol est soumis aux phénomènes de sorption sur les particules du sol et de pertes qui limitent la quantité de produit chimique disponible pour l'absorption des plantes. L'adsorption d'un composé sur la

matière organique du sol peut être évaluée par la distribution entre le sol et l'eau (K_d). Cette absorption est proportionnelle à la lipophilie du composé lorsque la molécule est non ionisable et au taux de matières organiques du sol. L'adsorption de la matière organique (K_{om}) peut être estimée à partir du K_d ($K_d = K_{om} * \% \text{matière organique} / 100$) ou du K_{ow} ($\log K_{om} = 0.52 \log K_{ow} + 0.62$). Dans le cas d'un sol avec un contenu en carbone organique de 1 à 5%, les produits chimiques lipophiles non ionisés ($\log K_{ow} > 4$) seront fortement adsorbés avec un $K_d > 10$. Les produits chimiques modérément lipophiles, quant à eux, ($2 < \log K_{ow} < 4$) seront modérément adsorbés avec un K_d compris entre 1 et 10 [Al-Sayeda, 2007; Regnault-Roger, 2005].

Absorption à partir du sol

Les pesticides peuvent être absorbés par les racines soit par la phase vapeur, soit par l'eau du sol. Ce sont les propriétés physico-chimiques de chaque pesticide et plus particulièrement l'équilibre de composés organiques volatils entre la phase vapeur et liquide décrit par la loi de Henry qui détermineront l'itinéraire majoritaire. Les composés organiques avec une constante de Henry élevée seront fortement concentrés dans la phase vapeur comparée à celle de l'eau dans le sol. Ceux avec une constante de Henry faible seront absorbés par les racines à partir de la phase aqueuse et les composés avec des valeurs intermédiaires emprunteront les deux voies [Al-Sayeda, 2007; Campbell, 1995].

Translocation des racines vers les parties aériennes

Les composés ne peuvent pas se déplacer de la racine vers la partie aérienne uniquement par la voie apoplastique car celle-ci est bloquée au niveau de l'endoderme (Fig.8). L'endoderme est la couche cellulaire interne de l'écorce des racines, entourant la stèle. Dans l'endoderme, une substance cireuse, la subérine, imperméable à l'eau et aux minéraux forme un anneau de cire, appelé bande de Caspary, tangent à la stèle (Fig.8). La bande de Caspary oblige les minéraux à atteindre le xylème de la racine en traversant les membranes. Tout composé se déplaçant avec le flux de transpiration et qui atteint les parties aériennes, sera accumulé dans les sites où la transpiration

est la plus grande c'est-à-dire au niveau des feuilles matures et du pourtour des limbes [Al-Sayeda, 2007; Campbell, 1995].

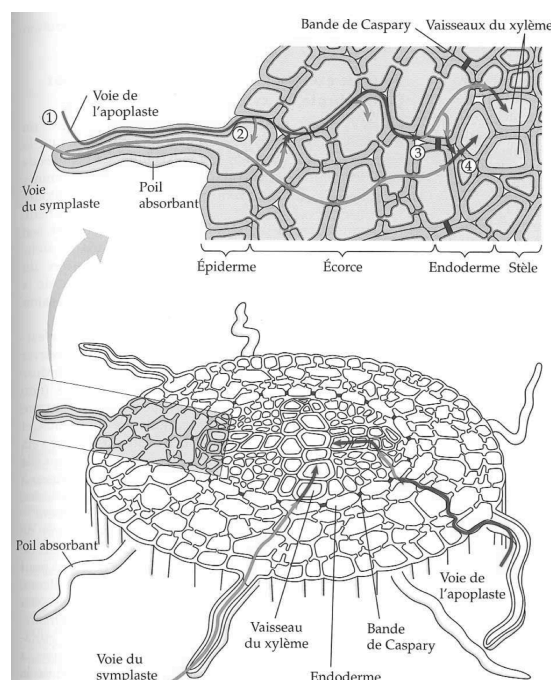


Fig.8 : Transport radial des minéraux et de l'eau dans les racines. (1) L'eau et les minéraux qui traversent la membrane plasmique des poils absorbants pénètrent dans le symplaste ; (2) Une partie des molécules et de l'eau vont passer de l'apoplaste vers le symplaste ; (3) Les minéraux se déplaçant dans l'apoplaste sont bloqués par les bandes de Caspary et doivent passer dans le symplaste pour pénétrer dans le xylème ; (4) L'eau et les minéraux absorbés du sol peuvent être acheminés vers les feuilles [Campbell, 1995]

Pour rappel, les vaisseaux phloémiens sont constitués de cellules vivantes et de ce fait les produits doivent traverser une membrane pas très différente de celle de l'endoderme pour pénétrer dans le courant phloémien. Les composés qui ont réussi à pénétrer dans le xylème à partir des racines, doivent donc être capables de pénétrer dans le phloème. La translocation d'un composé dans le phloème dépend de deux mécanismes : l'absorption du composé par les tubes criblés du phloème à partir des tissus environnants et le maintien du composé dans le phloème pendant la

translocation. Le pH du phloème étant de 8, les composés faiblement acides qui passent d'un état non ionisé à pH 5 seront ionisés à pH 8 et ainsi bloqués dans le phloème. En général, les composés faiblement acides ou zwitterioniques resteront dans le flux du phloème tandis que les composés neutres très polaires ne traverseront pas suffisamment les membranes pour être capables d'entrer dans les vaisseaux phloémiens et ne seront pas transférés. Les composés neutres de lipophilie intermédiaire ($1 < \log K_{ow} < 3$) traversent les membranes facilement et donc pénètrent dans le phloème mais ressortent immédiatement dans le volume plus grand du xylème qui d'autre part a un débit plus important. Les pesticides neutres de perméabilité intermédiaire ($\log K_{ow} \sim -0.5$) peuvent pénétrer dans le phloème et y rester [Al-Sayeda, 2007; Campbell, 1995; Satchivi *et al.*, 2001; Skidmore & Ambrus, 2004].

C. ABSORPTION A PARTIR DES FEUILLES

L'absorption est considérée comme le mouvement des xénobiotiques à travers les membranes. Ils peuvent passer à l'intérieur ou à l'extérieur des cellules par diffusion passive, par osmose ou mécanismes de transport actif. La plupart des herbicides sont absorbés par la plante par diffusion passive. Ceux qui sont faiblement acides peuvent conduire à une concentration plus élevée dans la cellule qu'à l'extérieur étant donné la capture d'ions pour les composés alcalins présents dans la cellule (le cytoplasme a un pH voisin de 7,5). Quant aux herbicides faiblement basiques, ils vont s'accumuler dans des compartiments plus acides comme les vacuoles (pH 5,5) [Campbell, 1995; Satchivi *et al.*, 2001; Skidmore & Ambrus, 2004].

La surface extérieure des feuilles et de la plupart des fruits et des tiges est couverte par une couche cireuse, ou cuticule, qui sert de barrière à la perte d'eau par la plante (Fig.9). Le rôle de la cuticule est de ralentir l'absorption des xénobiotiques par le feuillage de la plante.

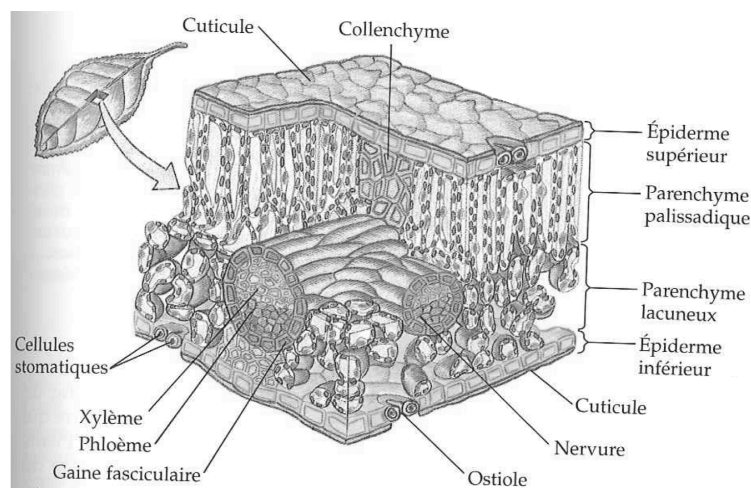


Fig.9 : Coupe d'une feuille montrant l'organisation des trois catégories de tissus : tissus de revêtement (épiderme), tissus conducteurs (phloème et xylème) et tissus fondamentaux (parenchymes palissadique et lacuneux constitués de cellules photosynthétiques) [Campbell, 1995]

Les composés appliqués sur les parties aériennes ne doivent pas traverser le symplaste contrairement aux composés passant par les racines. Par contre, ils doivent franchir la cuticule plus ou moins cireuse selon le type de plante et l'âge. Avec l'âge, des fractures dans la couche cireuse forment des pores hydrophiles permettant le passage des molécules les plus hydrophiles [Al-Sayed, 2007; Skidmore & Ambrus, 2004]. En général, les pesticides ayant un coefficient de partage octanol-eau compris entre 1 et 3 seront absorbés plus facilement que des pesticides se trouvant en-dehors de cette gamme. Les propriétés physico-chimiques influençant l'absorption sont définies comme étant la lipophilicité, l'acidité, la membrane cellulaire et le potentiel électrochimique dans la cellule [Al-Sayed, 2007; Campbell, 1995; Skidmore & Ambrus, 2004]. La lipophilie est l'affinité qu'un produit chimique a pour la phase lipidique par rapport à la phase aqueuse. C'est la propriété la plus importante concernant le transfert dans les plantes. Cette lipophilie détermine la facilité de transport à travers les membranes et les bicouches lipidiques des plantes ainsi que le potentiel de transfert à longue distance via le xylème et le phloème. La présence de groupes fonctionnels ou le poids

moléculaire ne semble pas avoir beaucoup d'influence sur les propriétés de systémie. L'adsorption de composés sur les éléments solides des plantes au niveau de la cuticule foliaire ou sur le cortex racinaire limite aussi l'absorption et le transfert à longue distance et est aussi fonction de la lipophilie [Al-Sayeda, 2007; Satchivi *et al.*, 2001; Skidmore & Ambrus, 2004].

D. TRANSFERT DES PESTICIDES VERS LES FRUITS ET LEGUMES

La majorité des données sur le transfert des pesticides dans les plantes concerne la partie végétative de la plante. Il existe peu de données sur le transfert de ceux-ci vers les parties reproductives. Les trois facteurs principaux qui affectent la quantité résiduelle dans le fruit sont le transfert du pesticide vers le fruit avec le courant de transpiration par le xylème, le transfert vers le fruit par le phloème et la perte par dégradation [Al-Sayeda, 2007].

E. INFLUENCE DU TYPE DE PESTICIDES SUR LE TRANSFERT DANS LA PLANTE

Concernant le transfert dans la plante, il existe deux catégories principales de pesticides : les pesticides de contact et les systémiques [Al-Sayeda, 2007]. La systémie est la capacité que certains pesticides ont à être absorbés par la plante, soit par les racines, soit après application sur la végétation et qui sont véhiculés par la sève dans les différents organes. La plante devient, par sa sève, toxique pour ses ennemis.

Un pesticide de contact va, quant à lui, rester sur la feuille à la surface de la cuticule, tandis qu'un pesticide systémique va traverser la cuticule ou être absorbé par les racines après traitement du sol et circuler dans la plante. Certains pesticides systémiques vont monter dans la plante en se déplaçant dans le xylème (via la voie apoplastique) avec le courant de transpiration comme moteur (Fig.6, Fig.7). D'autres vont se déplacer dans le phloème (via la voie symplastique) en étant transportés de façon généralement acropétale

et basipétale. *A priori* un pesticide systémique se déplaçant dans le xylème peut être moins présent dans le fruit qu'un pesticide systémique se déplaçant dans le phloème. La dernière classe de pesticides systémiques sont les ambimobiles qui se déplacent à la fois dans le xylème et dans le phloème (Fig.7) [Al-Sayeda, 2007; Campbell, 1995].

En conclusion, l'absorption des produits chimiques par les plantes à partir du sol, de la cuticule et de l'atmosphère ainsi que leur distribution dans les tissus est affectée par les propriétés du composé, le type de plante et l'environnement [Al-Sayeda, 2007; Satchivi *et al.*, 2001].

4. SUBSTANCES ACTIVES ETUDIEES

Toutes les substances actives se présentent sous un état physique peu compatible avec les équipements d'application. Différents types d'appareils sont utilisés pour l'application basée sur le poudrage (poudre sèche dispersée dans un courant d'air), la pulvérisation (petites gouttelettes divisées par passage sous pression dans des têtes de jets) ou la nébulisation (nuage de fines gouttelettes émis dans un courant d'air). Le potentiel d'activité des substances actives étant élevé et les doses d'application de plus en plus faibles, elles doivent être diluées pour assurer un dosage aisé, une répartition uniforme et une diminution des risques pour l'utilisateur. Les adjuvants, substances dépourvues d'activités biologiques susceptibles de modifier les qualités physiques ou physico-chimiques, sont utilisés pour mettre les substances actives en suspension. Ils peuvent également jouer un rôle dans le transport du pesticide dans la plante [Singh, 2012].

Dans notre cas, les substances actives ont été appliquées en solution et sous forme de mélange. Etant donné que chaque substance active agit indépendamment des autres, il ne faut pas que les formulations interfèrent entre elles chimiquement ou physiquement. Il fallait donc veiller à avoir une compatibilité agronomique, biologique (phytotoxicité) et physique (floculation, grumeaux,...) [Singh, 2012].

Les pesticides peuvent être classés sur base de leurs structures chimiques, du mode d'action, de la méthode d'entrée dans l'organisme ou des organismes cibles. Le premier système de classification repose sur le nuisible cible (mauvaises herbes, insectes,...) et le deuxième tient compte de la nature chimique de la substance active. Ils peuvent également être classés par classes de danger (Tableau 1, p 17) [Campbell, 1995; Merhi, 2008; Singh, 2012].

La suite de cette partie reprend la distinction entre les différents groupes de pesticides ainsi que les différentes substances actives choisies en collaboration avec l'AFSCA.

A. LES INSECTICIDES

Les insecticides ont été introduits dans l'agriculture depuis plus de 100 ans mais le véritable avènement des insecticides de synthèse eut lieu avec l'utilisation du DDT lors de la Seconde Guerre mondiale par l'armée américaine [Copping & Hewitt, 1998; Singh, 2012].

Les insecticides sont classés par familles chimiques : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes, les régulateurs de croissance, les néonicotinoïdes...[Davies *et al.*, 2004; Regnault-Roger, 2005]. Lors de cette thèse, nous avons étudié des substances actives faisant partie des familles suivantes :

- Organophosphorés : chlorpyrifos, dimethoate, omethoate
- Carbamates : pirimicarb
- Pyréthriinoïdes : λ -cyhalothrine, deltamethrine
- Néonicotinoïdes : acetamiprid, thiamethoxam
- Triazines : cyromazine

Les insecticides agissent selon trois mécanismes d'action différents : action sur le système nerveux, perturbation de la fonction respiratoire ou réduction

de la croissance [Regnault-Roger, 2005]. Les mécanismes d'action sont détaillés ci-dessous pour les cinq familles d'intérêt.

Organophosphorés (chlorpyrifos, dimethoate, omethoate)

Les pesticides organophosphorés sont des esters neutres ou des dérivés amide de l'acide phosphorique contenant un groupement phosphoryl (P-O) ou un groupement thiophosphoryl (P-S) (Fig.10) [Regnault-Roger, 2005; Singh, 2012].

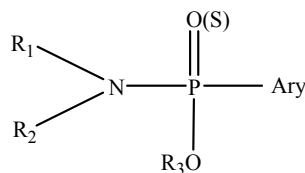


Fig.10 : Formule générale des organophosphorés. R₁, R₂ et R₃ sont des groupements alkyls et Ary est un radical inorganique ou organique (Cl, F, SCN, CH₃COO) [Singh, 2012]

Les organophosphorés sont tout de suite activés et dégradés chez les mammifères et les micro-organismes. Par conséquent, ils ne sont pas persistants et sont biodégradables [Singh, 2012].

La toxicité de ces insecticides est due à leur capacité d'inhiber l'enzyme vitale du système nerveux : l'acétylcholinestérase. Cette enzyme a pour rôle de détruire le transmetteur chimique, l'acétylcholine, une fois qu'il est fixé sur la membrane post-synaptique et ainsi de stopper l'impulsion électrique lors de la transmission d'influx nerveux [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005; Singh, 2012].

Carbamates (pirimicarb)

Les carbamates sont des esters de l'acide carbamique (HOOC.NH₂) avec des propriétés insecticides (Fig.11) [Regnault-Roger, 2005; Singh, 2012].

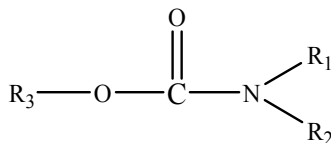


Fig.11 : Formule générale des carbamates. R1 et R2 sont des hydrogènes, méthyl, éthyl, propyl ou d'autres courtes chaînes d'alkyls et R3 est un phénol, un anneau naphthyl ou un autre hydrocarbure cyclique ou un dérivé oxime [Singh, 2012]

La particularité des carbamates est leur faible toxicité pour les mammifères avec un large spectre pour le contrôle des insectes. Ils ont à la fois une toxicité de contact et stomacale. Les carbamates sont dégradés par plusieurs réactions enzymatiques : l'hydrolyse, l'oxydation et la conjugaison [Singh, 2012].

Les synapses sont également la cible des carbamates via l'inhibition de l'acétylcholinestérase. Les signes d'intoxications sont similaires à ceux des organophosphorés. Cependant l'inhibition de l'enzyme est réversible en quelques minutes car le complexe formé entre le carbamate et l'enzyme est moins stable que pour les organophosphorés [Copping & Hewitt, 1998; Lauwerys *et al.*, 2007; Singh, 2012].

Pyréthrinoïdes (λ-cyhalothrine, deltamethrine)

Les premiers pyréthrinoïdes ont été développés à partir de composés naturels du pyrèthre, composé extrait du Chrysanthème (Fig.12).

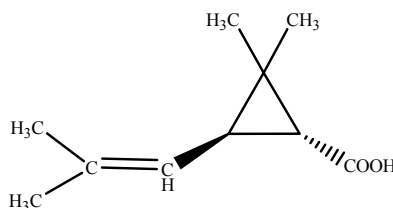


Fig.12 : Structure du pyrèthre naturel

Ce sont des esters formés par la combinaison de deux acides, l'acide chrysanthémique et l'acide pyréthrique et de trois acides cétoniques (Fig.13) [Regnault-Roger, 2005; Singh, 2012].

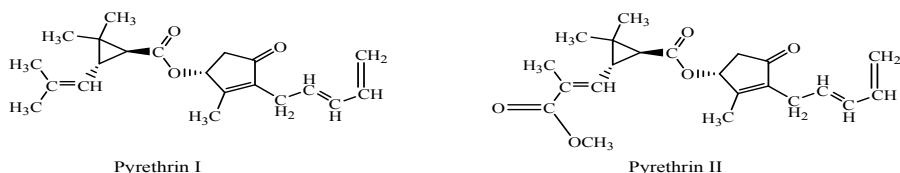


Fig.13 : La pyréthrine I est l'acide chrysanthémique et la pyréthrine II est l'acide pyréthrique [Singh, 2012]

Ces composés sont des produits chimiques organochlorés, fluorés ou bromés avec une structure similaire à celle des pyréthrines et les liaisons esters sont liposolubles et donc bioaccumulables dans les organismes non cibles [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005; Singh, 2012].

Ce sont des neurotoxiques affectant à la fois le système nerveux central et le système périphérique au niveau de la transmission axonale de l'influx nerveux causant des décharges répétitives des nerfs qui peuvent provoquer une paralysie [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005; Singh, 2012].

Néonicotinoïdes (acetamiprid, thiamethoxam)

Cette nouvelle classe d'insecticides a été développée au cours des trois dernières décennies. Ils ne sont pas protonés et ont un groupement électronégatif nitro ou cyano induisant l'hydrophobicité de ces composés. Par conséquent, ils agissent comme des poisons systémiques.

Ces insecticides ne sont pas dérivés de la nicotine mais par contre, ils ont le même site d'action que cette dernière. Ils agissent tout comme les organophosphorés et les carbamates au niveau de la synapse cholinergique. Ils se lient aux récepteurs post-synaptiques nicotiniques de l'acétylcholine des insectes qui sont considérablement différents de ceux des mammifères leur conférant ainsi une remarquable sélectivité [Regnault-Roger, 2005; Singh, 2012].

Triazine (cyromazine)

Ce sont des composés synthétiques avec un effet de régulateur de croissance. Ils agissent sur les insectes en perturbant la croissance et le

Chapitre 2 : Etat des connaissances

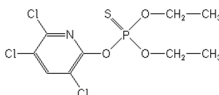
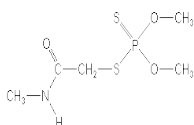
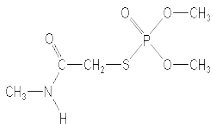
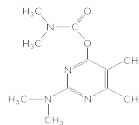
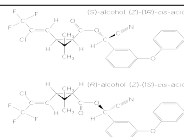
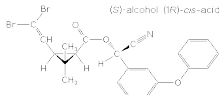
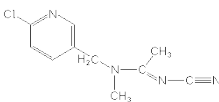
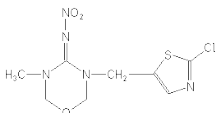
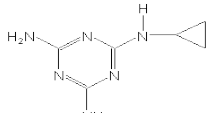
développement normal des larves ou nymphes en les empêchant ou en retardant leur passage au stade adulte, entraînant indirectement leur mort. A côté de ces juvénoides ou mimétiques d'hormones juvéniles, il existe également les mimétiques d'hormones de mue accélérant les premiers événements de mue sans qu'elle n'aboutisse réellement. Pour finir, il existe une troisième classe de régulateur de croissance dont fait partie la cyromazine. Ce sont les inhibiteurs de chitine qui est l'élément de la cuticule de l'insecte qui constitue une protection et un élément du squelette. [Regnault-Roger, 2005; Singh, 2012].

Ces insecticides sont respectueux de l'environnement. Ils ont une faible toxicité pour les mammifères et une sélectivité élevée pour les insectes [Singh, 2012].

Les fonctions ainsi que les structures chimiques des substances actives étudiées dans cette thèse se retrouvent dans le Tableau 2.

Chapitre 2 : Etat des connaissances

Tableau 2 : Données pour chaque insecticide utilisé dans notre étude [BCPC, 2009; Fytoweb, 2012]. Les propriétés physico-chimiques dans le travail sont reprises dans le Marque-page

Insecticides		Structure chimique	Contrôle	
	Chlorpyrifos	Dursban 5G GR		Contrôle de parasites de feuillage tels que <i>Coleoptera</i> , <i>Diptera</i> , <i>Homoptera</i> et <i>Lepidoptera</i> présents dans le sol ou sur les feuilles de centaines de cultures. Contrôle de nuisibles d'animaux domestiques ou d'hommes (moustiques, puces,...). Insecticide non systémique avec action de contact, stomacale et respiratoire.
Organophosphorés	Dimethoate	Perfekthion S 500		Contrôle une variété de parasites tels qu' <i>Aphididae</i> , <i>Coleoptera</i> et <i>Lepidoptera</i> sur les céréales, les fruits, les légumes, le tabac et le thé. Substance systémique et acaricide avec une action de contact et stomacale.
	Omethoate	/		Métabolite de dégradation du dimethoate le plus toxique identifié.
Carbamates	Pirimicarb	Pirimor WG		Contrôle des pucerons pour une vaste gamme de culture. Insecticide systémique sélectif avec action de contact, stomacale et respiratoire. Absorption par les racines et translocation dans le xylème. Pénétration des feuilles mais n'est pas transloqué largement.
Pyréthrinoides	λ-cyhalothrine	Karate CS		Paire la plus active d'énantiomère de la cyhalothrine. Utilisé pour le contrôle des ectoparasites sur les céréales, les légumes, le coton et d'autres cultures. Egalement utilisé pour le contrôle des nuisibles en santé publique. Substance avec une action de contact et stomacale ainsi qu'une propriété de répulsion. Provoque une immobilisation rapide.
	Deltaméthrine	Decis EC 2.5		Contrôle une large variété de nuisants tels que <i>Coleoptera</i> , <i>Heteroptera</i> , <i>Homoptera</i> , <i>Lepidoptera</i> et <i>Thysanoptera</i> pour les céréales ainsi que certains fruits et légumes. Substance non systémique avec une action de contact et stomacale. Action rapide.
Néonicotinoïdes	Acetamiprid	Gazelle SP		Contrôle des pucerons <i>Hemiptera</i> , <i>Lepidoptera</i> et <i>Thysanoptera</i> , par application du sol ou foliaire, sur une grande variété de cultures, spécialement sur les fruits, les légumes et le thé. Substance systémique avec une activité translaminare et une action de contact et stomacale.
	Thiamethoxam	Actara 25 WG		Contrôle d'un large spectre de nuisibles tels que les pucerons, les aleurodes, les cochenilles, les larves de taupins et les coléoptères sur les légumes fruit et feuille, les betteraves, les pommes de terre et les céréales par traitement foliaire et du sol. Insecticide avec action de contact, stomacale et systémique.
Triazine	Cyromazine	Trigard 100 SL		Contrôle des larves <i>Diptera</i> dans les fientes de poulets d'élevage et des mouches sur le bétail. Quand il est appliqué sur les feuilles, il a une action systémique et montre un effet translaminare tandis que s'il est appliqué sur le sol, il est capté par les racines et transloqué de façon acropétale.

B. LES FONGICIDES

Les fongicides représentent un groupe de pesticide très important d'un point de vue économique. Les champignons présentent des similitudes et des différences par rapport aux animaux et aux plantes. Ils sont nucléés et possèdent des parois cellulaires bien définies mais ils sont porteurs de spores et ne réalisent pas la photosynthèse. Les champignons sont extrêmement sensibles aux pressions environnementales et présentent une grande capacité à s'adapter et à coloniser une grande variété de niches écologiques provoquant ainsi des problèmes de résistance aux fongicides. Ces champignons sont des pathogènes des animaux incluant les hommes, les insectes, les nématodes et représentent la cause principale des maladies chez les plantes [Copping & Hewitt, 1998; Davies *et al.*, 2004; Regnault-Roger, 2005].

Les fongicides sont mobiles ou immobiles dans les plantes :

- Fongicides mobiles : ce sont des pesticides systémiques ou translaminaires (traversent les assises laminaires, la feuille, et se localisent sur l'autre face) capables de pénétrer la cuticule des feuilles et d'entrer dans le symplaste ou l'apoplaste. Ils empêchent les maladies de se développer sur des parties de la plante lointaine du site d'application. Ce type de fongicide a une action curative en inhibant le développement du mycélium ou en le détruisant étant donné qu'il va entrer en contact avec celui-ci dans les cellules des plantes attaquées. Ces fongicides ont des cibles moléculaires ou enzymatiques particulières aux champignons de manière à éviter de porter préjudice aux plantes [Copping & Hewitt, 1998; Davies *et al.*, 2004].
- Fongicides immobiles : ce sont des pesticides de contact non pénétrant qui protègent la plante ou le fruit contre les infections au niveau du site d'application. Malgré le fait que leur distribution peut être modifiée à l'aide d'adjuvants ou de techniques de pulvérisation pour accroître la pénétration du spray à l'intérieur du feuillage, ils

ne peuvent se déplacer une fois appliqués, que par l'action de la pluie. Ces produits sont utilisés préventivement et doivent recouvrir uniformément le feuillage avant que la spore n'ait germé. Il faut renouveler régulièrement l'application pour renouveler la couche de protection car lorsque les feuilles poussent, cette couche se fracture et laisse la possibilité aux pathogènes d'envahir la plante [Copping & Hewitt, 1998; Davies *et al.*, 2004].

Tout comme pour les insecticides, les fongicides font partie de plusieurs familles chimiques qui sont reprises ci-dessous pour les pesticides d'intérêt ainsi que pour leur mode d'action.

Benzimidazole (carbendazim)

Ce sont les premiers fongicides systémiques avec une action curative. Ces substances sont composées d'un benzène fusionné à un imidazole, c'est-à-dire un hétérocycle aromatique avec deux azotes [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005].

Les benzimidazoles sont des agents inhibiteurs des mitoses chez les champignons cibles. Ils ont une affinité importante pour la tubuline et par conséquent perturbent la mitose au niveau de la métaphase en attaquant le fuseau mitotique et en perturbant la ségrégation des chromosomes entraînant ainsi la mort cellulaire [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005].

L'usage de ce type de fongicide est en régression suite à l'apparition de souches résistantes et à l'apparition de produits plus sélectifs et performants [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005].

Carbamates (propamocarb)

Les carbamates fongicides sont des composés anti-phycomycètes. Ces produits sont systémiques via le flux de transpiration mais quelques mouvements symplastiques peuvent également être observés. Ces composés affectent directement la biosynthèse de l'acide nucléique en inhibant l'adénosine désaminase, une enzyme clé dans la voie de récupération des

purines qui recycle les bases libérées lors de la décomposition de l'acide nucléique. Il résulte de cette inhibition une croissance anormale. L'absence de purine chez les plantes permet d'avoir une bonne spécificité de ces fongicides [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005].

Triazoles et imidazoles (difenoconazole, tebuconazole, imazalil)

Ces composés contiennent un hétérocycle azoté attaché à un groupement lipophile en position 1. Ces deux groupes de pesticides sont des inhibiteurs d'ergostérols. Les stérols jouent un rôle essentiel dans la croissance, le développement, le métabolisme et l'intégrité des cellules. Ils sont localisés dans les membranes cellulaires, leur conférant une stabilité et contrôlant la perméabilité. Ces fongicides ont donc pour effet de perturber les fonctions des parois cellulaires et d'influencer la croissance et la morphologie des organes des champignons. Les imidazoles et les triazoles sont pénétrants (symplastiques) ou systémiques (apoplastiques), ont un large spectre d'activité et sont curatifs [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005].

Dithiocarbamates (maneb, mancozeb)

Les dithiocarbamates sont souvent employés comme fongicides dans l'agriculture étant donné leur activité chimique et biologique élevée et leur faible coût de production. Ce sont des complexes polymériques avec des métaux de transition, comme le manganèse dans le maneb ou le zinc dans le zineb, mancozeb et propineb. La dégradation en éthylèthiourée (ETU), plus toxique que le composé parent, est favorisée par les pH élevés, la chaleur et le contact intensif avec un liquide sur la récolte moissonnée [Timme & Walz-Tylla, 2004].

Ce sont des fongicides de contact multi-sites affectant les processus respiratoires qui génèrent de l'énergie sous forme d'ATP. Ils sont utilisés dans un cadre préventif en traitement des parties aériennes ou en traitement des semences. Ce sont des agents chélatants avec des groupements chimiques soufrés ou azotés présentant une certaine affinité pour les cations essentiels comme ceux du fer, du magnésium et du zinc. Leur capacité

d'interagir avec les groupements thiol (-SH) essentiellement situés sur les sites actifs enzymatiques leur permet aussi bien d'inactiver les enzymes de la glycolyse que du cycle de Krebs et de la chaîne respiratoire [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005].

Carboxamides (boscalid)

Le boscalid est le dernier carboxamide qui a été mis au point et qui a un spectre d'action plus large que les premiers carboxamides [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005].

Ce sont des fongicides qui agissent en inhibant la respiration et plus particulièrement en inhibant le complexe mitochondrial II ou succinate déshydrogénase. Ce complexe est le seul système enzymatique du cycle de Krebs qui est lié à la membrane cytoplasmique. Quatre protéines codées par des gènes nucléaires le composent et l'une d'entre elles est une flavoprotéine (CII₁) qui se lie au succinate tandis qu'une protéine fer-soufre (CII₂) comporte un site de fixation du coenzyme Q. Les protéines CII₃ et CII₄ permettent d'ancrer tout le complexe II à la membrane mitochondriale. Les carboxamides agissent en s'intercalant entre les protéines CII₂ et CII₃ entraînant l'arrêt du transfert d'électrons du succinate vers le coenzyme Q [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005].

Strobilurines (azoxystrobine)

Les strobilurines forment une famille polyvalente dérivée de substances naturelles. L'azoxystrobine contient le même toxophore, un méthyl β -méthoxyacrylate, que les strobilurines naturelles. La polyvalence de ces fongicides les rapproche des fongicides multi-sites tels que les dithiocarbamates mais avec l'avantage de demander des doses d'application une dizaine de fois plus faibles. De plus, ces substances présentent des transferts translaminaires et certaines peuvent être véhiculées par le xylème favorisant une bonne persistance d'action des strobilurines et des activités curatives. En outre, elles maintiennent une coloration verte du feuillage et éliminent de nombreux micro-organismes réduisant ainsi les demandes en

énergie des plantes qui ne doivent plus se défendre contre ces nuisibles [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005].

Les strobilurines inhibent le complexe mitochondrial III ou cytochrome bc1. Ce dernier assure le transfert des électrons du coenzyme Q au cytochrome c. Ce complexe est composé d'une dizaine de molécules dont le cytochrome b qui contient deux sites de fixation du coenzyme Q. Un de ces sites est situé sur la face interne de la membrane mitochondriale (Qi) permettant la réduction de l'ubiquinone et l'autre sur la face externe (Qo) permettant l'oxydation de l'ubiquinol. Les strobilurines font partie des inhibiteurs de la phosphorylation oxydative en se fixant donc sur le site Qo [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005].

Dicarboximides (iprodione)

Le développement des dicarboximides et leur succès commercial ont été favorisés par la résistance des champignons observée pour les benzimidazoles. Ils inhibent la germination de spores et provoquent la ramification, l'enflure et la lyse des tubes germinatifs et des hyphes. Ils entraînent également une accumulation cytoplasmique des polyols. Le traitement avec des dicarboximides à certaines concentrations peut également affecter le développement du mycélium en inhibant spécifiquement la cytochrome c réductase, bloquant ainsi le transfert d'électrons du NADPH au cytochrome c [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005].

Les fongicides utilisés dans notre étude se retrouvent avec leur fonction et leur structure chimique dans le Tableau 3.

Chapitre 2 : Etat des connaissances

Tableau 3 : Données pour chaque fongicide utilisé dans notre étude [BCPC, 2009; Fytoweb, 2012]. Les propriétés physico-chimiques dans le travail sont reprises dans le Marque-page

Fongicides			Structure chimique	Contrôle
Strobilurines	Azoxystrobine	Ortiva Top SC		Contrôle de différents pathogènes sur les céréales, le riz, les vignes, les fruits et légumes, le café et les noix. Propriétés protectrices, curatives, éradiquantes, translaminaires et systémiques.
	Difenoconazole	Ortiva Top SC Geyser 250 EC		Contrôle les Ascomycètes, les Basidiomycètes et les Deuteromycètes une grande variété de fruits, légumes, céréales et riz par application foliaire ou des semences. Fongicide systémique avec une action préventive et curative. Absorption par les feuilles avec une importante translocation acropétale et translaminaire.
Triazoles	Tebuconazole	Horizon EW		Contrôle de nombreux pathogènes sur une large gamme de cultures. Substance systémique avec action de protection, curative et éradiquante. Rapidement absorbé dans les parties végétatives de la plante avec une translocation essentiellement acropétale.
	Carbendazim	Punch SE		Contrôle de différents pathogènes sur les céréales, le riz, les vignes, les betteraves sucrières, les fruits et légumes et le coton. Substance systémique avec action de protection et curative. Absorption via les racines et les tissus verts avec une translocation acropétale.
Benzimidazole	Imazalil	Fungaflor EC		Contrôle une large gamme de champignons comprenant <i>Tilletia</i> et <i>Helminthosporium</i> spp. sur les fruits et les végétaux. Fongicide systémique avec une action préventive et curative.
	Boscalid	Signum WG		Actif contre une large variété de pathogènes fongiques incluant le <i>Botrytis</i> spp., <i>Alternaria</i> spp. et <i>Sclerotinia</i> spp. Il est utilisé sur les fruits, les légumes et les céréales. Pesticide foliaire avec un mouvement translaminaire et acropétale dans la feuille, fournissant une action préventive et pour certains cas, curative.
Carbamates	Propamocarb	Previcur N SL		Contrôle spécifique des <i>Phycomycètes</i> par application foliaire ou bassinage des semences des légumes et fruits. Substance systémique avec action de protection. Absorption via les racines et les feuilles, et transfert acropétale.
Dithiocarbamates	Maneb	Trimangol 75 WG		Contrôle d'un large éventail de champignons, notamment le mildiou, la tache, la rouille et la tavelure sur grande variété de cultures. Fongicide à large spectre, de contact avec une action de protection.
	Mancozeb	Indofil M-45 WP		
Dicarboximides	Iprodione	Rovral 500 SC		Contrôle de <i>Botrytis</i> , <i>Minilla</i> , <i>Sclerotinia</i> et d'autres maladies sur une grande variété de cultures. Substance de contact avec une action de protection et curative.

C. LES HERBICIDES

Les herbicides sont des pesticides employés pour contrôler les adventices ou mauvaises herbes. En général, ils sont appliqués en début de saison lorsque la croissance des mauvaises herbes peut inhiber la germination ou la croissance rapide d'une culture [Copping & Hewitt, 1998; Davies *et al.*, 2004; Regnault-Roger, 2005].

Phenylcarbamates (chlorpropham, phenmedipham)

Les phenylcarbamates (Aryl-NH-CO-O-alkyl) font partie des herbicides foliaires. Leur absorption s'effectue par diffusion à travers la cuticule et s'effectuera d'autant mieux que le produit sera lipophile et que les mouvements d'eau dans la plante seront importants [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005].

Ils agissent en inhibant la germination et la division cellulaire et interfèrent avec les centres organisateurs des microtubules provoquant la désorganisation du fuseau achromatique. Ces herbicides agissent au niveau des méristèmes (tissu végétal demeurant embryonnaire tout au long de la vie des végétaux et leur permettant une croissance indéfinie) en provoquant un gonflement au niveau des parties aériennes de la plante [Campbell, 1995; Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005].

Urées (linuron)

Les urées sont absorbées via le sol par l'entrée d'eau dans la zone des poils absorbants des racines. Les herbicides neutres ou de lipophilie moyenne ($1,5 < \log K_{ow} < 2,5$), comme les urées, sont favorisés par cette propriété qui leur permet de franchir facilement les bandes de Caspary et de se retrouver dans le flux du xylème et du phloème [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005].

Ce sont des inhibiteurs de la photosynthèse en entravant le transfert d'électrons entre des ensembles protéiques dont les principaux sont les photosystèmes I et II. Les urées empêchent ainsi la production de sucre et

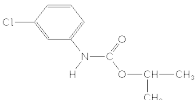
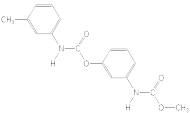
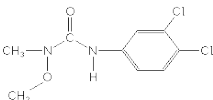
Chapitre 2 : Etat des connaissances

provoquent indirectement la mort de la cellule [Copping & Hewitt, 1998; Regnault-Roger, 2005].

La sélectivité de ces herbicides est métabolique (choix du pesticide en fonction de la culture) mais également de position. Les urées ne vont être absorbées que sur les couches superficielles du sol, au-dessus de la zone où les racines de la culture puisent l'eau. Par contre, les adventices proviennent en général de germinations superficielles c'est-à-dire que leur système racinaire se retrouve dans la zone du sol riche en herbicide [Regnault-Roger, 2005].

Les herbicides utilisés dans notre étude se retrouvent avec leur fonction et leur structure chimique dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Données pour chaque herbicide utilisé dans notre étude [BCPC, 2009; Fytoweb, 2012]. Les propriétés physico-chimiques dans le travail sont reprises dans le Marque-page

Herbicides		Structure chimique	Contrôle
Carbamates	Chlorpropham Aliacine EC		Contrôle de l'apparition de germes sur les pommes de terre et contrôle de pré-émergence pour une large variété d'adventices. Herbicide systémique directement absorbé par les racines et transloqué de façon acropétale.
	Phenmedipham Kontakt 320 SC		Contrôle de la plupart des mauvaises herbes à larges-feuilles dans leurs premières étapes de croissance pour la culture de betteraves, d'épinards, de fraises et de pois. Pesticide systémique sélectif, absorbé par les feuilles, avec translocation dans l'apoplaste.
Urées	Linuron Linuris 500 SC		Contrôle de la pré- et la post-émergence d'herbe annuelle et de mauvaises herbes à larges-feuilles pour les cultures de fruits, légumes, café et céréales. Herbicide systémique sélectif, absorbé principalement par les racines mais aussi par les feuilles avec une translocation acropétale dans le xylème.

5. METHODES D'ANALYSE DES RESIDUS DE PESTICIDES

Bon nombre de méthodes permettant d'analyser les résidus de pesticides dans différentes matrices sont publiées, certaines consacrées à l'analyse de

plusieurs résidus de pesticides lors de la même extraction et injection et d'autres ciblées sur l'analyse d'une seule substance active à la fois. Les méthodes d'analyse comportent plusieurs étapes. La première est l'extraction qui permet d'isoler le pesticide de sa matrice. La deuxième est optionnelle et concerne la purification de l'extrait. Cette étape permet d'éliminer ou de réduire suffisamment la concentration des interférences de la matrice. La dernière étape concerne la détermination instrumentale pour assurer l'identification du composé ainsi que sa concentration [Regnault-Roger, 2005].

A. METHODES MULTI-RESIDUS

Les méthodes d'analyses multi-résidus permettent de séparer, identifier et quantifier un grand nombre de pesticides différents simultanément. Toutes ces méthodes multi-résidus ayant différentes techniques d'extraction et/ou de purification, types de chromatographies et de détecteurs font l'objet de nombreuses publications et sont reprises dans plusieurs « reviews » [Fernandez-Alba & Garcia-Reyes, 2008; Pico & Barcelo, 2008; Sherma, 2001; Soler & Pico, 2007; Torres *et al.*, 1996]. Elles sont souvent utilisées pour la surveillance et la conformité de l'alimentation [OECD, 2008].

La première étape d'une méthode d'analyse consiste à extraire les résidus de pesticides des matrices d'intérêt. Elles sont souvent réalisées avec de l'acétonitrile, de l'éthyl acétate, de l'acétone ou du méthanol. La méthode QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe) est la méthode d'extraction la plus répandue mais également controversée qui est basée sur une extraction à l'acétonitrile et qui connaît bon nombre de variantes suivant les composés à extraire. La deuxième étape avant l'injection de l'échantillon est une étape de purification qui n'est pas nécessairement obligatoire. Cette dernière peut être une purification sur phase solide (SPE), une extraction liquide-liquide, une perméation sur gel, une purification à l'aide d'une matrice en phase solide de dispersion (MSPD). Après ces étapes, deux techniques chromatographiques sont principalement utilisées : la

chromatographie gazeuse (GC) ou la chromatographie liquide (LC). La LC s'applique aux substances non volatiles et aux matériaux thermiquement instables, contrairement à la GC. Les chromatographes sont couplés à un détecteur. A l'heure actuelle, le spectromètre de masse (MS) est devenu le détecteur universel et est légalement accepté comme technique de confirmation. Dans le mode scan, les capacités de détection d'un spectromètre de masse se rapprochent de celles d'un détecteur d'ionisation par flamme (FID) plutôt non sélectif, tandis que le mode d'ionisation sélective (SIM) ou MS/MS permet d'augmenter la sélectivité [Fernandez-Alba & Garcia-Reyes, 2008; Pico & Barcelo, 2008; Sherma, 2001; Skoog *et al.*, 2002; Soler & Pico, 2007; Torres *et al.*, 1996].

Les critères de l'analyse multi-résidus sont basés sur la précision, la limite de détection (LOD), la limite de quantification (LOQ), la sélectivité, la robustesse, la vitesse, la simplicité et/ou le coût [OECD, 2008]. Le laboratoire « Pesticides » de l'ISP dispose de méthodes multi-résidus validées selon ces critères.

B. METHODES SPECIFIQUES

Les méthodes spécifiques sont destinées aux composés ne pouvant pas être intégrés dans une analyse multi-résidus. Elles sont aussi privilégiées lors de la réalisation d'études destinées à l'évaluation des pesticides pour les dossiers d'homologation et ainsi à la détermination des schémas de métabolisation et de leur comportement dans l'environnement [Regnault-Roger, 2005].

Au sein du laboratoire, plusieurs méthodes spécifiques sont déjà validées. Lors de cette thèse, celle pour le dosage des dithiocarbamates, les plus vieux et les plus répandus des fongicides organiques, a été utilisée. Cette méthode est basée sur le dosage de CS₂ en plaçant l'échantillon dans un milieu acide contenant un catalyseur. Les dithiocarbamates sont peu toxiques mais par contre ils peuvent se dégrader en métabolites plus toxiques (ETU, PTU).

Dans la littérature, plusieurs méthodes spécifiques pour la détermination de l'ETU sont disponibles. Certaines ont été développées pour d'autres matrices que les fruits et légumes et sont difficilement transposables pour ceux-ci entre autres en raison des interférences importantes obtenues lors de l'analyse de fruits et légumes à l'aide d'un détecteur UV [Debbbarh & Moore, 2002; Dubey *et al.*, 1997; Kazos *et al.*, 2007; Sottani *et al.*, 2003; Startin *et al.*, 2005]. D'autres concernent les fruits et légumes mais sont développées avec l'utilisation du dichlorométhane nécessitant souvent une étape de purification [Blasco, 2004; Kontou, 2001]. Par conséquent, il était nécessaire de développer et valider une méthode d'analyse de l'ETU rapide et moins polluante pour l'environnement [Bonnechère *et al.*, 2011].

6. TRANSFORMATIONS DES FRUITS ET LEGUMES

Etant donné que les LMRs ne sont pas des limites toxicologiques maximales, et que les résidus de pesticides sont mesurés dans les commodités brutes pour calculer le risque pour la santé lié à la présence de résidus de pesticides dans les fruits et légumes, il est nécessaire d'évaluer le plus correctement possible les quantités réellement ingérées. En effet, la plupart du temps, durant les transformations alimentaires telles que le lavage, l'épluchage, la mise en conserve ou la cuisson, une diminution significative des résidus de pesticides est observée. Il se peut cependant que la concentration en résidus augmente en fonction des conditions du processus et des propriétés physico-chimiques des résidus [Comité scientifique de l'AFSCA, 2010; Kaushik *et al.*, 2009].

L'élément qui permet d'affiner l'évaluation du risque est le **facteur de transformation (PF)** qui une fois multiplié par les concentrations mesurées sur les commodités brutes, permet de donner les informations nécessaires pour l'évaluation de la quantité de pesticides ingérés. Les études de PFs permettent donc de déterminer la distribution quantitative de résidus dans des produits intermédiaires et finaux variés, d'obtenir des informations sur les produits de dégradation qui peuvent demander une étude de risque

séparée et d'utiliser les résultats comme base pour fixer la LMR pour les produits transformés. Par définition, **le PF est le rapport entre la concentration de pesticide dans la commodité transformée et la concentration de pesticide dans la commodité non transformée**. Si le PF est inférieur à 1, la concentration en résidus a diminué suite à la transformation, tandis que si le PF est supérieur à 1, la concentration en résidus a augmenté [OECD, 2008].

Les propriétés physico-chimiques des pesticides sont importantes. En effet, si le coefficient de partage octanol-eau est supérieur à 3, les résidus seront probablement concentrés dans l'huile. Si le résidu est stable à l'hydrolyse, il ne sera pas dégradé lors du stockage et s'il résiste à la chaleur, la cuisson n'aura pas d'influence sur sa concentration. Dans le cas où le résidu est fortement soluble dans l'eau, il sera probablement concentré dans le jus, ainsi que le vin [Perny, 2010]! La teneur en résidus peut donc être également influencée par le stockage. En effet, l'étude de Cabras *et al.* (1995) a analysé la persistance de sept insecticides organophosphorés (chlorpyrifos-méthyl, dimethoate, fenthion, methidathion, parathion, parathion-méthyl et quinalphos) dans l'orange. Les résidus de ces insecticides se retrouvent seulement dans l'épluchure sauf le dimethoate mais la quantité de résidus est tellement faible qu'elle n'est pas longtemps détectable après l'intervalle avant récolte (PHI) [Cabras *et al.*, 1995].

Les techniques de transformation des aliments impliquent d'établir des méthodes et techniques utilisées pour transformer les ingrédients bruts en alimentation prête à la consommation. L'effet de ces transformations sur les résidus de pesticides a déjà fait l'objet de reviews [Holland *et al.*, 1994; Kaushik *et al.*, 2009; Timme & Walz-Tylla, 2004]. Ces études sur la nature des résidus lors de préparations alimentaires sont une clé pour la compréhension de la présence de ceux-ci dans l'alimentation. Les objectifs principaux de ces études ont été définis en 1999 par la FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues [FAO, 2000]. Les PFs permettent d'obtenir des informations à propos des produits de dégradation qui demandent une

Chapitre 2 : Etat des connaissances

étude du risque séparée ainsi que de déterminer la distribution quantitative des résidus dans divers produits transformés [Skidmore & Ambrus, 2004].

Par conséquent, pour mener ces études de PFs, il faut que les conditions d'études soient représentatives de celles utilisées pour l'usage domestique et industriel. Pour les produits transformés de manière domestique, il faut prendre le même matériel et utiliser les mêmes techniques de préparation que celles employées à la maison. Pour les transformations industrielles, il faut utiliser des unités pilotes [Perny, 2010].

Même si un certain nombre de PFs connus du « The Federal Office of Consumer Protection and Food Safety » ne sont pas disponibles pour le grand public, un relevé systématique des PFs accessibles a été réalisé. Diverses combinaisons matrices-pesticides-transformations ont déjà été étudiées et se retrouvent dans le Tableau 5 et dans l'Annexe I dans laquelle on peut retrouver tous les détails concernant les différentes combinaisons et les sources de chaque PF retrouvé. Comme résumé dans le Tableau 5, nous pouvons aisément nous rendre compte que la gamme des PFs est extrêmement large suivant la matrice ou le type de transformations utilisées. En effet, la gamme de PFs pour tous les pesticides étudiés est comprise entre $< 0,01$ et 5, ce qui signifie que les transformations peuvent éliminer plus de 99% des résidus de pesticides mais également aller jusqu'à les concentrer cinq fois !

Chapitre 2 : Etat des connaissances

Tableau 5: Gamme de facteurs de transformation retrouvés dans la littérature, les JMPRs et les DARs pour les pesticides étudiés dans ce travail. Le tableau détaillé reprenant tous les facteurs de transformation, les types de transformation, la nature des commodités et la source se retrouve en Annexe I.

Pesticides	Commodités	Types de transformation	Facteur de transformation
Acetamiprid	Prunes	Séchage	5
Azoxystrobine	Oranges, prunes, raisins, tomates	Jus, huile, séchage, purée, stérilisation	< 0,08 - 4,8
Boscalid	Pomme, prunes, raisins, pois	Jus, séchage, purée, lavage, cuisson, stérilisation	0,08 - 2,8
Carbendazim	Orange, raisins	Epluchage, séchage	0,2 - 2
Chlorpropham	Pommes-de-terre	Epluchage, cuisson	0,01 - 0,8
Chlorpyrifos	Oranges, citrons, pommes, raisins, tomates, poivrons, asperges, choux, choux de Bruxelles, concombres, aubergines, soja, pêches	Jus, huile, lavage, cuisson, épluchage, vin, séchage, purée, concentré, blanchiment	0,03 - 4
Cyhalothrine-lambda	Oranges, pommes, raisins, tomates, épinards, poivrons	Jus, lavage, cuisson, épluchage, séchage, concentré	0,06 - 1,68
Cyromazine	Tomates, pommes-de-terre	Lavage, jus, stérilisation, purée, concentré, ketchup, épluchage, chips	0,53 - 2,8
Deltamethrine	Pommes, tomates	Jus, lavage, cuisson, épluchage, purée, concentré	<0,09 - 1
Difenoconazole	Pommes, raisins, carottes, tomates	Lavage, jus, stérilisation, compote, séchage, purée	0,04 - 1,8
Dimethoate	Oranges, raisins, tomates, pommes-de-terre, choux, mangue	Jus, lavage, concentré, cuisson, épluchage	< 0,01 - 0,81
Ométhoate	Orange	Jus	0,21
Dithiocarbamates	Oranges, bananes, tomates, carottes, asperges, poivrons, pommes, pêches, épinards, céleris	Cuisson, stérilisation, lavage, jus, épluchage, pomace, épluchage	< 0,01 - 1 (+ jusqu'à 32% d'apparition)
Imazalil	Clémentines, raisins, citrons verts, mandarines, mineolas, oranges, pomelos, citrons, bananes, clausellina, satsuma	Epluchage, lavage, cuisson	0,03 - 1,6
Iprodione	Tomates, carottes, pommes, poivrons, prunes	Jus, purée, ketchup, lavage, cuisson, blanchiment, épluchage	0,09 - 2,1
Linuron	Carottes	Jus, cuisson	0,29 - 0,3
Pirimicarb	Pommes, poivrons, pruneaux, prunes, tomates	Jus, compote, lavage, épluchage, stérilisation, purée	0,2 - 2,11
Propamocarb	Tomates, choux	Purée, concentré, cuisson, stérilisation	0,15 - 3
Tebuconazole	Raisins, bananes, pommes, oranges, prunes, pruneaux	Jus, séchage, vin, pomace, épluchage, compote, cuisson, lavage, stérilisation	0,05 - 6
Thiamethoxam	Oranges, citrons, pommes, tomates, pommes-de-terre	Jus, cuisson, épluchage, chips, frites	1

En plus des transformations le stockage a également une influence sur la quantité de résidus présente sur les commodités. Par exemple, Fenoll *et al.* ont observé ce phénomène en travaillant sur des poivrons. Ils ont pulvérisé du tebuconazole à deux reprises et ensuite ils ont récolté les poivrons à des moments différents pour établir une cinétique. Immédiatement après la récolte, les échantillons étaient broyés. L'homogénat de chaque échantillon a été congelé à -30°C dans des bacs en polyéthylène pour les analyses ultérieures. Un test a été réalisé, en plaçant des poivrons dans une chambre froide à 4 °C et dans le noir après la première application. Les analyses ont révélé qu'après sept jours de la première application, le niveau de résidus était déjà bien en-dessous de la LMR. Avant la seconde application, la concentration en résidus était de 0,12 mg/kg et deux heures après cette application, elle était 0,37 mg/kg. Sept jours après cette deuxième application, la concentration en résidus était à nouveau en-dessous de la LMR. Ils se sont rendu compte que les échantillons qui avaient été conservés à 4 °C dans le noir juste après l'application avaient une concentration plus élevée en résidus que les échantillons qui étaient restés sur le champ. Cette différence de concentration peut être attribuée au fait que pour les échantillons réfrigérés, il n'y a que la dégradation enzymatique qui peut être prise en compte, étant donné que la photodégradation et l'évaporation sont négligeables [Fenoll *et al.*, 2009].

Les comportements des différentes combinaisons matrices-pesticides reprenant les pesticides d'intérêt de cette thèse sont repris et détaillés dans les sous-sections suivantes et l'Annexe I.

A. LAVAGE

Le lavage est en général la première étape de traitements variés. En lavant les commodités, plusieurs travaux ont montré que les résidus à la surface et une grande partie des composés polaires comme le carbaryl sont éliminés [Kaushik *et al.*, 2009].

Les études réalisées pour établir le DAR du **boscalid** nous apprennent que suite au lavage, les résidus de ce dernier sont éliminés de moitié sur les pois [DAR: Germany, 2002].

Les résidus de **chlorpropham** sur les pommes de terre sont quant à eux diminués de 20% si le PHI était de 28 jours et de 30% si le PHI n'était que de 10 jours [Lentza-Rizos & Balokas, 2001].

Pas mal d'études ont été réalisées sur le **chlorpyrifos** en combinaison avec diverses matrices. Le procédé de lavage a été étudié par Chavarri *et al.* (2005) sur les asperges et les tomates, par Zhang *et al.* (2006) sur les choux tout comme Ling *et al.* (2011) qui ont également étudié les choux de Bruxelles, les tomates, les concombres et les aubergines [Chavarri *et al.*, 2005; Ling *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2006]. Lors des études de Chavarri et de Zhang, les asperges et les choux ont été lavés avec de l'eau du robinet. Cependant, Zhang *et al.* (2006) ont aussi étudié l'effet d'un nettoyage avec une solution d'acide acétique et un autre avec du NaCl [Zhang *et al.*, 2006]. Les asperges perdaient 24% des résidus de chlorpyrifos tandis que les choux de 18 à 80% suivant la méthode de lavage utilisée (Annexe I). Ling *et al.* tout comme Zhang *et al.* (2006) ont testé trois sortes de lavage : eau du robinet, solution de détergent et solution de NaCl. Il s'avère que suivant les matrices, l'élimination des résidus de chlorpyrifos est plus efficace avec un type de lavage qu'avec un autre. En effet, un lavage avec une solution de NaCl permet d'éliminer plus de résidus dans les choux et les choux de Bruxelles. Par contre, les aubergines sont mieux lavées avec la solution de détergent et les concombres avec un simple rinçage à l'eau du robinet (Annexe I). Le soja quant à lui ne perd que 11.2% de ses résidus de chlorpyrifos lors du lavage [Kaushik *et al.*, 2009]. Les pommes ont été étudiées par Rasmussen *et al.* (2003) et il s'avère que les résidus de chlorpyrifos ne sont absolument pas affectés par le lavage ou le lavage suivi d'un essuyage [Rasmussen *et al.*, 2003]. Les résidus sur les pêches le sont un peu plus avec une diminution de 18% [Balinova *et al.*, 2006].

Le devenir des résidus de **λ -cyhalothrine** suite au lavage a été étudié par deux groupes. Rasmussen *et al.* (2003) ont observé que ces résidus n'étaient

pas affectés après le lavage ou lavage et essuyage des pommes, contrairement aux observations faites par Lee et Jung (2009). En effet, ces derniers ont observé une diminution de 70% des résidus sur les poivrons [Lee & Jung, 2009; Rasmussen *et al.*, 2003].

Un groupe d'expert a étudié la **cyromazine** sur les tomates. Les résidus de cette dernière sont éliminés de 29% [FAO Plant Production and Protection Paper, 2007].

Pour la **deltamethrine**, Rasmussen *et al.* (2003) ont étudié les pommes et sont arrivés aux mêmes observations que pour la λ -cyhalothrine et le chlorpyrifos, à savoir que le lavage n'élimine pas de résidu [Rasmussen *et al.*, 2003].

Les résidus de **difenoconazole** ont été suivis dans les pommes et les tomates. Pour ces deux matrices, la réduction est du même ordre (25-30%) [BfR, 2009; Kong *et al.*, 2012].

Kaushik *et al.* (2009) ont rapporté que les résidus de **dimethoate** étaient éliminés de 81% suite au lavage et au séchage des raisins et de 19 à 92% suivant le lavage (eau du robinet, solution d'acide acétique ou solution de NaCl) effectué sur les tomates [Kaushik *et al.*, 2009].

Les résidus de **dithiocarbamates** en association avec les tomates, les carottes et les asperges sont réduits de 43 à plus de 90% (Annexe I) [Burchat, 1998; Chavarri *et al.*, 2005]. Kaushik *et al.* (2009) ont rapporté qu'au départ, les haricots verts contenaient une moyenne de 1,49 ppm d'EBDCs et un niveau très faible du métabolite, l'ETU. Lorsqu'ils ont été lavés pendant 2 minutes à l'eau froide, ils ont perdu 45% d'EBDCs sans que le niveau d'ETU n'ait été affecté [Kaushik *et al.*, 2009].

Timme et Walz-Tylla (2004) ont rapporté que les oranges lavées à 20°C perdaient 20% des résidus d'**imazalil** alors que lorsqu'elles sont lavées à 50°C, ils sont réduits de 40% [Timme & Walz-Tylla, 2004].

L'**iprodione** est une autre substance active assez bien étudiée sur diverses matrices. Burchat *et al.* (1998) ont observé que celui-ci était réduit de 46% lors du lavage des tomates et des carottes [Burchat *et al.*, 1998]. Dans les prunes, une diminution de 50% a été observée par le groupe de Cabras (1998) [Cabras *et al.*, 1998] et pour les poivrons, 80% des résidus de chlorpyrifos ont disparu [Lee & Jung, 2009]. Cabras *et al.* (1998) émettent l'hypothèse que la diminution des résidus lors du lavage n'est pas due à une solubilisation des pesticides mais bien au fait que les pesticides ont été adsorbés sur la poussière présente sur les matrices. Lors du lavage, la poussière est éliminée et les résidus aussi [Cabras *et al.*, 1998]. Finalement, ce sont à nouveau les pommes qui ne sont pas touchées par cette transformation [Rasmussen *et al.*, 2003].

En lavant plusieurs fois les pommes et les poivrons avec de l'eau distillée, les résidus de **pirimicarb** sont réduits de 30% et 40% pour les tomates [Timme & Walz-Tylla, 2004]. Pour les prunes, la perte n'est que de 11% [BfR, 2009].

Le dernier pesticide étudié et se retrouvant dans la littérature est le **tebuconazole**. Les groupes d'experts ont rapporté lors des JMPRs de 1994, 1997 et 2008 que 30% des résidus de tebuconazole étaient éliminés suite au lavage des prunes [FAO Plant Production and Protection Paper, 1995; FAO Plant Production and Protection Paper, 1998; FAO Plant Production and Protection Paper, 2009].

Les pêches, les choux-fleurs, les fraises, les épinards, les pommes de terre, les citrons, les oranges, les pommes, les haricots, les brocolis, la salade et les tomates ont également été soumis à d'autres études de transformations en association avec d'autres pesticides. Ces études nous apprennent que certains pesticides sur certaines commodités ne sont pas du tout affectés par l'étape de lavage et que d'autres peuvent être réduits jusqu'à 95% [Balnova *et al.*, 2006; Boulaid *et al.*, 2005; Christensen *et al.*, 2003; Fernandez-Cruz *et al.*, 2006a; Holland *et al.*, 1994; Randhawa *et al.*, 2007].

B. EPLUCHAGE

Une seconde étape importante lors des transformations des fruits et légumes est l'épluchage. Plusieurs méthodes peuvent être utilisées telles que l'épluchage chimique, mécanique, à la vapeur ou au gel [Kaushik *et al.*, 2009; Timme & Walz-Tylla, 2004].

Une fois les oranges épluchées, il reste 20% des résidus de **carbendazim** dans la pulpe [BfR, 2009].

Le **chlorpropham** en association avec les pommes de terre est extrêmement affecté par l'épluchage avec une réduction de plus de 94% [FAO Plant Production and Protection Paper, 2002; Lentza-Rizos & Balokas, 2001].

L'épluchage est également très efficace pour éliminer les résidus de **chlorpyrifos** des oranges, pommes et asperges avec une réduction de minimum 73% (Annexe I) [Chavarri *et al.*, 2005; FAO Plant Production and Protection Paper, 2001; FAO Plant Production and Protection Paper, 2005; Rasmussen *et al.*, 2003].

Les résidus de **λ -cyhalothrine** et de **deltamethrine** sont éliminés de 80 à 87% des pommes lors de l'épluchage [Rasmussen *et al.*, 2003].

La **cyromazine**, quant à elle, n'est réduite que de 10% des pommes de terre [FAO Plant Production and Protection Paper, 2007].

L'évolution de la concentration des **dithiocarbamates** suite à l'épluchage a été largement étudiée sur diverses matrices. Dans l'étude de Burchat *et al.*, les tomates et les carottes présentent le même comportement : les dithiocarbamates ne sont pas éliminés [Burchat *et al.*, 1998]. Cette absence de réduction va à l'encontre des connaissances acquises étant donné que les dithiocarbamates sont des pesticides de contact multi-sites, nous nous attendrions à observer une nette diminution. De plus, un PF voisin de un signifie qu'ils arrivent à pénétrer dans la plante. Hors vu leur action multi-sites, ils risquent de causer des dégâts aux cultures à protéger. Cependant lors de notre étude, les carottes et les tomates avaient été préalablement lavées et les résidus fortement éliminés. Par conséquent, l'épluchage ne

permet sans doute pas d'éliminer des résidus supplémentaires par rapport au lavage. Seulement, 12-13% des résidus de dithiocarbamates sont éliminés des oranges et des bananes [BfR, 2009]. Il n'y a plus que 71% de résidus retrouvés dans les pêches, 25% dans les asperges et moins de 1% dans les poivrons qui ont en plus été égrainés [Chavarri *et al.*, 2005].

Le comportement de l'**imazalil** suite à l'épluchage est fortement étudié et notamment vis-à-vis des agrumes. Quel que soit le type d'agrumes, la réduction d'imazalil est drastique allant de 85 à 97% (*Annexe I*). Cette tendance est également observée pour les raisins mais est nettement moins prononcée pour les bananes (48%) [BfR, 2009].

L'**iprodione** se retrouve fortement concentré dans la pulpe de tomates et à raison de 62% dans la chair de carottes [Burchat, 1998]. Pour les pommes, il est par contre réduit d'environ 90% et les résidus de **pirimicarb** sont, quant à eux, réduits de 60 à 80% [Rasmussen *et al.*, 2003].

Dans le cas du **tebuconazole**, les résidus sont réduits d'au moins 78% dans les oranges mais de maximum 20% dans les bananes [FAO Plant Production and Protection Paper, 1995; FAO Plant Production and Protection Paper, 1998; FAO Plant Production and Protection Paper, 2009; Timme & Walz-Tylla, 2004]. Ces différences observées pourraient être expliquées par la différence biologique entre les deux commodités mais également par le moment d'application des pesticides. En effet, dans un des deux cas, le traitement ait peut-être été réalisé en post-récolte mais les moments d'application n'ont pas été précisés.

Pour finir, le **thiamethoxam** dans les pommes de terre n'est pas affecté par cette transformation [DAR: Spanien, 2006].

Il est à noter que contrairement au lavage, les résidus de pesticides étudiés et retrouvés sur les pommes sont tous affectés par l'épluchage [Rasmussen *et al.*, 2003].

D'autres études ont montré que la concentration en pesticides la plus importante se trouve dans l'épicarpe des fruits et des légumes et que les

peler peut éliminer plus de 50% des résidus de pesticides présents sur ces matières premières. L'épluchage d'une pomme de terre permet d'éliminer plus de 99% des résidus de fenitrothion présents à 1,43 ppm un jour après le traitement. Il permet aussi de diminuer de 91 à 98% des résidus de chlorpropham des pommes de terre d'une concentration initiale de 3,8 ppm dans des tubercules individuels, 10 jours après l'application [Kaushik *et al.*, 2009; Timme & Walz-Tylla, 2004] . La quantité de résidus enlevée par épluchage des tomates est d'environ 70% pour le pyridabene et d'environ 100% pour le pyrifenoxy et la tralométhrine [Boulaid *et al.*, 2005]. Les niveaux de captan diminuent de plus de 90% après l'épluchage de kakis. Le trichlorfon pénètre dans la chair avec la proportion de 70% de résidus dans le PHI [Fernandez-Cruz *et al.*, 2006b].

Burchat *et al.* (1998) ont aussi démontré que quand la couronne et les racines de la carotte étaient analysées séparément, des résidus de cyperméthrine, diazinon et parathion étaient trouvés de manière concentrée dans la couronne, avec des résidus non détectables dans les racines. Similairement, quand la carotte entière était pelée, des traces de résidus étaient détectées dans la racine avec presque tous les résidus concentrés dans les épluchures. Donc pour les consommateurs, le fait d'enlever la couronne et d'éplucher les carottes permet d'éliminer une très grande partie des résidus. Ce résultat était attendu étant donné que tous les pesticides examinés étaient non systémiques et devaient provoquer la présence de résidus à la surface et au sol adhérent aux carottes [Burchat *et al.*, 1998].

C. CUISSON

La cuisson est un autre moyen qui permet l'élimination d'une grande partie des résidus de pesticides par volatilisation pour les systèmes ouverts et par hydrolyse pour les systèmes fermés. La cuisson peut se faire de manière ordinaire, à la pression, au micro-ondes ou à la friteuse. Les aliments peuvent aussi être stérilisés et mis en conserve. Suivant leur solubilité dans l'eau, certains pesticides seront transférés des commodités à l'eau de

cuisson. Si ce n'est pas le cas, les pesticides restent dans les aliments selon leur coefficient de partage octanol-eau qui est un indicateur des propriétés hydrophiles ou lipophiles du composé [Kaushik *et al.*, 2009; Timme & Walz-Tylla, 2004].

Blanchiment

Le blanchiment à l'eau chaude augmente en général l'élimination des résidus par rapport au lavage et peut hydrolyser des fractions substantielles de composés non-persistants. Les pesticides non-polaires sont tenacement ancrés dans les peaux cireuses des fruits et légumes et sont par conséquent moins affectés par ce procédé [Kaushik *et al.*, 2009].

Peu d'études ont eu lieu sur le comportement des résidus de pesticides suite au blanchiment. Les résidus de **chlorpyrifos** et de **dithiocarbamates** sur les asperges sont éliminés à raison de 83% et de 100% respectivement [Chavarri *et al.*, 2005].

Plus de 90% de résidus de **λ-cyhalothrine** et 88% de résidus d'**iprodione** sont éliminés suite au lavage et au blanchiment des poivrons [Lee & Jung, 2009].

D'autres études ont montré que blanchir les pommes de terre, contaminées à un niveau de 1 ppm, après les avoir épluchées permet de réduire les résidus de 26% pour l'HCB, le lindane, le p.p-DDT et de 47% pour le **dimethoate**, le pirimiphos-méthyl et le malathion, respectivement. Selon Kaushik *et al.*, le blanchiment affecte plus les pesticides organophosphorés que les organochlorés ce qui peut être dû à la stabilité élevée des organochlorés vis-à-vis du traitement thermique [Kaushik *et al.*, 2009].

Cuisson au micro-ondes

Peu d'études ont été réalisées sur l'effet de la cuisson au micro-ondes sur les pesticides choisis.

En effet, concernant les pesticides étudiés dans ce travail, seul l'**imazalil** en association avec les oranges est traité dans la littérature. Cette combinaison a été étudiée lors de la préparation d'une marmelade au micro-ondes. Le PF

obtenu est de 1.6, traduisant ainsi une concentration des résidus d'imazalil dans cet aliment. L'étude a également été réalisée pour une cuisson de marmelade traditionnelle, n'apportant pas grand changement au PF de 1.5 [Timme & Walz-Tylla, 2004].

Une autre étude a été réalisée avec la combinaison pommes de terre – thiabendazole. Friar *et al.* ont comparé les effets de la cuisson au micro-ondes et de la cuisson au four. Dans les deux cas, les résidus étaient principalement retrouvés dans les épluchures et les résidus ne migraient pas dans la chair au cours du traitement. Cependant aucune perte n'était observée [Friar & Reynolds, 1991].

Stérilisation

La réduction observée suite à la stérilisation est supérieure à 64% pour l'**azoxystrobine** dans les tomates, le **boscalid** dans les pois, le **difenoconazole** dans les carottes et tomates et le **propamocarb** dans les choux (Annexe I) [DAR: Germany, 2002; FAO Plant Production and Protection Paper, 2007; FAO Plant Production and Protection Paper, 2008; FAO Plant Production and Protection Paper, 2009].

Pour le **tebuconazole** et le **pirimicarb** dans les prunes ainsi que la **cyromazine** dans les tomates, la réduction est comprise entre 30 et 50% [BfR, 2009; FAO Plant Production and Protection Paper, 1995; FAO Plant Production and Protection Paper, 1998; FAO Plant Production and Protection Paper, 2008; FAO Plant Production and Protection Paper, 2009].

Concernant les **dithiocarbamates**, une étude rapportée par Kaushik *et al.* (2009) montre que le **maneb** était éliminé totalement par ce procédé mais par contre 32% d'ETU étaient formés en contrepartie [Kaushik *et al.*, 2009].

Types de cuisson variés non utilisés dans notre étude

Un processus de cuisson très étudié est la préparation de compote et de purée. Dans ce cas, les trois matrices à entrer en jeu sont les tomates, les pommes et les prunes. Le seul pesticide commun aux trois matrices est le **pirimicarb** qui diminue de 50% et 20% chez les pommes et les prunes,

Chapitre 2 : Etat des connaissances

respectivement [BfR, 2009; FAO Plant Production and Protection Paper, 2007]. Par contre, dans la purée de tomates, il est concentré de 50% !

Le **boscalid** dans la purée de prunes est carrément doublé tandis que le **tebuconazole** n'est pas affecté par ce procédé [FAO Plant Production and Protection Paper, 1995; FAO Plant Production and Protection Paper, 1998; FAO Plant Production and Protection Paper, 2007; FAO Plant Production and Protection Paper, 2009]. Ce dernier a également été recherché dans la compote de pommes et retrouvé deux fois moins concentré que dans les pommes de départ [FAO Plant Production and Protection Paper, 1995; FAO Plant Production and Protection Paper, 1998; FAO Plant Production and Protection Paper, 2009; Timme & Walz-Tylla, 2004].

Le **difenoconazole**, quant à lui, perd 84% de ses résidus dans les pommes [BfR, 2009; FAO Plant Production and Protection Paper, 2008].

Pour la purée de tomates, l'**azoxystrobine**, le **chlorpyrifos**, la **deltamethrine** et l'**iprodione** sont réduits d'une part à raison de 20%, 90%, 60% et 60% respectivement [FAO Plant Production and Protection Paper, 2001; FAO Plant Production and Protection Paper, 2002; FAO Plant Production and Protection Paper, 2003; FAO Plant Production and Protection Paper, 2009; FAO Plant Production and Protection Paper, 2005] tandis que la **cyromazine** et le **propamocarb** sont concentrés de 20% et 40% [FAO Plant Production and Protection Paper, 2007; FAO Plant Production and Protection Paper, 2008]!

Nonante pourcent des résidus d'**iprodione** sont éliminés durant la cuisson à l'eau des pommes tandis que la **deltamethrine** n'est point affectée par ce procédé [Rasmussen *et al.*, 2003].

Les pommes de terre ainsi que les choux ont aussi été bouillis et les résidus de **chlorpropham** (67%) et **dimethoate** (37-53% pour les pommes de terre et 56-86% pour le chou) ont été analysés [FAO Plant Production and Protection Paper, 2002; Kaushik *et al.*, 2009].

Les haricots verts contenant en moyenne 1,49 ppm d'**EBDCs** et un niveau très faible d'**ETU** ont été bouillis pendant trois minutes. Après ce processus, les résidus d'**EBDCs** n'étaient plus détectés mais par contre la concentration d'**ETU** était de 0,144 ppm [Kaushik *et al.*, 2009].

Dans les marmelades d'orange cuites de façon traditionnelle, les résidus de **tebuconazole** ont été diminués de 60% tandis que ceux de **thiamethoxam** n'ont pas été affectés [DAR: Spanien, 2006; FAO Plant Production and Protection Paper, 1995; FAO Plant Production and Protection Paper, 1998; FAO Plant Production and Protection Paper, 2009].

D'autres études ont encore eu lieu mais ne précisait pas le mode de cuisson utilisé (sous-entendu : celui employé en industrie habituellement). Dans ces cas-là, le **thiamethoxam** n'est pas réduit dans les pommes de terre et la **λ -cyhalothrine** est concentrée dans les épinards [BfR, 2009; DAR: Spanien, 2006]. Le **chlorpyrifos** est réduit de 39% dans les poivrons, de 92% dans les asperges et de 87% dans le chou sauté à l'huile [Chavarri *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2006]. Le **boscalid** dans les pois, le **linuron** dans les carottes, le **chlorpropham** dans les frites et le **propamocarb** dans le chou perdent 64%, 70%, 95% et 83% de leurs résidus [BfR, 2009; DAR: Germany, 2002; FAO Plant Production and Protection Paper, 2007; Lentza-Rizos, 2001]. Pour finir, des tomates contaminées par du **maneb** ont été cuites à 100°C. Le maneb a été réduit de 74% mais par contre 28% d'**ETU** sont apparus [Kaushik *et al.*, 2009]. La cuisson permet également de diminuer de 27% des niveaux de résidus du trichlorfon des kakis mais pas les niveaux de résidus de pyrifénos, pyridabène et tralométhrine des tomates [Boulaid *et al.*, 2005; Fernandez-Cruz *et al.*, 2006b].

Chapitre 2 : Etat des connaissances

En conclusion, les teneurs en résidus de pesticides sont influencées par le stockage et les transformations que les fruits et légumes subissent avant la consommation. Dans la plupart des cas, les transformations conduisent à une grande diminution des niveaux de résidus. Cependant, l'apparition de produits de dégradation, parfois plus toxiques que leur parent, ainsi qu'une concentration de la substance active peut avoir lieu.

Nous avons fait le point sur les pesticides, leur importance dans le domaine agricole, leur toxicité, les normes en vigueur,... Comme cette dernière partie de l'état des connaissances vient de le montrer, une grande question qui reste d'actualité est « **Après les transformations ménagères ou industrielles, quelle quantité de résidus de pesticides est encore présente dans notre assiette ?** »

Etant donné le nombre de combinaisons matrice-pesticide-transformation, de nombreuses données sont manquantes. Il est nécessaire de les obtenir pour compléter les lacunes et aussi permettre d'affiner l'évaluation du risque pour les consommateurs. Dans la partie expérimentale de notre travail, nous avons ainsi sélectionné plusieurs combinaisons. Les conditions de culture, de transformation et d'analyse ont été établies en collaboration avec plusieurs experts et sont décrites dans le chapitre suivant.

Chapitre 3: APPROCHE METHODOLOGIQUE

La réalisation de ce travail a nécessité de combiner plusieurs expertises. Après le choix des combinaisons commodité-pesticide-transformation à étudier avec l'aide de l'AFSCA, les commodités ont été cultivées par Redebel. Les fruits et légumes ont été transformés en collaboration avec la KULeuven et les analyses de résidus de pesticides ont été réalisées au sein du Service Pesticides de l'ISP pour finalement obtenir les PFs.

1. CHOIX DES COMMODITES

Pour réaliser ce travail, la première étape a été de choisir les différentes combinaisons commodité-pesticide-transformation à étudier en concertation avec l'AFSCA et sur base des critères suivants :

- Fréquence des dépassements des LMRs
- Matrices les plus consommées en Belgique
- Transformation pour la consommation
- Fréquence élevée de détection de certains pesticides pour ces matrices.

A partir des résultats des programmes de contrôle de 2006 et 2007, le choix s'est porté sur les carottes, les céleris, les épinards et les melons en combinaison avec les différents pesticides tels que repris dans le Tableau 6 [AFSCA, 2007; AFSCA, 2008].

Pour que les PFs puissent être valorisés au niveau européen, ils doivent être déterminés sur des commodités ayant été pulvérisées en champ tout en respectant les Bonnes Pratiques Agricoles (BPA) selon l'OECD 508 [OECD, 2008]. De plus, les cultures doivent être réalisées soit sur deux types de sols différents (deux localisations différentes), soit avec deux variétés. Nous avons opté pour deux variétés différentes.

Chapitre 3 : Approche méthodologique

Tableau 6 : Liste finale de combinaisons commodités-pesticides

Commodités	Pesticides	Commodités	Pesticides
Carottes	Chlorpyrifos Tebuconazole Linuron Diméthoate Boscalid Difenoconazole	Céleris	Dithiocarbamates Lambda-Cyhalothrine Linuron Difenoconazole Azoxystrobine Chlorpropham Pirimicarb
Epinards	Dithiocarbamates Iprodione Phenmedipham Boscalid Deltamethrine Propamocarb	Melons	Dithiocarbamates Carbendazim Imazalil Cyromazine Acetamiprid Thiamethoxam

2. PRODUCTION DES COMMODITES

Pour la réalisation de l'étude en champ, nous avons collaboré avec un expert en essais agricoles : Redebel. Ces experts ont choisi les variétés sur base de leur fréquence de consommation ainsi que les produits commerciaux à appliquer suivant les substances actives sélectionnées pour notre étude. Ils ont également établi un planning des doses à pulvériser et du nombre d'applications pour chaque commodité.

A. CULTURE

Les essais ont été réalisés à Villers-Perwin en Belgique et avant la mise en culture des commodités, une étude de sol a été réalisée pour connaître le type de sol, son pH, son pourcentage d'humus,... Redebel dispose également d'une station météorologique permettant de suivre les températures de l'air minimales et maximales ainsi que les précipitations pour chaque jour de culture jusqu'à la récolte. De plus, lors de chaque pulvérisation, la température et l'humidité de l'air, la température et les conditions du sol ainsi que la force et la direction du vent ont été notées. Les cultures ont été réalisées en plein air pour les épinards, les carottes et les céleris sur des parcelles de 10 m sur 3 m et sous serre pour les melons sur une parcelle de 21 m sur 1 m. Pour les quatre cultures, des concentrations

élevées des substances actives ont été appliquées selon les BPAs pour assurer des niveaux suffisamment élevés en pesticides, à l'aide d'une rampe de pulvérisation verticale pour les melons et horizontale pour les autres commodités. Il est à noter que certains pesticides n'étaient pas approuvés pour la culture d'épinards, de céleris, de carottes et de melons en Belgique, mais bien dans d'autres pays. Dans ce cas, Redebel a demandé les autorisations nécessaires pour pouvoir réaliser les essais.

Epinards

Le but était de produire deux variétés d'épinard (*Spinacia oleracea*), Cézanne et SP-916, contenant les six résidus choisis (Tableau 6).

Cinq applications de pesticides ont été exécutées à différentes étapes de croissance comme indiqué dans le Tableau 7.

Melons

Deux variétés de melon (*Cucumis melo*) ont été produites, Mohican et Pancha, contenant les six résidus choisis (Tableau 6).

Quatre applications de pesticides ont été exécutées à différentes étapes de croissance comme indiqué dans le Tableau 8.

Carottes

Les deux variétés de carotte (*Daucus carota*), Nandrin et Romane, contenant les six résidus choisis ont été produites en parallèle (Tableau 6).

Sept applications de pesticides ont été exécutées à différentes étapes de croissance comme indiqué dans le Tableau 9.

Céleris

Les deux variétés de céleri (*Apium graveolens* L.), Golden Spartan et Spartacus F1, contenant les sept résidus choisis ont été produites en parallèle (Tableau 6).

Six applications de pesticides ont été exécutées à différentes étapes de croissance comme indiqué dans le Tableau 10.

Tableau 7 : Pesticides avec leur nom commercial, la dose d'application et le stade de croissance au moment de l'application pour les épinards. ^aL'échelle BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt et Chemische Industrie) est un système pour la codification des stades phénologiques des mono- et dicotylédones.

Pesticides	Nom commercial	Substance active (g ha ⁻¹)	Date d'application	Stade de développement de la plante (BBCH ^a)	Nombre de jours avant la récolte
Boscalid	Signum WG	394	17/05/2010	BBCH 14 = développement des feuilles, 4 feuilles étalées	21
		414	25/05/2010	BBCH 43 = développement des organes végétatifs de récolte, dépendant de sa variété l'espèce a atteint 30% de sa masse foliaire	13
Deltamethrine	Decis EC 2.5	18	17/05/2010	BBCH 14	21
		19	25/05/2010	BBCH 43	13
		19	1/06/2010	BBCH 47 = l'espèce a atteint 70% de sa masse foliaire	6
Iprodione	Rovral 500 SC	1100	10/05/2010	BBCH 12 = développement des feuilles, 2 feuilles étalées	28
		983	17/05/2010	BBCH 14	21
		1033	25/05/2010	BBCH 43	13
		1017	1/06/2010	BBCH 47	6
Mancozeb	Indofil M-45 WP	3520	10/05/2010	BBCH 12	28
		3146	17/05/2010	BBCH 14	21
Phenmedipham	Kontakt 320 SC	488	7/05/2010	BBCH 12	31
Propamocarb	Previcur N SL	1420	17/05/2010	BBCH 14	21
				BBCH 49 = développement des organes végétatifs de récolte, la taille typique est atteinte	RECOLTE

Tableau 8 : Pesticides avec leur nom commercial, la dose d'application et le stade de croissance au moment de l'application pour les melons. L'échelle BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt et Chemische Industrie) est un système pour la codification des stades phénologiques des mono- et dicotylédones.

Pesticides	Nom commercial	Substance active (g ha ⁻¹)	Date d'application	Stade de développement de la plante (BBCH ^a)	Nombre de jours avant la récolte
Acetamiprid	Gazelle SP	105	9/08/2010	BBCH 83 = 30% des fruits ont la coloration typique du fruit à maturité	10
		98	16/08/2010	BBCH 87 = 70% des fruits ont la coloration typique du fruit à maturité	3
Carbendazim	Punch SE	319	5/07/2010	BBCH 65 = la 5ème feuille est ouverte sur la tige principale	45
Cyromazin	Trigard 100 SL	58	2/08/2010	BBCH 81 = 10% des fruits ont la coloration typique du fruit à maturité	17
		63	9/08/2010	BBCH 83	10
		59	16/08/2010	BBCH 87	3
Imazalil	Fungaflor EC	97	2/08/2010	BBCH 81	17
		105	9/08/2010	BBCH 83	10
		98	16/08/2010	BBCH 87	3
Maneb	Trimangol 75 WG	1950	2/08/2010	BBCH 81	17
		2108	9/08/2010	BBCH 83	10
		1971	16/08/2010	BBCH 81	3
Thiamethoxam	Actara 25 WG	5	2/08/2010	BBCH 81	17
		5	9/08/2010	BBCH 83	10
		5	16/08/2010	BBCH 87	3
BBCH 89 = maturation complète: les fruits ont atteint leur couleur typique de pleine maturité					RECOLTE

Tableau 9 : Pesticides avec leur nom commercial, la dose d'application et le stade de croissance au moment de l'application pour les carottes. L'échelle BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt et Chemische Industrie) est un système pour la codification des stades phénologiques des mono- et dicotylédones.

Pesticides	Nom commercial	Substance active (g ha ⁻¹)	Date d'application	Stade de développement de la plante (BBCH*)	Nombre de jour avant la récolte
Boscalid	Signum WG	267	25/08/2010	BBCH 48 = développement des organes végétatifs de récolte, racines, tiges ou tubercules ont atteints 80% de leur taille finale	20
		281.2	1/09/2010	BBCH 48	13
Chlorpyrifos	Dursban 5G GR	5000	12/04/2010	BBCH 00 = semence sèche	
Difenoconazole	Geyser 250 EC	260	2/08/2010	BBCH 45 = développement des organes végétatifs de récolte, racines, tiges ou tubercules ont atteints 50% de leur taille finale	43
		250	17/08/2010	BBCH 47 = développement des organes végétatifs de récolte, racines, tiges ou tubercules ont atteints 70% de leur taille finale	28
		263	1/09/2010	BBCH 48	13
Dimethoate	Perfekthion S 500	395	9/08/2010	BBCH 46 = développement des organes végétatifs de récolte, racines, tiges ou tubercules ont atteints 60% de leur taille finale	36
		400	17/08/2010	BBCH 47	28
Linuron	Linuris 500 SC	400	25/08/2010	BBCH 48	20
		740	29/06/2010	BBCH 16 = développement des feuilles, 6 feuilles étalées	
		493	9/08/2010	BBCH 46	36
Tebuconazole	Horizon EW	500	25/08/2010	BBCH 48	20
			14/09/2010	BBCH 49 = développement des organes végétatifs de récolte, racines, tiges ou tubercules ont atteint leur taille finale typique pour la variété	RECOLTE

Tableau 10 : Pesticides avec leur nom commercial, la dose d'application et le stade de croissance au moment de l'application pour les céleris. L'échelle BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt et Chemische Industrie) est un système pour la codification des stades phénologiques des mono- et dicotylédones.

Pesticides	Nom commercial	Substance active (g ha ⁻¹)	Date d'application	Stade de développement de la plante (BBCH ^a)	Nombre de jours avant la récolte
Azoxystrobine	Ortiva Top SC	203	25/08/2010	BBCH 46 = développement des organes végétatifs de récolte, racines, tiges ou tubercules ont atteints 60% de leur taille finale	40
		203	7/09/2010	BBCH 47 = racines, tiges ou tubercules ont atteints 70% de leur taille finale	27
		213	20/09/2010	BBCH 48 = racines, tiges ou tubercules ont atteints 80% de leur taille finale	14
Chlorpropham	Aliacine EC	2100	17/06/2010	BBCH 17 = développement des feuilles, 7 feuilles étalées	109
λ-cyhalothrine	Karate CS	18.7	20/09/2010	BBCH 48	14
		18.8	27/09/2010	BBCH 48	7
Difenoconazole	Ortiva Top SC	127	25/08/2010	BBCH 46	40
		127	7/09/2010	BBCH 47	27
		133	20/09/2010	BBCH 48	14
Linuron	Linuris 500 SC	1313	17/06/2010	BBCH 17	109
Maneb	Trimangol WG	1693	17/08/2010	BBCH 45 = racines, tiges ou tubercules ont atteints 50% de leur taille finale	48
		1626	25/08/2010	BBCH 46	40
Pirimicarb	Pirimor WG	212	17/08/2010	BBCH 45	48
		203	7/09/2010	BBCH 47	27
		215	27/09/2010	BBCH 48	7
			4/10/2010	BBCH 49 = racines, tiges ou tubercules ont atteint leur taille finale typique pour la variété	RECOLTE

B. RECOLTE

Pour chaque culture, le matériel utilisé pour la récolte avait été préalablement nettoyé à l'eau et des gants étaient portés pour la réaliser. De plus, les rangées en bordure de parcelles (1,0 m) ainsi que les plants malades ou hors-taille, étaient exclus pour l'échantillonnage. Les commodités étaient placées dans des sacs ou des caisses convenablement assignés par une étiquette indélébile et une identification unique (numéro séquentiel). Chaque étiquette était datée et marquée avec le numéro d'essai, la destination et l'identification du lot. Les commodités étaient conservées dans une chambre froide à 4 °C juste après la récolte et transportées jusqu'aux laboratoires dans des conditions de températures contrôlées le jour même de la récolte.

Epinards

Les plants ont été coupés aux ciseaux à 0,5-2 cm au-dessus du sol. Les feuilles ont été collectées pour obtenir au moins 40 plants et ainsi avoir plus de 15 kg d'épinard.

Melons

Les fruits ont été récoltés manuellement. Pour obtenir plus de 70 kg pour chaque culture de melon, 67 melons Pancha et 103 melons Mohican ont été aléatoirement rassemblés.

Carottes

Les plantes ont été déterrées avec une fourche. La terre adhérent aux carottes a été grossièrement enlevée sans eau. Les spécimens des six rangées centrales ont été aléatoirement rassemblés pour obtenir plus de 240 plantes et 45 kg de carottes.

Céleris

Les plantes ont été coupées avec un couteau juste au-dessus du sol. La terre adhérent aux céleris a été grossièrement enlevée en brossant légèrement avec des serviettes de papier (sans eau). Au moins 45 plantes ont été aléatoirement rassemblées pour obtenir plus de 20 kg de céleri.

3. TRANSFORMATION DES COMMODITES

Pour réaliser la transformation des commodités dans des conditions totalement maîtrisées, l'expertise du Centre de Technologie Alimentaire et Microbienne de la KULeuven était nécessaire. Les chercheurs de ce Centre ont ainsi établi les protocoles pour les différentes transformations en concertation avec les industriels pour concorder le mieux possible avec les conditions réelles de l'industrie agroalimentaire. De plus, ils disposent d'unités pilote de bain de blanchiment et de stérilisateur.

A. EPINARDS

Vue d'ensemble des procédés et des étapes d'échantillonnage

L'organigramme d'échantillonnage est présenté dans la Figure 14. Pour réduire au minimum le facteur de variabilité, les deux variétés d'épinard ont été divisées en deux lots de 4 kg de feuilles, donnant ainsi quatre lots (Fig.14). Une partie des épinards n'a pas subi de traitement et a été utilisée comme "échantillon de contrôle positif". Pour le reste des feuilles, les pétioles ont été enlevés, les feuilles ont été lavées, blanchies, stérilisées ou réchauffées au micro-ondes après avoir été stockées congelées. Toutes les étapes de transformations pour un lot ont été exécutées le même jour et tous les lots ont été transformés en quatre jours. En attendant, les lots d'épinard non transformé ont été stockés à 4 °C. Les conditions de transformation devaient correspondre d'aussi près que possible aux conditions réelles qui sont utilisées en pratique (industrie et maison).

La procédure standard pour échantillonner et stocker les épinards pour l'analyse de pesticides après les transformations a consisté à (i) homogénéiser des feuilles d'épinards et prélever environ 500 g, (ii) diviser cette quantité dans cinq sacs de polypropylène, (iii) congeler avec de l'azote liquide et (iv) stocker à - 40 °C (indiqué avec * dans la Fig.14). Les échantillons congelés ont été analysés endéans les trois mois.

Echantillon non transformé

Cet échantillon d'épinard sans aucune transformation est "l'échantillon de contrôle positif". Il nous permettra de calculer le PF. Les feuilles d'épinard récoltées ont été coupées en morceaux et une partie représentative de cet échantillon (3 kg d'épinards pris aléatoirement) a été mixée avec le Robot-Coupe® R301 (Robot-coupe, Mont-Ste-Geneviève, Belgique) et congelée jusqu'à l'analyse (Fig.14).

Lavage

Après l'élimination des pétioles, les feuilles d'épinard (environ 4 kg par batch de 500 g pour chaque lot) ont été lavées par immersion dans un réservoir rempli d'eau du robinet (15 °C, 10 L par 500 g) et par mélange manuel. Après 3 minutes, les feuilles ont été retirées du bac et ont été essorées à l'aide d'une essoreuse à salade (Fig.15).

Blanchiment

Environ 250-300 g de feuilles d'épinard lavées ont été mises dans des paniers en acier inoxydable et immergées pendant 5 minutes dans un bain (Memmert WB 45, Büchenbach, Allemagne) contenant 50 L d'eau à 88 °C. La concentration de nitrate dans l'eau de blanchiment a été mesurée pour avoir la certitude de rester au-dessous de 100 ppm (Merckoquant des bandes de test, VWR, Leuven, Belgique). Après le processus thermique, les feuilles d'épinard ont été refroidies dans l'eau (15 °C, 15 L pour chaque panier) et essorées à l'aide d'une essoreuse. Une partie des épinards blanchis (à peu près 500 g) a été immédiatement congelée pour l'analyse de pesticides (Chapitre 3: 4. p 89), tandis que le reste a été traité congelé pour être réchauffé au micro-ondes par la suite (Cuisson au micro-ondes p 78) ou stérilisé dans un bocal en verre (Stérilisation p 78). Les épinards pour la cuisson au micro-ondes ont été stockés à - 40 °C (sans congélation à l'azote liquide) pendant 8 semaines avant la cuisson au micro-ondes.

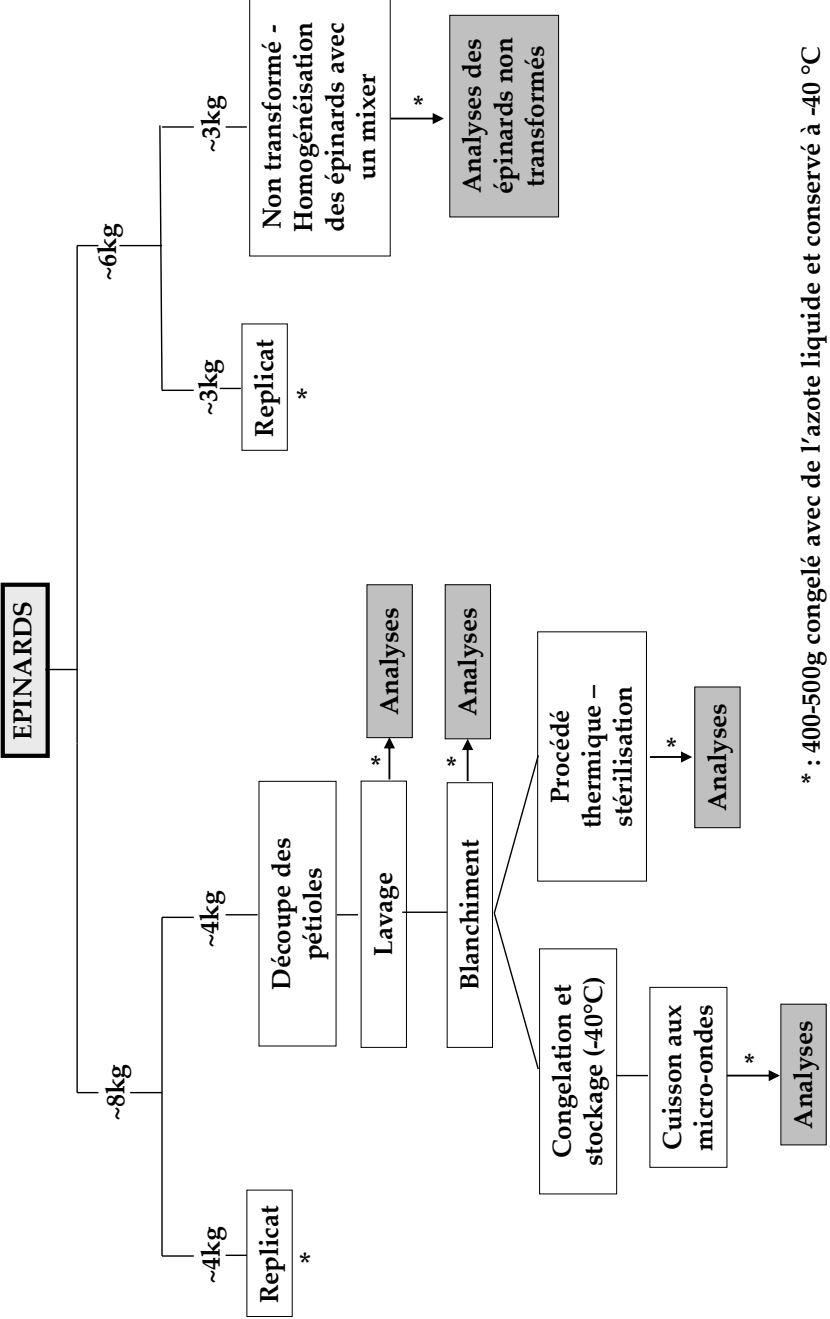


Fig.14 : Organigramme des étapes de transformations et d'échantillonnage pour une variété d'épinard. Les analyses ont été faites sur deux répliques.



Fig.15 : Différentes transformations pour les épinards

Cuisson au micro-ondes

Environ 600-700 g d'épinards lavés, blanchis et congelés ont été placés dans un plat en pyrex et cuits à 800 W pendant 15 minutes dans un micro-onde (Zanker 8500, Zaventem, Belgique).

Stérilisation

Les feuilles blanchies ont été finement coupées à la main. 250,0 ($\pm 0,5$) g ont été pesés dans un bocal de verre (370 ml de volume, 99 mm de hauteur et 80 mm de diamètre) et de l'eau du robinet a été ajoutée pour obtenir une masse

finale de 330.0 ($\pm$ 0.5) g. Pour chaque lot, quatre bocaux ont été préparés et préchauffés au bain-marie à 35 °C.

La stérilisation a été exécutée dans une unité pilote (Barriquant Steriflow, Paris, France) répliquant le système industriel avec un échangeur thermique externe fournissant la vapeur (Clayton Steam Generator EO-EG-16) et un système de refroidissement. Après une période de mise à température à 40 °C ($\sim$ 10 min), la température a été augmentée de manière à atteindre 121 °C en 8.5-9 minutes et maintenue pendant 56 minutes. Des thermocouples ont été placés dans les bocaux pour contrôler la température et calculer la valeur stérilisatrice (F_0) du processus. En accord avec la pratique industrielle, une valeur de F_0 de 9.9 ($\pm$ 1.0) minutes a été obtenue. Après le processus de stérilisation, les feuilles ont été égouttées, congelées et stockées (Fig.15).

B. MELONS

Vue d'ensemble des procédés et des étapes d'échantillonnage

L'organigramme d'échantillonnage est présenté dans la Figure 16. Pour réduire au minimum le facteur de variabilité, chacune des deux variétés de melon était divisée en deux lots de 18 kg, donnant au total quatre lots (Fig.16). Une partie des melons n'a pas subi de traitement et a été utilisée comme "échantillon de contrôle positif". Pour le reste, un épluchage a été réalisé avec un couteau. L'épluchage a été exécuté le même jour pour tous les lots.

Après chaque étape, les melons ont été homogénéisés et 500 g ont été rassemblés et stockés à - 20 °C jusqu'à l'analyse de pesticides. Les échantillons congelés ont été analysés endéans le mois.

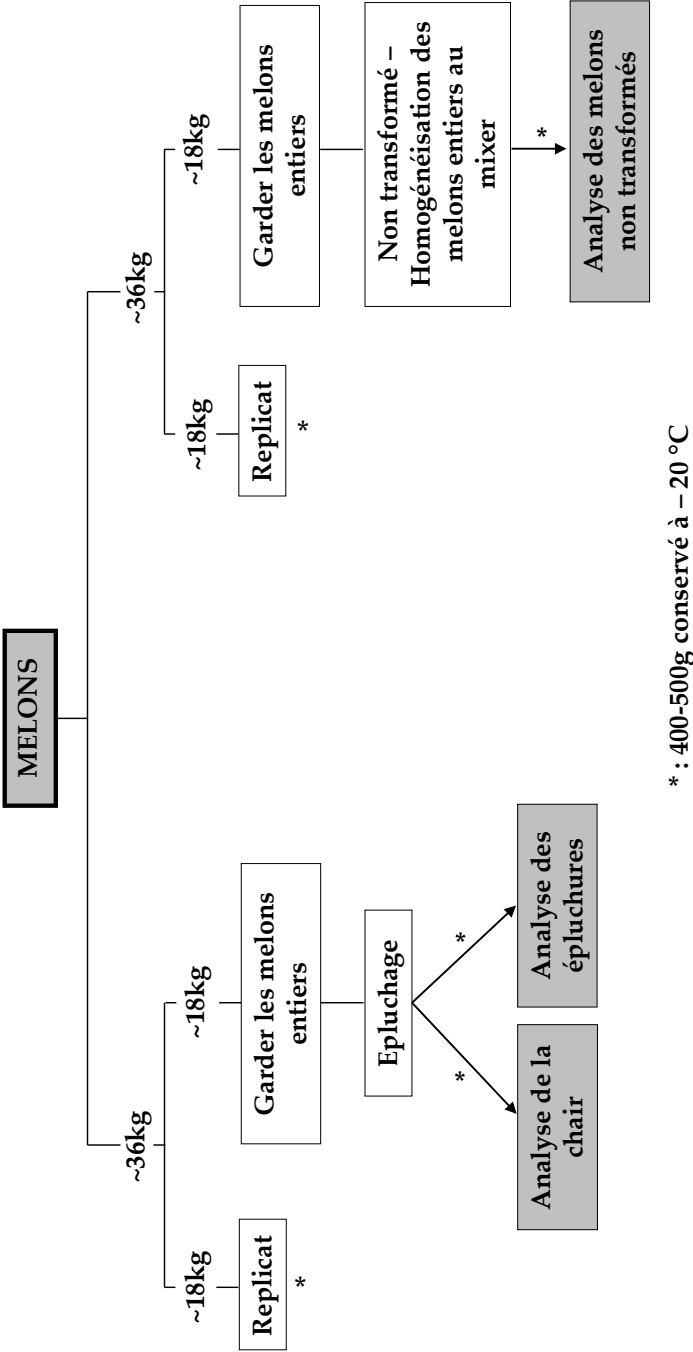


Fig.16 : Organigramme des étapes de transformations et d'échantillonnage pour une variété de melon. Les analyses ont été faites sur deux réplicas.

Echantillon non transformé

Ces melons sans aucune transformation servent "d'échantillon de contrôle positif". Les melons récoltés (18 kg de melons par batch pris aléatoirement) ont été coupés en morceaux, mixés avec le Robot-Coupe® R23 et congelés jusqu'à l'analyse (Fig.17).

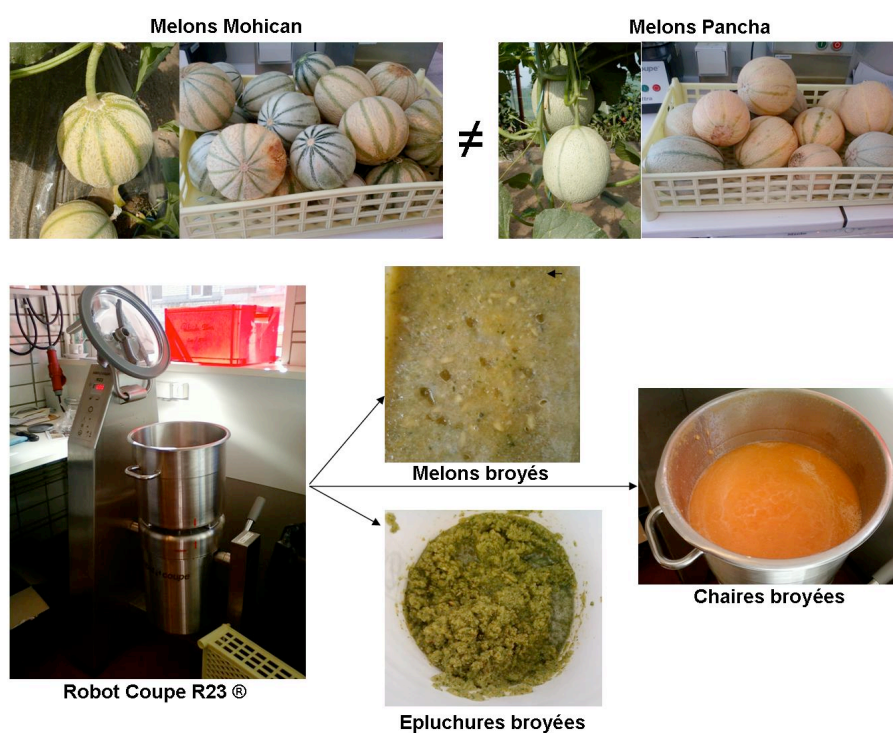


Fig.17 : Différentes transformations pour les melons

Epluchage

Après épluchage, la chair (environ 10 kg) et les épluchures (environ 7 kg) ont été mixées séparément avec le Robot-Coupe® R23 et congelées jusqu'à l'analyse (Fig.17).

C. CAROTTES

Vue d'ensemble des procédés et des étapes d'échantillonnage

L'organigramme d'échantillonnage est présenté dans la Figure 18. Pour réduire au minimum le facteur de variabilité, les deux variétés étaient divisées en deux lots de 10 kg, donnant quatre lots au total (Fig.18). Les fanes ont été enlevées, les carottes ont été brossées, lavées à l'eau, pelées, blanchies, stérilisées, pasteurisées ou réchauffées au micro-ondes (après stockage au réfrigérateur). Toutes les étapes de transformations pour un lot ont été exécutées le même jour et tous les lots ont été transformés endéans les quatre jours. En attendant, les lots de carottes non transformés ont été stockés à 4 °C.

La procédure standard pour échantillonner et stocker les carottes pour l'analyse de pesticides après les transformations, a consisté à (i) homogénéiser les carottes et prélever environ 500 g, (ii) diviser cette quantité dans cinq sacs de polypropylène, (iii) congeler avec de l'azote liquide et (iv) stocker à - 40 °C (indiqué avec * dans la Fig.18). Les échantillons congelés ont été analysés endéans les trois mois.

Echantillon non transformé

Les carottes sans aucune transformation servent "d'échantillon de contrôle positif". Les carottes récoltées sans les fanes ont été coupées en morceaux et une portion représentative (10 kg de carottes prises aléatoirement) a été mixée avec le Robot-Coupe® R23 et congelée jusqu'à l'analyse.

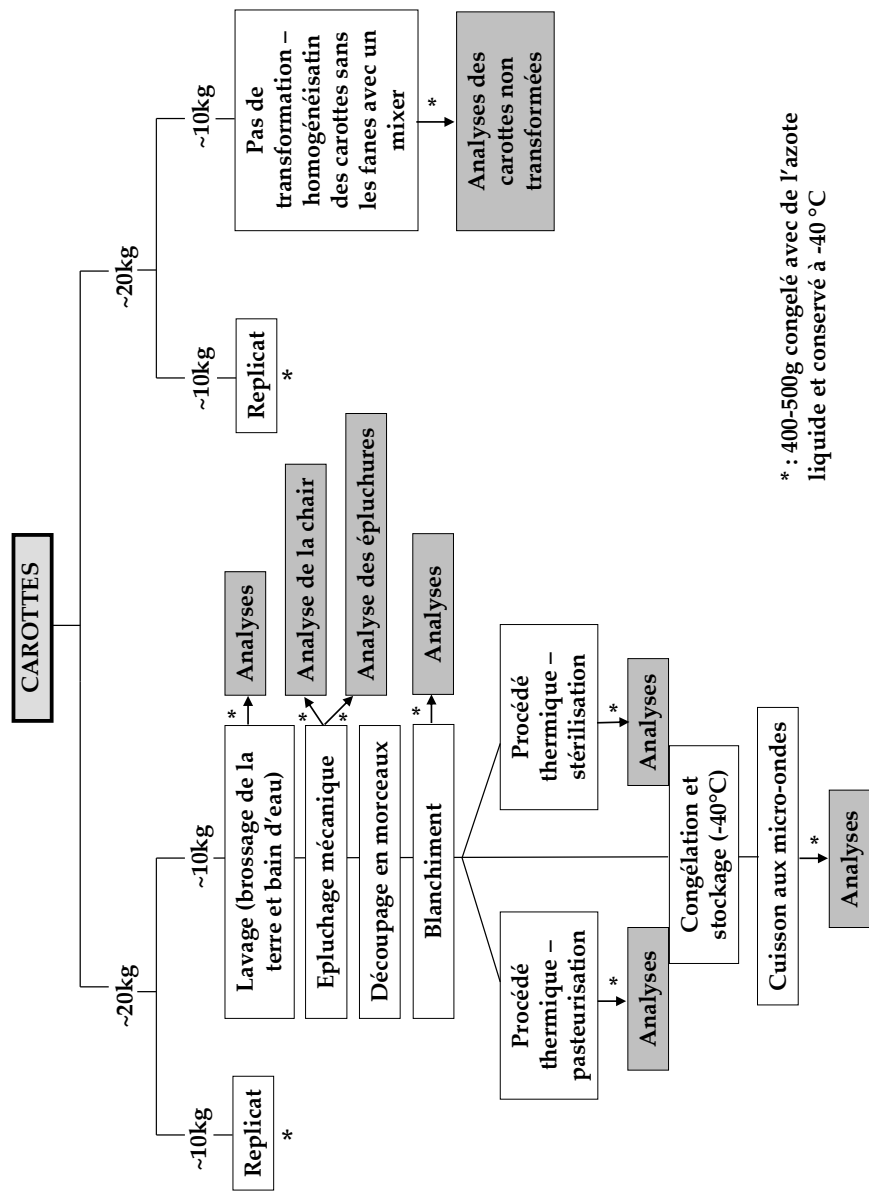


Fig.18: Organigramme des étapes de transformations et d'échantillonnage pour une variété de carotte. Les analyses ont été faites sur deux réplicats.

Lavage

Après l'élimination des fanes, les carottes (environ 10 kg par batch de 2.5 kg) ont été brossées pour éliminer une grosse partie de la terre. Après elles ont été lavées par l'immersion dans un bac rempli d'eau du robinet (15 °C, 10 L par 2.5 kg) et brossées manuellement. Après 5 minutes en immersion, les carottes ont été retirées de l'eau (Fig.19).



Fig.19 : Différentes transformations pour les carottes

Epluchage

Après épluchage, la chair (environ 5 kg) et les épluchures (environ 2 kg) ont été mixées séparément avec Robot-Coupe® R301 et congelées jusqu'à l'analyse. Avant l'étape de congélation, la chair a été coupée en petits morceaux avec un couteau (Fig.19).

Blanchiment

Environ 1 kg de carottes lavées et épluchées a été mis dans des paniers en acier inoxydable et immergé pendant 4 minutes dans un bain (Memmert WB 45, Büchenbach, Allemagne) contenant 50 L d'eau à 90 °C. Après le processus thermique, les carottes ont été refroidies dans l'eau du robinet (15

°C, 15 L pour chaque panier) et égouttées (Fig.19). Une partie des carottes blanchies (environ 500 g) a été immédiatement congelée pour l'analyse de pesticides (Chapitre 3: 4. p 89), tandis que le reste a été réchauffé au micro-ondes par la suite (Cuisson au micro-ondes p 85), stérilisé (Stérilisation p 85) ou pasteurisé (Pasteurisation p 85). Les carottes destinées à la cuisson au micro-ondes ont été stockées à - 40 °C (sans congélation à l'azote liquide) pendant six jours avant l'utilisation du micro-onde.

Cuisson au micro-ondes

Environ 600-700 g de carottes lavées, épluchées, blanchies et congelées ont été placés dans un plat en pyrex et réchauffés à 800 W pendant 15 minutes au micro-ondes (Zanker 8500, Zaventem, Belgique).

Pasteurisation

Deux cent dix (± 0.5) g de carottes blanchies ont été pesés dans un bocal de verre (370 ml de volume, 99 mm de hauteur et 80 mm de diamètre) et de l'eau du robinet a été ajoutée pour atteindre une masse totale de 350.0 (± 0.5) g. Pour chaque lot, quatre bocaux ont été préparés et préchauffés au bain-marie à 35 °C.

La pasteurisation a été exécutée dans la même unité que pour la stérilisation. Après une période d'équilibration à 40 °C (~ 10 min), la température a été augmentée à 90 °C en 8.5 minutes et tenue pendant 20 minutes. Les thermocouples ont été placés dans les bocaux pour contrôler la température et calculer la valeur pasteurisatrice. En accord avec la pratique industrielle, une valeur de $P_{90^{\circ}\text{C}}$ de 10.4 (± 0.3) minutes a été obtenue. Après le processus de pasteurisation, les carottes ont été égouttées, échantillonnées et stockées (Fig.19).

Stérilisation

Le mode opératoire est le même que pour la pasteurisation. Après une période de mise à température à 40 °C (~ 10 min), la température a été augmentée à 117 °C en 8.5 minutes et maintenue pendant 27 minutes. Des thermocouples ont été placés dans les bocaux pour contrôler la température

et calculer la valeur stérilisatrice (F_0) du processus. En accord avec la pratique industrielle, une valeur de F_0 de $6.9 (\pm 0.3)$ minutes a été obtenue. Après le processus de stérilisation, les feuilles ont été égouttées, congelées et stockées (Fig.19).

D. CELERIS

Vue d'ensemble des procédés et des étapes d'échantillonnage

L'organigramme d'échantillonnage est présenté dans la Figure 20. Pour réduire au minimum le facteur de variabilité, chacune des deux variétés de céleri était divisée en deux lots de 17 kg, donnant quatre lots au total (Fig.20). Les pieds de céleris ont été éliminés, tandis que le reste a été mixé pour avoir "l'échantillon de contrôle positif". Pour le reste des céleris, les pieds et les feuilles ont été enlevés, les bâtons ont été lavés, blanchis, stérilisés ou réchauffés au micro-ondes (après avoir été congelés). Toutes les étapes de transformations pour un lot ont été exécutées le même jour et tous les lots ont été transformés endéans les 4 jours. En attendant, les lots de céleris non transformés ont été stockés à 4 °C.

La procédure standard pour échantillonner et stocker les céleris pour l'analyse de pesticides après les transformations, a consisté à (i) homogénéiser les céleris et prélever environ 500 g, (ii) diviser cette quantité dans cinq sacs de polypropylène, (iii) congeler avec de l'azote liquide et (iv) stocker à - 40 °C (indiqué avec * dans la Fig.20)

Echantillon non transformé

Ces céleris sans aucune transformation servent "d'échantillon de contrôle positif". Les céleris récoltés sans les pieds (10 kg de céleris pris aléatoirement) ont été mixés avec le Robot-Coupe® R23 et congelés jusqu'à l'analyse (Fig.20).

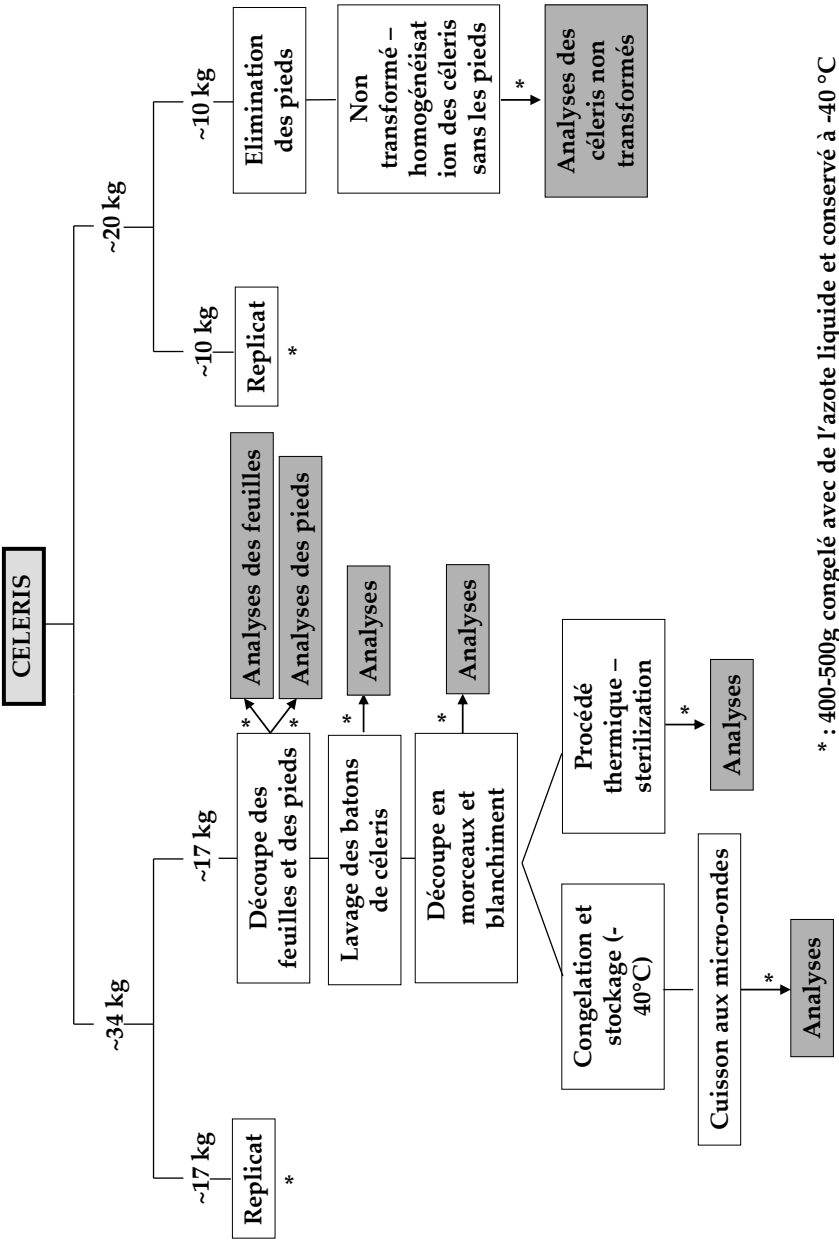


Fig.20 : Organigramme des étapes de transformations et d'échantillonnage pour une variété de céleri. Les analyses ont été faites sur deux répliquas.

Lavage

Après l'élimination des pieds et des feuilles, les bâtons de céleri (environ 12 kg par batch de 2 kg pour chaque lot) ont été lavés par immersion dans un bac rempli d'eau du robinet (15 °C, 10 L pour 2 kg) et brossés manuellement (Fig.21). Après 3 minutes, les bâtons ont été retirés du réservoir et coupés en petits morceaux avec un couteau.

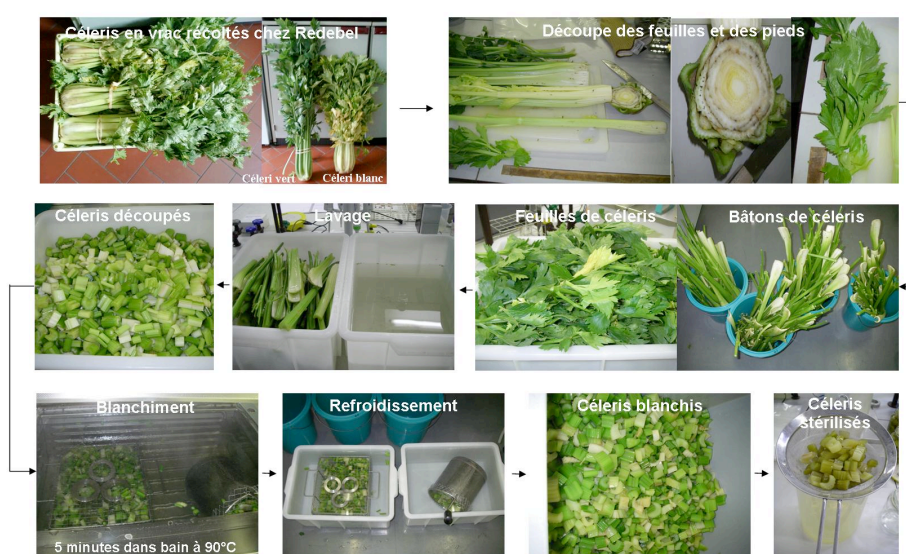


Fig.21 : Différentes transformations pour les céleris

Blanchiment

Environ 1 kg de céleris lavés a été mis dans des paniers en acier inoxydable et immergé pendant 4 minutes dans un bain (Memmert WB 45, Büchenbach, Allemagne) avec 50 L d'eau à 90 °C. Pour chaque lot, la concentration de nitrate dans l'eau blanchiment a été vérifiée pour rester en-dessous de 100 ppm (Merckoquant des bandes de test, VWR, Leuven, Belgique). Après le processus thermique, les céleris ont été refroidis dans de l'eau (15 °C, 15 L pour chaque panier). Une partie des céleris blanchis (environ 500 g) a été immédiatement congelée pour l'analyse des pesticides (Chapitre 3: 4. p 89), tandis que le reste a été réchauffé au micro-ondes par la suite (Cuisson au micro-ondes p 89) ou stérilisé (Stérilisation p 89). Les céleris pour la cuisson

au micro-ondes ont été stockés à - 40 °C (sans congélation à l'azote liquide) pendant six jours avant utilisation.

Cuisson au micro-ondes

Environ 600-700 g de céleris lavés, blanchis et congelés ont été placés dans un plat en pyrex et réchauffés à 800 W pendant 15 minutes au micro-ondes.

Stérilisation

Deux cent dix (± 0.5) g de céleris blanchis ont été pesés dans un bocal de verre (370 ml de volume, 99 mm de hauteur et 80 mm de diamètre) et de l'eau du robinet a été ajoutée pour atteindre une masse totale de 350.0 (± 0.5) g. Pour chaque lot, quatre bocaux ont été préparés et préchauffés au bain-marie à 35 °C.

La stérilisation a été exécutée dans une unité pilote (Barriquant Steriflow, Paris, France) répliquant le système industriel avec un échangeur thermique externe fournissant la vapeur (Clayton Steam Generator EO-EG-16) et un système de refroidissement. Après une période de mise à température à 40 °C (~ 10 min), la température a été augmentée de manière à atteindre 117 °C en 8.5 minutes et maintenue pendant 27 minutes. Des thermocouples ont été placés dans les bocaux pour contrôler la température et calculer la valeur stérilisatrice (F_0) du processus. En accord avec la pratique industrielle, une valeur de F_0 de 7.04 (± 0.3) minutes a été obtenue. Après le processus de stérilisation, les feuilles ont été égouttées, congelées et stockées (Fig.21).

4. ANALYSE DES COMMODITES

La dernière étape pour la détermination des PFs est l'analyse des résidus de pesticides dans les fruits et légumes.

Les commodités ont été analysées non transformées et transformées : lavage, épluchage, blanchiment, congélation et cuisson au micro-ondes, stérilisation ou pasteurisation. Après ces transformations, les commodités ont été broyées. Un premier prélèvement après une découpe grossière est réalisé

pour l'analyse des dithiocarbamates afin d'éviter la dégradation de ceux-ci lors de l'étape d'homogénéisation. Une homogénéisation plus fine est alors effectuée. Les analyses ont eu lieu au sein du Service Pesticides de l'Institut scientifique de Santé Publique (WIV-ISP).

A. MATERIELS

Pesticides

- Acetamiprid : Dr. Ehrenstorfer 99.0%
- Azoxystrobine : Dr. Ehrenstorfer 99.0%
- Boscalid : Dr. Ehrenstorfer 98.0%
- Carbendazim : Dr. Ehrenstorfer 99.0%
- Chlorpropham : Sigma-Aldrich 99.9%
- Chlorpyrifos-ethyl : Sigma-Aldrich 99.2%
- λ -cyhalothrine : Dr. Ehrenstorfer 98.0%
- Cyromazine : Sigma-Aldrich 99.9%
- 2,3-dichloroaniline : Sigma-Aldrich 99.9%
- 2,4-dichloroaniline : Sigma-Aldrich 99.9%
- 2,5-dichloroaniline : Sigma-Aldrich 99.6%
- 2,6-dichloroaniline : Sigma-Aldrich 99.4%
- 3,4-dichloroaniline : Sigma-Aldrich 99.9%
- 3,5-dichloroaniline : Dr. Ehrenstorfer 98.5%
- Difenoconazole : Sigma-Aldrich 97.3%
- Dimethoate : Sigma-Aldrich 99.4%
- Ethylèthiourée (ETU) : Dr. Ehrenstorfer 99.0%
- Ethylèthiourée deutérée (ETU D4) : Dr. Ehrenstorfer 99.0%
- Imazalil : Sigma-Aldrich 99.8%
- Linuron : Dr. Ehrenstorfer 99.0%
- Maneb : Sigma-Aldrich 90.3%
- Omethoate : Sigma-Aldrich 98.5%

- Oxfendazole : Sigma-Aldrich 98.9%
- Pirimicarb : Sigma-Aldrich 99.6%
- Pirimicarb desmethyl : Dr. Ehrenstorfer 97.0%
- Propylèthiourée (PTU) : Fluka 99.0%
- Tebuconazole : Sigma-Aldrich 99.6%
- Thiram : Dr. Ehrenstorfer 99.0%
- Thiamethoxam : Sigma-Aldrich 99.8%

La solution stock de disulfure de carbone (CS_2), pour l'analyse de mancozeb ou maneb, a été préparée à 4 mg/ml dans l'iso-octane. Des standards dilués à 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ont été préparés par la dilution de la solution de stock avec l'iso-octane. Une solution de thiram a été préparée avec l'éthanol pour obtenir une concentration équivalente en CS_2 de 63.23 mg/l.

Les solutions stock de standards pour le GC-MS/MS ont été préparées à 1 mg/ml dans l'acétone. Des standards dilués à 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ et 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ont été préparés par la dilution de la solution stock avec l'acétone.

Les solutions stock de standards pour le LC-MS/MS ont été préparées à 1 mg/ml dans l'acétonitrile à 0.1 % d'acide acétique. Des standards dilués à 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ et 100 ng/ml ont été préparés par la dilution de la solution de stock avec du méthanol.

La solution stock du standard interne, ETU D4, a été préparée à 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dans du méthanol. La solution stock d'ETU a été préparée à 1 mg/ml dans le méthanol. Des standards dilués ont été préparés par la dilution de la solution de stock avec de l'eau.

Les solutions pour la calibration ont été préparées avec un extrait de matrice blanche (sans pesticides). Toutes les solutions ont été stockées à -18 °C.

Solvants et réactifs

- Eau millipore ultrapure obtenue à l'aide d'un système de purification Millipore (Millipore Milli-Q Water System, Bedford, USA)

- Méthanol absolu et acétonitrile de qualité HPLC de Biosolve (Valkenswaard, Pays-Bas)
- Iso-octane et acide phosphorique de Merck (Darmstadt, Allemagne)
- Acide trifluoroacétique (TFA) avec une pureté d'au moins 99%, acide acétique et acétate d'ammonium d'Aldrich (Steinheim, Allemagne)
- Acide chlorydrique (37%) et chlorure d'étain de VWR (Fontenay sous Bois, France)
- Ethanol (96%), chlorure d'ammonium (99,5%) celite® 545, sulphate de sodium (99%) et chlorure de sodium (99%) de VWR (Leuven, Belgique)
- Acétone (Pestican grade) et diisopropylether de Carlo Erba (Rodano, Italie).

B. ANALYSE DES DITHIOCARBAMATES

Le dosage des dithiocarbamates se fait via le dosage de CS₂. L'échantillon est mis en solution dans un milieu acide contenant un catalyseur. Cette méthode est basée sur la méthode CEN EN12396 part 1 (Standardization, 1998) qui a été modifiée par A. De Kok *et al.* [de Kok, 2001].

Le rendement est déterminé à l'aide d'une solution de thiram à 0,1 mg/ml. Cette solution est utilisée pour enrichir la matrice et avoir une concentration en CS₂ correspondant à 63,2 µg/ml.

Préparation des échantillons

Pour le contrôle, peser dans un récipient de 100 ml, 25,0 ± 0,2 g de matrice. Ajouter 1 ml de solution de thiram (25 mg de thiram 99% dans 250 ml d'éthanol 96%) sur la matrice, 75 ml d'HCl dilué (1 l d'HCL 37% + 1,5 l eau distillée), 12,5 ml isooctane (Isooctane, Merck ou similaire) et 1.12 g de chlorure d'étain en dernier lieu. Fermer la fiole avec un bouchon à vis et à septum. Remuer avec précaution et la placer pendant 2 heures dans un bain

d'eau à 80 ± 5 °C. Remuer de temps en temps. Laisser refroidir et transvaser 1 ml de surnageant dans un vial.

La quantité théorique de CS₂ dans l'échantillon contrôle est donc :

$$X \text{ (mg CS}_2\text{/kg)} = \frac{y \text{ mg/ml CS}_2 \times 1 \text{ ml}}{25 \text{ g}}$$

Etant donné que la masse molaire du thiram est de 240,4 g/mol et que la masse molaire du CS₂ est de 76,14 g/mol. Pour 25 mg de thiram exactement pesé, nous avons 15,8 mg de CS₂ qui se retrouve dans 250 ml. La concentration en CS₂ de la solution de thiram est donc de 0,0632 mg/ml (y) à remplacer dans la formule pour obtenir 2,529 ppm ou mg/kg.

Pour le blanc, dans un récipient de 100 ml, ajouter 75 ml d'HCl dilué (1 l d'HCL 37% + 1,5 l eau distillée), 25 ml d'eau distillée, 12,5 ml d'isooctane $\pm$ 1,12 g de chlorure d'étain. La suite du mode opératoire est la même que pour le contrôle.

Pour l'échantillon, suivre le même mode opératoire que le blanc mais en pesant également $25,0 \pm 0,2$ g d'échantillon broyé préparé selon le SANCO/12495/2011 [SANCO, 2011], dans un récipient de 100ml se fermant avec un bouchon hermétique.

Appareillage

Le chromatographe en phase gazeuse est un Varian 3400, avec un détecteur au Ni-63 et un échantillonneur Varian 8200C.

Conditions chromatographiques

- Colonne : colonne DB-5 de 60 m de longueur, ID 0.53 mm, Film: 1.5 μ m
- Filtre : 1,5 μ m
- Température de l'injecteur: 250 °C
- Volume d'injection: 1 μ l
- Température de la colonne: 50 °C (10 min) ; 50 °C/min – 250 °C (5 min)

- Température du détecteur: 300 °C
- Débit: 2,6 ml/min
- Pression de gaz: 5 psi
- Temps : 19 min

C. ANALYSE DES COMPOSES PAR CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE COUPLEE A UN SPECTROMETRE DE MASSE

Cette méthode concerne les pesticides suivants : chlorpyrifos ; λ -cyhalothrine ; deltamethrine ; 2,3-,2,4-,2,5-,2,6-,3,4-,3,5-dichloroaniline ; iprodione et TCP.

Un échantillon est extrait avec de l'acétone. Après purification, l'extrait est analysé grâce à un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse. Les pesticides sont identifiés grâce à leurs transitions et à leur temps de rétention comparé avec les temps de rétention du standard [Procédure interne au WIV-ISP validé selon le SANCO/12495/2011].

Préparation des échantillons

Peser 50 g ($\pm$ 1 g) d'échantillon (matrice préparée selon le SANCO/12495/2011) dans le récipient du mélangeur de laboratoire [SANCO, 2011]. Ajouter 120 ml d'acétone, $\pm$ 10 g de célite et mélanger à l'aide du mélangeur Omni-mixer pendant au moins 2 min. Filtrer sur un Buchner avec filtre, rincer le récipient avec de l'acétone et faire passer sur le filtre Buchner. Transvaser dans un ballon de 150 ml et mettre au trait avec de l'acétone. Dans un erlenmeyer contenant 5 g ($\pm$ 0,5 g) de célite, 30 ml de la solution obtenue ci-dessus sont pipetés et ajoutés sur la célite. Ensuite, ajouter 30 ml d'eau avec NH_4Cl 1%- H_3PO_4 1% et laisser agir pendant une heure. Effectuer une extraction liquide-liquide : filtrer sur Buchner, rincer l'erlenmeyer avec 10 ml d'acétone/eau (60/40). Filtrer sur Buchner et répéter l'opération avec 100 ml d'eau. Transvaser le filtrat dans une éprouvette graduée et ajouter 10 ml de solution saturée de NaCl et 20 ml d'éther isopropylique et agiter pendant une minute. Laisser décanter pendant 2-3

Chapitre 3 : Approche méthodologique

minutes et prélever environ 10 ml de la phase organique (phase supérieure). Filtrer sur du Na_2SO_4 ($1 \text{ g} \pm 0.1$) pour éliminer l'eau. Mettre environ 1 ml dans un vial pour injection.

Pour le blanc, réaliser la même préparation que celle de l'échantillon mais sans matrice.

Pour le contrôle, réaliser la même préparation que l'échantillon mais la matrice à analyser est remplacée par une matrice de référence qui est enrichie avec 200 μl de la solution de mélange de standards à 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Appareillage

Le chromatographe en phase gazeuse est un Varian 3800 couplé à un spectromètre de masse, Varian 320 MS/MS.

Conditions chromatographiques

La séparation GC est obtenue grâce à une colonne VF-5ms (30 m, 0.25 mm and 0.25 μm) d'Agilent (Middelburg, The Netherlands). Le flux de gaz est de 1 ml/min et les paramètres du four sont repris dans le Tableau 11.

Paramètres du spectromètre de masse

Les paramètres du spectromètre de masse ainsi que les transitions pour chaque pesticide sont repris dans le Tableau 11.

Chapitre 3 : Approche méthodologique

Tableau 11 : Paramètres du spectromètre de masse et transitions MRM pour l'analyse des pesticides par GC-MS/MS. Les caractères gras sont utilisés pour distinguer les ions filles quantifiant des ions filles qualifiant.

Conditions GC				
Débit: 1 ml/min				
Température de la source : 280°C				
Température de la ligne de transfert: 300°C				
Four	Rampe (°C/min)		T (°C)	Temps maintenu (min)
PTV – injection 8 µl	33		75	1.5
	7		180	0
			300	8.18
	Rampe (°C/min)		T (°C)	Temps maintenu (min)
	200		85	0.3
		300	4.62	+ cryo-cooling
Ion	Parents (m/z)	Fille (m/z)	Collision (V)	Temps de rétention (min)
Dichloroaniline 2,6-	161	90 136	5 5	6.302
Dichloroaniline 2,4-	161 163	134 127	10 15	6.909
Dichloroaniline 2,5-	163 161	99 89.1	15 30	6.911
Dichloroaniline 2,3-	161 163	99 97.1	15 25	7.061
Dichloroaniline 3,5-	161	99 90	25 20	7.445
Dichloroaniline 3,4-	161	99 73	25 25	7.688
TCP	197 169	169 107	15 15	8.003
Chlorpyrifos-ethyl	314 316	258 260	10 15	13.321
Iprodione	314	245 271	10 10	19.025
λ-cyhalothrine	197 181	141 152	10 25	20.435
Deltamethrine	181 253	152 174	25 10	25.402

D. ANALYSES DES COMPOSES PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE COUPLEE A UN SPECTROMETRE DE MASSE

Cette méthode concerne les pesticides suivants : acetamiprid, boscalid, carbendazim, cyromazine, difenoconazole, dimethoate, imazalil, linuron, tebuconazole et thiamethoxam.

L'extraction des pesticides est réalisée à l'aide d'un mélange méthanol/eau. Après filtration et ajout du standard interne (oxfendazole), l'extrait est filtré sur micro-disque et injecté en UHPLC-MS/MS [Procédure interne au WIV-ISP validé selon le SANCO/12495/2011].

Préparation des échantillons

Pour l'échantillon, la procédure suivante est appliquée :

- 10g d'échantillons découpés et homogénéisés selon les critères du SANCO/12495/2011 sont pesés à 0,1 g près dans un erlenmeyer de 100 ml à col large [SANCO, 2011]
- Ajout du spike pour le cas de l'échantillon de contrôle
- Ajout de 40 ml de la solution d'extraction
- Broyer 1 minute à l'aide de l'Ultra-Turrax (Ultra-Turrax IKA ou équivalent)
- Filtrer sur Büchner
- Rincer la tige de l'ultra-turrax avec 7 ml de mélange d'extraction en récupérant le solvant dans l'erlenmeyer et puis ajouter le tout sur le filtre
- Rincer une seconde fois (7 ml de mélange d'extraction), récupérer et ajouter sur le filtre
- Transvaser dans une éprouvette graduée de 100 ml
- Ajouter 200 μ l de standard interne à 10 μ g/ml
- Porter à 60 ml avec le mélange d'extraction
- Prélever 3 ml du filtrat et ajouter 2 ml de phase mobile A
- Filtrer 2 ml sur filtre 0,2 μ m et injecter

Chapitre 3 : Approche méthodologique

NB : Rinçage de la tige de l'Ultra-Turrax entre 2 échantillons : plonger d'abord dans de l'eau milliQ et allumer l'Ultra-turrax, ensuite plonger dans du méthanol et allumer l'Ultra-turrax. Finalement, sécher la tige avec un papier absorbant propre.

Pour le blanc procédure (BP), lors de chaque série, traiter comme un échantillon 10 g d'eau.

Pour le contrôle (CS), traiter également 10 g d'échantillon blanco auxquels 500 µl de la solution « spike CS » à 2 µg/ml ont été ajoutés.

Appareillage

Le système UHPLC est un Acquity (Waters) couplé à un spectromètre de masse, un Quattro Premier (Waters). Le logiciel de traitement des résultats est QuantLynx.

Conditions chromatographiques

- Injection : 5 µl
- Weak wash : Méthanol/eau 10/90
- Strong Wash : Méthanol/eau 90/10
- Colonne : Acquity UPLC BEH C18 1,7 µm 2,1x100mm
- Température du four : 45 °C
- Débit : 0,45 ml/min
- Gradient (Tableau 12)

Tableau 12 : Gradient des phases mobiles A (pipeter 2x100 ml de méthanol, 20 ml d'acétate d'ammonium 0,5 M et mettre au trait avec 2 l d'eau milliQ. Filtrer la solution sur membrane millipore 0,2 µm) et B (pipeter 2x100 ml d'eau, 20ml d'acétate d'ammonium 0,5 M et mettre au trait avec 2 l du méthanol. Filtrer la solution sur membrane millipore 0,2 µm)

Temps	% PMA	% PMB
0	99.9	0.1
10	0.1	99.9
12	0.1	99.9
12.1	99.9	0.1
15	99.9	0.1

Paramètres du spectromètre de masse

Les paramètres de l'interface électrospray de la source et des transitions sont repris dans le Tableau 13. L'argon est utilisé comme gaz de collision.

Chapitre 3 : Approche méthodologique

Tableau 13 : Paramètres du spectromètre de masse et transitions MRM pour l'analyse des pesticides par LC-MS/MS. Les caractères gras sont utilisés pour distinguer les ions filles quantifiants des ions filles qualifiants.

MS détection					
Mode d'ionisation			+		
Capillaire (kV)			0.6		
Extracteur (V)			4		
RF Lens (V)			0.2		
Température de la source (°C)			130		
Température de désolvation (°C)			400		
Débit du gaz du cône (L/Hr)			50		
Débit du gaz de désolvation (L/Hr)			800		
Ion	Parents (m/z)	Fille (m/z)	Cône (V)	Collision (V)	Temps de rétention (min)
Cyromazine	167.07	84.97 60.3	28	16 18	1.53
Omethoate	214	183 154.9	20	12 15	1.6
Propamocarb	189.1	102 144	25	17 12	2.15
Thiamethoxam	292.26	211 180.9	19	12 24	2.49
	294.3	211	19	12	
Dimethoate	230.1	199.1 125.1	17	10 17	3.47
Acetamiprid	223	125.8 89.9	26	21 35	3.65
Carbendazim	192.1	160.1 132.1	25	18 30	3.92
Desmethyl pirimicarb	225.1	71.97 168	25	18 14	4.88
Pirimicarb	239.1	72 182.1	28	18 15	6.33
Phenmedipham	301.1	167.9 135.9	25	9 19	7
Linuron	249.1	160.0 182.1	28	16 15	7.17
Azoxystrobin	404	372 329.2	23	15 30	7.38
Boscalid	342.79	307.1 271.2	33	20 30	7.57
Chlorpropham	213.86	171.78 153.86	17	8 18	7.61
Imazalil	297.1	159.0 69.1	30	20 20	8.67
Tebuconazole	309.8	70	30	20	8.67
	307.8	70	30	20	
Difenoconazole	405.8	250.8	32	30	9.2
	406.4	250.8	30	30	

E. ANALYSE DE LA MELAMINE

Cette méthode a été utilisée pour révéler la présence de mélamine (métabolite de la cyromazine) dans les échantillons de melons. Son extraction se réalise à l'aide d'un mélange acétonitrile-eau dans un milieu légèrement acide. Une étape de purification sur phase solide est nécessaire avant l'injection sur le LC-MS [Gosciny *et al.*, 2011].

Préparation des échantillons

Pour l'échantillon, la procédure suivante est appliquée :

- 1 g d'échantillons découpés et homogénéisés selon les critères du SANCO/10840/2009 [SANCO, 2011] ont été pesés à 0,001 g près dans un tube Falcon de 15 ml
- Ajout de 10ml de la solution d'extraction (ACN:H₂O 1:1)
- Homogénéiser pendant 30 secondes à l'aide d'un Vortex (vitesse maximale)
- Passer l'échantillon au bain ultra-sons chauffé (30 °C < T < 50 °C) pendant 20 minutes
- Centrifuger à 4000 tr/min pendant 10 minutes
- Prélever la totalité du surnageant à l'aide d'une pipette Pasteur et l'introduire dans un tube à centrifuger en verre à fond plat de 40 ml
- Ajouter 110 µl de la solution d'acide chlorhydrique 1 N et 20 ml de dichloromethane
- Mélanger le tout à l'agitateur rotatif pendant 20 minutes
- Centrifuger au moins à 1500 tr/min pendant 10 minutes
- Préparer la cartouche SPE :
 - Conditionner les colonnes SCX avec 3 ml d'ACN à 5% NH₄OH ; 3 ml d'ACN acide ; 3 ml d'ACN et pour finir 3ml d'eau milli-Q
 - Déposer 2 ml du surnageant
 - Laver avec 3 ml d'eau milli-Q et puis 3ml d'ACN
 - Eluer avec 3 ml d'ACN à 5% NH₄OH
 - Evaporer l'éluât à sec sous azote

- Une fois l'éluât évaporé à sec, ajouter 500 μ l d'eau milli-Q
- Passer aux ultra-sons 5 minutes
- Vortexer
- Filtrer sur filtre 0,2 μ m et injecter

Pour le blanc procédure, lors de chaque série, traiter comme un échantillon 1 g d'eau.

Pour le contrôle, traiter également 0,5 g d'échantillon blanco auxquels 250 μ l de la solution 1 μ g/ml ont été ajoutés,.

Appareillage

Le système UPLC est un Acquity (Waters) couplé à un spectromètre de masse, un Quattro Premier (Waters). Le logiciel de traitement des résultats est QuantLynx.

Conditions chromatographiques

- Injection : 1 μ l
- Weak wash : Méthanol/eau (90/10)
- Strong Wash : Méthanol/eau (10/90)
- Colonne : Acquity HILIC 1,7 μ m 2,1x100mm
- Température du four : 35°C
- Débit : 0,7ml/min isocratique

Paramètres du spectromètre de masse

Les paramètres de l'interface électrospray de la source et des transitions sont repris dans le Tableau 14. L'argon est utilisé comme gaz de collision.

Tableau 14 : Paramètres du spectromètre de masse et ions pour l'analyse de la mélamine. Les caractères gras sont utilisés pour distinguer les ions filles quantifiants des ions filles qualifiants.

MS détection			
Mode d'ionisation	+		
Capillaire (kV)	0.8		
Cône (V)	42		
Extracteur (V)	4		
RF Lens (V)	0.3		
Température de la source (°C)	150		
Température de désolvatation (°C)	400		
Débit du gaz du cône (L/Hr)	51		
Débit du gaz de désolvatation (L/Hr)	800		
Ion	Parents (m/z)	Fille (m/z)	Temps de rétention (min)
Mélamine	84.8 67.8	22 17	0.91

F. METHODE D'ANALYSE POUR L'ETHYLENETHIOUREE (ETU)

Lors des transformations, les dithiocarbamates ont tendance à se dégrader en une substance plus toxique qu'eux-mêmes, l'éthylénethiourée (ETU) ou le propylénethiourée (PTU). Pour détecter et quantifier l'ETU, une méthode spécifique a dû être développée et ensuite validée.

Cette méthode a été publiée dans Journal of Chromatography A et se trouve dans l'Annexe IV [Bonnechère *et al.*, 2011].

Développement de la méthode

Le développement de cette méthode consiste à mettre au point les deux étapes suivantes : optimiser la chromatographie et l'extraction.

Chromatographie

L'ETU et le PTU sont très polaires et présentent peu de rétention sur des colonnes de type reverse-phase.

Plusieurs colonnes de chromatographie ont été testées, aussi bien des colonnes sus-2 μm que sub-2 μm .

Colonnes sus et sub-2 μm

- **Colonnes chromatographiques sub-2 μm testées**

- *Acquity UPLC BEH C18 1.7 μm ; 2,1x100mm; Waters:* Colonne Acquity classique C₁₈ qui de par sa structure est stable aux pH extrêmes. Remplissage : trifonctionnel C₁₈, entièrement endcappé, lié au substrat Ethylène Bridge Hybrid (BEH).
- *Acquity UPLC BEH C8; 1.7 μm ; 2,1x100 mm; Waters:* Colonne Acquity classique C₈ qui de par sa structure est stable aux pH extrêmes. Remplissage : trifonctionnel C₈, entièrement endcappé, lié au substrat Ethylène Bridge Hybrid (BEH).
- *Acquity UPLC BEH Phenyl 1.7 μm ; 2,1x100 mm; Waters:* Colonne offrant une sélectivité différente, particulièrement en ce qui concerne les composés polyaromatiques. Remplissage : trifonctionnel C₆ Phenyl, entièrement endcappé, lié au substrat Ethylène Bridge Hybrid (BEH).
- *Atlantis UPLC BEH HILIC; 1.7 μm ; 2,1x100 mm ; Waters:* Excellente pour la rétention de composés polaires, compatible avec des phases mobiles 100% aqueuses, stabilité plus importante à des conditions de pH faibles. Elle est spécialement conçue pour la rétention d'analytes polaires.

- **Colonnes chromatographiques sus-2 μm testées**

- *GraceSmart RP 18; 5 μm ; 4,6x250 mm; Grace:* Colonne C₁₈ classique.
- *Alltima C8; 5 μm ; 4,6x250 mm; Grace:* Colonne C₈ classique.
- *Shodex RSpak DE-413 ; 46x150 mm ; Showa Denko:* Le RSpak DE-413 a une taille de pore d'approximativement 100 angstrom. Elle peut être employée pour l'analyse de molécules de faible poids moléculaire comme les oligopeptides. C'est une colonne échangeuse d'ions.
- *Atlantis dC18; 3 μm ; 2,1x100 mm ; Waters:* Le "d" signifie "difunctional" car les colonnes Atlantis possèdent deux fonctions C₁₈

entrelacées ce qui leur donne une rétention bien supérieure à une colonne C₁₈ classique ainsi qu'une protection contre le dessèchement ce qui permet de les utiliser sans risque avec 100% d'eau.

- *Uptisphere MM1, mode mixte ; 5 μ m; 2,1x100 mm ; Interchim : Mode mixte car deux silanes différents sont liés à la silice. Comparée à des phases traditionnelles, cette colonne offre une sélectivité unique.*

Ces différentes colonnes ont été testées en HPLC : C18, C8, Shodex, Atlantis,... La colonne offrant le plus de rétention en HPLC-UV est la C8 ($t_{R\text{ ETU}} = 5.4$ min et $t_{R\text{ PTU}} = 6.40$ min), avec comme phase mobile eau-MeOH 95-5. Nous avons dès lors testé l'Acquity C8 en UPLC-MS/MS mais ce phénomène de rétention n'était plus observé. D'autres colonnes ont été testées en UPLC-MS/MS : C18, C8, HILIC, Atlantis, Phenyl avec la même phase mobile. Les colonnes de diamètre de pores inférieurs à 2 μ m offrant le plus de rétention sont la Phenyl ($t_{R\text{ ETU}} = 0.9$ min et $t_{R\text{ PTU}} = 1.36$ min) et l'Atlantis dC18 de Waters ($t_{R\text{ ETU}} = 0.97$ min et $t_{R\text{ PTU}} = 1.55$ min). Une dernière colonne de structure mixte et de diamètre de pores intermédiaires (5 μ m), l'Uptisphère d'Interchim a été évaluée et se montre également performante ($t_{R\text{ ETU}} = 1.01$ min et $t_{R\text{ PTU}} = 1.63$ min). Notons que celle-ci offre une spécificité différente.

Appareillages

L'HPLC est composée d'un injecteur Gilson 232XL, d'une pompe Varian 9010 et d'un détecteur UV Waters 486. Le logiciel utilisé pour le traitement des résultats est Galaxie.

Le système UPLC est un Acquity (Waters) couplé à un spectromètre de masse, un Quattro Premier (Waters). Le logiciel de traitement des résultats est QuantLynx.

La phase mobile est composée de 5% de méthanol et 95% de l'eau MilliQ. Elle est filtrée sur filtre avec des pores de 0,2 μ m.

Le débit de la phase mobile est de 0,45 ml/min sur le système UPLC-MS et de 1 ml/min sur le système HPLC-UV.

La température de la colonne est maintenue à 30°C sur l'UPLC et sur l'HPLC, nous avons travaillé à température ambiante.

Paramètres d'acquisition du MS/MS

Un réglage fin a été réalisé sur le MS/MS pour trouver les paramètres d'acquisition pour la détection de l'ETU, l'ETU D4 et du PTU (Tableau 15). L'article de Blasco *et al.* renseignait qu'ils obtenaient une meilleure sensibilité avec l'APCI par rapport à l'ESI+ [Blasco, 2004]. Nous n'avons pas observé cet effet avec notre appareillage et donc nous avons choisi de travailler en ESI+.

Tableau 15 : Paramètres du spectromètre de masse et transitions MRM de l'ETU et du PTU. Les caractères en gras sont utilisés pour distinguer les ions filles quantifiants des ions filles qualifiants.

MS détection			
	ETU / PTU		
Mode d'ionisation	ESI ⁺		
Capillaire (kV)	0.3		
Cone (V)	31		
Extractor (V)	3		
RF Lens (V)	0.4		
Température de la source (°C)	130		
Température de désolvatation (°C)	450		
Débit du gaz du cone (L/Hr)	51		
Débit de Gaz désolvatation (L/Hr)	800		

Ion sélectionné	Parents (m/z)	Fille (m/z)	Collision (V)
ETU	102.98	44.3	15
		85.9	15
PTU	116.88	41.1	21
		58.0	13
ETU D4	106.85	45.1	15
		48.18	15

Extraction

Un test d'extraction avec la salade a été réalisé en suivant la méthode utilisée pour l'analyse multi-résidus LC-MS/MS (mélange d'eau, de méthanol et d'un tampon d'acétate d'ammonium).

Deux solvants d'extraction ont été testés en parallèle : un solvant d'extraction méthanolique tamponné et un solvant d'extraction méthanol-eau (3/1) [Kontou, 2001].

Les résultats en salade furent meilleurs pour l'ETU avec le mélange méthanol-eau qui nous donnait un rendement d'extraction voisin de 100%.

Un premier test d'orientation a alors été effectué pour les trois matrices concernées par l'analyse de la concentration des résidus d'ETU montrant des rendements satisfaisants selon le SANCO/12495/2011 compris entre 73% et 96% (Tableau 16) [SANCO, 2011].

Tableau 16 : Rendements d'extraction de l'ETU avec le solvant d'extraction méthanol-eau (3/1) pour les différentes matrices

Matrices	Rendement ETU
Céleris	95%
Epinards	73%
Melons	96%

Extraction de l'échantillon

Après homogénéisation à l'aide du Robot Coupe® 301, 10 g de matrice sont extraits par le mélange d'extraction à l'aide de l'ultra-turrax (Fig.22). Comme représenté sur la Figure 22, après avoir pesé l'échantillon, celui-ci est enrichi avec un standard interne. Le mélange d'extraction (MeOH-eau) est ensuite ajouté et le tout est broyé à l'aide de l'Ultra-turrax pendant une minute. La solution est filtrée sur Büchner et la tige de l'Ultra-turrax est rincée deux fois. 500 μ l de TFA 0,1% sont ajoutés à l'extrait pour avoir la même composition dans l'extrait que celle de la phase mobile. L'extrait est ensuite porté au trait à 30 ml avec le mélange d'extraction.

500 μ l du mélange d'extraction sont filtrés sur Uniprep (Mini-Uniprep PVDF Filter Media avec Polypropylène Housing 0.2 μ m, Wathman) et 5 μ l sont injectés en full loop sur la colonne Uptisphere sur le LC-MS/MS.

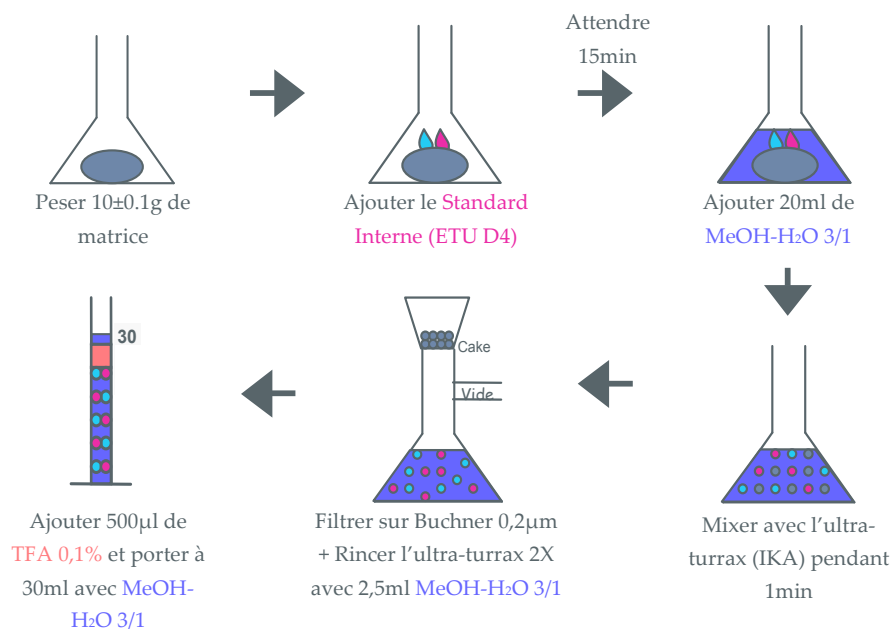


Fig.22 : Mode opératoire pour l'extraction de l'ETU et du PTU

Extraction du contrôle et du blanc

A chaque série, traiter comme un échantillon 10 g d'eau, c'est le blanc procédure.

Traiter également 10 g d'échantillon blanco auxquels 100 µl de la solution intermédiaire à 5 µg/ml ont été ajoutés, c'est l'échantillon de contrôle (CS).

Purification

Lors des tests chromatographiques effectués, nous avons mis en évidence un effet de matrice très important. En effet, une suppression de 90% du signal a été observée en présence de la matrice dans le cas des colonnes chromatographiques Phenyl et Atlantis dC₁₈. Cet effet de matrice est d'autant plus renforcé qu'il y a peu de rétention. Une étape de purification a donc été envisagée.

Dans la littérature, une purification liquide-liquide est réalisée avec du dichlorométhane mais c'est une méthode lourde et surtout assez polluante [Blasco *et al.*, 2004; Sottani *et al.*, 2003].

Nous avons donc essayé de mettre en œuvre une méthode plus simple basée sur une chromatographie sur phase solide (SPE).

Différents types de colonnes ont été testés en jouant sur l'absorption (interactions de type Van Der Waals), la polarité et le caractère ionique.

Colonnes SPE testées

- *Colonne C18, Grace (3 cc, 500 mg) - Phase inverse : $-\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{C}_{18}\text{H}_{37}$:* Phase hydrophobe en silice avec groupement C18 employée pour adsorber les analytes des solutions aqueuses. Le remplissage monofonctionnel fournit une sélectivité alternée.
- *Colonne Oasis HLB, Waters (3 cc, 60 mg) - Phase inverse: N-Vinylpyrrolidone-DVB copolymère :* Colonne fortement hydrophobe composée d'un polymère « water-wettable » avec un équilibre hydrophile-lipophile unique. Maintient une haute rétention et la capacité même s'il est à sec après le conditionnement.
- *Colonne Oasis MCX, Waters (3 cc, 60 mg) - Mixed-mode c'est-à-dire combinaison d'échangeuse d'ions et de phase inverse : N-Vinylpyrrolidone-DVB copolymère-SO₃H) :* Elle est composée d'un polymère « water-wettable ». Elle est très sélective pour les bases et stable avec les solvants organiques.
- *Colonne Env+, Isolute (6 cc, 200 mg) - Copolymère hautement réticulé de polystyrène divinylbenzène hydroxylé :* L'importante surface spécifique de ces phases non polaires permet la rétention des composés très polaires et solubles dans l'eau.
- *Colonne Cyanopropyl, Waters (3 cc, 500 mg) - Phase inverse : $-\text{Si}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_3\text{CN}$:* Phase basée sur la silice avec une faible hydrophobicité qui peut être employée comme alternative moins polaire à la silice ou comme alternative moins hydrophobe par rapport au C18 et C8.

- *Colonne Aminopropyl, Varian (3 cc, 500 mg) - Phase inverse :* - $\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$: Cette colonne est modérément polaire grâce à une phase basée sur la silice et une surface faiblement basique. Elle peut être employée comme un sorbant polaire avec une sélectivité différente pour les analytes acides/bases ou les faibles échanges d'anions dans un milieu aqueux à pH inférieur à 8.
- *Colonne Silica, Waters (3 cc, 500 mg) - Phase normale :* SiO_2 : Sorbant polaire liant les analytes dans des solvants non-aqueux. Elle est aussi employée comme un intermédiaire fort d'échange de cations dans un milieu aqueux et comme un support pour les séparations liquide-liquide.
- *Colonne Florisil, Waters (6 cc, 500 mg) - Phase normale :* $\text{MgO} \cdot \text{SiO}_2$: Phase polaire et très active. Pour l'adsorption d'espèces faiblement ou modérément polaires dans des solutions non-aqueuses, c'est une phase qui est un faible sorbant basique.

Mode opératoire

Suivant les colonnes testées, différents modes opératoires ont été mis en place (Tableau 17).

Les premiers tests ont été réalisés avec un standard sans matrice sur les colonnes de purification C_{18} , HLB, MCX, Env+ (Tableau 17) et les observations étaient assez semblables. Les deux molécules n'étaient pas retenues sauf pour l'Env+. Des tests de pH sur l'Env+ ont révélé que ce dernier avait une importance. Si la solution chargée n'était pas à $\text{pH} > 7$, le rendement SPE était diminué. Suite à ces résultats encourageants, des tests avec matrice ont été réalisés mais la présence de matrice diminuait fortement le rendement SPE.

Tableau 17 : Mode opératoire pour les différentes colonnes testées

Etapas	Colonnes			
	C18	HLB	MCX*	Env+ CN, NH ₂ , Silica, Florisil
Conditionnement	3 ml MeOH + 200 ou 500 µl HCl 1M	3 ml MeOH 3 ml eau	1 ml MeOH-eau	3 ml MeOH 3 ml eau 2 ml MeOH-eau 3/1
Charge	3 ml MeOH-eau 3/1 + 200 ou 500 µl HCl 1M + 100 µl PTU-ETU 10 µg/ml	3 ml eau + 500 µl PTU-ETU 10 µg/ml	1 ml MeOH-eau + 500 µl PTU-ETU 10 µg/ml	2 ml eau ou extrait + 500 µl PTU-ETU 100 µg/ml Ajuster le pH avec NH ₃ pour avoir un pH > 7 1,95 ml eau-MeOH 3/1 + 50 µl PTU-ETU 100 µg/ml
Rinçage	3 ml MeOH-eau + 200 ou 500 µl HCl 1M	3 ml eau	1 ml acide formique 1 ml MeOH 100% 1 ml NH ₄ OH 5% dans MeOH-eau (55-45)	3 ml eau 2 ml eau MeOH 3/1
Elution	3 ml MeOH-NH ₄ OH 5%	3 ml eau-MeOH (90-10) 3 ml eau-MeOH (80-20) 3 ml eau-MeOH (70-30) 3 ml eau-MeOH (50-50)	1 ml NH ₄ OH 5% dans MeOH-eau (95-5)	3 ml eau-MeOH (80-20) 3 ml eau-MeOH (50-50) 3 ml MeOH 100% 2 ml eau
Injection	Ajout de 2 ml d'eau avant de filtrer sur 0,2 µm	Ajout de 2 ml d'eau avant de filtrer sur 0,2 µm	Filtrer directement les solutions récoltées sur 0,2 µm	Concentrer à 1 ml et filtrer sur 0,2 µm Filtrer directement les solutions récoltées sur 0,2 µm

Etant donné les résultats, la SPE a ensuite été testée en tant que filtre chimique. En effet, étant donné que les molécules d'intérêt sont peu retenues sur les colonnes, l'ETU serait élué directement et les interférents resteraient accrochés sur la colonne.

Des essais ont alors été réalisés sur les colonnes SPE Cyanopropyl, Silica, Florosil et NH₂ et les solutions récoltées contenant la charge et le rinçage ont été injectées sur le LC-MS/MS. La colonne CN offrant un bon rendement de récupération, elle a été testée avec les trois extraits de matrice. Les injections ont été effectuées sur la colonne chromatographique Uptisphere. Les tests ont été poursuivis avec cette colonne pour pouvoir ensuite valider la méthode.

La colonne de purification CN retenait de manière satisfaisante les interférences de matrice. Ceci impliquait une réduction de l'effet de matrice sur les colonnes chromatographiques Phenyl et Atlantis. Sur la colonne chromatographique Uptisphere, la correction due à la SPE n'était pas significative. Dans les deux cas, une réduction de l'effet de matrice était observée mais cette réduction était moins importante pour la combinaison purification/chromatographie : CN/Phenyl ou CN/Atlantis, que pour l'Uptisphere sans SPE.

En conséquence, la colonne chromatographique Uptisphere a été choisie pour cette méthode. Elle permet de minimiser les interférences de la matrice tout en éliminant l'étape de purification.

Validation de la méthode

La validation de cette méthode d'analyse pour l'ETU s'est réalisée selon les normes du document SANCO/12495/2011 [SANCO/10684/200, 2009].

Le dosage de l'ETU se fait à l'aide d'une extraction avec un solvant MeOH-eau 3/1. L'ETU et le standard interne (ETU D4) sont extraits de la matrice et injectés sur le LC-MS/MS de Waters.

Appareillage

Le système UPLC ayant été sélectionné lors du développement de méthode, c'est ce dernier qui a été utilisé lors de la validation.

La phase mobile est composée de 5% de méthanol et 95% de TFA 0.1% dilué dans l'eau. Elle est filtrée avec des pores de 0,2 μm par un système Millipore.

Le débit de la phase mobile est de 0,45 ml/min sur le système LC-MS. La température de la colonne est maintenue à 30°C. La colonne chromatographique utilisée est la colonne Uptisphere MM1, mode mixte, 5 μm ; 2,1x100 mm d'Interchim. C'est une colonne avec un mode mixte car deux silanes différents sont liés à la silice. Comparée à des phases traditionnelles, cette colonne offre une sélectivité unique.

Mode opératoire

Les performances analytiques ont été évaluées avec l'analyse de céleris, melons et épinards enrichis à 50 $\mu\text{g/kg}$ et 300 $\mu\text{g/kg}$. La limite de détection (LOD), définie comme la plus faible concentration détectée d'une substance qui peut être mesurée dans l'échantillon, est un critère qualitatif qui aboutit à une relation signal/bruit de 3. La LOQ est la plus faible concentration mesurée d'une substance qui peut être quantifiée dans l'échantillon. C'est un critère quantitatif qui aboutit à une relation signal/bruit de 6. C'est aussi la plus faible concentration à laquelle nous devons obtenir un rendement compris entre 70 et 120% et une répétabilité inférieure à 20%. Les LOQs sont donc le résultat d'un processus de validation qui dépend de la méthode d'analyse utilisée, des caractéristiques du produit et des matrices sur lesquelles l'analyse est effectuée.

La répétabilité et la reproductibilité ont été évaluées avec six échantillons de céleris, melons ou épinards sur quatre jours différents avec deux opérateurs. Une courbe de calibration a été réalisée chaque jour de validation par l'analyse de cinq standards en matrice (50, 150, 300, 500 et 1000 $\mu\text{g/kg}$). L'effet de matrice a été évalué en comparant un standard en solution et un standard en extrait aux cinq concentrations de la courbe de calibration.

Limite de détection et de quantification (LOD et LOQ)

Les limites de détection et de quantification ont été calculées à partir du chromatogramme d'un échantillon de contrôle enrichi à 25 $\mu\text{g/kg}$ sur base d'un signal sur bruit de 3 et 6 (Fig.23).

Afin de tenir compte de la variation de la sensibilité de l'appareillage et en particulier de la diminution de signal au cours du temps (Précision et rendements p 115), la LOD et la LOQ ont été fixées à 25 et 50 $\mu\text{g/kg}$.

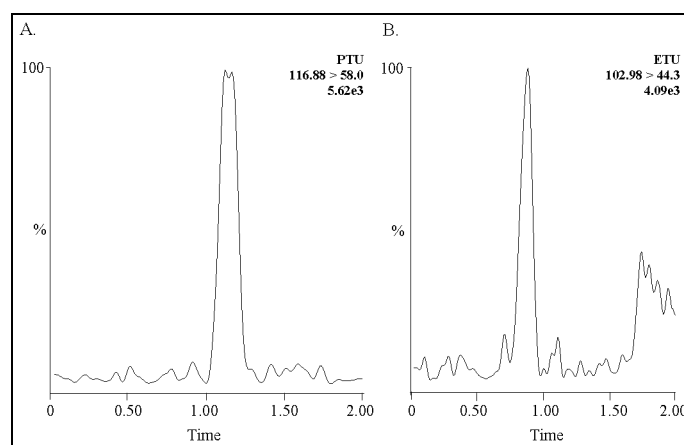


Fig.23 : Chromatogramme l'échantillon de céleri à 50 $\mu\text{g/kg}$ de PTU (A) et d'ETU (B)

Linéarité

La linéarité de la réponse par UPLC-ESI⁺-MS/MS a été déterminée en injectant des standards d'ETU et PTU en solution. Les courbes de calibration étaient linéaires pour l'ETU et le PTU comme montré dans la Figure 24.

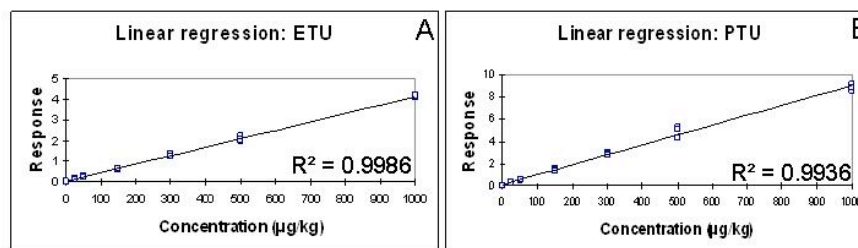


Fig.24: Courbes de calibration pour l'ETU (A) et le PTU (B) obtenues à l'aide d'un LC-ESI⁺-MS/MS

La linéarité était très bonne avec un coefficient de corrélation de 0.999 pour l'ETU et 0.994 pour le PTU. Les équations des droites de calibration sont les suivantes : $y=0.0014x-0.0214$ et $y=0.089x-0.1278$ pour l'ETU et le PTU respectivement.

Effet de matrice

Comme indiqué précédemment, l'effet de matrice a été évalué en analysant un standard en solution et un standard en extrait de matrice aux six mêmes concentrations que celles pour la linéarité.

Lors des premiers tests, un important effet de matrice était présent avec environ 90% de suppression de signal. La colonne Uptisphere a permis d'optimiser la rétention des composés fortement polaires, tout en minimisant l'interférence de la matrice. Néanmoins, comme montré sur la Figure 25A, un effet de matrice important est encore observé. L'utilisation d'un standard interne isotopique, ETU D4 permet de le compenser comme le montre la Figure 25Aa.

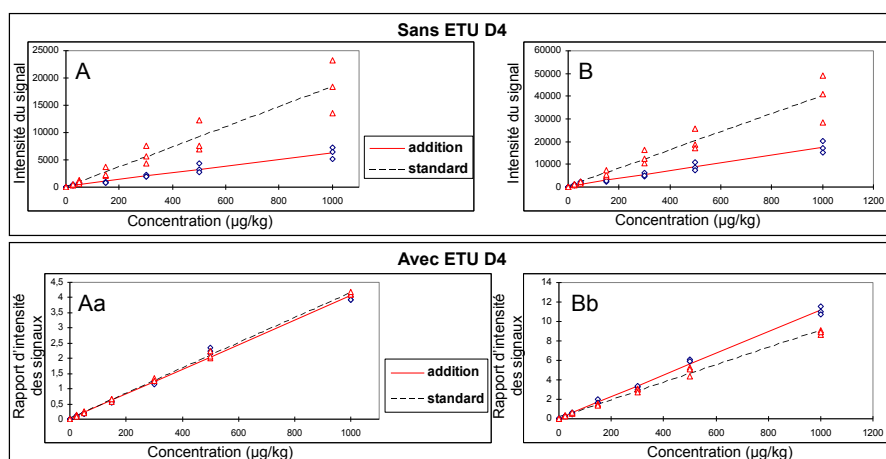


Fig.25 : Effet de matrice sans correction avec le standard interne pour l'ETU (A) et pour le PTU (B) et en présence de standard interne pour l'ETU (Aa) et pour le PTU (Bb). La ligne pointillée représente l'ETU en solution et la ligne pleine représente l'extrait enrichi en ETU ou en PTU

Pour le PTU, l'effet de matrice était moins fort que pour l'ETU (Fig.25 B et Bb). Etant donné que la molécule n'est pas la même que le standard deutéré

utilisé comme standard interne, la compensation ne peut se faire. Par conséquent, la linéarité a été réalisée avec des standards en extrait de matrice lors de l'analyse du PTU et en solution lors de l'analyse de l'ETU.

Précision et rendements

Les rendements et la répétabilité ont été mesurés à partir de six échantillons enrichis à 50 $\mu\text{g/kg}$ et de six autres enrichis à 300 $\mu\text{g/kg}$.

La reproductibilité a été déterminée à l'aide d'échantillons enrichis à 50 et 300 $\mu\text{g/kg}$ réalisés par deux opérateurs durant quatre jours.

Tous les résultats de rendements et précision sont repris dans le Tableau 18.

Tableau 18 : Rendements et précision déterminés pour le céleri, le melon et les épinards

Echantillons enrichis avec l'ETU						
Matrices	Céleris		Melons		Epinards	
Concentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	50	300	50	300	50	300
Rendement (%)	89,76	77,32	69,65	78,71	64,88	88,95
Répétabilité (%)	10,03	7,67	9,99	3,82	6,02	2,89
Reproductibilité (%)	8,28	7,61	11,79	7,25	14,02	10,12
Echantillons enrichis avec le PTU						
Rendement (%)	81,15	84,01	127,39	93,03	74,01	70,77
Répétabilité (%)	6,03	5,15	7,79	9,26	29,72	33,78
Reproductibilité (%)	12,76	21,14	14,36	27,29	21,27	36,22

Les rendements étaient compris entre 65 et 90% pour l'ETU et entre 71 et 127% pour le PTU. Les déviations standards relatives (RSDs) pour la répétabilité et la reproductibilité étaient très bonnes, excepté pour le PTU.

Une décroissance du signal a été observée lors d'une série d'injections. Celle-ci reste inexpliquée mais avait déjà été observée par Startin *et al.* [Startin, 2005]. Pour minimiser ces variations de signal au cours du temps et avoir des résultats précis, un standard interne était absolument nécessaire. Pour le PTU, les résultats étaient moins bons car l'ETU deutéré compense moins les variations pour le PTU que pour l'ETU.

Stabilité lors de l'extraction

Les dithiocarbamates sont assez instables et cette instabilité dépend du pH, de la température et des composants de la commodité. Par conséquent, il était intéressant de tester la stabilité du maneb pendant le processus d'extraction. En effet, si la dégradation du maneb est rapide pendant la méthode d'analyse, la concentration en ETU déterminée pourrait être plus dépendante des conditions d'analyse que de celles des transformations.

Les résultats représentés sur les Figures 26 et 27 sont très intéressants car ils montrent qu'il n'y a pas d'incidence sur la concentration en ETU, que l'extraction à l'ultra-turrax soit réalisée rapidement ou pas (Fig.26, Fig.27).

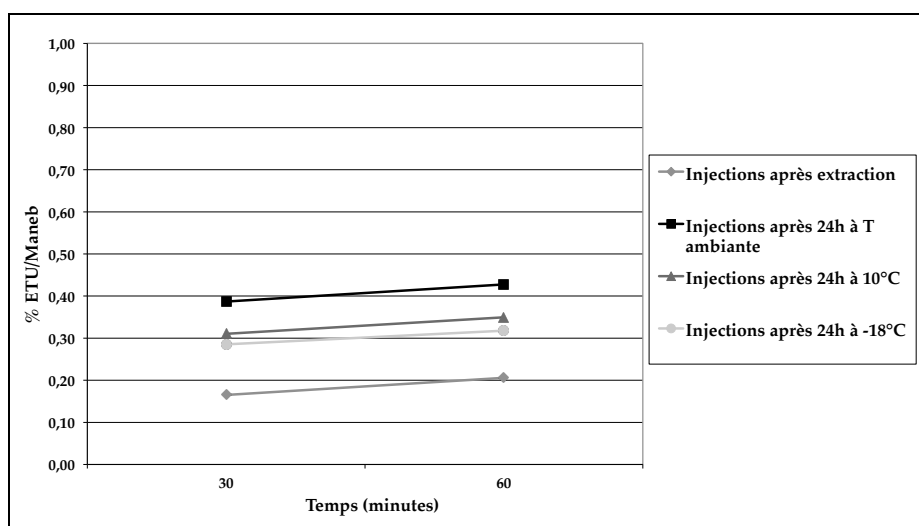


Fig.26: Cinétique de dégradation du maneb en ETU en fonction du processus d'extraction. Le mélange d'extraction est ajouté tout de suite mais l'extraction de l'échantillon à l'ultra-turrax a eu lieu après 30 ou 60 minutes d'attente. Les quatre courbes représentent, les extraits qui ont été injectés directement après l'extraction ou conservés durant 24h à température ambiante, à 10°C ou à -18°C.

Sur ces deux graphiques, les différences de pourcentages observées sont vraiment minimales. Effectivement l'échelle n'est étalée que sur 1% et nous pouvons observer que la différence est négligeable que l'échantillon soit broyé tout de suite après l'ajout du solvant d'extraction ou non (Fig.26). Il en va de même si le mélange d'extraction n'est pas tout de suite ajouté avant

l'extraction à l'ultra-turrax (Fig.27). Si les extraits sont restés à température ambiante, à -18 °C ou à 10 °C avant l'injection, les différences de concentration sont également infimes.

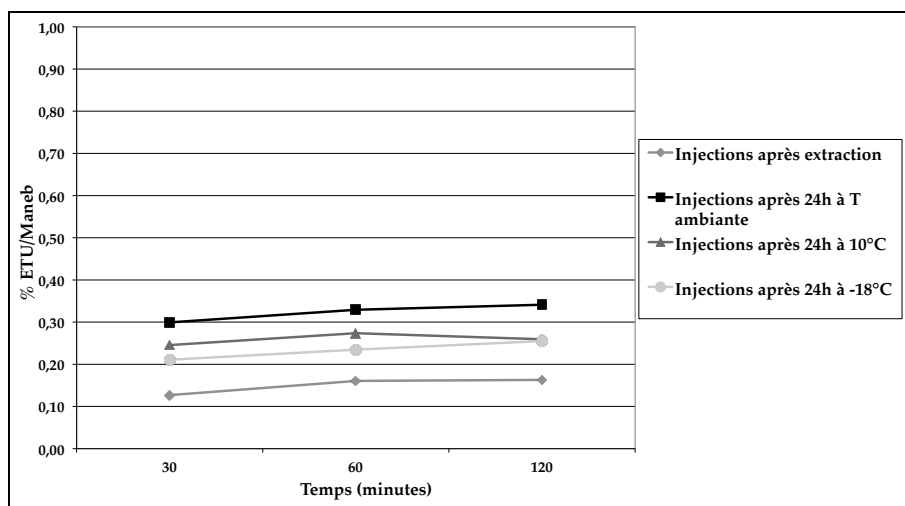


Fig.27: Cinétique de dégradation du maneb en ETU en fonction du processus d'extraction. Le mélange d'extraction est rajouté après 30 minutes, 1h ou 2h et l'échantillon est directement extrait à l'ultra-turrax. Les quatre courbes représentent, les extraits qui ont été injectés directement après l'extraction ou conservés durant 24h à température ambiante, à 10°C ou à -18°C.

Dans la Figure 28, les extraits ont été réalisés sans attente avant l'ajout du mélange d'extraction ou l'extraction à l'ultra-turrax. Les extraits ont ensuite été injectés juste après l'extraction, après être restés 40 minutes, 1h30, 2h, 6h et 24h à température ambiante (T0 (1-3) de la Fig.28). Les concentrations en ETU sont vraiment minimales étant donné qu'elles sont inférieures à 0,5%. De plus, juste après l'extraction, une partie des extraits avait été conservée à -18°C durant 24h. La Figure 28 nous indique que durant les 24h, les extraits sont aussi bien conservés à température ambiante qu'à -18°C. Après avoir laissé les extraits pendant 30 jours à température ambiante, le maneb s'est légèrement dégradé en ETU dans l'extrait car nous retrouvons 2% d'ETU (Fig.28). Cependant avec un si faible pourcentage, cette dégradation peut être considérée comme négligeable.

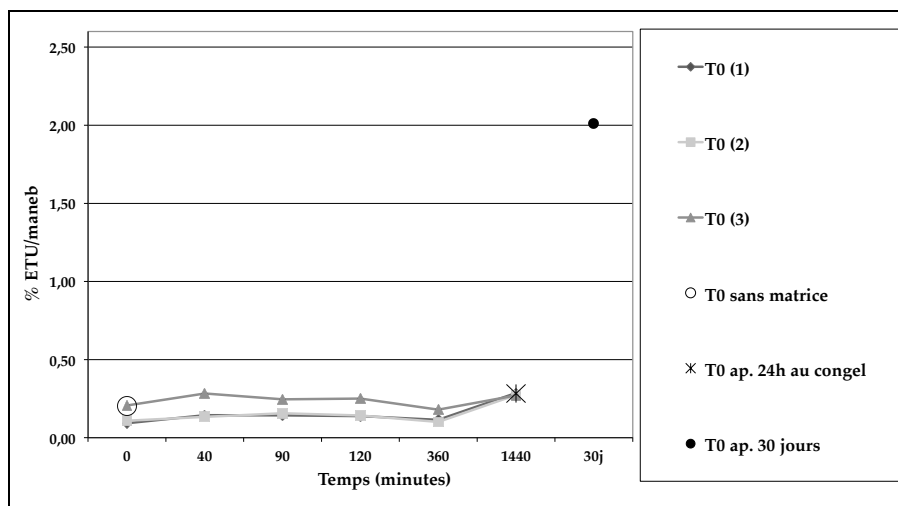


Fig.28: Cinétique de dégradation du maneb en ETU en fonction du processus d'extraction. Les différentes courbes de T0 représentent une extraction réalisée en triplicat lorsque le mélange d'extraction est ajouté tout de suite sur l'échantillon et que l'extraction à l'ultra-turrax a lieu immédiatement. Le T0 sans matrice représente la même extraction mais avec de l'eau à la place de la matrice. Les T0 après 24h à -18°C ou après 30 jours à température ambiante sont les mêmes extraits que les T0 mais laissés durant 24h à -18°C ou 30 jours à température ambiante.

Ces résultats ont bien démontré la stabilité de l'ETU durant l'extraction.

En conclusion, la colonne chromatographique mixed-mode, l'Uptisphere 5MM1 avec deux silanes différents (C8 et SCX) liés à la silice ainsi que l'usage du standard interne (ETU deutéré) ont permis d'obtenir plus de rétention pour l'ETU et de compenser totalement l'effet de matrice sans étape de purification. La conjonction de l'absence d'étape de purification ainsi que la séparation rapide par UPLC permet de diminuer fortement la consommation de solvant. De plus, l'emploi de dichlorométhane, utilisé dans les méthodes précédentes a été remplacé par le méthanol qui est un solvant moins polluant pour l'environnement. Cette méthode rapide a été validée selon les critères du document SANCO [SANCO, 2011].

Chapitre 4: DETERMINATION DES FACTEURS DE TRANSFORMATION

L'étude de l'élimination des pesticides et la formation de leurs produits de dégradation pendant des procédés industriels ou ménagers a été réalisée sur des fruits et légumes très consommés et de morphologie différente tels que les épinards (légume feuille), les melons (légume fruit), les carottes et les céleris (légumes racines). Pour les pesticides sélectionnés suite à leur fréquence de détection, les concentrations mesurées pour chaque échantillon transformé ou non permettent de calculer des PFs comme suit :

$$PF = \frac{\text{niveau de résidu dans le produit transformé}}{\text{niveau de résidu dans le produit agricole brut}}$$

Cette formule permet d'obtenir le PF pour des transformations successives. Dans notre étude, nous avons dans un premier temps calculé des PFs pour chaque transformation, indépendamment de la précédente. Nous avons calculé, par exemple, le rapport de la concentration de résidu retrouvée dans les épinards blanchis et de la concentration de résidu retrouvée dans ceux-ci lavés, le lavage étant l'étape précédant le blanchiment des épinards :

$$PF \text{ blanchiment} = \frac{\text{niveau de résidu dans le produit blanchi}}{\text{niveau de résidu dans le produit lavé}}$$

Dans la suite du travail, chaque fois qu'un PF est indiqué avec le nom d'une seule transformation, cela signifie qu'il a été calculé suivant la concentration de résidu précédent la transformation. Lorsque le PF est indiqué avec plusieurs transformations, ce dernier a été calculé pour les transformations successives et donc selon la première formule.

Ces PFs permettent d'affiner l'évaluation du risque pour les consommateurs.

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation

Pour chaque commodité, plusieurs transformations ont été étudiées:

- Lavage : forme la plus commune et simple de transformation. C'est généralement la première étape dans différents types de traitements (ménagers et industriels) qui sont appliqués aux denrées alimentaires [Kaushik *et al.*, 2009].
- Epluchage : étape importante dans le traitement de la plupart des fruits et légumes. Plusieurs méthodes pour éplucher les commodités existent : à l'aide d'un produit chimique, de manière mécanique, à la vapeur ou en congelant et abrasant. Dans notre étude, l'épluchage fut uniquement réalisé mécaniquement.
- Blanchiment : procédé de cuisson des légumes dans lequel ils sont plongés dans l'eau chaude, retirés après une courte période et finalement plongés dans l'eau froide pour stopper la cuisson [Burchat *et al.*, 1998; Holland *et al.*, 1994; Kaushik *et al.*, 2009; Timme & Walz-Tylla, 2004].
- Cuisson : préparation principale des aliments avant de les consommer. Les processus qui se produisent normalement lors de la cuisson sont la volatilisation, l'hydrolyse et la décomposition thermique. Les résultats peuvent être influencés par les propriétés physico-chimiques des pesticides. Les systèmes ouverts peuvent entraîner la perte d'eau pendant le chauffage par évaporation, de manière à concentrer les résidus de pesticides s'ils ne sont pas détruits par chauffage [Keikotilhaile *et al.*, 2010]. Dans l'étude actuelle, la cuisson au micro-ondes a été choisie car les épinards, carottes et céleris ont été préalablement lavés, blanchis et congelés. Par conséquent, le micro-onde va être utilisé comme moyen de réchauffement des aliments et non de cuisson.
- La pasteurisation est un processus qui permet de réduire les micro-organismes des aliments avec des conditions douces de température

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation

pendant une durée définie et les rafraîchir ensuite immédiatement. Les produits obtenus par la pasteurisation sont stables à basse température et doivent être conservés au frigo contrairement à ceux obtenus par la stérilisation qui sont stables à température ambiante.

- Stérilisation : utilisée pour une grande variété de fruits et légumes afin d'obtenir des produits de longue conservation. Les conditions de stérilisation de notre étude ont été soigneusement choisies pour suivre d'aussi près que possible les pratiques industrielles (ex : température du procédé de 121 °C et F_0 d'environ 10 min).

Ce chapitre est divisé en quatre parties traitant chacune des PFs déterminés pour une transformation unique et pour la succession des transformations pour une commodité.

1. DETERMINATION DES FACTEURS DE TRANSFORMATION POUR LES ÉPINARDS

Les résultats abordés dans cette partie sont issus d'une publication dans Food Control. Cette publication se retrouve dans l'Annexe V [Bonnechère, 2012a]. Cependant, dans cette division, nous aborderons des éléments qui ne sont pas inclus dans l'article.

A. ÉCHANTILLON NON TRANSFORMÉ

Pour calculer un PF, il est absolument nécessaire d'avoir la concentration du pesticide sur les matières premières c'est-à-dire les épinards non transformés. Dans le Tableau 19, toutes les concentrations des pesticides et des produits de dégradation mesurées sont résumées pour les deux variétés d'épinards. Tous les pesticides pulvérisés ont été détectés à l'exception du phenmedipham. Il s'agit d'un herbicide pulvérisé une seule fois lorsque le développement foliaire était au stade de deux feuilles étalées (Tableau 7, p 70). À ce stade, la surface d'échange entre les pesticides et la plante est plutôt faible et pourrait expliquer l'absence de détection. Les autres pesticides ont été détectés avec des concentrations dans les épinards non transformés au-dessus de 0,1 mg/kg (Tableau 19). Cela signifie que les concentrations obtenues sont toujours au-dessus des concentrations minimales définies par l'UE pour effectuer une étude de PF [OECD, 2008].

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Epinard

Tableau 19 : Concentrations (mg/kg) de pesticides et de produits de dégradation pour les deux variétés d'épinard, après diverses étapes de transformation. Les valeurs moyennes ($\pm$ SD, $n = 2$) de deux lots d'épinard sont représentés. ND signifie non détecté.

Cezanne						
Pesticides	LOQ (mg/kg)	Non transformé	Lavage	Blanchiment	Micro-ondes	Sterilisation
		Moyenne (± SD)	Moyenne (± SD)	Moyenne (± SD)	Moyenne (± SD)	Moyenne (± SD)
Boscalid	0.002	1.518 (± 0.025)	1.080 (± 0.149)	0.596 (± 0.039)	0.670 (± 0.023)	0.698 (± 0.028)
Deltamethrine	0.010	0.157 (± 0.002)	0.160 (± 0.030)	0.200 (± 0.020)	0.206 (± 0.001)	0.176 (± 0.021)
Iprodione	0.010	6.542 (± 0.177)	3.717 (± 0.874)	1.557 (± 0.348)	1.319 (± 0.006)	0.198 (± 0.013)
Mancozeb	0.040	0.161 (± 0.013)	0.141 (± 0.049)	0.131 (± 0.030)	0.080 (± 0.010)	ND
Phenmedipham	0.010	ND	ND	ND	ND	ND
Propamocarb	0.001	0.795 (± 0.090)	0.704 (± 0.112)	0.199 (± 0.017)	0.199 (± 0.022)	0.162 (± 0.016)
Dichloroaniline-3,5	0.010	0.046 (± 0.000)	0.051 (± 0.005)	0.076 (± 0.004)	0.094 (± 0.008)	0.191 (± 0.001)
ETU	0.050	ND	ND	ND	0.043 (± 0.018)	0.093 (± 0.008)
SP-916						
Pesticides	LOQ (mg/kg)	Non transformé	Lavage	Blanchiment	Micro-ondes	Sterilisation
		Moyenne (± SD)	Moyenne (± SD)	Moyenne (± SD)	Moyenne (± SD)	Moyenne (± SD)
Boscalid	0.002	0.983 (± 0.043)	0.524 (± 0.064)	0.374 (± 0.039)	0.395 (± 0.024)	0.413 (± 0.014)
Deltamethrine	0.010	0.129 (± 0.006)	0.097 (± 0.001)	0.183 (±0.018)	0.178 (± 0.011)	0.133 (± 0.019)
Iprodione	0.010	10.200 (± 0.127)	5.292 (± 0.896)	3.343 (± 0.145)	2.793 (± 0.389)	0.245 (± 0.004)
Mancozeb	0.040	0.238 (± 0.001)	0.134 (± 0.013)	0.088 (± 0.004)	0.066 (± 0.008)	ND
Phenmedipham	0.010	ND	ND	ND	ND	ND
Propamocarb	0.001	0.950 (± 0.111)	0.829 (± 0.028)	0.259 (± 0.016)	0.265 (± 0.014)	0.178 (± 0.018)
3,5-dichloroaniline	0.010	0.046 (± 0.004)	0.038 (± 0.006)	0.069 (± 0.000)	0.084 (± 0.011)	0.217 (± 0.022)
ETU	0.050	ND	ND	ND	0.045 (± 0.001)	0.060 (± 0.001)

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Epinard

Etant donné que les plants ont été cultivés en plein air, les pesticides ont pu être partiellement éliminés au cours d'averses. De la première pulvérisation jusqu'à la récolte, la quantité totale d'eau a été de 48.1 L m⁻² (Fig.29). Il y a aussi eu une averse majeure (> 5 L m⁻²) entre la dernière pulvérisation et la récolte.

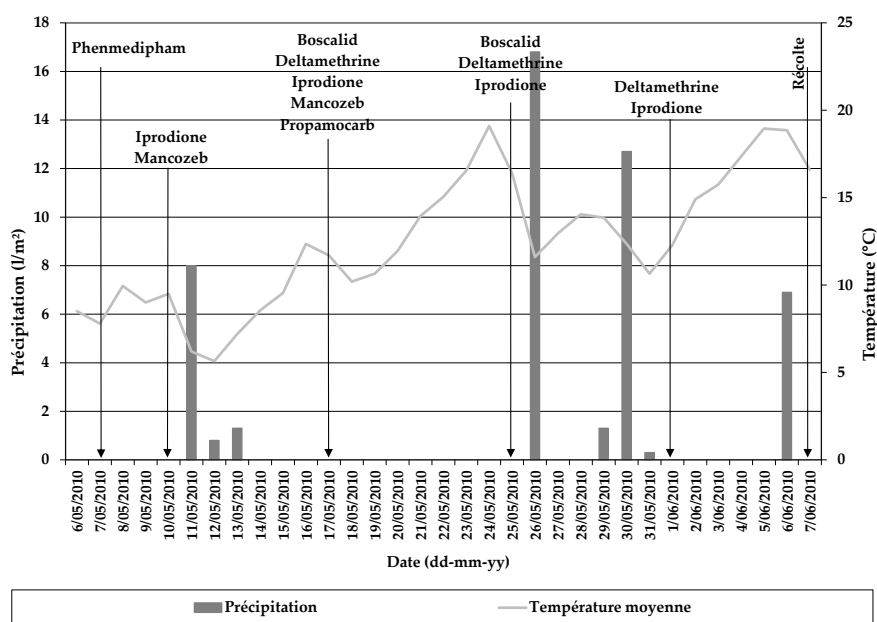


Fig.29 : Conditions météorologiques pour la période s'étendant de la première application de pesticides jusqu'à la récolte pour les 2 lignées d'épinards (station météorologique de Redebel s.a., Belgique; distance entre la station et l'essai : 2.7km).

Dans les épinards non transformés, le produit de dégradation du mancozeb, l'ETU, n'a pas été détecté et la 3,5-dichloroaniline (produit de dégradation de l'iprodione) était présente en faible quantité.

B. LAVAGE

Dans notre étude, le lavage a été réalisé avec l'eau du robinet pendant 2-3 min. La Figure 30 représente l'ensemble des PFs pour les différentes étapes de transformation pour les cinq pesticides détectés. Les résultats pour les deux variétés sont représentés séparément (colonnes et petites formes géométriques).

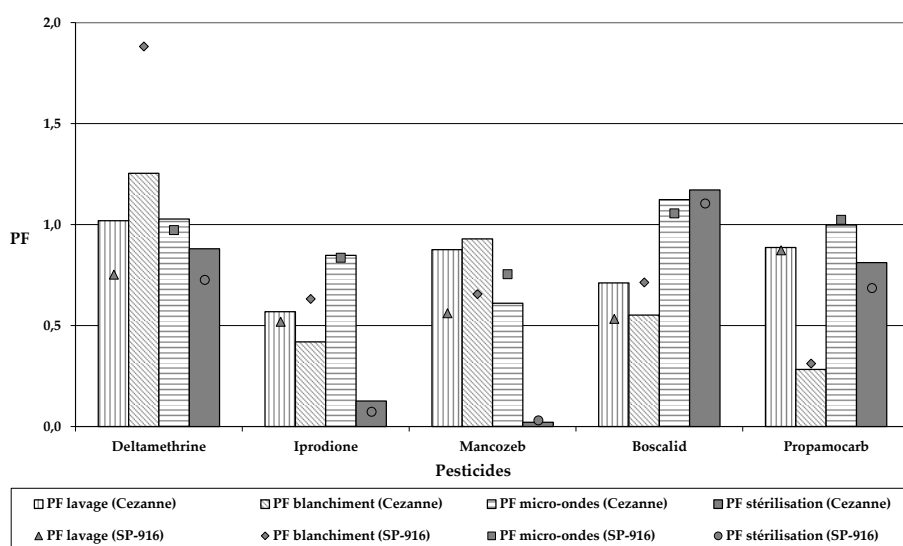


Fig.30 : Facteurs de transformation pour chaque transformation pour cinq pesticides dans deux variétés d'épinard. Les PFs ont été calculées par le ratio de la concentration de pesticides dans les produits transformés et de la concentration de pesticides dans le produit brut. Les SDs (PF) sont repris dans le Tableau 21. Pour le mancozeb, les PFs après stérilisation ont été calculées avec la LOD pour la concentration après la stérilisation

Les résultats sont également repris dans le Tableau 20, qui résume tous les PFs pour les différentes étapes de transformation.

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Epinard

Tableau 20 : Moyennes ($\pm$ SD, $n = 2$) des PFs pour chaque transformation pour les cinq pesticides des deux variétés d'épinard. * plus présent ($< LOD$) après cette transformation.

Pesticides	PF lavage ($\pm$ SD)		PF blanchiment ($\pm$ SD)		PF micro-ondes ($\pm$ SD)		PF stérilisation ($\pm$ SD)	
	Cezanne	SP-916	Cezanne	SP-916	Cezanne	SP-916	Cezanne	SP-916
Boscalid	0.71 ($\pm$ 0.10)	0.53 ($\pm$ 0.07)	0.55 ($\pm$ 0.08)	0.71 ($\pm$ 0.11)	1.12 ($\pm$ 0.08)	1.06 ($\pm$ 0.13)	1.17 ($\pm$ 0.09)	1.10 ($\pm$ 0.12)
Deltamethrine	1.02 ($\pm$ 0.19)	0.75 ($\pm$ 0.03)	1.25 ($\pm$ 0.27)	1.88 ($\pm$ 0.18)	1.03 ($\pm$ 0.10)	0.97 ($\pm$ 0.11)	0.88 ($\pm$ 0.11)	0.73 ($\pm$ 0.13)
Iprodione	0.57 ($\pm$ 0.13)	0.52 ($\pm$ 0.09)	0.42 ($\pm$ 0.14)	0.63 ($\pm$ 0.11)	0.85 ($\pm$ 0.19)	0.84 ($\pm$ 0.12)	0.13 ($\pm$ 0.02)	0.07 ($\pm$ 0.00)
Mancozeb	0.88 ($\pm$ 0.32)	0.56 ($\pm$ 0.06)	0.93 ($\pm$ 0.39)	0.66 ($\pm$ 0.07)	0.61 ($\pm$ 0.16)	0.75 ($\pm$ 0.10)	0.02 ($\pm$ 0.01)	0.03 ($\pm$ 0.00)
Propamocarb	0.89 ($\pm$ 0.17)	0.87 ($\pm$ 0.11)	0.28 ($\pm$ 0.05)	0.31 ($\pm$ 0.02)	1.00 ($\pm$ 0.14)	1.02 ($\pm$ 0.08)	0.81 ($\pm$ 0.09)	0.69 ($\pm$ 0.08)

Comme le montrent la Figure 30 et le Tableau 20, le lavage a éliminé entre 11% et 48% des résidus de pesticides (sauf pour la deltaméthrine). Pour le propamocarb, la réduction n'était que de 11%. Une baisse plus importante était attendue étant donné sa solubilité dans l'eau très élevée, mais c'est aussi un pesticide systémique (Tableau 21). La faible réduction du propamocarb lors du lavage indique que la caractéristique systémique prévaut.

Tableau 21 : Propriétés physico-chimiques des pesticides utilisés dans cette expérience selon « The Pesticide Manual » (5TH Edition, BCPC) et les monographies européennes (DAR)

Pesticides	Solubilité dans l'eau (mg/L)	Coefficient de partage octanol-eau	Stabilité hydrolitique à pH 7 (jours)	Photostabilité à pH 7 (jours)	Mode d'action
Boscalid	4,6 (20°C)	2,96 (21°C)	Stable (20°C)	Stable (20°C)	Contact
Deltamethrine	0,0002 (25°C)	4,6 (25°C)	Stable (25°C)	48	Contact
Iprodione	12,2 (20°C)	3,0 (25°C)	1 (20°C)	67	Contact
Mancozeb	2-20 (T ambiante)	1,8 (20°C)	< 1	3 h (pH 8,8)	Contact
Phenmedipham	1,8 (20°C)	3,59 (22°C)	14,5 h (25°C)	Stable	Systémique
Propamocarb	900000 (20°C)	- 1,2 (20°C)	<10% (50°C - 5j)	Stable	Systémique

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Epinard

La deltaméthrine, le boscalid, le mancozeb et l'iprodione sont des pesticides de contact, donc ils restent à la surface des feuilles et sont *a priori* plus facilement éliminés par le lavage comme le montre le Tableau 20. Douze à 48% de ces pesticides sont éliminés, sauf pour la deltaméthrine. Cette substance est la seule qui a une solubilité faible dans l'eau. L'iprodione est le résidu qui a montré la plus grande réduction (> 40%). Cette diminution pourrait s'expliquer par sa solubilité élevée dans l'eau.

Nos résultats sont cohérents avec les études précédentes [Kaushik *et al.*, 2009; Timme & Walt-Tylla, 2004]. En effet, il a été démontré que les résidus de surface sont susceptibles d'être éliminés par de simples opérations de lavage alors que les résidus présents dans les tissus seront nettement moins affectés par ce procédé. Les pesticides polaires, solubles dans l'eau sont plus faciles à éliminer que les matériaux à faible polarité [Burchat *et al.*, 1998; Holland *et al.*, 1994; Kaushik *et al.*, 2009; Timme & Walz-Tylla, 2004]. L'efficacité du lavage sur l'élimination des résidus dépend de la localisation, de la solubilité dans l'eau du pesticide et de la température du lavage. En comparaison avec l'étude de Chavarri *et al.* (2005), nous avons obtenu le même ordre de grandeur de diminution du mancozeb lorsque les épinards étaient lavés [Chavarri *et al.*, 2005].

Dans notre étude, nous avons également suivi les produits de dégradation de l'iprodione et du mancozeb, à savoir la 3,5-dichloroaniline et l'ETU, respectivement. A ce stade, l'ETU n'est pas encore visible (Tableau 19 et Fig.31).

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Epinard

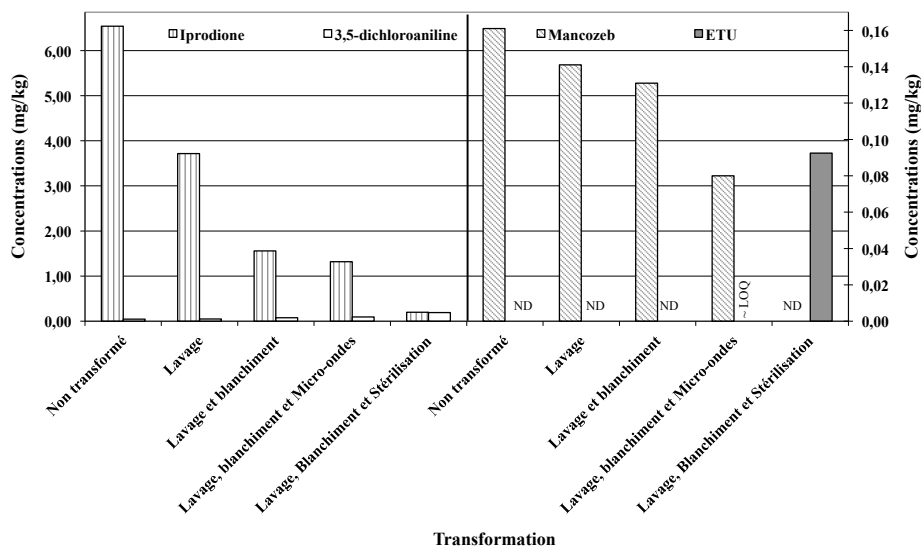


Fig.31 : Evolution des concentrations de l'iprodione et son produit de dégradation, la 3,5-dichloroaniline (à gauche) et le mancozeb et son produit de dégradation (à droite), l'éthylénethiourée suivant les différents traitements pour la variété Cézanne. ND signifie non détecté ; LOQ signifie concentration autour de la limite de quantification.

C. BLANCHIMENT

Le propamocarb a été fortement réduit (~70%) suite au blanchiment. Comme indiqué dans le Tableau 21, c'est le pesticide le plus polaire avec le plus faible coefficient de partage octanol-eau. Après l'étape de blanchiment, les résidus de l'iprodione sont réduits de minimum 37% (Fig.30, Tableau 20). Cela peut être attribué à l'hydrolyse du composé dans l'eau à des températures élevées qui affectent la nature du résidu au cours des procédés de cuisson [Katagi, 2002; Timme & Walz-Tylla, 2004].

Comme le montre la Figure 30, les PFs suite au blanchiment sont plus petits que un, sauf pour la deltaméthrine. Cette observation est encore plus marquée pour la variété SP-916. Avec son coefficient de partage octanol-eau de 4,6, la deltaméthrine a une plus grande affinité pour la partie lipophile que pour l'eau (Tableau 21). Par ailleurs, une différence de poids entre les épinards blanchis et crus existe (~20% de moins pour les épinards blanchis).

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Epinard

Pour tenir compte des masses réellement en jeu, les concentrations obtenues des mg/kg ont été converties en mg de substance active, selon l'équation suivante :

$$m_{\text{substance active}} = m_{\text{totale du végétal après transformation}} * \text{Concentration}_{\text{échantillon}}$$

En tenant compte de cette différence de masse, le PF* recalculé pour la deltaméthrine se rapproche de un (Tableau 22).

Tableau 22 : Moyennes ($\pm$ SD, $n = 2$) des PFs* pour chaque transformation pour les cinq pesticides des 2 variétés d'épinard.

Pesticides	PF* lavage ($\pm$ SD)		PF* blanchiment ($\pm$ SD)		PF* micro-ondes ($\pm$ SD)		PF* stérilisation ($\pm$ SD)	
	Cézanne	SP-916	Cézanne	SP-916	Cézanne	SP-916	Cézanne	SP-916
Boscalid	0.58	0.42	0.44	0.51	0.94	0.88	0.84	0.81
	($\pm$ 0.10)	($\pm$ 0.05)	($\pm$ 0.02)	($\pm$ 0.07)	($\pm$ 0.10)	($\pm$ 0.10)	($\pm$ 0.07)	($\pm$ 0.06)
Deltaméthrine	0.83	0.59	1.00	1.35	0.86	0.80	0.63	0.53
	($\pm$ 0.14)	($\pm$ 0.05)	($\pm$ 0.06)	($\pm$ 0.17)	($\pm$ 0.11)	($\pm$ 0.10)	($\pm$ 0.00)	($\pm$ 0.09)
Iprodione	0.46	0.41	0.33	0.45	0.72	0.69	0.092	0.054
	($\pm$ 0.08)	($\pm$ 0.07)	($\pm$ 0.05)	($\pm$ 0.08)	($\pm$ 0.13)	($\pm$ 0.09)	($\pm$ 0.021)	($\pm$ 0.004)
Mancozeb	0.70	0.44	0.76	0.47	0.50	0.62	0.11	0.17
	($\pm$ 0.22)	($\pm$ 0.05)	($\pm$ 0.30)	($\pm$ 0.04)	($\pm$ 0.16)	($\pm$ 0.06)	($\pm$ 0.04)	($\pm$ 0.008)
Propamocarb	0.72	0.69	0.23	0.22	0.82	0.85	0.57	0.50
	($\pm$ 0.19)	($\pm$ 0.05)	($\pm$ 0.04)	($\pm$ 0.02)	($\pm$ 0.16)	($\pm$ 0.11)	($\pm$ 0.11)	($\pm$ 0.09)

La concentration de la 3,5-dichloroaniline a été augmentée lors de ce procédé (Fig.31), mais l'ETU n'est toujours pas retrouvé (Tableau 19 et Fig.31).

Dans notre étude, le blanchiment a été le processus qui a permis d'éliminer la plus grande fraction de pesticides. Nos résultats sont en accord avec ceux décrits dans l'étude de Lee & Jung (2009) sur les facteurs de transformation dans les feuilles de piment [Lee & Jung, 2009].

D. CUISSON AU MICRO-ONDES

Comme on peut l'observer sur la Figure 30, la concentration en résidus de pesticides est très peu réduite par la cuisson au micro-ondes. La plus forte réduction observée a lieu pour le mancozeb (39% et 25%), un composé qui

est instable en milieu acide et aqueux [Newsome & Lacer, 1973; Watts *et al.*, 1974]. Après la cuisson au micro-ondes, la conversion du mancozeb en ETU a pu être quantifiée (Fig.31). Suivant la variété, une apparition de 19 à 26% d'ETU a lieu par rapport à la concentration de mancozeb présent au départ,. Holland *et al.* avaient observé une conversion de 18% lors de la cuisson d'épinards durant 15 min [Holland *et al.*, 1994]. Dans la Figure 31, la dégradation de l'iprodione est marquée par l'apparition de la 3,5-dichloroaniline. Cependant l'apparition de la 3,5-dichloroaniline ne compense pas totalement la disparition de l'iprodione. Pour le boscalid, le coefficient de partage octanol-eau est suffisamment élevé pour être liposoluble (Marque-page). Ce PF au-dessus de un pourrait également s'expliquer par la différence de masse puisque les résultats sont exprimés en "poids humide".

E. STERILISATION

Après la stérilisation, les résidus de mancozeb ne sont plus détectables; cela signifie que les concentrations de mancozeb se trouvaient en-dessous de 20 ng/g après ce procédé (Tableau 19). Cependant, une quantité importante d'ETU a été retrouvée. La dégradation du mancozeb en ETU a donc principalement eu lieu pendant l'étape de stérilisation (Fig.31). L'iprodione, sensible au phénomène de l'hydrolyse, a également été fortement réduit (minimum 87%). La réduction a été moins importante pour le propamocarb (minimum 19%) et pour la deltaméthrine (minimum 12%). En dépit de sa solubilité dans l'eau du même ordre que l'iprodione, le boscalid n'a pas suivi cette tendance (Fig.30).

La diminution des concentrations de pesticides à la suite de la stérilisation a été plus prononcée que pour la cuisson au micro-ondes. Cette différence entre les deux procédés peut être expliquée par le fait que la température maximale est plus élevée (121 °C) et maintenue pour une période plus longue (~ 56 min) lors de la stérilisation et par l'absence d'eau ajoutée lors de la cuisson au micro-ondes.

F. FACTEURS DE TRANSFORMATION POUR LA COMBINAISON DES TRANSFORMATIONS

Si nous prenons en compte tous les processus, les PFs pour les combinaisons d'opérations telles que le lavage, le blanchiment et le traitement thermique peuvent être comparées. La Figure 32 représente les facteurs de transformation pour (i) le lavage et le blanchiment, (ii) le lavage, le blanchiment et la cuisson micro-ondes et (iii) le lavage, le blanchiment et la stérilisation pour les deux variétés d'épinard.

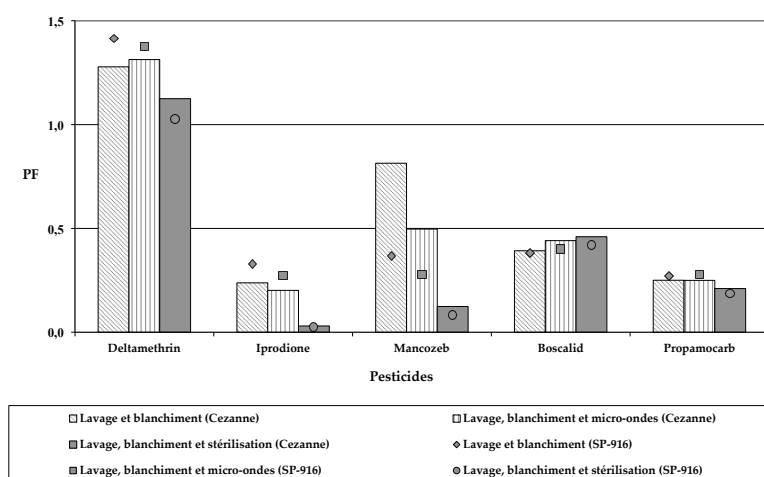


Fig.32 : PFs d'opérations telles que le lavage, le blanchiment et le traitement thermique. Les SDs (PFs) sont repris dans le Tableau 23. Pour le mancozeb, les PFs après stérilisation ont été calculés avec la LOD pour la concentration après la stérilisation.

Le Tableau 23 résume tous les facteurs de transformation des processus cumulatifs.

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Epinard

Tableau 23 : Moyennes ($\pm$ SD, $n = 2$) de PF pour la combinaison de traitements pour les cinq pesticides dans deux variétés d'épinard. * plus présent ($< LOD$) après cette transformation.

Pesticides	PF lavage ($\pm$ SD)		PF lavage et blanchiment ($\pm$ SD)		PF lavage, blanchiment et micro- ondes ($\pm$ SD)		PF lavage, blanchiment et stérilisation ($\pm$ SD)	
	Cezanne	SP-916	Cezanne	SP-916	Cezanne	SP-916	Cezanne	SP-916
Boscalid	0.78 (± 0.11)	0.68 (± 0.09)	0.39 (± 0.03)	0.38 (± 0.04)	0.44 (± 0.02)	0.40 (± 0.03)	0.46 (± 0.02)	0.42 (± 0.02)
Deltamethrine	1.02 (± 0.19)	0.75 (± 0.03)	1.28 (± 0.13)	1.41 (± 0.15)	1.31 (± 0.02)	1.38 (± 0.10)	1.12 (± 0.14)	1.03 (± 0.15)
Iprodione	0.57 (± 0.13)	0.52 (± 0.09)	0.24 (± 0.05)	0.33 (± 0.01)	0.20 (± 0.01)	0.27 (± 0.04)	0.03 (± 0.00)	0.02 (± 0.00)
Mancozeb	0.88 (± 0.32)	0.56 (± 0.09)	0.81 (± 0.20)	0.37 (± 0.02)	0.50 (± 0.07)	0.28 (± 0.04)	0.12 (± 0.01)	0.08 (± 0.00)
Propamocarb	0.84 (± 0.16)	0.87 (± 0.11)	0.25 (± 0.04)	0.27 (± 0.04)	0.25 (± 0.04)	0.28 (± 0.03)	0.21 (± 0.03)	0.19 (± 0.03)

La deltaméthrine n'a pas été réduite après les différents processus. Pour le boscalid et le propamocarb, une forte réduction a été principalement observée après les étapes de lavage et de blanchiment (61% pour le boscalid; 73% pour le propamocarb). L'iprodione est le pesticide le plus affecté par les différents procédés mais plus particulièrement après le lavage, le blanchiment et la stérilisation (97%). Comme prévu, le mancozeb a été réduit après toutes les transformations mais a subi la plus grande réduction suite à la stérilisation.

Globalement, la réduction des concentrations de pesticides suite au lavage, au blanchiment et à la stérilisation est comprise entre 54% et 98% (sauf pour la deltaméthrine). Cette réduction est supérieure à la réduction totale de résidus de pesticides pour la séquence de lavage, blanchiment et cuisson au micro-ondes (50% à 80%).

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Melon

2. DETERMINATION DES FACTEURS DE TRANSFORMATION POUR LES MELONS

Comme pour les épinards, les résultats abordés dans cette partie sont issus d'une publication dans Food Additives and Contaminants. Cette publication se retrouve dans l'Annexe VI [Bonnechère, 2012b]. Cependant, dans cette division, nous aborderons des éléments supplémentaires par rapport à l'article.

Tous les pesticides pulvérisés ont été détectés avec des concentrations supérieures à la LOQ dans le melon brut (Tableau 24).

Tableau 24 : Concentrations (mg/kg) de pesticides et des produits de dégradation des melons bruts, de la chair et des épluchures pour les deux variétés. Les valeurs moyennes ($\pm$ SD, $n = 2$) représentent la moyenne des concentrations obtenues pour les deux lots de melons de la même variété. ND signifie non détecté ; <LOQ signifie inférieur à la limite de quantification.

Variété 1: Mohican				
Pesticides	LOQ (mg/kg)	Non transformé Moyenne ($\pm$ SD)	Chair Moyenne ($\pm$ SD)	Epluchures Moyenne ($\pm$ SD)
Acetamiprid	0.001	0.042 ($\pm$ 0.00057)	0.0039 ($\pm$ 0.00007)	0.081 ($\pm$ 0.0087)
Carbendazim ^a	0.001	0.0014 ($\pm$ 0.00049)	ND	0.0042 ($\pm$ 0.0018)
Cyromazine	0.005	0.078 ($\pm$ 0.0022)	0.029 ($\pm$ 0.0031)	0.110 ($\pm$ 0.0024)
Imazalil ^a	0.002	0.0092 ($\pm$ 0.00085)	ND	0.017 ($\pm$ 0.0039)
Maneb	0.040	0.48 ($\pm$ 0.075)	0.043 ($\pm$ 0.032)	0.82 ($\pm$ 0.086)
Thiamethoxam ^a	0.002	0.0045 ($\pm$ 0.0000)	< LOQ	0.0074 ($\pm$ 0.0003)
ETU	0.050	ND	ND	ND
Mélatamine	0.025	ND	ND	ND
Variété 2: Pancha				
Pesticides	LOQ (mg/kg)	Non transformé Moyenne ($\pm$ SD)	Chair Moyenne ($\pm$ SD)	Epluchures Moyenne ($\pm$ SD)
Acetamiprid	0.001	0.046 ($\pm$ 0.0029)	0.0051 ($\pm$ 0.0018)	0.083 ($\pm$ 0.00092)
Carbendazim ^a	0.001	0.0012 ($\pm$ 0.00021)	ND	0.0034 ($\pm$ 0.00014)
Cyromazine	0.005	0.081 ($\pm$ 0.013)	0.039 ($\pm$ 0.0026)	0.084 ($\pm$ 0.00064)
Imazalil ^a	0.002	0.011 ($\pm$ 0.00014)	ND	0.017 ($\pm$ 0.0032)
Maneb	0.040	0.55 ($\pm$ 0.050)	< LOQ	0.91 ($\pm$ 0.062)
Thiamethoxam ^a	0.002	0.0036 ($\pm$ 0.0003)	< LOQ	0.0074 ($\pm$ 0.0001)
ETU	0.050	ND	ND	ND
Mélatamine	0.025	ND	ND	ND

^a : Ces pesticides ont été détectés avec des concentrations dans les melons non transformées en-dessous de 0.1 mg/kg ou 10 x LOQ (OECD, 2008).

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation

Melon

Les plus faibles concentrations dans le melon brut ont été observées pour le thiamethoxam et le carbendazim (Tableau 24). Le thiamethoxam a été appliqué avec une concentration très faible et le carbendazim est le seul qui a été appliqué très tôt, lorsque la cinquième fleur était ouverte sur la tige principale (Tableau 8, p 71).

Dans notre étude, l'épluchage a été réalisé à l'aide d'un couteau. Le Tableau 25 représente l'ensemble des PFs pour les six pesticides détectés pour les deux variétés de melon.

Tableau 25 : Valeurs moyennes ($\pm$ SD, $n = 2$) des PFs pour l'épluchage pour six pesticides dans les deux variétés de melon. Les valeurs en italiques ont été calculées à l'aide de la limite de détection et les valeurs soulignées à l'aide de la limite de quantification.

Pesticides	PF épluchage ($\pm$ SD)	
	Mohican	Pancha
Acetamiprid	0.091 ($\pm$ 0.002)	0.11 ($\pm$ 0.04)
Carbendazim ^a	0.37 ($\pm$ 0.14)	0.43 ($\pm$ 0.08)
Cyromazine	0.38 ($\pm$ 0.04)	0.48 ($\pm$ 0.08)
Imazalil ^a	0.11 ($\pm$ 0.01)	0.093 ($\pm$ 0.001)
Maneb	0.088 ($\pm$ 0.007)	<u>0.073 ($\pm$ 0.007)</u>
Thiamethoxam ^a	<u>0.33 ($\pm$ 0.16)</u>	<u>0.42 ($\pm$ 0.20)</u>

^a : Ces pesticides ont été détectés avec des concentrations dans les melons non transformés en-dessous de 0.1 mg/kg ou 10 x LOQ. Cela signifie que les PFs obtenus sont indicatifs parce que les concentrations sont inférieures à la concentration minimale définie par l'UE pour exécuter une étude de détermination de PFs (OECD, 2008).

L'épluchage permet d'éliminer entre 52% et 95% des résidus de pesticides pour des melons.

Un test de régression linéaire multiple a été réalisé pour déterminer l'influence des propriétés physico-chimiques (système, log Kow, solubilité) du pesticide, le temps et le nombre d'applications sur le PF d'épluchage des melons (Tableau 26).

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Melon

Tableau 26 : Régression linéaire multiple des PFs corrélés à différentes variables pour Mohican et Pancha. Les caractères gras sont utilisés pour identifier des variables significatives (la valeur $P < 0.05$).

	Mohican			Pancha		
	Coefficients	Déviati standard	Valeur P	Coefficients	Déviati standard	Valeur P
Ordonnée à l'origine	-0.192	0.155	0.262	-0.258	0.133	0.101
Mode d'action	0.164	0.083	0.094	0.218	0.071	0.022
Log Kow	-0.136	0.099	0.220	-0.194	0.085	0.063
Solubilité	0.314	0.089	0.013	0.441	0.077	0.001
Temps d'application	0.486	0.131	0.010	0.570	0.113	0.002
Nombre d'applications	0.175	0.122	0.200	0.212	0.104	0.089

La valeur significative des coefficients de régression a été confirmée avec ANOVA. La solubilité du pesticide et le temps d'application ont un impact significatif sur le PF pour les deux variétés. Pour les Pancha, le mode d'action est aussi significatif. Les coefficients de ces trois variables significatives sont positifs, ce qui signifie qu'un pesticide avec une solubilité plus grande, un mode d'action systémique ou appliqué plus tôt sur les plants aboutira à un plus grand PF. Les explications suivantes confirment ce test statistique.

Le maneb et la cyromazine sont des pesticides de contact qui restent à la surface des feuilles et des fruits (Tableau 27).

Tableau 27 : Propriétés physico-chimiques des pesticides utilisés dans cette expérience selon « The Pesticide Manual » (5TH Edition, BCPC) et les monographies européennes (DAR)

Pesticides	Solubilité dans l'eau (mg/L)	Coefficient de partage octanol-eau	Stabilité hydrolitique à pH 7 (jours)	Photostabilité à pH 7 (jours)	Mode d'action
Acetamiprid	2950 (25°C)	0,8 (25°C)	Stable (22-45°C)	34	Systémique
Carbendazim	5-7 (T ambiante)	1,5 (20°C)	320 (22°C)	Stable (pH 5)	Systémique
Cyromazine	13000 (25°C)	- 0,069 (25°C)	Stable (25°C)	Stable	Contact
Maneb	178 (20°C)	< - 0,45 (20°C)	208 h (20°C)	Stable	Contact
Imazalil	184 (20°C)	3,66 (20°C)	Stable (25°C)	6,1	Systémique
Thiamethoxam	4100 (25°C)	- 0,13 (25°C)	640 (25°C)	2,3-3,1 (pH 5)	Systémique

Après l'épluchage, en dépit d'une réduction importante pour le maneb (minimum 91%), cette diminution n'a pas dépassé 62% pour la cyromazine. Toutefois, cette réduction plus faible pourrait être expliquée par la plus grande solubilité de la cyromazine par rapport aux autres pesticides

(Tableau 27). Les composés appliqués sur les feuilles ne doivent pas traverser le symplaste pour arriver dans le xylème contrairement aux composés devant passer par les racines. D'autre part, ils doivent traverser la cuticule plus ou moins cireuse selon le type de plante et l'âge. Avec l'âge, des fractures dans le manteau cireux forment des pores hydrophiles qui permettent le passage des molécules les plus hydrophiles telles que la cyromazine [Al-Sayeda, 2007]. Avec cette particularité, la cyromazine pourrait entrer dans le fruit par le flux du xylème et se trouver dans la chair. Les quatre autres pesticides (acetamiprid, carbendazim, imazalil et thiamethoxam) sont systémiques. Néanmoins, l'acetamiprid et l'imazalil ont été fortement réduits avec minimum 89% et 91% respectivement. La réduction a été un peu moins importante pour le thiamethoxam (minimum 58%) et le carbendazim (minimum 47%) (Tableau 25). La différence de comportement pourrait s'expliquer par le moment de l'application des différentes substances actives (Tableau 8, p 71). En effet, le carbendazim a été le premier pesticide appliqué lorsque les plants de melons avaient cinq fleurs ouvertes sur la tige principale. Grâce à cette application, le carbendazim a eu l'occasion d'entrer dans la plante et d'être présent dans les tissus conducteurs, avant l'apparition des fruits. Les autres pesticides ont été appliqués à un stade de développement tardif lorsque 10% des fruits montraient leur couleur typique (Tableau 8, p 71). Le thiamethoxam a cependant une bonne solubilité et un coefficient de partage octanol-eau qui lui permettrait de circuler en même temps dans le phloème et le xylème et d'être dans le fruit (Tableau 25). Avec ses propriétés, s'il avait été appliqué plus tôt, il se serait retrouvé en plus grande quantité dans la chair des melons.

Donc, d'une part, plus de 90% d'acetamiprid, d'imazalil et de maneb, aussi bien des pesticides de contact que des systémiques, ont été éliminés au cours de ce processus. D'autre part, 50% de carbendazim et de thiamethoxam (pesticides systémiques) et de cyromazine (pesticide de contact) ont été éliminés. Ces deux types de réduction ne peuvent pas être expliqués par le caractère systémique des pesticides. Cependant, les pratiques agricoles

(moment d'application) et la solubilité dans l'eau pourraient expliquer statistiquement ces différences entre les pesticides. Le coefficient de partage octanol-eau est aussi nécessaire pour expliquer le comportement de la cyromazine. C'est un cas particulier qui ne ressort pas du test statistique qui est une approche globale. Jusqu'à présent, plusieurs études ont déterminé des PFs avec les propriétés physico-chimiques mais ils n'ont pas tenu compte des moments d'application sur la récolte [Burchat *et al.*, 1998; Kaushik *et al.*, 2009; Rasmussen *et al.*, 2003; Watts *et al.*, 1974]. Nos résultats montrent que cela est vraiment important de prendre également en compte le moment d'application des substances actives pour l'évaluation de risque. En effet comme Krol *et al.* (2000) l'ont remarqué, un pesticide systémique appliqué plus tard peut ne plus agir comme un systémique [Krol *et al.*, 2000].

Des réductions de 90% sont cohérentes avec les études précédentes sur l'épluchage des fruits et des légumes [Balnova *et al.*, 2006; Boulaid *et al.*, 2005; Chavarri *et al.*, 2005; Fernandez-Cruz *et al.*, 2006a; Fernandez-Cruz *et al.*, 2006b; Kaushik *et al.*, 2009; Lentza-Rizos & Balokas, 2001; Rasmussen *et al.*, 2003; Schattenberg *et al.*, 1996; Timme & Walz-Tylla, 2004]. En effet, il a été démontré que la majorité des insecticides ou des fongicides appliqués directement sur les cultures pénètrent peu la cuticule. Il s'ensuit donc que les résidus de ces matières actives sont confinés à la surface extérieure où ils sont susceptibles d'être supprimés lors de l'épluchage [Burchat *et al.*, 1998; Timme & Walz-Tylla, 2004].

Dans notre étude, nous avons également suivi les produits de dégradation de la cyromazine et du maneb, à savoir la mélamine et l'ETU respectivement. Dans le melon non transformé, ces deux sous-produits n'ont pas été détectés (Tableau 24). En général, l'ETU est formé dans un environnement acide et chaud, ce qui n'est pas le cas lors de l'épluchage [Dubey *et al.*, 1997; Hwang *et al.*, 2003; Kontou *et al.*, 2001; Sottani *et al.*, 2003].

Si les concentrations appliquées sur les plantes et les concentrations trouvées dans le melon sont comparées, une grande différence existe suivant les substances actives (Tableau 8, p 71 et Tableau 24). Par exemple, la

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation

Melon

concentration de maneb appliquée sur les plantes était plus de 50 fois supérieure à la concentration de la cyromazine, mais la concentration retrouvée dans les melons (Tableau 24) a montré que la concentration de maneb était 1,5 fois plus faible que pour la cyromazine.

Il est également intéressant de constater que les concentrations retrouvées sur les melons non transformés des deux variétés sont encore plus voisines que dans le cas des épinards.

Les bilans de masse ont été calculés pour comparer les mg totaux de chaque pesticide dans l'ensemble de la matrice sur les mg totaux de résidus dans la chair et les épluchures. Les concentrations mesurées disponibles dans le Tableau 28 ont été corrigées avec la masse des melons entiers, la chair et les épluchures broyées. Comme le montre le Tableau 28, les concentrations mesurées (expérimentales) et les concentrations calculées dans les melons sont assez proches. Ces résultats confirment que l'étape d'homogénéisation a été suffisante.

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation

Melon

Tableau 28 : Les quantités de substances actives et des produits de dégradation (mg) suite au bilan de masse sont reprises pour les deux variétés de melon. Les valeurs moyennes ($\pm$ SD, $n = 2$) en mg de substance active de deux lots de melon sont représentées. ND signifie non détecté.

MOHICAN				
Pesticides	Non transformé (expérimental) (mg)	Chair (mg)	Epluchures (mg)	Non transformé (calculé) (mg)
	Moyenne ($\pm$ SD)	Moyenne ($\pm$ SD)	Moyenne ($\pm$ SD)	Moyenne ($\pm$ SD)
Acetamiprid	0.75 ($\pm$ 0.06)	0.37 ($\pm$ 0.00)	0.57 ($\pm$ 0.08)	0.60 ($\pm$ 0.08)
Carbendazim	0.024 ($\pm$ 0.007)	0.048 ($\pm$ 0.001)	0.029 ($\pm$ 0.014)	0.034 ($\pm$ 0.014)
Cyromazine	1.38 ($\pm$ 0.05)	0.28 ($\pm$ 0.26)	0.077 ($\pm$ 0.014)	1.05 ($\pm$ 0.06)
Imazalil	0.16 ($\pm$ 0.03)	0.0048 ($\pm$ 0.0001)	0.12 ($\pm$ 0.03)	0.12 ($\pm$ 0.03)
Maneb	8.60 ($\pm$ 1.88)	0.41 ($\pm$ 0.31)	5.78 ($\pm$ 0.84)	6.19 ($\pm$ 1.15)
Thiamethoxam	0.080 ($\pm$ 0.005)	0.010 ($\pm$ 0.013)	0.052 ($\pm$ 0.000)	0.062 ($\pm$ 0.013)
ETU	ND	ND	ND	ND
Mélatamine	ND	ND	ND	ND
PANCHA				
Pesticides	Non transformé (expérimental) (mg)	Chair (mg)	Epluchures (mg)	Non transformé (calculé) (mg)
	Moyenne ($\pm$ SD)	Moyenne ($\pm$ SD)	Moyenne ($\pm$ SD)	Moyenne ($\pm$ SD)
Acetamiprid	0.86 ($\pm$ 0.00)	0.065 ($\pm$ 0.025)	0.59 ($\pm$ 0.08)	0.65 ($\pm$ 0.10)
Carbendazim	0.022 ($\pm$ 0.005)	0.0063 ($\pm$ 0.0002)	0.024 ($\pm$ 0.002)	0.030 ($\pm$ 0.002)
Cyromazine	1.50 ($\pm$ 0.15)	0.493 ($\pm$ 0.050)	0.59 ($\pm$ 0.07)	1.09 ($\pm$ 0.12)
Imazalil	0.20 ($\pm$ 0.02)	0.0013 ($\pm$ 0.0004)	0.12 ($\pm$ 0.037)	0.13 ($\pm$ 0.04)
Maneb	10.17 ($\pm$ 0.31)	0.504 ($\pm$ 0.017)	6.46 ($\pm$ 1.21)	6.97 ($\pm$ 1.59)
Thiamethoxam	0.019 ($\pm$ 0.001)	0.019 ($\pm$ 0.095)	0.051 ($\pm$ 0.007)	0.070 ($\pm$ 0.10)
ETU	ND	ND	ND	ND
Mélatamine	ND	ND	ND	ND

3. DETERMINATION DES FACTEURS DE TRANSFORMATION POUR LES CAROTTES

Comme pour les épinards et les melons, les résultats abordés dans cette partie sont issus d'une publication dans Journal of Food Research. Cette publication se retrouve dans l'Annexe VII [Bonnechère, 2012c].

A. ECHANTILLON NON TRANSFORME

Toutes les concentrations de pesticides mesurées sont résumées pour les deux variétés de carotte dans le Tableau 29.

Suite aux averses, les pesticides ont pu être partiellement éliminés. De la première pulvérisation jusqu'à la récolte, la quantité totale d'eau a été de 303 L m⁻² (Fig.33). Il y a aussi eu minimum une averse majeure (> 5 L m⁻²) entre chaque pulvérisation et entre la dernière pulvérisation et la récolte.

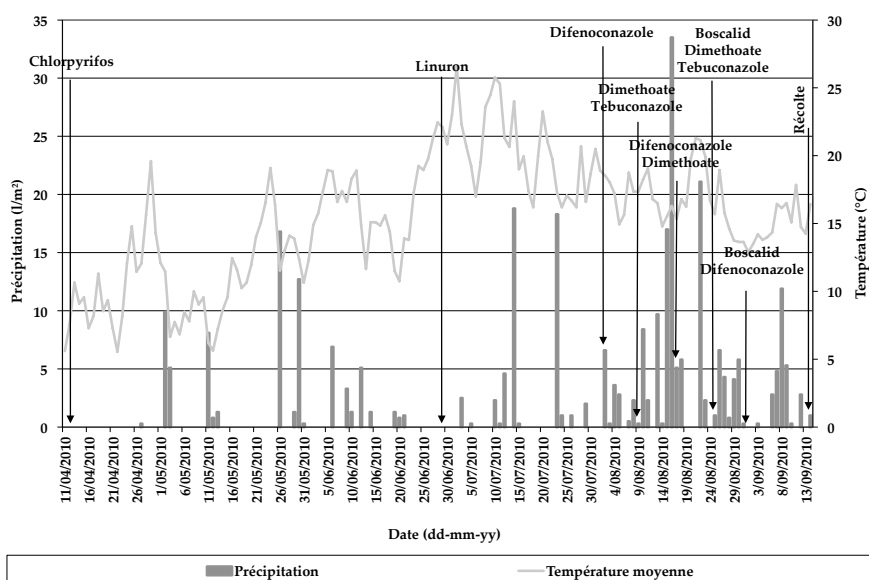


Fig.33 : Conditions météorologiques pour la période s'étendant de la première application de pesticides jusqu'à la récolte pour les 2 variétés de carotte (station météorologique de Redebel s.a., Belgique; distance entre la station et l'essai : 2.7km).

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Carotte

Tableau 29 : Concentrations (mg/kg) de pesticides pour les 2 variétés de carotte après diverses étapes de transformation. Les valeurs moyennes ($\pm$ SD, $n = 2$) des 2 lots de carotte sont représentées. ND signifie non détecté.

Variété 1: Nandrin								
Pesticides	LOQ (mg/kg)	Non transformé Moyenne ($\pm$ SD)	Lavage Moyenne ($\pm$ SD)	Epluchage Moyenne ($\pm$ SD)	Blanchiment Moyenne ($\pm$ SD)	Micro-ondes Moyenne ($\pm$ SD)	Pasteurisation Moyenne ($\pm$ SD)	Stérilisation Moyenne ($\pm$ SD)
Boscalid	0.002	0.16 ($\pm$ 0.03)	0.036 ($\pm$ 0.004)	0.020 ($\pm$ 0.003)	0.010 ($\pm$ 0.002)	0.012 ($\pm$ 0.003)	0.0085 ($\pm$ 0.0004)	0.010 ($\pm$ 0.000)
Chlorpyrifos ^a	0.01	0.089 ($\pm$ 0.022)	0.036 ($\pm$ 0.005)	ND	ND	ND	ND	ND
Difenoconazole	0.001	0.38 ($\pm$ 0.01)	0.041 ($\pm$ 0.010)	0.011 ($\pm$ 0.001)	0.0090 ($\pm$ 0.0023)	0.011 ($\pm$ 0.002)	0.0084 ($\pm$ 0.0002)	0.011 ($\pm$ 0.002)
Diméthoate ^a	0.002	0.013 ($\pm$ 0.001)	0.0084 ($\pm$ 0.0013)	0.0090 ($\pm$ 0.0007)	0.0037 ($\pm$ 0.0001)	0.0044 ($\pm$ 0.0002)	ND	ND
Ométhoate ^a	0.002	0.0049 ($\pm$ 0.0002)	0.0043 ($\pm$ 0.0005)	0.0047 ($\pm$ 0.0004)	0.0024 ($\pm$ 0.0002)	0.0025 ($\pm$ 0.0001)	ND	ND
Linuron ^a	0.002	0.026 ($\pm$ 0.003)	0.016 ($\pm$ 0.003)	0.015 ($\pm$ 0.000)	0.0099 ($\pm$ 0.0002)	0.0095 ($\pm$ 0.0006)	ND	ND
Tebuconazole	0.001	0.16 ($\pm$ 0.04)	0.050 ($\pm$ 0.000)	0.025 ($\pm$ 0.002)	0.016 ($\pm$ 0.001)	0.0202 ($\pm$ 0.0001)	0.014 ($\pm$ 0.002)	0.017 ($\pm$ 0.002)
Variété 2: Romane								
Pesticides	LOQ (mg/kg)	Non transformé Moyenne ($\pm$ SD)	Lavage Moyenne ($\pm$ SD)	Epluchage Moyenne ($\pm$ SD)	Blanchiment Moyenne ($\pm$ SD)	Cuisson aux micro-ondes Moyenne ($\pm$ SD)	Pasteurisation Moyenne ($\pm$ SD)	Stérilisation Moyenne ($\pm$ SD)
Boscalid	0.002	0.17 ($\pm$ 0.01)	0.048 ($\pm$ 0.007)	0.018 ($\pm$ 0.005)	0.0094 ($\pm$ 0.0026)	0.012 ($\pm$ 0.003)	0.0096 ($\pm$ 0.0013)	0.010 ($\pm$ 0.001)
Chlorpyrifos ^a	0.01	0.028 ($\pm$ 0.007)	0.014 ($\pm$ 0.002)	ND	ND	ND	ND	ND
Difenoconazole	0.001	0.33 ($\pm$ 0.03)	0.047 ($\pm$ 0.007)	0.0063 ($\pm$ 0.0018)	0.0051 ($\pm$ 0.0004)	0.0064 ($\pm$ 0.0027)	0.0046 ($\pm$ 0.0022)	0.0060 ($\pm$ 0.0029)
Diméthoate ^a	0.002	0.0047 ($\pm$ 0.0003)	0.0039 ($\pm$ 0.0013)	0.0045 ($\pm$ 0.0002)	0.0021 ($\pm$ 0.0002)	0.0018 ($\pm$ 0.0001)	ND	ND
Ométhoate ^a	0.002	0.0028 ($\pm$ 0.0001)	0.0038 ($\pm$ 0.0002)	0.0031 ($\pm$ 0.0006)	0.0021 ($\pm$ 0.0004)	0.0025 ($\pm$ 0.0000)	ND	ND
Linuron ^a	0.002	0.0042 ($\pm$ 0.0001)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Tebuconazole	0.001	0.18 ($\pm$ 0.01)	0.077 ($\pm$ 0.009)	0.033 ($\pm$ 0.006)	0.018 ($\pm$ 0.0002)	0.026 ($\pm$ 0.000)	0.017 ($\pm$ 0.004)	0.020 ($\pm$ 0.002)

^a: Ces pesticides ont été détectés avec des concentrations dans les carottes non transformées au-dessous de 0.1 mg/kg ou 10 x LOQ. Cela signifie que les concentrations obtenues sont indicatives parce qu'il y avait au-dessous de la concentration minimale définie par l'UE pour exécuter une étude pour déterminer PFs (OECD, 2008)

Trois pesticides (chlorpyrifos, diméthoate et linuron) avaient de faibles concentrations en résidus malgré les concentrations élevées appliquées. Le diméthoate et le linuron sont les deux pesticides les plus solubles (Tableau 30).

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Carotte

Tableau 30 : Propriétés physico-chimiques des pesticides utilisés dans cette expérience selon « The Pesticide Manual » (5TH Edition, BCPC) et les monographies européennes (DAR)

Pesticides	Solubilité dans l'eau (mg/L)	Coefficient de partage octanol-eau	Stabilité hydrolitique à pH 7 (jours)	Photostabilité à pH 7 (jours)	Mode d'action
Boscalid	4,6 (20°C)	2,96 (21°C)	Stable (20°C)	Stable (20°C)	Contact
Chlorpyrifos	1,05 (20°C)	5,0 (25°C)	72 (25°C)	29,6	Contact
Difenoconazole	15 (25°C)	4,36 (25°C)	Stable	Stable	Systémique
Dimethoate	39800 (25°C)	0,704 (25°C)	68 (25°C)	175 (pH 5)	Systémique
Omethoate	Miscible	- 0,74	17 (22°C)	-	Systémique
Linuron	63,8 (20°C)	3,0 (20°C)	1460 (20°C)	Stable	Systémique
Tebuconazole	36 (20°C)	3,7 (20°C)	Stable	Stable	Systémique

Le linuron a été pulvérisé lors de la deuxième application (Fig.33) et 3 jours plus tard il a plu. Avec ces conditions météorologiques, une grande quantité de linuron a pu être éliminée des plantations. Le dimethoate a, quant à lui, été appliqué trois fois durant la période pluvieuse (3^{ème}, 4^{ème} et 5^{ème} applications sur Fig.33). Puisque ce composé est très hydrosoluble, il a très probablement pu être fortement éliminé par la pluie. La faible concentration retrouvée pour le chlorpyrifos peut être expliquée par le fait qu'il ait été pulvérisé lors de la première application. A ce moment, les carottes étaient au stade de germination (Tableau 9, p 72). Dans le Tableau 29, nous retrouvons également une concentration pour l'omethoate qui n'a pas été appliqué sur les cultures. Cependant, le dimethoate a été appliqué sur les plants de carotte et la législation porte sur la somme du dimethoate et de l'omethoate car l'omethoate, produit de dégradation du dimethoate, est plus toxique que celui-ci. Pour le chlorpyrifos, le dimethoate, l'omethoate et le linuron, les concentrations étaient en-dessous de la concentration minimale (0.1 mg/kg ou 10 x LOQ) pour calculer un PF [OECD, 2008].

Les trois concentrations les plus hautes ont été obtenues pour le boscalid, le difenoconazole et le tebuconazole c'est-à-dire les trois pesticides pulvérisés lors des deux dernières applications avant la récolte (Tableau 9, p 72 et Tableau 29).

En comparant les deux variétés de carotte, les concentrations trouvées diffèrent de manière significative. Bien que le boscalid, le difenoconazole et

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Carotte

le tebuconazole montrent des concentrations semblables, ce n'est pas le cas pour le chlorpyrifos, le diméthoate et le linuron. Ces différences étonnent vu que les cultures ont été pulvérisées en même temps. Cependant, ces pesticides sont déterminés à des concentrations assez faibles avec une relativement haute incertitude. De plus, il faut remarquer que les trois premiers pesticides présentent une stabilité hydrolytique et une photostabilité élevée comparées aux autres pesticides retrouvés dans de plus faibles concentrations (Marque-page). Ceci peut impliquer des différences entre les concentrations retrouvées pour les deux cultures qui ne seraient pas dues à une différence entre variétés mais juste à une vitesse de dégradation qui a été un peu plus rapide pour une des deux variétés par rapport à l'autre.

Les fanes et des épluchures ont été analysées séparément et les concentrations de ces parties de carotte sont récapitulées dans le Tableau 31. Pour la plupart des pesticides, les résidus sont concentrés dans les fanes, en accord avec les observations de Burchat *et al.* [Burchat *et al.*, 1998]. Seulement deux pesticides, le chlorpyrifos et le linuron, ont été détectés avec des concentrations inférieures dans les fanes par rapport aux carottes non transformées. Le chlorpyrifos a été appliqué pendant la germination et le linuron au premier stade de croissance lorsque les fanes n'étaient pas très développées (Tableau 9, p 72). D'autres pesticides ont été appliqués plus tard, au moment où les parties végétatives de la plante étaient plus développées. Ces résultats montrent que les fanes sont la partie la plus contaminée des carottes. Il est également intéressant de constater que les trois pesticides systémiques appliqués plus tardivement, à savoir le diméthoate, le difénoconazole et le tebuconazole ne présentent pas la même répartition des résidus dans les fanes et dans la chair. En effet, le difénoconazole et le tebuconazole sont beaucoup plus concentrés dans les fanes que dans la chair alors que le diméthoate est réparti de manière homogène dans toutes les parties de la carotte. Ces deux pesticides ont un coefficient de partage octanol-eau aux alentours de quatre ce qui leur confère une plus grande affinité pour la cuticule contrairement au

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation

Carotte

diméthoate qui avec son coefficient de partage octanol-eau de 0.7 lui permet de circuler facilement dans les flux phloémiens et xylémiens.

Tableau 31 : Concentrations (mg/kg) de pesticides pour les fanes, les épluchures, les carottes non transformées et la chair pour deux variétés de carotte. Les valeurs moyennes ($\pm$ SD, $n = 2$) des lots de carotte sont représentées. ND signifie non détecté ; < LOQ signifie inférieur à la limite de quantification.

Pesticides	LOQ (mg/kg)	Fanes Moyenne ($\pm$ SD)	Epluchures Moyenne ($\pm$ SD)	Non transformé Moyenne ($\pm$ SD)	Chair Moyenne ($\pm$ SD)
Boscalid	0.002	3.73 ($\pm$ 0.14)	0.30 ($\pm$ 0.03)	0.16 ($\pm$ 0.03)	0.020 ($\pm$ 0.003)
Chlorpyrifos	0.01	0.014 ($\pm$ 0.001)	ND	0.089 ($\pm$ 0.022)	ND
Difenoconazole	0.001	1.70 ($\pm$ 0.34)	0.51 ($\pm$ 0.10)	0.38 ($\pm$ 0.01)	0.011 ($\pm$ 0.001)
Diméthoate	0.002	0.0075 ($\pm$ 0.0011)	0.0084 ($\pm$ 0.0011)	0.013 ($\pm$ 0.001)	0.0090 ($\pm$ 0.0007)
Ométhoate	0.002	0.17 ($\pm$ 0.02)	0.0048 ($\pm$ 0.0000)	0.0049 ($\pm$ 0.0002)	0.0047 ($\pm$ 0.0004)
Linuron	0.002	0.0038 ($\pm$ 0.0039)	0.027 ($\pm$ 0.007)	0.026 ($\pm$ 0.003)	0.015 ($\pm$ 0.001)
Tebuconazole	0.001	2.76 ($\pm$ 0.09)	0.30 ($\pm$ 0.06)	0.16 ($\pm$ 0.04)	0.025 ($\pm$ 0.002)
Pesticides	LOQ (mg/kg)	Fanes Moyenne ($\pm$ SD)	Epluchures Moyenne ($\pm$ SD)	Non transformé Moyenne ($\pm$ SD)	Chair Moyenne ($\pm$ SD)
Boscalid	0.002	3.45 ($\pm$ 0.15)	0.27 ($\pm$ 0.06)	0.17 ($\pm$ 0.01)	0.018 ($\pm$ 0.005)
Chlorpyrifos	0.01	< LOQ	0.093 ($\pm$ 0.035)	0.028 ($\pm$ 0.007)	ND
Difenoconazole	0.001	1.73 ($\pm$ 0.12)	0.37 ($\pm$ 0.19)	0.33 ($\pm$ 0.03)	0.0063 ($\pm$ 0.0018)
Diméthoate	0.002	0.0076 ($\pm$ 0.0001)	0.0057 ($\pm$ 0.0001)	0.0047 ($\pm$ 0.0002)	0.0045 ($\pm$ 0.0009)
Ométhoate	0.002	0.065 ($\pm$ 0.000)	0.0046 ($\pm$ 0.0011)	0.0028 ($\pm$ 0.0001)	0.0031 ($\pm$ 0.0006)
Linuron	0.002	ND	0.0078 ($\pm$ 0.0018)	0.0042 ($\pm$ 0.0001)	0.0010 ($\pm$ 0.0000)
Tebuconazole	0.001	3.64 ($\pm$ 0.01)	0.36 ($\pm$ 0.03)	0.18 ($\pm$ 0.01)	0.033 ($\pm$ 0.006)

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Carotte

B. LAVAGE

Dans notre étude, le lavage a été fait avec l'eau du robinet pendant 5 min. La Figure 34 représente l'ensemble des facteurs de transformation pour les différentes étapes de transformation pour les six pesticides détectés. Les résultats pour les deux variétés sont représentés séparément (colonnes et petites formes géométriques).

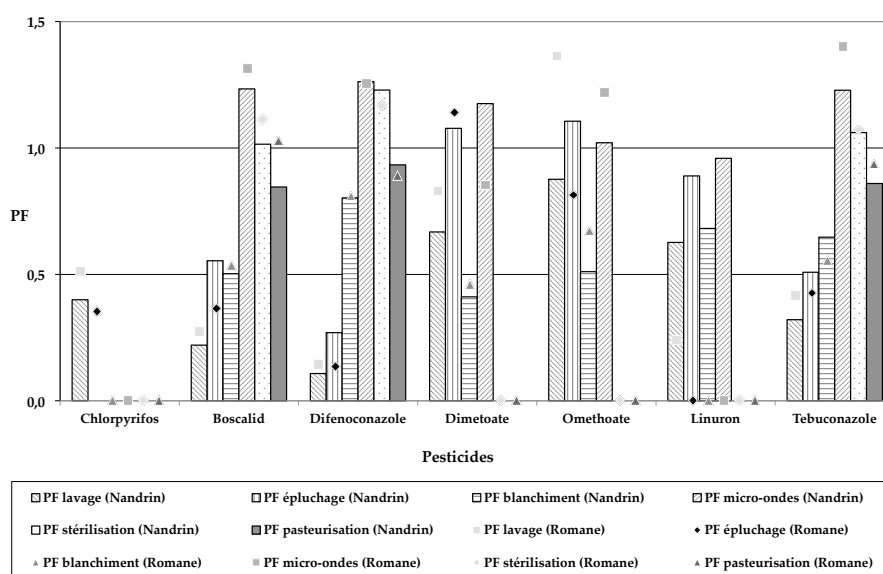


Fig.34 : Facteurs de transformation pour chaque transformation pour six pesticides dans deux variétés de carotte. Les PFs ont été calculées par le ratio de la concentration de pesticides dans les produits transformés et de la concentration de pesticides dans le produit brut. Les SDs (PF) sont repris dans le Tableau 32.

Les résultats sont également repris dans le Tableau 32, qui résume tous les facteurs de transformation pour les différentes étapes de transformation.

Comme expliqué dans la section précédente, pour le chlorpyrifos, le dimethoate, l'omethoate et le linuron, les concentrations étaient en-dessous de la concentration minimale pour calculer un PF par conséquent les PFs représentés dans les Tableau 32 et Tableau 33 sont indicatifs pour ces pesticides.

Tableau 32 : Valeurs moyennes ($\pm$ SD, $n = 2$) des PFs de six pesticides pour différentes transformations dans deux variétés de carotte. Les PFs au-dessus de 1 sont en gras. Les caractères en italiques sont utilisés pour identifier des PFs indicatifs^a.

Pesticides	PF lavage ($\pm$ SD)		PF épluchage ($\pm$ SD)		PF blanchiment ($\pm$ SD)		PF micro-ondes ($\pm$ SD)		PF pasteurisation ($\pm$ SD)		PF stérilisation ($\pm$ SD)	
	Nandrin	Romane	Nandrin	Romane	Nandrin	Romane	Nandrin	Romane	Nandrin	Romane	Nandrin	Romane
Boscalid	0.22 ($\pm$ 0.04)	0.27 ($\pm$ 0.04)	0.55 ($\pm$ 0.10)	0.37 ($\pm$ 0.11)	0.50 ($\pm$ 0.07)	0.54 ($\pm$ 0.14)	1.23 ($\pm$ 0.42)	1.32 ($\pm$ 0.36)	0.85 ($\pm$ 0.13)	1.03 ($\pm$ 0.32)	1.01 ($\pm$ 0.15)	1.11 ($\pm$ 0.32)
Chlorpyrifos ^a	0.40 ($\pm$ 0.12)	0.51 ($\pm$ 0.15)	0.14 ($\pm$ 0.02)	0.35 ($\pm$ 0.06)	*	*	*	*	*	*	*	*
Difenoconazole	0.11 ($\pm$ 0.03)	0.14 ($\pm$ 0.03)	0.27 ($\pm$ 0.07)	0.14 ($\pm$ 0.058)	0.80 ($\pm$ 0.08)	0.81 ($\pm$ 0.30)	1.26 ($\pm$ 0.34)	1.25 ($\pm$ 0.63)	0.93 ($\pm$ 0.24)	0.89 ($\pm$ 0.44)	1.23 ($\pm$ 0.42)	1.17 ($\pm$ 0.58)
Diméthoate ^a	0.67 ($\pm$ 0.11)	0.83 ($\pm$ 0.28)	1.08 ($\pm$ 0.19)	1.14 ($\pm$ 0.38)	0.41 ($\pm$ 0.04)	0.46 ($\pm$ 0.05)	1.18 ($\pm$ 0.07)	0.85 ($\pm$ 0.09)	*	*	*	*
Ométhoate ^a	0.88 ($\pm$ 0.11)	1.36 ($\pm$ 0.08)	1.11 ($\pm$ 0.16)	0.81 ($\pm$ 0.18)	0.51 ($\pm$ 0.05)	0.67 ($\pm$ 0.18)	1.02 ($\pm$ 0.03)	1.22 ($\pm$ 0.21)	*	*	*	*
Linuron ^a	0.63 ($\pm$ 0.13)	0.24 ($\pm$ 0.00)	0.89 ($\pm$ 0.16)	*	0.68 ($\pm$ 0.01)	*	0.96 ($\pm$ 0.06)	*	*	*	*	*
Tebuconazole	0.32 ($\pm$ 0.08)	0.42 ($\pm$ 0.08)	0.51 ($\pm$ 0.04)	0.43 ($\pm$ 0.12)	0.65 ($\pm$ 0.05)	0.55 ($\pm$ 0.10)	1.23 ($\pm$ 0.01)	1.40 ($\pm$ 0.04)	0.86 ($\pm$ 0.14)	0.94 ($\pm$ 0.21)	1.06 ($\pm$ 0.15)	1.07 ($\pm$ 0.11)

^a : Ces pesticides ont été détectés avec des concentrations dans les carottes non transformées en-dessous de 0.1 mg/kg ou 10 x LOQ. Cela signifie que les PFs obtenus sont indicatifs parce que les concentrations sont inférieures à la concentration minimale définie par l'UE pour exécuter une étude de détermination de PFs (OECD, 2008).

* Plus présent après ce processus (< LOD), ainsi le PF ne peut pas être calculé.

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Carotte

Comme indiqué dans la Figure 34 et le Tableau 32, jusqu'à 89% de résidus de pesticides peuvent être éliminés suite au lavage. Le difenoconazole (minimum 86%) et le tebuconazole (minimum 58%) sont des pesticides systémiques mais ils sont plus affectés par l'étape de lavage que le boscalid, qui est un pesticide de contact. Le difenoconazole et le tebuconazole ont été appliqués maximum trois fois sur la culture qui était déjà à un stade avancé de développement (au moins 50% du diamètre de racine attendu). Dans ces conditions, il pourrait être possible que ces pesticides n'agissent plus comme des systémiques. Etant donné la dérive occasionnée lors de toute pulvérisation, les carottes sont également en contact avec les résidus de pesticides via le sol. Contrairement au diméthoate, ces deux pesticides ont un coefficient de partage octanol-eau qui ne leur permet pas de passer facilement dans la chair de carotte, par conséquent, ils sont plus facilement éliminés lors du lavage.

Malgré les erreurs élevées en raison des faibles concentrations, une réduction suite au lavage a été observée pour le chlorpyrifos. Par contre le diméthoate et l'ométhoate n'ont pas été affectés. Le diméthoate a aussi été appliqué tard mais néanmoins il ne montre pas le même effet que le difenoconazole et le tebuconazole. Toutefois, cette réduction plus faible pourrait être expliquée par la plus grande solubilité du diméthoate par rapport à d'autres pesticides (Tableau 30, p 142). Les composés appliqués sur les feuilles ne doivent pas traverser le symplaste pour arriver dans le xylème contrairement aux composés devant passer par les racines. D'autre part, ils doivent traverser la cuticule plus ou moins cireuse selon le type de plante et l'âge. Avec l'âge, des fractures dans le manteau cireux forment des pores hydrophiles qui permettent le passage des molécules les plus hydrophiles telles que le diméthoate [Al-Sayeda, 2007]. Avec cette particularité, il peut rentrer dans la plante via le flux du xylème et du phloème et se retrouver dans la chair. Comme Krol *et al.* l'ont aussi confirmé, il est possible que les résidus de pesticides soient incorporés dans le tissu végétal proportionnellement au temps qu'ils restent sur la culture biologiquement active dans le champ. Ceci peut même être vrai pour des pesticides qui ne

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation

Carotte

sont pas spécifiquement étiquetés comme systémiques [Krol *et al.*, 2000]. En outre, Burchat *et al.* ont observé que les résidus de pesticides sont significativement réduits après le lavage de carottes sauf pour les insecticides organophosphorés [Burchat *et al.*, 1998].

Notre étude démontre que beaucoup de pesticides étudiés sont éliminés par le lavage mais plusieurs différences sont observées selon la distribution dans la plante et la solubilité dans l'eau du pesticide. Nos résultats sont en accord avec des études précédentes qui ont démontré que le lavage peut éliminer jusqu'à 89% de résidus de pesticides selon la nature du pesticide et de la matrice [Balinova *et al.*, 2006; Burchat *et al.*, 1998; Chavarri *et al.*, 2005; Fernandez-Cruz *et al.*, 2006a; Fernandez-Cruz *et al.*, 2006b; Holland & Sinclair, 2004; Kaushik *et al.*, 2009; Lee & Jung, 2009; Lentza-Rizos & Balokas, 2001; Ling *et al.*, 2011; Randhawa *et al.*, 2007; Rasmussen *et al.*, 2003; Timme & Walz-Tylla, 2004; Zhang *et al.*, 2006].

C. EPLUCHAGE

Dans notre étude, l'épluchage mécanique a été effectué en utilisant un couteau économe. Comme indiqué dans le Tableau 32 et la Figure 34, l'élimination de résidus suite à l'épluchage est moins importante que suite au lavage. Pour le diméthoate et l'ométhoate, aucune diminution de résidus n'a été observée, ce qui est cohérent avec les résultats obtenus lors de l'analyse des épluchures et de la chair (Tableau 31). Les concentrations dans les épluchures et la chair pour le diméthoate et l'ométhoate étaient équivalentes. C'est aussi cohérent avec les résultats du lavage et le fait que le diméthoate est distribué de manière homogène dans la chair de la carotte. Comme observé dans le Tableau 31, la concentration de certains pesticides dans les épluchures peut être 46 fois plus élevée que celle dans la chair.

D. BLANCHIMENT

Tous les PFs pour blanchiment sont plus petits que un (Fig.34 et Tableau 32). Presque la moitié des concentrations de résidus de pesticides a été perdue pour les deux variétés. Contrairement à l'étape de lavage, le difenoconazole est le résidu qui a été le moins réduit suite au blanchiment. C'est probablement en raison de son coefficient de partage octanol-eau de 4.2, à sa faible solubilité ainsi qu'à sa bonne stabilité à l'hydrolyse. Ces propriétés physico-chimiques causent un transfert vers la partie plus lipophile de l'échantillon. Le linuron et le tebuconazole qui ont tous les deux un coefficient de partage octanol-eau également au-dessus de trois et une assez bonne stabilité à l'hydrolyse montraient la même tendance, à savoir une moins bonne élimination des résidus suite au blanchiment.

Pour le diméthoate et l'ométhoate, le blanchiment cause une réduction évidente pour les deux variétés malgré les déviations standard élevées. C'est la première étape qui permet une diminution du diméthoate et de l'ométhoate. Dans ce cas, le diméthoate et l'ométhoate sont bien réduits grâce à la température et au fait que les carottes étaient coupées en morceaux. Ce pesticide systémique a une grande solubilité, un coefficient de partage octanol-eau et une stabilité à l'hydrolyse faible. Grâce à la température, les pores des morceaux de carottes s'élargissent et la surface de contact avec l'eau devient plus importante, ceci explique la diminution du diméthoate lorsque celui-ci entre en contact avec l'eau du blanchiment.

E. CUISSON AU MICRO-ONDES

Suite aux étapes de lavage, d'épluchage et de blanchiment, les concentrations en résidus de pesticides étaient très faibles et les PFs sont entachés d'une erreur importante. Cependant la tendance peut tout de même être déterminée. Les niveaux de résidus de pesticides dans les carottes ne sont en rien affectés par la cuisson au micro-ondes (Fig.34 et Tableau 32).

F. PASTEURISATION

Les conditions de pasteurisation dans notre étude ont été soigneusement choisies pour suivre la pratique industrielle aussi étroitement que possible c'est-à-dire maintenir une température de 90 °C et avoir une valeur pasteurisatrice ($P_{90^{\circ}\text{C}}$) d'environ 10 min.

Contrairement au blanchiment, peu d'eau était présente dans le système, mais beaucoup plus que lors de la cuisson au micro-ondes. Durant ce processus une température élevée a été utilisée, influençant particulièrement le dimethoate et le linuron (Tableau 32). Tout comme pour le blanchiment, les carottes étaient coupées en morceaux et la plus grande surface de contact avec l'eau permet de diminuer certains pesticides systémiques grâce à leurs grandes solubilités dans l'eau et aux hautes températures imposées par le processus de pasteurisation (Tableau 32). Effectivement, le dimethoate, l'omethoate et le linuron ne sont plus détectés après ce procédé.

Il n'y a aucune diminution des résidus de difenoconazole, de tebuconazole et de boscalid (liposoluble, peu soluble dans l'eau et stable à l'hydrolyse) avec des PFs proches de un malgré la température élevée du processus. D'autre part, le dimethoate, l'omethoate et le linuron, qui étaient peu affectés par les processus précédents, ont été complètement éliminés par ce processus (Tableau 32, Fig.34).

G. STÉRILISATION

Les conditions de stérilisation dans notre étude ont été soigneusement choisies pour suivre les pratiques industrielles d'aussi près que possible (température du processus de 117 °C et la valeur F_0 processus d'environ 7 min).

Les observations faites pour la stérilisation sont les mêmes que pour la pasteurisation. Ces deux processus permettent de réduire les concentrations

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Carotte

pour le diméthoate et le linuron à des valeurs inférieures à la LOQ mais aucune réduction n'a été observée pour les autres pesticides.

H. FACTEURS DE TRANSFORMATION POUR LA COMBINAISON DES TRANSFORMATIONS

Si nous prenons en compte tous les processus, nous pouvons comparer les PFs pour les combinaisons d'opérations telles que le lavage, le blanchiment et le traitement thermique. La Figure 35 représente les PFs pour (i) le lavage et l'épluchage, (ii) le lavage, l'épluchage et le blanchiment, (iii) le lavage, l'épluchage, le blanchiment et la cuisson au micro-ondes, (iv) le lavage, l'épluchage, le blanchiment et la stérilisation et (v) le lavage, l'épluchage, le blanchiment et la pasteurisation pour les deux variétés de carotte.

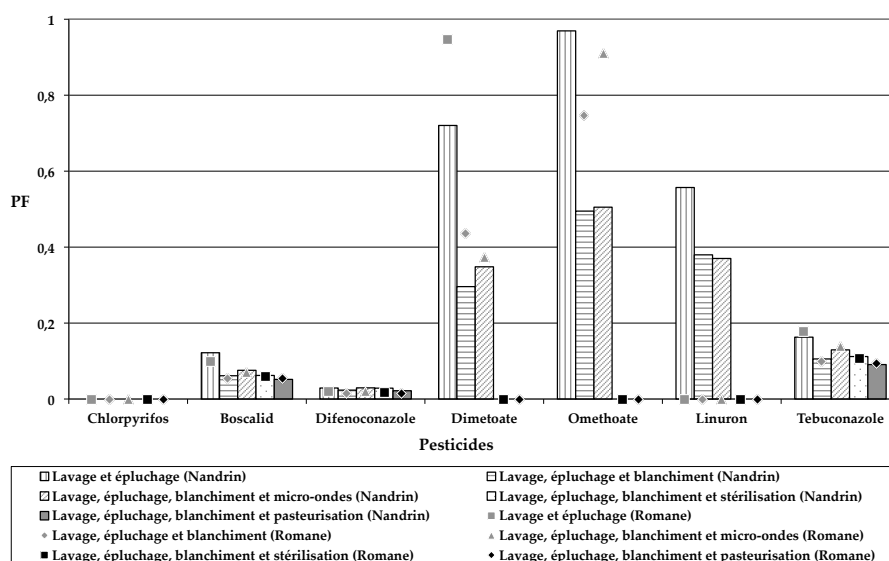


Fig.35 : PFs d'opérations telles que le nettoyage, blanchiment et le traitement thermique. Les SDs (PFs) sont repris dans le Tableau 33.

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation

Carotte

Le Tableau 33 résume tous les facteurs de transformation des processus cumulatifs.

Pour le boscalid, le chlorpyrifos, le difenoconazole et le tebuconazole, une forte réduction a été principalement observée après le lavage et l'épluchage éliminant plus de 80% de ces résidus. D'autre part, le dimethoate, l'omethoate et le linuron sont éliminés complètement par les processus de stérilisation et de pasteurisation grâce à leurs températures élevées (Tableau 33, Fig.35).

Contrairement aux épinards, les résidus de pesticides ne sont pas aussi fortement affectés par l'étape de blanchiment. Dans le cas des carottes, les résidus de pesticides, excepté le dimethoate, l'omethoate et le linuron ont été plus affectés par le lavage (généralement réalisé avant l'arrivée des carottes sur le marché) et l'épluchage. Les trois pesticides non éliminés par le lavage et l'épluchage ont été complètement éliminés suite à la pasteurisation et la stérilisation. D'autre part, le niveau de résidus dans les carottes, tout comme pour les épinards, est resté inchangé malgré la cuisson au micro-ondes.

Tableau 33 : Valeurs moyennes ($\pm$ SD, $n = 2$) des PFs de six pesticides pour différentes transformations cumulatives dans deux variétés de carotte. Les caractères en italiques sont utilisés pour identifier des PFs indicatifs ^a.

Pesticides	PF lavage et épluchage		PF lavage, épluchage et blanchiment		PF lavage, épluchage, blanchiment et micro-ondes		PF lavage, épluchage, blanchiment et pasteurisation		PF lavage, épluchage, blanchiment et stérilisation	
	Nandin	Romane	Nandin	Romane	Nandin	Romane	Nandin	Romane	Nandin	Romane
Boscalid	0.12 ($\pm$ 0.03)	0.10 ($\pm$ 0.03)	0.061 ($\pm$ 0.010)	0.054 ($\pm$ 0.003)	0.076 ($\pm$ 0.028)	0.054 ($\pm$ 0.020)	0.062 ($\pm$ 0.010)	0.070 ($\pm$ 0.005)	0.12 ($\pm$ 0.03)	0.10 ($\pm$ 0.03)
Chlorpyrifos^a	0.40 ($\pm$ 0.16)	0.51 ($\pm$ 0.21)	*	*	*	*	*	*	*	*
Difenoconazole	0.029 ($\pm$ 0.003)	0.019 ($\pm$ 0.006)	0.023 ($\pm$ 0.001)	0.016 ($\pm$ 0.001)	0.029 ($\pm$ 0.008)	0.016 ($\pm$ 0.011)	0.029 ($\pm$ 0.006)	0.020 ($\pm$ 0.009)	0.029 ($\pm$ 0.003)	0.019 ($\pm$ 0.006)
Dimetoate^a	0.67 ($\pm$ 0.11)	0.83 ($\pm$ 0.28)	0.72 ($\pm$ 0.07)	0.95 ($\pm$ 0.07)	0.30 ($\pm$ 0.02)	0.44 ($\pm$ 0.05)	0.035 ($\pm$ 0.03)	0.37 ($\pm$ 0.03)	*	*
Omethoate^a	0.88 ($\pm$ 0.11)	1.36 ($\pm$ 0.08)	0.97 ($\pm$ 0.10)	0.81 ($\pm$ 0.23)	0.49 ($\pm$ 0.02)	0.75 ($\pm$ 0.13)	0.51 ($\pm$ 0.03)	0.91 ($\pm$ 0.02)	*	*
Linuron^a	0.56 ($\pm$ 0.06)	*	0.38 ($\pm$ 0.04)	*	0.36 ($\pm$ 0.05)	*	*	*	*	*
Tebuconazole	0.16 ($\pm$ 0.04)	0.18 ($\pm$ 0.03)	0.11 ($\pm$ 0.03)	0.099 ($\pm$ 0.007)	0.13 ($\pm$ 0.03)	0.099 ($\pm$ 0.010)	0.11 ($\pm$ 0.03)	0.14 ($\pm$ 0.01)	0.16 ($\pm$ 0.04)	0.18 ($\pm$ 0.03)

^a : Ces pesticides ont été détectés avec des concentrations dans les céleris non transformés en-dessous de 0.1 mg/kg ou 10 x LOQ. Cela signifie que les PFs obtenus sont indicatifs parce que les concentrations sont inférieures à la concentration minimale définie par l'UE pour exécuter une étude de détermination de PFs (OECD, 2008).

* Plus présent après ce processus ($<$ LOD), ainsi le PF ne peut pas être calculé.

4. DETERMINATION DES FACTEURS DE TRANSFORMATION POUR LES CELERIS

Dans un premier temps, les céleris ont été analysés dans leur entièreté (sans les pieds), ce sont les céleris non transformés. Les concentrations de résidus de pesticides pour ces échantillons sont indiquées dans le Tableau 34.

Tableau 34 : Concentrations des pesticides (mg/kg) pour des pieds et feuilles de céleris ainsi que les céleris entiers des deux variétés. ND signifie non détecté ; < LOQ signifie inférieur à la limite de quantification.

Variété 1: Golden Spartan							
Pesticides	LOQ (mg/kg)	Non transformés		Feuilles		Bâtons	
		Batch 1	Batch 2	Batch 1	Batch 2	Batch 1	Batch 2
Azoxystrobine	0.001	0.084	0.083	0.102	0.094	0.0079	0.018
Chlorpropham ^a	0.015	0.045	0.047	0.021	< LOQ	< LOQ	< LOQ
λ-cyhalothrine ^a	0.010	0.027	0.020	0.23	0.28	ND	ND
Difenoconazole	0.001	0.258	0.257	0.434	0.384	0.010	0.016
Maneb ^a	0.040	< LOQ	< LOQ	-	0.173	ND	ND
Linuron ^a	0.010	< LOQ	< LOQ	0.012	< LOQ	ND	ND
Pirimicarb + desmethyl- pirimicarb	0.001	0.268	0.260	0.369	0.286	0.010	0.0091
Variété 2: Spartacus F1							
Pesticides	LOQ (mg/kg)	Non transformés		Feuilles		Bâtons	
		Batch 1	Batch 2	Batch 1	Batch 2	Batch 1	Batch 2
Azoxystrobine	0.001	0.079	0.068	0.104	0.067	0.011	0.010
Chlorpropham ^a	0.015	0.169	0.168	0.053	0.023	0.048	0.042
λ-cyhalothrine ^a	0.010	0.037	0.031	0.180	0.150	< LOQ	< LOQ
Difenoconazole	0.001	0.257	0.252	0.408	0.277	0.028	0.033
Maneb ^a	0.040	0.083	0.045	0.174	0.221	< LOQ	< LOQ
Linuron ^a	0.010	0.024	0.023	0.023	< LOQ	< LOQ	0.011
Pirimicarb + desmethyl-	0.001	0.271	0.279	0.461	0.297	0.013	0.016

^a : Ces pesticides ont été détectés avec des concentrations dans les céleris non transformés au-dessous du de 0.1 mg/kg ou 10 x LOQ. Cela signifie que les PFs obtenus sont indicatifs parce que les concentrations sont inférieures à la concentration minimale définie par l'UE pour exécuter une étude de détermination de PFs (OECD, 2008).

- : Pour cet échantillon, un problème a eu lieu lors de l'analyse mais étant donné que l'analyse du maneb doit avoir lieu sur un échantillon peu broyé, nous n'avions plus de matériel pour refaire l'analyse.

Quatre pesticides (chlorpropham, λ-cyhalothrine, maneb et linuron) ont des concentrations faibles dès le départ, donc dans les céleris non transformés (Tableau 34). Le linuron et le chlorpropham sont des herbicides. Ils ont été pulvérisés seulement une fois, lorsque sept feuilles étaient apparues (Tableau 10, p 73). À ce stade de développement de la plante, la surface

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Céleri

d'échange entre le pesticide et la plante est plutôt petite et pourrait expliquer le faible niveau de concentration. Le maneb est un fongicide de contact qui a été appliqué plus tard, mais durant la période pluvieuse. De la première pulvérisation jusqu'à la récolte, la quantité d'eau totale a été de 277.3 L m⁻² (Fig.36). Il y a aussi eu minimum deux averses majeures (> 5 L m⁻²) entre chaque pulvérisation et une entre la dernière pulvérisation et la récolte.

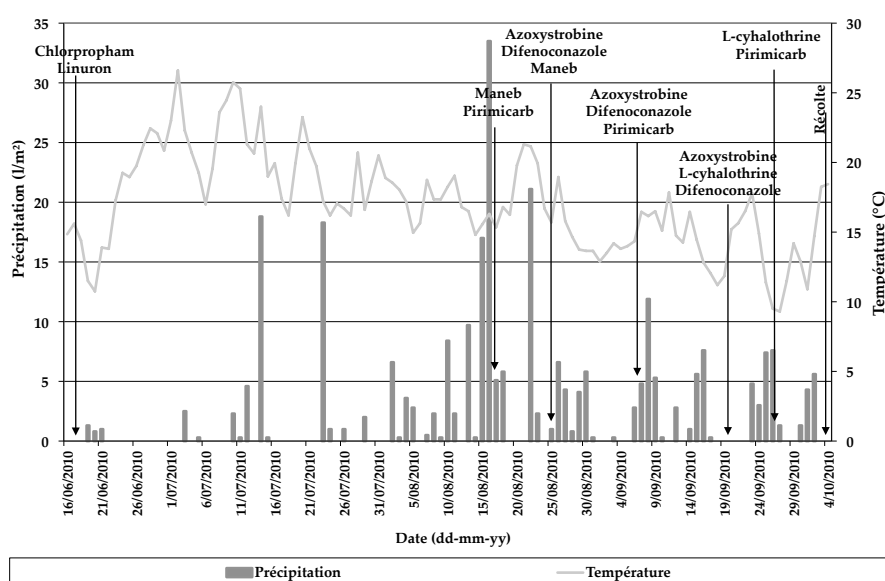


Fig.36 : Conditions météorologiques pour la période s'étendant de la première application de pesticides jusqu'à la récolte pour les 2 variétés de céleri (station météorologique de Redebel s.a., Belgique; distance entre la station et l'essai : 2.7km).

Avec sa solubilité, le maneb a pu être éliminé par la pluie (Tableau 35).

La λ -cyhalothrine a aussi une faible concentration malgré son application tardive mais la concentration appliquée était nettement inférieure à celle des autres substances actives. Pour ces quatre pesticides, les concentrations sont en-dessous de la concentration minimale (0.1 mg/kg ou 10 x LOQ) pour calculer un PF [OECD, 2008].

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Céleri

Tableau 35 : Propriétés physico-chimiques des pesticides utilisés dans cette expérience selon « The Pesticide Manual » (5TH Edition, BCPC) et les monographies européennes (DAR)

Pesticides	Solubilité dans l'eau (mg/L)	Coefficient de partage octanol-eau	Stabilité hydrolitique à pH 7 (jours)	Photostabilité à pH 7 (jours)	Mode d'action
Azoxystrobine	6,7 (20°C)	2,5 (20°C)	Stable (25-50°C)	8,7-13,9	Systémique
Chlorpropham	110 (20°C)	3,76 (20°C)	> 365 (20°C)	83,3	Contact
Cyhalothrine-λ	0,005 (20°C)	7,0 (20°C)	Stable (25°C)	13	Contact
Difenoconazole	15 (25°C)	4,36 (25°C)	Stable	Stable	Systémique
Linuron	63,8 (20°C)	3,0 (20°C)	1460 (20°C)	Stable	Systémique
Maneb	178 (20°C)	< - 0,45 (20°C)	208 h (20°C)	Stable	Contact
Pirimicarb	3100 (20°C)	1,7 (20°C)	<5% (25°C - 30j)	2,28 h	Systémique

Les trois concentrations les plus élevées ont été obtenues pour l'azoxystrobine, le difenoconazole et le pirimicarb qui ont été appliqués lors des trois dernières applications avant la récolte (Tableau 10, p 73 et Tableau 34).

Les produits de dégradation du linuron (2,3-dichloroaniline; 2,4-dichloroaniline; 2,5-dichloroaniline; 2,6-dichloroaniline; 3,4-dichloroaniline et 3,5-dichloroaniline) et du maneb (ETU) ont été recherchés, mais n'ont pas été détectés.

En comparant les deux variétés de céleri, les concentrations trouvées présentent une différence significative. Bien que l'azoxystrobine, la λ-cyhalothrine, le difenoconazole et le pirimicarb montrent des concentrations semblables, ce n'est pas le cas pour le chlorpropham, le maneb et le linuron. Ces différences sont étonnantes vu que les cultures ont été pulvérisées en même temps. Cependant, ces pesticides sont déterminés à de faibles concentrations avec une incertitude relativement élevée.

Dans un second temps, les feuilles de céleri ont été séparées des bâtons. Les feuilles ont été congelées jusqu'à l'analyse tandis que les bâtons ont suivi toutes les transformations. Les concentrations obtenues pour les feuilles et les bâtons sont reprises dans le Tableau 34 tandis que les PFs pour les bâtons se retrouvent dans le Tableau 36.

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Céleri

Comme expliqué dans la section précédente, pour le chlorpropham, la λ -cyhalothrine, le maneb et le linuron, les concentrations sont en-dessous de la concentration minimale pour calculer un PF. Par conséquent, les PFs représentés dans le Tableau 36 sont indicatifs pour ces pesticides. Dans le cas du maneb, les résidus n'étaient plus détectés une fois les feuilles éliminées et par conséquent un PF n'a pu être calculé. Ceci signifie que les résidus de maneb dans les bâtons de céleri ne sont *a priori* pas une préoccupation pour la santé publique.

Tableau 36 : Valeurs moyennes ($\pm$ SD, $n = 2$) des PFs de sept pesticides pour la découpe des feuilles dans deux variétés de céleri. Les caractères en italiques sont utilisés pour identifier des PFs indicatifs^a.

Pesticides	PF découpe des feuilles (bâtons) ($\pm$ SD)	
	Golden Spartan	Spartacus F1
Azoxystrobine	0.16 ($\pm$ 0.09)	0.14 ($\pm$ 0.02)
Chlorpropham ^a	0.34 ($\pm$ 0.02)	0.27 ($\pm$ 0.03)
λ -cyhalothrine ^a	0.21 ($\pm$ 0.04)	0.29 ($\pm$ 0.04)
Difenoconazole	0.051 ($\pm$ 0.016)	0.12 ($\pm$ 0.01)
Linuron ^a	0.50 ($\pm$ 0.00)	0.45 ($\pm$ 0.03)
Pirimicarb + desmethyl- Pirimicarb	0.037 ($\pm$ 0.004)	0.053 ($\pm$ 0.008)

^a : Ces pesticides ont été détectés avec des concentrations dans les céleris non transformés en-dessous de 0.1 mg/kg ou 10 x LOQ. Cela signifie que les PFs obtenus sont indicatifs parce que les concentrations sont inférieures à la concentration minimale définie par l'UE pour exécuter une étude de détermination de PFs (OECD, 2008).

Les résidus de pesticides ont été éliminés entre 50% et 96% lors de la découpe des feuilles de céleri. Le pesticide le moins éliminé lors de cette étape est le linuron, la seule substance active systémique appliquée lors du premier stade de développement des céleris (Tableau 10, p 73 et Tableau 35, p 156). Les bâtons de céleri étaient ainsi plus exposés lors de la vaporisation

des pesticides. Les diminutions plus importantes obtenues suite à l'élimination des feuilles peuvent s'expliquer pour les pesticides ayant été appliqués plus tard alors que les parties végétatives étaient plus développées. Cette partie était la plus exposée lors des pulvérisations et n'est plus présente lors de l'analyse des bâtons de céleri. Le difenoconazole (minimum 88%) et le pirimicarb (minimum 95%) sont des pesticides systémiques (translaminaire pour le pirimicarb) mais ils sont encore plus affectés par l'étape de découpe des feuilles que le chlorpropham et la λ -cyhalothrine, qui sont des pesticides de contact. Le difenoconazole et le pirimicarb ont été appliqués trois fois sur la culture qui était déjà à un stade avancé de développement (au moins 60% du diamètre de racine attendu). Dans ces conditions, il est possible que ces pesticides n'agissent plus comme des systémiques [Krol *et al.*, 2000]. En outre, les feuilles étaient la partie végétative de la plante la plus exposée lors de la pulvérisation. Ce qui est confirmé par les analyses étant donné que les concentrations retrouvées dans les feuilles sont toujours nettement supérieures à celles retrouvées dans les bâtons, excepté pour le chlorpyrifos et le linuron. Comme expliqué auparavant, ces deux pesticides ont été appliqués lors d'un stade de développement précoce et ont ainsi pu se retrouver dans le flux du xylème et du phloème et donc dans toutes les parties de la plante. Garau *et al.* ont également montré qu'en comparant les concentrations obtenues pour l'entièreté du plant par rapport à celles obtenues pour les bâtons, les résidus de chlorothalonil étaient trois fois plus faibles, ceux de l'anilazine n'étaient plus détectables et ceux du ziram avaient diminué de plus de moitié [Garau, 2001].

Sur la Figure 37, tout comme dans le Tableau 35, nous pouvons facilement nous rendre compte que la corrélation entre les deux batchs pour chaque variété est très bonne pour les céleris non transformés et les bâtons. Cependant ce n'est pas le cas pour les concentrations obtenues dans les feuilles, ce qui s'explique sans doute par un problème d'homogénéisation lors de l'échantillonnage.

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Céleri

Etant donné qu'au départ, il n'était pas prévu d'analyser les feuilles, nous n'avons pas apporté la même attention à l'homogénéisation de ces feuilles et il est aussi possible que les 700-800 g prélevés n'étaient pas suffisants pour assurer une bonne homogénéité. Ce problème peut également expliquer l'absence de concordance des résultats obtenus avec les bilans de masse.

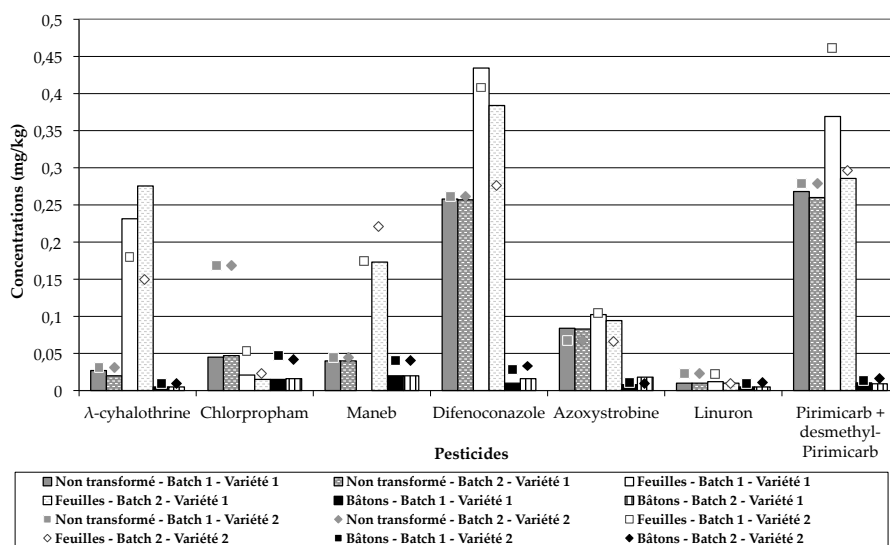


Fig.37 : Concentrations (mg/kg) des substances actives retrouvées dans les céleris non transformés, les feuilles et les bâtons pour chaque batch des 2 variétés.

Pour démontrer cette hypothèse de manque d'homogénéisation, dix céleris, appelés « céleris bis », ont été prélevés par Redebel et analysés. Le pied des dix céleris a été coupé, ensuite cinq céleris ont été broyés en entier et les cinq autres ont été divisés en deux : feuilles et bâtons. Toutes les feuilles et tous les bâtons de ces cinq céleris ont été broyés séparément. Les échantillons pour l'analyse ont tout de suite été prélevés, extraits et analysés par LC-MS/MS et GC-MS/MS. Les concentrations obtenues pour ces céleris se retrouvent dans le Tableau 37.

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Céleri

Tableau 37 : Concentrations des pesticides (mg/kg) pour les « céleris bis ».

Pesticides	Non transformés		Bâtons		Feuilles	
	1	2	1	2	1	2
λ -cyhalothrine	0.30	0.23	0.038	0.021	0.60	0.52
3.4-dichloroaniline	0.039	0.033	< 0.01	< 0.01	0.045	0.048
Difenoconazole	5.37	5.16	0.51	0.48	11.11	11.14
Azoxystrobine	6.77	5.69	0.39	0.36	13.54	14.00
Linuron	0.42	0.49	0.077	0.075	0.61	1.03

Ces résultats montrent que les concentrations obtenues pour les deux batchs des « céleris bis » sont très voisines pour les céleris non transformés, les bâtons mais également les feuilles contrairement à ce que nous avons observés avec les premiers céleris. Par conséquent, cette expérience supplémentaire a permis de valider notre hypothèse d'un manque d'homogénéisation des échantillons de feuilles car cette fois-ci les résultats des deux analyses sont cohérents. De plus, cette fois-ci le bilan de masse est correct (Tableau 38). En effet, en tenant compte des masses des céleris non transformés, des feuilles ou des bâtons et des concentrations, nous obtenons des mg de substances actives. Le bilan de masse est correct car les valeurs obtenues pour les céleris non transformés (première colonne du Tableau 38) sont voisines de celles obtenues en sommant les mg de substance active des feuilles et des bâtons (dernière colonne du Tableau 38).

Tableau 38 : Bilan de masse pour les « céleris bis » (mg de substance active).

	m(NT)*C(NT)	m(feuil)*C(feuil)	m(bat)*C(bat)	Σ feuilles,bâtons
Analyse 1				
λ -cyhalothrine	0.87	0.7236	0.0912	0.8148
3.4-dichloroaniline	0.1131	0.054	-	-
Difenoconazole	15.573	13.332	1.2144	14.546
Azoxystrobine	19.633	16.248	0.925	17.173
Linuron	1.2279	0.7378	0.1848	0.9226
Analyse 2				
λ -cyhalothrine	0.6583	0.6216	0.0504	0.672
3.4-dichloroaniline	0.0957	0.0576	-	-
Difenoconazole	14.964	13.368	1.1599	14.528
Azoxystrobine	16.501	16.8	0.8626	17.663
Linuron	1.4274	1.236	0.1788	1.4148

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation Céleri

Etant donné que les concentrations de résidus de pesticides retrouvées dans nos bâtons étaient déjà fort faibles avant de subir les transformations, les concentrations après le sont encore plus (Tableau 39).

Tableau 39 : Valeurs moyennes ($\pm$ SD, $n = 2$) des concentrations (mg/kg) de sept pesticides pour différentes transformations dans deux variétés de céleri. ND signifie non détecté ; <LOQ signifie inférieur à la limite de quantification.

GOLDEN SPARTAN							
Pesticides	LOQ (mg/kg)	Non transformé Moyenne ($\pm$ SD)	Découpe des feuilles (les bâtons) Moyenne ($\pm$ SD)	Lavage Moyenne ($\pm$ SD)	Blanchiment Moyenne ($\pm$ SD)	Micro-ondes Moyenne ($\pm$ SD)	Stérilisation Moyenne ($\pm$ SD)
Azoxystrobine	0.001	0.084 ($\pm$ 0.001)	0.013 ($\pm$ 0.007)	0.0081 ($\pm$ 0.0000)	0.0031 ($\pm$ 0.0014)	0.0035 ($\pm$ 0.0007)	0.0024 ($\pm$ 0.0000)
Chlorpropham ^a	0.015	0.046 ($\pm$ 0.001)	0.016 ($\pm$ 0.001)	ND	ND	ND	ND
I-cyhalothrine ^a	0.010	0.024 ($\pm$ 0.005)	ND	ND	ND	ND	ND
Difenoconazole	0.001	0.26 ($\pm$ 0.00)	0.013 ($\pm$ 0.004)	0.018 ($\pm$ 0.001)	0.0043 ($\pm$ 0.0007)	0.0058 ($\pm$ 0.0007)	0.0084 ($\pm$ 0.0028)
Linuron ^a	0.010	< LOQ	ND	ND	ND	ND	ND
Maneb ^a	0.040	< LOQ	ND	ND	ND	ND	ND
Pirimicarb + desmethyl- Pirimicarb	0.001	0.26 ($\pm$ 0.01)	0.009 ($\pm$ 0.001)	0.013 ($\pm$ 0.001)	0.0079 ($\pm$ 0.0004)	0.0088 ($\pm$ 0.0008)	0.0044 ($\pm$ 0.0002)
SPARTACUS F1							
Pesticides	LOQ (mg/kg)	Non transformé Moyenne ($\pm$ SD)	Découpe des feuilles (les bâtons) Moyenne ($\pm$ SD)	Lavage Moyenne ($\pm$ SD)	Blanchiment Moyenne ($\pm$ SD)	Micro-ondes Moyenne ($\pm$ SD)	Stérilisation Moyenne ($\pm$ SD)
Azoxystrobine	0.001	0.074 ($\pm$ 0.008)	0.011 ($\pm$ 0.001)	0.0069 ($\pm$ 0.0008)	0.0052 ($\pm$ 0.0002)	0.0055 ($\pm$ 0.0011)	0.0029 ($\pm$ 0.0003)
Chlorpropham	0.015	0.17 ($\pm$ 0.00)	0.045 ($\pm$ 0.004)	0.035 ($\pm$ 0.001)	0.019 ($\pm$ 0.002)	0.023 ($\pm$ 0.003)	0.017 ($\pm$ 0.001)
I-cyhalothrine ^a	0.010	0.034 ($\pm$ 0.004)	< LOQ	ND	ND	ND	ND
Difenoconazole	0.001	0.26 ($\pm$ 0.00)	0.031 ($\pm$ 0.004)	0.013 ($\pm$ 0.003)	0.013 ($\pm$ 0.004)	0.013 ($\pm$ 0.004)	0.013 ($\pm$ 0.004)
Linuron ^a	0.010	0.024 ($\pm$ 0.001)	0.011 ($\pm$ 0.001)	0.011 ($\pm$ 0.001)	ND	ND	ND
Maneb ^a	0.040	0.064 ($\pm$ 0.027)	ND	ND	ND	ND	ND
Pirimicarb + desmethyl- Pirimicarb	0.001	0.28 ($\pm$ 0.01)	0.015 ($\pm$ 0.002)	0.014 ($\pm$ 0.001)	0.0095 ($\pm$ 0.0001)	0.0085 ($\pm$ 0.0004)	0.0040 ($\pm$ 0.0006)

^a : Ces pesticides ont été détectés avec des concentrations dans les céleris non transformés en-dessous de 0.1 mg/kg ou 10 x LOQ. Cela signifie que les PFs obtenus sont indicatifs parce que les concentrations sont inférieures à la concentration minimale définie par l'UE pour exécuter une étude de détermination de PFs (OECD, 2008).

Chapitre 4 : Détermination des facteurs de transformation

Céleri

Vu ces faibles concentrations, nous pouvons calculer des PFs qui dans la plupart des cas ne sont qu'indicatifs (Tableau 39). Dans le cas du maneb, nous n'avons pu en calculer étant donné qu'il n'était plus détecté dans les bâtons avant même le lavage. Ces PFs indicatifs permettent tout de même d'observer la même tendance que pour les autres commodités, à savoir qu'il y a toujours une diminution d'une partie des résidus lors du lavage, du blanchiment et de la stérilisation et que la cuisson au micro-ondes n'affecte que très rarement le niveau des résidus de pesticides.

Dans le Tableau 40, nous pouvons également observer qu'il y a une différence de PFs entre les deux variétés. Cette différence est frappante dans le cas du difenoconazole. De plus, une inversion des tendances a lieu entre le lavage et le blanchiment. Pour les Spartacus F1, les résidus ont été éliminés lors du lavage et donc ne le sont plus lors du blanchiment, tandis que pour les Golden Spartan, c'est exactement l'inverse.

Pour conclure, la transformation déterminante pour l'évaluation du risque pour les céleris est la découpe des feuilles. Donc, en fonction de ce que la population consomme, les risques sont différents.

Tableau 40 : Valeurs moyennes ($\pm$ SD, $n = 2$) des PFs de sept pesticides pour différentes transformations dans deux variétés de céleri. Les caractères en italiques sont utilisés pour identifier des PFs indicatifs^a.

Pesticides	PF découpe des feuilles (bâtons)						PF lavage				PF blanchiment				PF micro-ondes				PF stérilisation			
	$\pm$ SD)		$\pm$ SD)		$\pm$ SD)		$\pm$ SD)		$\pm$ SD)		$\pm$ SD)		$\pm$ SD)		$\pm$ SD)		$\pm$ SD)		$\pm$ SD)		$\pm$ SD)	
	Golden	Spartan	Golden	Spartan	Golden	Spartan	Golden	Spartan	Golden	Spartan	Golden	Spartan	Golden	Spartan	Golden	Spartan	Golden	Spartan	Golden	Spartan	Golden	Spartan
Azoxystrobine	0.16 ($\pm$ 0.09)	0.14 ($\pm$ 0.02)	0.63 ($\pm$ 0.35)	0.65 ($\pm$ 0.09)	0.38 ($\pm$ 0.06)	0.75 ($\pm$ 0.09)	1.13 ($\pm$ 0.19)	1.06 ($\pm$ 0.21)	0.79 ($\pm$ 0.13)	0.56 ($\pm$ 0.06)												
Chlorpropham ^a	0.34 ($\pm$ 0.02)	0.27 ($\pm$ 0.03)	0.48 ($\pm$ 0.02)	0.78 ($\pm$ 0.08)	*	0.54 ($\pm$ 0.07)	*	1.23 ($\pm$ 0.21)	*	0.91 ($\pm$ 0.14)												
l-cyhalothrine ^a	0.21 ($\pm$ 0.04)	0.29 ($\pm$ 0.04)	*	*	*	*	*	*	*	*												
Difenoconazole	0.051 ($\pm$ 0.016)	0.12 ($\pm$ 0.01)	1.35 ($\pm$ 0.44)	0.43 ($\pm$ 0.11)	0.24 ($\pm$ 0.04)	0.96 ($\pm$ 0.34)	1.36 ($\pm$ 0.26)	1.00 ($\pm$ 0.40)	1.96 ($\pm$ 0.71)	1.04 ($\pm$ 0.45)												
Linuron ^a	0.50 ($\pm$ 0.00)	0.45 ($\pm$ 0.03)	*	*	*	*	*	*	*	*												
Pirimicarb + desmethyl- Pirimicarb	0.037 ($\pm$ 0.004)	0.053 ($\pm$ 0.008)	1.33 ($\pm$ 0.19)	0.93 ($\pm$ 0.14)	0.60 ($\pm$ 0.07)	0.56 ($\pm$ 0.03)	1.12 ($\pm$ 0.12)	1.10 ($\pm$ 0.06)	0.55 ($\pm$ 0.04)	0.48 ($\pm$ 0.08)												

^a : Ces pesticides ont été détectés avec des concentrations dans les céleris non transformés en-dessous de 0.1 mg/kg ou 10 x LOQ. Cela signifie que les PFs obtenus sont indicatifs parce que les concentrations sont inférieures à la concentration minimale définie par l'UE pour exécuter une étude de détermination de PFs (OECD, 2008).

* Plus présent après ce processus ($\leq$ LOD), ainsi le PF ne peut pas être calculé.

Chapitre 5: DISCUSSION GENERALE

En Belgique, l'arrêté royal du 28 février 1994 définit les « pesticides » comme un ensemble de « substances, préparations, micro-organismes et virus destinés à assurer la destruction ou à prévenir l'action des animaux, végétaux, micro-organismes ou virus nuisibles ». Parmi ces pesticides, deux catégories sont à distinguer: les biocides, qui regroupent des produits à usage domestique ou industriel comme des protecteurs du bois ou encore des insecticides, et les pesticides à usage agricole, au sein desquels on distingue les produits phytopharmaceutiques de la catégorie « autres pesticides utilisés en agriculture ». Cette nomenclature complexe illustre bien l'ambiguïté du terme « pesticide » qui recouvre un très large champ d'applications qui vont bien au-delà de l'acception adoptée dans cette thèse. Ici, nous nous sommes focalisés sur l'usage de produits phytopharmaceutiques utilisés pour la protection des plantes contre les maladies et adventices. Il est aussi capital de savoir qu'un produit phytopharmaceutique est en fait un assemblage de plusieurs composés différents parmi lesquels, outre la matière active responsable de l'activité du produit, se trouvent des substances utilisées comme agent de charge, solvant ou agent mouillant. Ces formulations sont une composante essentielle du produit phytopharmaceutique car certaines caractéristiques essentielles du produit vont dépendre de celles-ci, comme par exemple la dimension et l'étalement des gouttes à la pulvérisation ou encore le pouvoir pénétrant du produit au niveau de la cuticule d'une plante. Pour la facilité, nous parlons ici d'une manière globale et synthétique tout en rappelant au lecteur qu'il est essentiel de conserver à l'esprit la complexité des produits considérés. L'approche expérimentale qui a été choisie dans ce travail s'est d'emblée placée au niveau de l'utilisation pratique des produits phytopharmaceutiques et les conditions choisies ici sont celles de fruits et légumes cultivés et pulvérisés avec des produits agréés.

L'utilisation de produits phytopharmaceutiques implique la présence de résidus sur les denrées alimentaires qu'il s'agisse de fruits, de légumes ou de produits transformés (Fig.38). La quantité et la répartition de ces résidus de pesticides dépendront de nombreux facteurs liés au type de matrice, aux propriétés physico-chimiques des pesticides, aux conditions météorologiques et aux délais avant récolte et avant consommation (Fig.38).

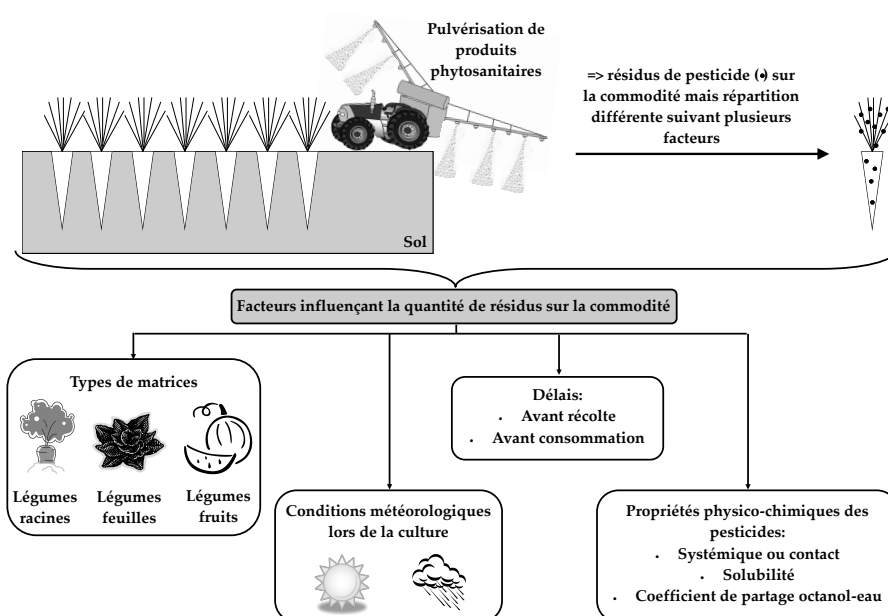


Fig.38 : Représentation de l'origine des résidus de pesticides ainsi que les facteurs influençant leur distribution dans les commodités.

Le Tableau de Marque-page reprend tous les facteurs qui exercent une influence prépondérante sur le comportement des résidus de pesticides suite aux transformations, et ce pour les combinaisons pesticides-commodités étudiées dans cette thèse. Ce Tableau se retrouve également en Annexe VIII.

1. COMPARAISON DES FACTEURS DE TRANSFORMATION ETUDIÉS AVEC CEUX RETROUVÉS DANS LA LITTÉRATURE

Un certain nombre de PFs sont connus. Ils sont répertoriés au niveau du « Federal Office of Consumer Protection and Food Safety », mais ils ne sont pas toujours accessibles au public. Dans le cadre de ce travail, un relevé systématique des PFs a été réalisé. De nombreuses combinaisons matrice-pesticide-transformation ont déjà été étudiées mais les conditions expérimentales de ces études sont parfois très différentes.

Vu la taille du tableau, celui-ci a été placé en annexe (Annexe I).

Afin d'évaluer et de discuter les résultats de notre étude, nous nous focaliserons sur certaines combinaisons pesticide-commodité de manière à discuter, pour chaque transformation, les concordances et divergences entre les données existantes et celles de notre travail. Deux pesticides ont été sélectionnés pour chaque transformation. Ils ont été sélectionnés pour leur nombre de PFs disponibles plus important que pour les autres pesticides.

A. LAVAGE

Le lavage est en général la première étape des transformations. C'est aussi une des premières recommandations proposées au consommateur pour réduire l'exposition aux pesticides et à d'autres contaminants. Plusieurs travaux ont montré qu'en lavant les commodités les résidus à la surface et une grande partie des composés polaires et solubles dans l'eau sont plus facilement éliminés que les non polaires et peu solubles dans l'eau [Kaushik *et al.*, 2009].

Le Tableau 41 reprend les PFs retrouvés dans la littérature pour deux matières actives étudiées, le chlorpyrifos et les dithiocarbamates. Il est intéressant de constater que, quel que soit le pesticide, les résidus présentent des PFs qui varient fortement. Le PF du chlorpyrifos varie de 0.4 à 1, tandis que celui des dithiocarbamates oscille entre moins de 0.1 et 0.57. Par contre,

ce qui joue un rôle important sur l'élimination des résidus de pesticides suite au lavage est le type de matrice. En effet, les résidus se trouvant sur les matrices dont la partie comestible est fortement exposée lors des pulvérisations (pommes, pêches, épinards, choux...) sont moins bien éliminés que ceux se trouvant sur les légumes racines (carottes, céleris).

En comparant les deux pesticides repris dans le Tableau 41, nous observons que le chlorpyrifos est en général moins bien éliminé par le lavage. Cette différence peut être expliquée par la différence de coefficient de partage octanol-eau des deux pesticides. En effet, le chlorpyrifos est hydrophobe alors que l'hydrophobicité des dithiocarbamates est beaucoup moins prononcée. Avec cette propriété, le chlorpyrifos a une grande affinité pour la cuticule et par conséquent également pour les peaux cireuses et est donc plus difficilement éliminé que les dithiocarbamates.

Tableau 41 : Extrait du tableau de l'Annexe I reprenant les PFs du chlorpyrifos et des dithiocarbamates obtenus lors du lavage ainsi que ceux obtenus dans notre étude

Pesticides	Commodités	PF	Source
Chlorpyrifos	Tomates	0,53	Ling <i>et al.</i> , 2011
	Choux	0,82	Zhang <i>et al.</i> , 2006
	Choux	1	Ling <i>et al.</i> , 2011
	Choux de Bruxelles	0,96	Ling <i>et al.</i> , 2011
	Concombre	0,89	Ling <i>et al.</i> , 2011
	Aubergine	0,64	Ling <i>et al.</i> , 2011
	Soja	0,89	Kaushik <i>et al.</i> 2009
	Pomme	1	Rasmussen <i>et al.</i> , 2003
	Tomates	0,62	Chavarri <i>et al.</i> , 2005
	Asperges	0,76	Chavarri <i>et al.</i> , 2005
	Pêches	0,82	Balinova <i>et al.</i> 2006
	Carottes (Nandrin)	0,4	Résultats de cette étude
	Carottes (Romane)	0,51	Résultats de cette étude
Dithiocarbamates	Tomates	0,57 (maneb+mancozeb)	Chavarri <i>et al.</i> , 2005
	Tomates	0,1 (mancozeb)	Burchat <i>et al.</i> , 1998
	Carottes	< 0,10 (mancozeb)	Burchat <i>et al.</i> , 1998
	Asperges	0,47	Chavarri <i>et al.</i> , 2005
	Céleris (Golden Spartan)	*	Résultats de cette étude
	Céleris (Spartacus F1)	*	Résultats de cette étude
	Epinards (Cezanne)	0,57 (mancozeb)	Résultats de cette étude
	Epinards (SP-916)	0,52 (mancozeb)	Résultats de cette étude

Il est également intéressant de constater les différences de PFs pour les dithiocarbamates entre l'étude de Chavarri et celle de Burchat [Burchat *et al.*, 1998; Chavarri *et al.*, 2005]. Ces différences montrent à quel point la façon dont l'étude est menée a une influence sur les PFs. En effet, Chavarri *et al.* ont réalisé une fortification (application des pesticides d'intérêt sur les matrices) en laboratoire alors que Burchat *et al.* ont réalisé une fortification en champ. Cette dernière permet aux pesticides d'interagir avec les matrices actives biologiques et par conséquent le profil d'extraction des résidus de pesticides peut être affecté par l'absorption ou la translocation dans les tissus vivants de la plante mais également par les conditions météorologiques. De plus, le mancozeb ayant une photostabilité de seulement trois heures, lors de l'étude en champ, il aura eu le temps de se dégrader partiellement. Lors de la pulvérisation en laboratoire, les échantillons ont été placés durant 24h sous une hotte pour permettre la fixation et la pénétration des résidus. Lors de ces 24h, le mancozeb a pu être dégradé. Par contre le fait que le maneb est photostable explique sans doute pourquoi le PF obtenu dans l'étude de Chavarri *et al.* est plus élevé que celui de l'étude de Burchat *et al.* D'autre part, les PFs du chlorpyrifos pour le lavage des choux avec l'eau du robinet montrent également des différences. Dans ce cas, les deux études ont réalisé une fortification en laboratoire mais les conditions expérimentales sont différentes et se traduisent par une perte de 18% pour Zhang *et al.* et une perte de seulement 0,23% pour Ling *et al.* [Ling *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2006]. La première étude réalise la fortification en trempant les choux dans un bain durant deux minutes puis en les séchant à température ambiante alors que la deuxième effectue une pulvérisation avec une solution plus concentrée et laisse les échantillons pendant 12h sous la hotte. Nous pourrions en conclure que même les études en laboratoire peuvent apporter des PFs différents suivant le protocole expérimental.

B. EPLUCHAGE

Une seconde étape importante lors des transformations des fruits et légumes est l'épluchage. Plusieurs méthodes peuvent être utilisées telles que

l'épluchage chimique, mécanique, à la vapeur ou au gel. Etant donné que les épluchures extraites de procédés d'épluchage industriels sont utilisées pour l'alimentation animale ou la production d'huiles essentielles ou de pectines, des LMRs sont également fixées et doivent être respectées même pour ces parties dérivées du végétal [Kaushik *et al.*, 2009; Timme & Walz-Tylla, 2004].

Au vu des PFs extraits de l'Annexe I et repris dans le Tableau 42, le diméthoate n'est absolument pas affecté par l'épluchage des carottes, contrairement aux PFs retrouvés pour les mangues et les oranges. Il est intéressant de rappeler que le diméthoate est un pesticide systémique. Par conséquent, lorsqu'il est appliqué sur les fanes de carottes, il a la capacité de se distribuer dans tout le légume (Marque-page). Les concentrations retrouvées dans notre étude pour les épluchures et la chair analysées séparément étaient identiques, ce qui confirme ce mécanisme. Les oranges ou les mangues possèdent un épicarpe épais directement exposé aux produits phytopharmaceutiques empêchant partiellement ou totalement les résidus de pénétrer dans le fruit.

Dans notre étude, le thiaméthoxam, quant à lui, était fortement éliminé lors de l'épluchage des melons mais ce résultat ne concorde pas avec celui obtenu pour les pommes de terre dans la littérature (Tableau 42). La différence observée pour les melons et les pommes de terre est semblable à celle observée pour les mangues et les carottes. En effet, l'épicarpe des pommes de terre n'est pas directement exposé lors de pulvérisation. De plus, c'est également un pesticide systémique et lorsqu'il est appliqué lors d'un stade précoce de la culture, il a la capacité de se retrouver dans les tissus conducteurs de la plante (phloème et/ou xylème) et donc dans la chair du fruit ou légume. Les résidus de thiaméthoxam présents dans les pommes de terre sont donc répartis dans la chair et non sur l'épicarpe. Dans le cas des melons, les applications de thiaméthoxam ont été réalisées alors que les melons avaient déjà 80% de leur taille finale. Les résidus sont dès lors restés principalement à la surface de ces derniers. Ce type de résultat confirme combien il est utile de bien comprendre comment les pesticides se distribuent dans la plante sur laquelle ils sont appliqués et pourrait

potentiellement conduire à proposer des stratégies qui prennent en compte le moment d'application pour réduire la présence de résidus au sein de certaines commodités.

Tableau 42 : Extrait du tableau de l'Annexe I reprenant les PFs du diméthoate et du thiaméthoxam obtenus lors de l'épluchage ainsi que ceux obtenus dans notre étude

Pesticides	Commodités	PF	Source
Diméthoate	Orange	0,14	BVL 2002, JMPR 1998,2003
	Mangue	0	Kaushik <i>et al.</i> 2009
	Carottes (Nandrin)	1,08	Résultats de cette étude
	Carottes (Romane)	1,14	Résultats de cette étude
Thiaméthoxam	Pommes-de-terre	1	DAR, List of Endpoints, Mai 2006
	Melons (Mohican)	0,33	Résultats de cette étude
	Melons (Pancha)	0,42	Résultats de cette étude

C. CUISSON

La cuisson est un autre moyen qui permet l'élimination d'une grande partie des résidus de pesticides par volatilisation pour les systèmes ouverts et par hydrolyse pour les systèmes fermés. La cuisson peut se faire à l'eau, à la pression, au micro-ondes ou à la friteuse. Les aliments peuvent aussi être stérilisés et mis en conserve. Suivant leur solubilité dans l'eau, certains pesticides seront transférés des commodités à l'eau de cuisson. Si ce n'est pas le cas, ils restent dans les aliments selon leur coefficient de partage octanol-eau qui est un indicateur des propriétés hydrophiles ou lipophiles du composé [Kaushik *et al.*, 2009; Timme & Walz-Tylla, 2004].

Blanchiment

Le blanchiment à l'eau chaude augmente en général l'élimination des résidus et peut hydrolyser des fractions substantielles de composés non-persistants. Les pesticides non-polaires sont tenacement ancrés dans les peaux cireuses des fruits et légumes et sont par conséquent moins affectés par ce procédé [Kaushik *et al.*, 2009].

Lors du lavage (Tableau 41), le chlorpyrifos était peu éliminé. Dans le cas du blanchiment, l'eau est chauffée, ce qui permet d'éliminer celui-ci par solubilisation, de manière beaucoup plus efficace que le lavage (Tableau 43).

Tout comme pour le lavage, les dithiocarbamates ont un comportement différent suivant les matrices (Tableau 43). En effet, les dithiocarbamates dans les céleris se comportent comme dans les asperges [Chavarri *et al.*, 2005], c'est-à-dire avec une élimination totale des résidus. Le même comportement n'est pas observé pour les épinards (Tableau 43). Selon Satchivi (2001), les composés intermédiaires ($-5 \leq \log K_{ow} \leq 2$) comme le maneb et le mancozeb ont des coefficients de partage octanol-eau leur permettant de pénétrer la membrane plasmique et de se retrouver ainsi dans les feuilles de la plante et pas uniquement en surface [Satchivi *et al.*, 2001]. Lors du blanchiment, les asperges blanchies dans l'étude de Chavarri avaient été préalablement épluchées permettant d'éliminer une partie des résidus [Chavarri *et al.*, 2005]. Pour les céleris de notre étude, les feuilles, les plus exposées aux pesticides, avaient été éliminées. Pour les céleris, avant le blanchiment, les résidus de maneb n'étaient déjà plus détectés. Par contre, dans le cas des épinards, le lavage n'avait pas permis d'éliminer beaucoup de résidus de mancozeb et le blanchiment non plus, montrant que ces derniers se retrouvaient bien en grande partie dans les feuilles et non en surface.

Tableau 43 : Extrait du tableau de l'Annexe I reprenant les PFs du chlorpyrifos et des dithiocarbamates obtenus lors du blanchiment ainsi que ceux obtenus dans notre étude

Pesticides	Commodités	PF	Source
Chlorpyrifos	Asperges	0,17	M.J. Chavarri <i>et al.</i> , 2005
	Carottes (Nandrin)	*	Résultats de cette étude
	Carottes (Romane)	*	Résultats de cette étude
Dithiocarbamates	Asperges	0	M.J. Chavarri <i>et al.</i> , 2005
	Epinards (Cezanne)	0,93 (mancozeb)	Résultats de cette étude
	Epinards (SP-916)	0,66 (mancozeb)	Résultats de cette étude
	Céleris (Golden Spartan)	* (maneb)	Résultats de cette étude
	Céleris (Spartacus F1)	* (maneb)	Résultats de cette étude

* Plus présent après ce processus ($< LOD$), ainsi le PF ne peut pas être calculé.

Cuisson au micro-ondes

Peu d'études ont été réalisées sur l'effet de la cuisson au micro-ondes sur les pesticides choisis. En effet concernant les pesticides étudiés dans ce travail, il y a uniquement l'imazalil en association avec les oranges qui est traité dans la littérature. Cette combinaison a été étudiée lors de la préparation d'une

marmelade au micro-ondes. Le PF obtenu est de 1.6, traduisant ainsi une concentration des résidus d'imazalil dans cet aliment. L'étude a également été réalisée pour une cuisson de marmelade traditionnelle, n'apportant pas grand changement au PF de 1.5. Lors de notre travail, nous avons pu observer que dans la plupart des cas, la cuisson au micro-ondes n'affectait pas les niveaux de résidus de pesticides. Il est cependant intéressant de rappeler que ce type de cuisson intervient après un blanchiment et une congélation des aliments. Ces derniers ont été réchauffés au micro-ondes sans eau ajoutée. Il est possible que si les légumes avaient été directement cuits au micro-ondes avec de l'eau, les PFs auraient été similaires à ceux du blanchiment, pour autant que l'eau de cuisson soit éliminée.

Stérilisation

Le processus de stérilisation est utilisé pour une grande variété de fruits et légumes afin d'obtenir des produits de longue conservation.

Lors de la stérilisation des tomates, le maneb était éliminé totalement mais par contre 32% d'ETU étaient formés en contrepartie (Tableau 44) [Kaushik *et al.*, 2009]. Nous avons également observé ce phénomène lors de la stérilisation des épinards avec une apparition d'environ 50% d'ETU. Les résidus de mancozeb sont totalement éliminés lors de la stérilisation alors qu'ils sont peu affectés lors du blanchiment (Tableau 43). Cette différence pourrait être expliquée par la température nettement plus élevée lors de la stérilisation. L'apparition d'ETU lors de la stérilisation, non observée lors du blanchiment, confirme la dégradation du mancozeb lors de cette étape.

Le propamocarb a été fortement réduit dans la choucroute en conserve mais ce phénomène n'a pas été observé lors de l'analyse des épinards (Tableau 44). L'acidité de la choucroute doit sans doute agir sur les résidus de propamocarb et expliquer la différence de comportement entre le chou et les épinards.

Chapitre 5 : Discussion générale

Tableau 44 : Extrait du tableau de l'Annexe I reprenant les PFs des dithiocarbamates et du propamocarb obtenus lors de la stérilisation ainsi que ceux obtenus dans notre étude

Pesticides	Commodités	PF	Source
Dithiocarbamates	Tomates	< 0,01	Kaushik <i>et al.</i> 2009
	Tomates	32% ETU	Kaushik <i>et al.</i> 2009
	Epinards (Cezanne)	* (mancozeb)	Résultats de cette étude
	Epinards (SP-916)	* (mancozeb)	Résultats de cette étude
Propamocarb	Choux	0,18	JMPR 2006
	Epinards (Cezanne)	0,81	Résultats de cette étude
	Epinards (SP-916)	0,69	Résultats de cette étude

* Plus présent après ce processus (< LOD), ainsi le PF ne peut pas être calculé.

Certains pesticides comme le dimethoate, l'omethoate, le linuron... étaient très affectés par la stérilisation lors de notre étude mais aucun travail ne traite de ces pesticides en combinaison avec la stérilisation dans la littérature.

En conclusion, nous constatons qu'une très grande diversité de PFs connus a été répertoriée, parfois pour une même commodité. Suite aux transformations, les PFs proposés dans ce travail varient entre zéro pour certains et supérieurs à un pour d'autres, ce qui signifie que le pesticide s'est concentré dans la matrice. Ceci peut être expliqué soit par les propriétés physico-chimiques des pesticides qui ont un coefficient de partage octanol-eau élevé (supérieur à 3), soit par les variations de masse de l'échantillon de départ dues à la prise d'eau lors des transformations. Les résidus de pesticides sont donc influencés par le stockage et les transformations que les fruits et légumes subissent avant la consommation.

Dans la plupart des cas, les transformations conduisent à une grande diminution des niveaux de résidus. Cependant, l'apparition de produits de dégradation, parfois plus toxiques que leur parent, ainsi qu'une concentration de la substance active peuvent avoir lieu.

Nous avons aussi pu démontrer que l'évolution des pesticides au fil des transformations dépend non seulement des propriétés physico-chimiques des substances actives, mais aussi de la nature de la commodité et des moments d'application des pesticides. En effet, en passant en revue les différentes transformations, les différences observées entre les matrices

peuvent être expliquées en fonction du type de ces dernières (feuille, racine, fruit...). En fonction du type, les commodités ne sont pas exposées de la même manière aux pulvérisations des produits phytopharmaceutiques.

2. RELATIONS ENTRE LES FACTEURS DE TRANSFORMATION, CERTAINES PROPRIETES DES PESTICIDES ET LE TYPE DE MATRICES

Après avoir passé en revue quelques comportements de certains résidus de pesticides suite aux transformations, plusieurs approches ont été tentées pour essayer de voir si une ou plusieurs relations existaient entre les PFs et différentes propriétés physico-chimiques des pesticides entrant en jeu. Ceci permettrait soit de réaliser un modèle prédisant le PF de chaque résidu de pesticide, soit d'établir les points influençant le plus les PFs qu'il faudrait tenir à l'œil lors de l'établissement de normes ou de plans de pulvérisations.

A. COMPARAISON ENTRE VARIETES ET ENTRE MATRICES

Des tests ANOVA (analyse de variances) ont été réalisés pour déterminer si, pour une transformation donnée, la variété et/ou la matrice avait une influence (Tableau 45). Cette approche statistique vise à comparer les moyennes sur plusieurs échantillons [Achim, 2004].

Tableau 45 : Tests d'analyse de variance (ANOVA) entre les PFs pour cinq transformations et les matrices d'une part, et les variétés d'autre part. Les résultats significatifs sont soulignés ($p < 0,05$).

Transformation	Différence entre matrices	Différence entre variétés
Lavage	<u>$p < 0,001$</u>	<u>$p = 0,030$</u>
Epluchage	<u>$p < 0,001$</u>	$p = 0,54$
Blanchiment	<u>$p = 0,017$</u>	<u>$p = 0,025$</u>
Cuisson aux micro-ondes	<u>$p < 0,001$</u>	$p = 0,18$
Stérilisation	<u>$p < 0,001$</u>	$p = 0,18$

Pour les cinq transformations, les différences entre matrices étaient significatives, ce qui confirme ce qui a été observé dans la section précédente : la matrice a une influence sur le comportement des résidus de pesticides suite aux transformations ! De plus, lors du lavage et du blanchiment, une différence entre variétés s'est aussi révélée significative. Par conséquent, un test de Student pairé a été réalisé pour identifier pour quelles matrices cette différence avait lieu. Une différence significative entre les variétés est observée pour les céleris lors du lavage ($p=0,019$) et du blanchiment ($p=0,001$) et pour les épinards ($p=0,019$) lors du lavage.

La Figure 39 permet d'avoir un aperçu de la tendance à la différence entre les variétés pour les PFs de certaines combinaisons pesticide-transformation. Dans cette Figure 39, chaque substance active est étudiée indépendamment des autres contrairement aux tests ANOVA.

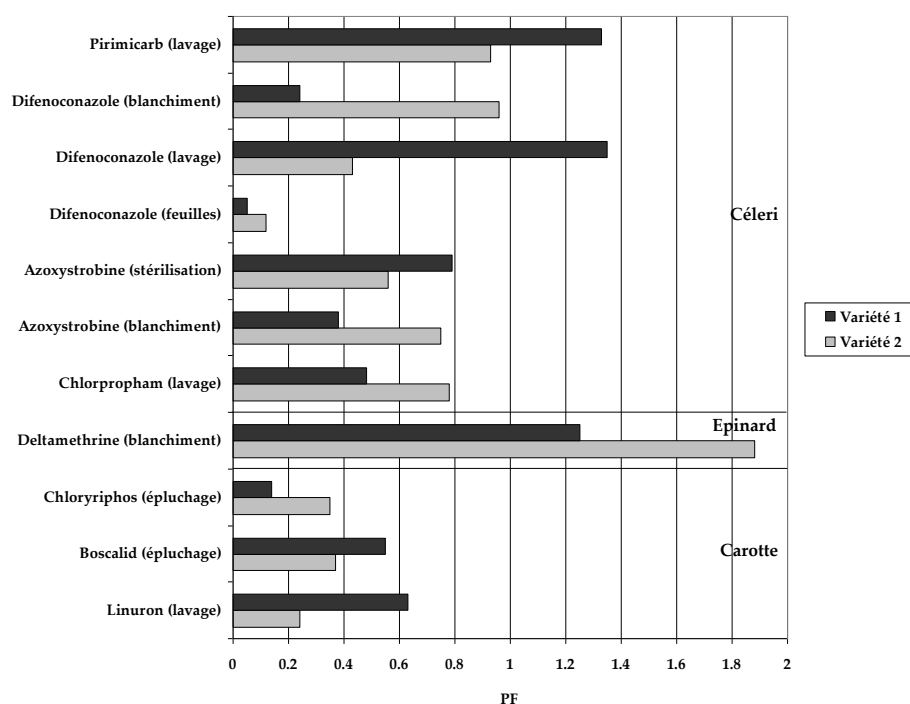


Fig.39 : Différence (non statistique) marquée de PFs des deux variétés différentes pour certains pesticides de notre étude.

Dans le cadre des tests ANOVA, on cherche à savoir si les différences des moyennes de la variable réponse entre les niveaux d'un facteur pris en compte dans le modèle sont significatives ou non. Plus ces niveaux sont nombreux, plus il faut faire de tests pour répondre à cette question, et plus le risque de conclure à tort à la significativité des différences est grand. Pour se prémunir contre l'augmentation du risque de première espèce dans les tests multiples, la méthode de Bonferroni est utilisée. Elle consiste à majorer le risque réel pour l'ensemble des tests par le niveau de test choisi (en général 5%), en divisant pour cela le niveau de chacun des tests effectués par le nombre total de tests [Baccini, 2010]. C'est ainsi que lorsque des différences entre matrices ont été mises en évidence, des tests post-hoc de Bonferroni ont été effectués (Tableau 46). Les matrices ont ainsi été comparées deux à deux avec deux légumes racines (carottes-céleris), un légume feuille et un légume racine (carottes-épinards et céleris-épinards) et un légume racine et un légume fruit (carottes-melons).

Tableau 46 : Tests de Bonferroni effectués lorsque les résultats des tests ANOVA étaient significatifs pour déterminer entre quelles matrices les différences étaient significatives. Les résultats significatifs sont soulignés ($p < 0,05$).

Transformation	Carottes - Céleris	Carottes - Epinards	Céleris - Epinards	Carottes - Melons
Lavage	<u>$p < 0,001$</u>	<u>$p = 0,006$</u>	$p = 0,168$	pas d'application
Epluchage	pas d'application	pas d'application	pas d'application	<u>$p < 0,001$</u>
Blanchiment	$p = 1$	<u>$p = 0,045$</u>	<u>$p = 0,043$</u>	pas d'application
Cuisson aux micro-ondes	$p = 0,082$	<u>$p < 0,001$</u>	<u>$p < 0,001$</u>	pas d'application
Stérilisation	$p = 0,38$	<u>$p < 0,001$</u>	<u>$p = 0,006$</u>	pas d'application

Les tests post-hoc ont été réalisés pour savoir si les résidus diminuaient de la même manière ou pas suivant la matrice. Comme attendu étant donné la différence biologique entre les matrices, les tests de Bonferroni mettent en

évidence plusieurs différences entre matrices. En effet, lors du lavage une différence significative entre les PFs est observée pour la comparaison carottes-céleris et carottes-épinards (Tableau 46). Par contre, pour les autres transformations qui ont eu lieu sur ces trois matrices, une différence significative entre matrices est observée pour les couples carottes-épinards et céleris-épinards (Tableau 46).

Pour l'épluchage, seules deux matrices ont été épluchées et une différence a été mise en évidence pour cette combinaison, à savoir carottes-melons (Tableau 46).

A l'exception du cas du lavage, il n'y a pas de différence entre les deux légumes racines: carottes et céleris. Les céleris verts sont en réalité classés comme des légumes branches mais lors de la pulvérisation, comme pour les carottes, ce sont les feuilles qui sont exposées et nettement moins consommées. Par conséquent, pour faciliter la classification, ils sont regroupés dans les légumes racines avec les carottes. Mais par contre, une différence est observée si nous comparons un légume racine (carottes ou céleris) et un légume feuille (épinards) ou un légume racine (carottes) et un légume fruit (melons).

Des tests de corrélation de Pearson (paramétrique) et de Spearman (non paramétrique) ont été réalisés afin d'évaluer les éventuels liens existant entre les PFs, les propriétés physico-chimiques et le nombre d'applications (Tableau 47).

Tableau 47 : Valeurs de coefficient de corrélation (R) obtenus par les tests de Pearson et par les tests de Spearman pour les variables de stabilité à l'hydrolyse et de photostabilité (colonnes grisées). Les coefficients de corrélation supérieurs à 0,7 sont en gras.

Transformation	Solubilité	log Kow	Nombre d'applications	Stabilité à l'hydrolyse	Photostabilité
Lavage	0,190	-0,095	0,121	-0,327	-0,392
Epluchage	0,697	0,356	-0,529	-0,452	0,008
Blanchiment	-0,319	-0,216	0,052	0,330	-0,268
Micro-ondes	-0,106	-0,009	0,174	0,521	0,553
Stérilisation	-0,040	0,183	-0,300	0,762	0,732

Ces coefficients de corrélation ont été calculés systématiquement dans une optique de généralisation. Toutefois, à l'exception des deux combinaisons « stabilité à l'hydrolyse - stérilisation ($R=0,711$; $p=0,000$) » et « photostabilité - stérilisation ($R=0,732$; $p=0,000$) » représentées sur la Figure 40, nous ne pouvons tirer de conclusions générales ou génériques. En effet, ces combinaisons possèdent des coefficients de corrélation (R) supérieurs à 0,7 et par conséquent un coefficient de détermination (R^2) supérieur à 0,49. Ceci signifie que pour ces deux combinaisons, au moins 50% des modifications d'une des variables sont expliquées par la modification de l'autre variable. Pour ces combinaisons, les graphiques en échelle logarithmique permettent de visualiser les points légèrement dispersés autour d'une courbe ascendante (Fig.40A et 40B) contrairement à ceux observés pour la combinaison « solubilité – lavage ($R=0,190$; $p = 0,296$) » (Fig.40C). Ces courbes ascendantes indiquent que plus le pesticide a une stabilité à l'hydrolyse ou une photostabilité élevée, plus le PF sera grand et par conséquent, les résidus de ce pesticide peu éliminés lors de la stérilisation. Les deux seules corrélations significatives concernent la stabilité à l'hydrolyse et la photostabilité en combinaison avec la stérilisation. Ceci peut sans doute être expliqué par la chaleur plus importante appliquée lors de ce processus que lors du blanchiment et de la cuisson au micro-ondes.

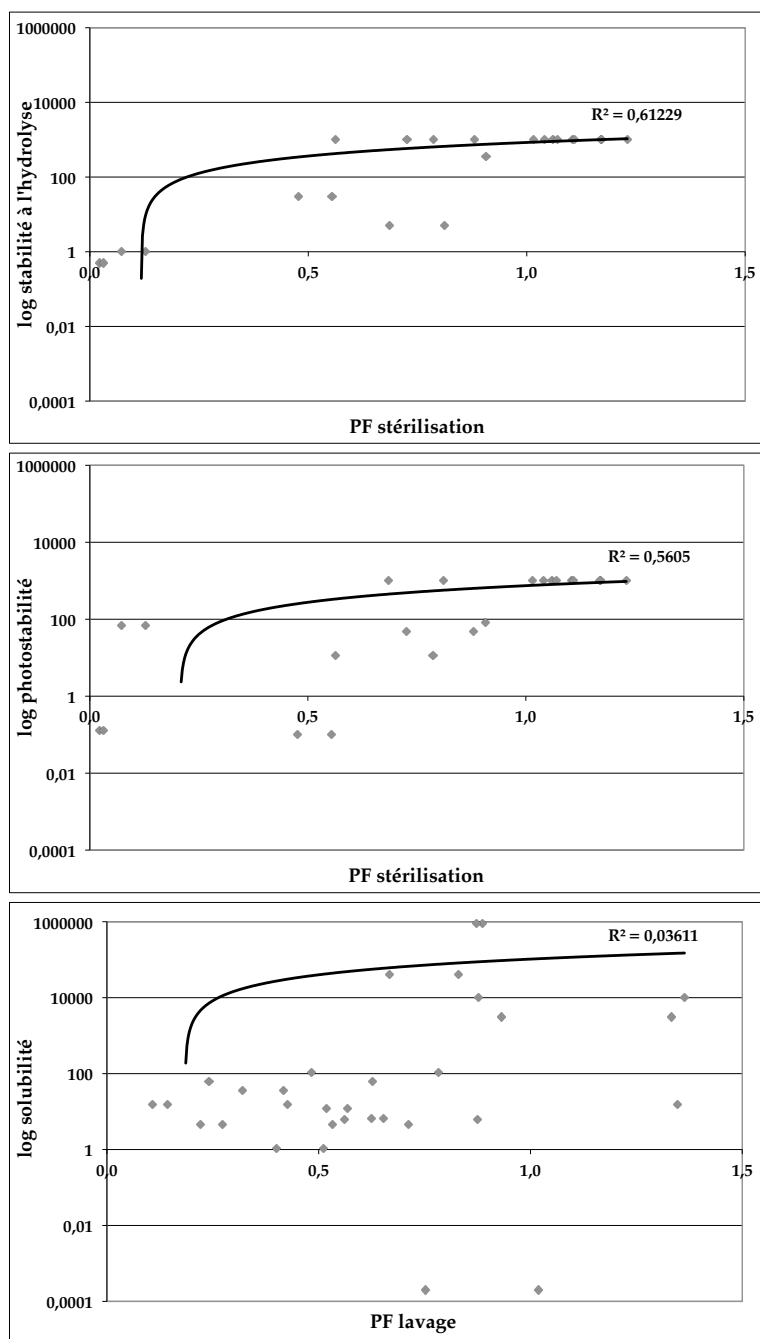


Fig.40 : Régression linéaire en échelle logarithmique pour trois corrélations : (A) stérilisation – stabilité à l'hydrolyse, (B) stérilisation – photostabilité, (C) lavage – solubilité.

Aucune corrélation entre les doses appliquées et les concentrations retrouvées n'a pu être mise en évidence lorsque l'ensemble des matrices est considéré en bloc ($R=0,119$; $p=0,224$). Nous avons ensuite voulu savoir comment évoluait cette relation en fonction du type de matrice. Des différences ont été mises en évidence entre les matrices. Pour les melons, une corrélation forte entre les concentrations appliquées et retrouvées est observée ($R=0,979$; $p<0,001$). En effet, 95% des concentrations retrouvées dans les melons sont en relation directe avec les doses appliquées. Par contre, pour les céleris aucune corrélation n'a été mise en évidence ($R=-0,262$; $p=0,187$), tout comme pour les épinards ($R=-0,057$; $p=0,793$) et les carottes ($R=-0,206$; $p=0,312$). Cette différence pour les melons peut sans doute être expliquée par leur croissance en serre contrairement aux autres cultures qui ont été exposées aux intempéries (Fig.29, Fig.33, Fig.36 dans le Chapitre 4). La pluie a donc pu « laver » certains pesticides suivant les propriétés physico-chimiques de chacun et ainsi affecter la cohérence qu'il pourrait y avoir entre les concentrations appliquées et retrouvées. Ces observations accentuent l'intérêt d'ouvrir la recherche vers une meilleure compréhension du devenir des pesticides aux champs, et notamment vers une possible limitation des quantités résiduelles observées via l'adoption des pratiques agricoles spécifiques.

B. ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES

L'Analyse en Composantes principales (ACP) fait partie du groupe des méthodes descriptives multidimensionnelles appelées méthodes factorielles. L'ACP propose, à partir d'un tableau rectangulaire de données comportant les valeurs de p variables quantitatives pour n unités, des représentations géométriques de ces unités et de ces variables. Les représentations des unités permettent de voir s'il existe une structure, non connue *a priori*, sur cet ensemble d'unités [Duby, 2006].

Une ACP n'a pas permis d'obtenir des résultats significatifs à cause du nombre de données insuffisantes obtenues (PFs) lors de cette thèse. Ce tableau aurait pu être étoffé avec tous les résultats retrouvés dans la

littérature mais beaucoup de données telles que les moments d'application ne sont pas renseignées. Or au vu des résultats, celles-ci jouent un rôle crucial sur le comportement des résidus de pesticides.

C. FACTEURS DE TRANSFORMATION OBTENUS DANS NOTRE ETUDE ET PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES

En portant en graphe les PFs en fonction de la solubilité, du coefficient de partage octanol-eau, du mode d'action ou du nombre de jours avant la récolte (moment d'application), nous espérons mettre en évidence les principaux facteurs de variations des PFs. Pour illustrer cette démarche, la Figure 41 reprend deux des combinaisons (PF - solubilité et PF - log Kow). En ce qui concerne l'épluchage, les pesticides ayant une solubilité comprise entre 15 et 4100 mg/L sont extrêmement bien éliminés des melons (Fig.41), ce qui n'est pas le cas pour les carottes. Dans le cas des carottes, une courbe de régression linéaire peut être tracée pour les PFs en fonction de la solubilité ainsi que pour les PFs en fonction du coefficient de partage octanol-eau. Dans le premier cas, cette droite est ascendante tandis que dans le second, elle est descendante. Les coefficients de détermination (R^2) sont de 0.68, traduisant une corrélation significative entre ces deux variables et les PFs. Pour les melons, la corrélation entre les PFs et la solubilité est polynomiale (degré 2) tandis que celle entre les PFs et le coefficient de partage octanol-eau est linéaire descendante mais avec un coefficient de détermination si faible que la corrélation n'est pas significative. Cependant, la tendance générale est que la diminution est plus importante pour les melons que pour les carottes, ce qui peut être expliqué par l'épicarpe épais des melons contrairement à celui des carottes.

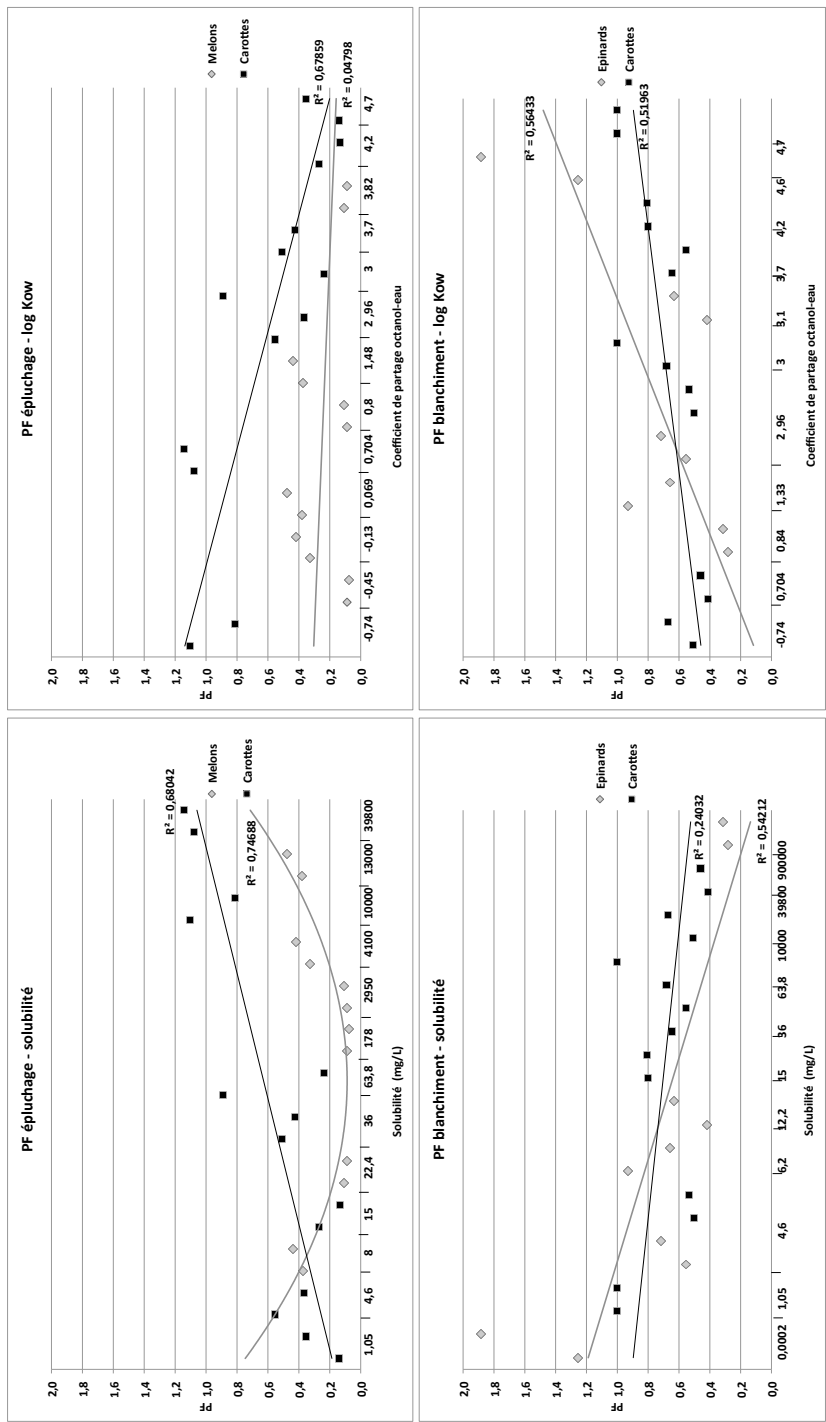


Fig.41 : PFs pour l'épluchage des melons et des carottes, ainsi que pour le blanchiment des carottes et des épinards, en fonction de la solubilité et du coefficient de partage

Pour le blanchiment, aucune différence marquée en fonction de la solubilité, ou en fonction du coefficient de partage octanol-eau n'est observée (Fig.41). Lors de la comparaison des PFs avec la solubilité, des courbes de tendance linéaires descendantes peuvent être tracées pour les épinards et les carottes, mais seule celle des épinards a un coefficient de détermination significatif. En effet, 50% des modifications des PFs peuvent être expliquées par la solubilité. Les deux courbes de tendance linéaires pour les PFs du blanchiment des épinards et des carottes avec les coefficients de partage octanol-eau sont ascendantes et les coefficients de détermination sont significatifs.

D. LES FACTEURS DE TRANSFORMATION ET LES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES PEUVENT-ILS CONDUIRE À UN MODELE ?

En portant les PFs obtenus lors de notre étude et ceux retrouvés dans la littérature pour les pesticides d'intérêt en fonction de différents critères, nous voulions voir s'il existe une tendance qui nous permette d'extrapoler le devenir des résidus de pesticides suite à certaines transformations.

Une première tentative a été de voir si, au sein d'une même famille de pesticides, une tendance émergeait. Poulsen *et al.* ont constaté que les organophosphorés, les pyréthroïdes et les triazoles n'étaient pas affectés par le lavage contrairement aux dithiocarbamates et à l'iprodione [Poulsen *et al.*, 2007]. Cette observation a pu être vérifiée avec cette première approche mais au sein de certaines familles, la tendance dépendait de la substance active. Par conséquent, cette approche n'a pas conduit à une généralisation car pour aucune des transformations, une diminution du même ordre pour tous les pesticides d'une même famille n'avait lieu.

La deuxième approche a été de former des classes de pesticides pour chaque transformation en fonction de la stabilité chimique (temps de dégradation : DT50 à l'hydrolyse) et de l'hydrophobicité. Les pesticides ont été répartis en six classes :

- I. Très persistant et hydrophobe : DT50 à l'hydrolyse = stable + $\log K_{ow} > 2,5$
- II. Très persistant et intermédiaire : DT50 à l'hydrolyse = stable + $-5 \leq \log K_{ow} \leq 2,5$
- III. Persistant et hydrophobe : $1500 \text{ jours} \leq \text{DT50 à l'hydrolyse} \leq 365 \text{ jours} + \log K_{ow} > 2,5$
- IV. Persistant et intermédiaire : $1500 \leq \text{DT50 à l'hydrolyse} \leq 365 + -5 \leq \log K_{ow} \leq 2,5$
- V. Peu persistant et hydrophobe : DT50 à l'hydrolyse $\leq 72 \text{ jours} + \log K_{ow} > 2,5$
- VI. Peu persistant et intermédiaire : DT50 à l'hydrolyse $\leq 72 \text{ jours} + -5 \leq \log K_{ow} \leq 2,5$

Pour classer les pesticides en fonction de leur hydrophobicité, nous avons suivi les critères établis par Satchivi, à savoir qu'un composé hydrophobe a un coefficient de partage octanol-eau supérieur à 2,5 alors que pour un composé intermédiaire ce coefficient est compris entre -5 et 2,5, et pour un composé hydrophile, il est inférieur à -5 [Satchivi *et al.*, 2001].

Dans la Figure 42, les PFs pour l'épluchage, le lavage, le blanchiment et la stérilisation ont été portés en graphique en fonction de leur stabilité chimique et de leur hydrophobicité. La cuisson au micro-ondes n'a pas été représentée étant donné que dans ce cas, nous avons observé que les résidus de pesticides étaient rarement éliminés. En effet, dans notre étude, la cuisson au micro-ondes portait sur des aliments déjà blanchis qu'il suffisait de réchauffer sans ajouter d'eau. Lors de l'épluchage, nous pouvons observer que pour les pesticides hydrophobes (I, III et V), la diminution est en général plus importante contrairement à l'observation faite pour le lavage. Elle peut être expliquée par la forte affinité de ces pesticides pour la cuticule cireuse des feuilles. Si ces pesticides sont appliqués lorsque les fruits ou légumes sont déjà développés, ils auront une très forte affinité pour l'épicarpe dans

lequel ils resteront ancrés. À part cette observation, pour les quatre transformations, aucune classe ne se distingue vraiment des autres par une très forte diminution mais par contre la tendance générale est une perte d'au moins 20%.

Toutefois, quelques précisions sont requises pour expliquer certaines barres d'erreur assez importantes. Pour l'épluchage, les plus importantes déviations observées pour l'imazalil, l'iprodione, le thiamethoxam, le diméthoate et le tebuconazole peuvent être expliquées par les différents types de matrice. Pour l'imazalil, le seul PF sortant du lot est de 0.5 pour les bananes. Les autres concernent les agrumes qui n'ont pas la même composition de peau que les bananes ce qui peut sans doute expliquer cette différence. Cette tendance est également observée pour le tebuconazole. Pour le thiamethoxam, la déviation est due aux PFs en ce qui concerne les pommes de terre. Aucune diminution n'a été observée, étant donné le caractère systémique du thiamethoxam (Marque-page) : il se retrouve plus facilement dans la chair de cette matrice via les plants que dans les melons, qui possèdent, quant à eux, un épicarpe épais. Cette justification est la même pour la différence observée pour le diméthoate entre les carottes et les oranges ou les mangues.

Il en va de même lors du lavage pour la λ -cyhalothrine. Effectivement, une grande déviation est observée et cette dernière peut être expliquée par les différences entre les commodités. Les résidus sont bien éliminés des poivrons mais pas des pommes, ce qui peut *à priori* être expliqué par la couche cireuse présente sur ces dernières et qui empêche l'élimination des résidus. Cette même différence est observée entre les pommes et carottes pour le difenoconazole.

La seule conclusion que l'on puisse tirer de cette approche, c'est qu'en général un pesticide possédant une forte hydrophobicité sera stable à l'hydrolyse.

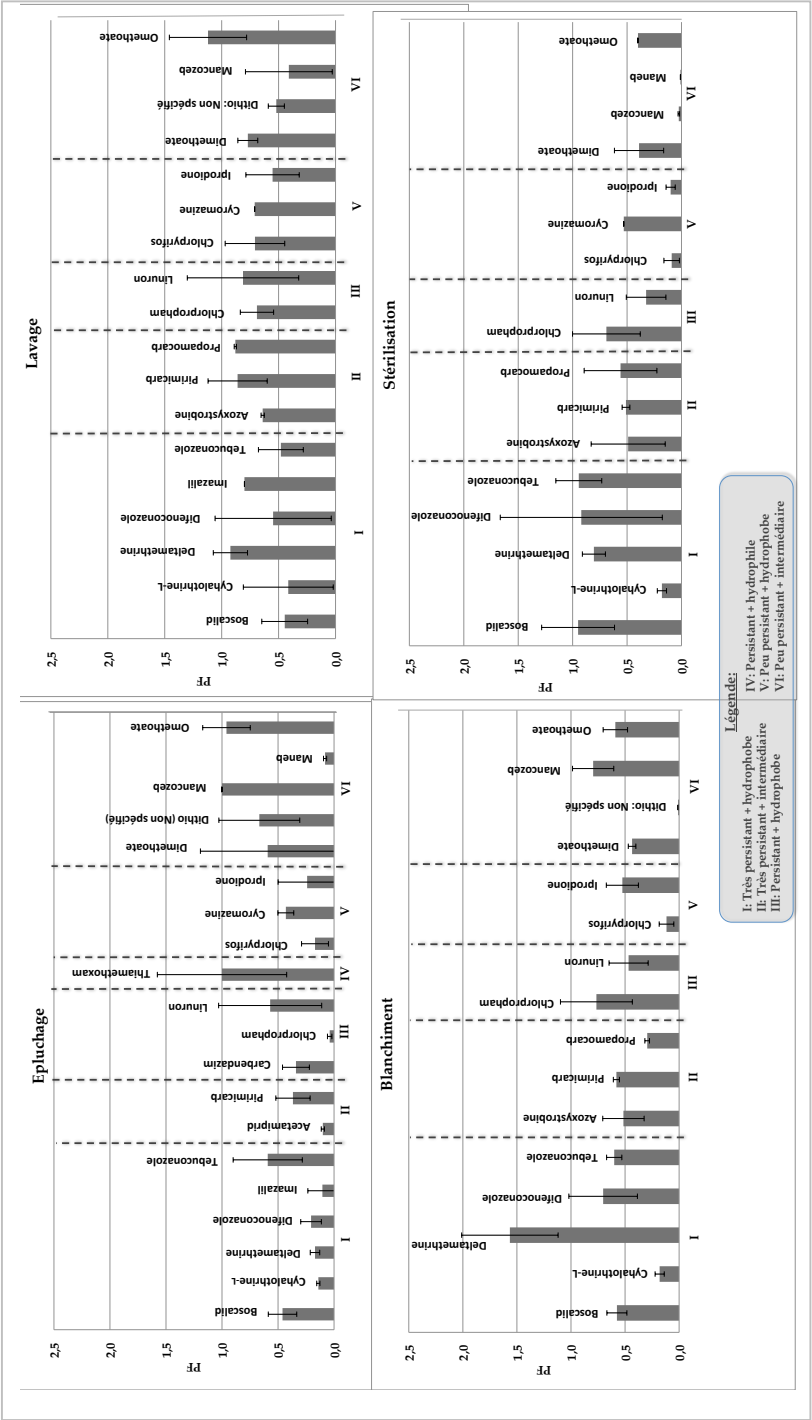


Fig.42 : Comparaison des PFs en fonction de la stabilité chimique à l'hydrolyse et de l'hydrophobicité des différents pesticides pour l'épluchage, le lavage, le blanchiment et la stérilisation. Compilation des PFs de notre étude ainsi que ceux de la littérature (cf Annexe I)

Ces résultats peu concluants mettent en évidence plusieurs relations mais ne permettent pas d'envisager un modèle général. Trois autres approches ont été mises en œuvre. L'une tenait compte de la stabilité à l'hydrolyse (très persistant, persistant ou peu persistant), l'autre tenait compte de l'hydrophobicité et la dernière tenait compte du moment de la dernière application mais aucun lien marquant entre les PFs et ces propriétés ne fut découvert.

Pour finir, la deuxième approche (cf p185), celle qui tenait compte de la stabilité chimique et de l'hydrophobicité a été révisée. En effet, ce travail a montré d'importantes différences de comportement suivant le type de matrice. Par conséquent, vouloir porter les PFs, toutes matrices confondues, en fonction de ces catégories peut être une des causes qui empêcherait de faire ressortir une tendance générale. Cette dernière tentative va donc reprendre les données compilées des PFs de notre étude ainsi que celles de la littérature (Annexe I), par type de matrice uniquement, en fonction des catégories I à VI (cf p185).

La Figure 43 représente la situation pour le lavage.

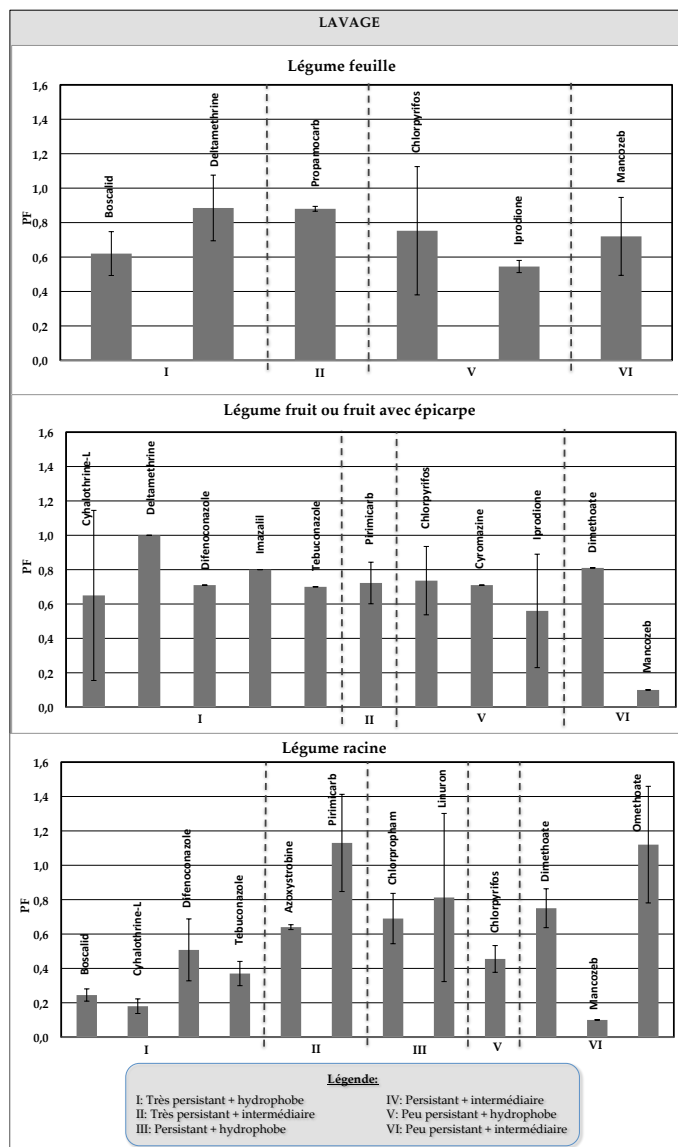


Fig.43 : Lavage ; Comparaison des PFs en fonction de la stabilité chimique à l'hydrolyse et de l'hydrophobicité des différents pesticides pour les légumes feuilles, les légumes fruits ou les fruits avec épicarpe et des légumes racines. Compilation des PFs de notre étude ainsi que ceux de la littérature [Balinova et al., 2006; BfR, 2009; Burchat et al., 1998; Chavarri et al., 2005; DAR: Deutschland, 2007; FAO Plant Production and Protection Paper, 1995, 1998, 2007, 2009; Kaushik et al., 2009; Kong et al., 2012; Lee & Jung, 2009; Lentza-Rizos & Balokas, 2001; Ling et al., 2011; Rasmussen et al., 2003; Timme & Walz-Tylla, 2004; Zhang et al., 2006].

Pour les légumes feuilles et les légumes fruits, la diminution observée pour les résidus de pesticides est de maximum 40% (exception mancozeb dans les légumes fruits). Pour les légumes racines, les résidus de pesticides de la classe I et V sont éliminés de minimum 50%. Ce sont tous des pesticides hydrophobes et leur coefficient de partage octanol-eau leur confère une forte affinité pour la cuticule, couche cireuse des feuilles. Par conséquent, une moins bonne diminution est observée pour les légumes feuilles et fruits, commodités sur lesquelles ces pesticides vont s'ancrer tandis que pour les légumes racines, ce sont les feuilles qui sont directement exposées. Les résidus retrouvés sur les racines proviennent de la dérive et donc du contact via le sol et non via la pulvérisation en elle-même. Pour les légumes fruits et feuilles, la différence observée entre le dimethoate et le maneb faisant partie de la catégorie VI peut sans doute être expliquée par la différence de mode d'action. En effet, le dimethoate est un pesticide systémique qui a eu l'occasion de se transloquer dans les plantes alors que le mancozeb est un pesticide de contact.

La Figure 44 compare les PFs en fonction de la stabilité chimique à l'hydrolyse et de l'hydrophobicité des différents pesticides pour l'épluchage des légumes fruits ou des fruits avec épicarpe et des légumes racines. Pour les légumes fruits, les pesticides très persistants et hydrophobes (Classe I) sont éliminés d'environ 90%. Le seul qui ne suit pas cette règle est le tebuconazole mais sa barre d'erreur est relativement importante à cause de la différence de PFs entre les bananes et les oranges. Cette différence peut être expliquée par la différence de composition de l'épicarpe mais également par le moment d'application qui dans ce cas reste une inconnue. Les résidus de pesticides dans les classes II à V sont éliminés de 60 à 90% alors que la dernière classe est partagée ! Pour celle-ci, une forte diminution (90%) est observée pour le dimethoate et le maneb ; par contre, on observe peu (ou pas) de réduction pour les deux autres dithiocarbamates. Les différences observées entre ces cinq pesticides doivent être dues à la composition différente d'épicarpes des matrices (melon, orange, mangue, banane, tomate, pomme) ainsi qu'au moment d'application pour lequel nous n'avons pas d'indication dans les différentes études. Ce genre d'approche nécessiterait

d'être confirmée par une étude complémentaire incluant les données précises d'application.

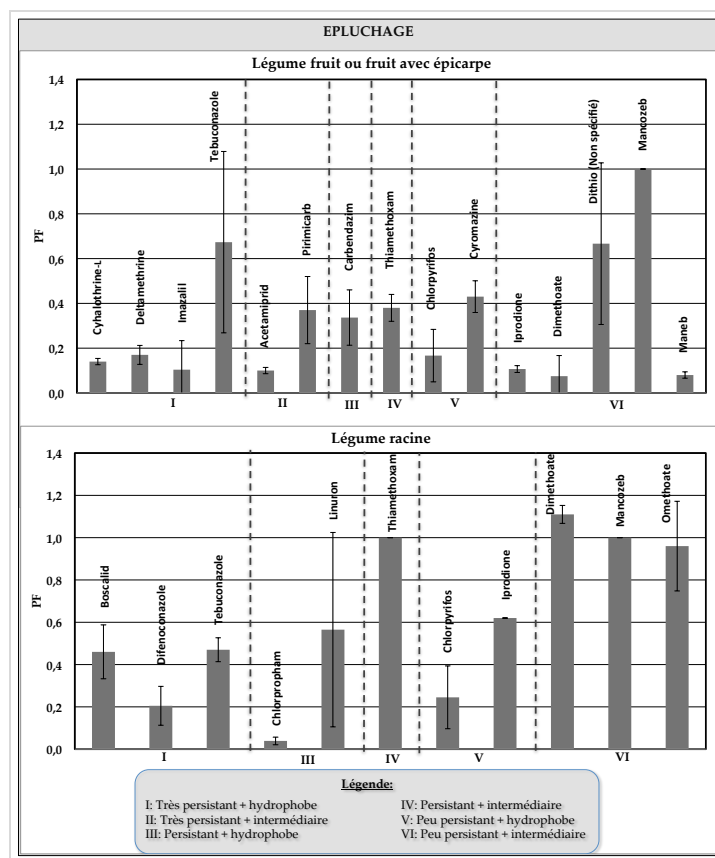


Fig.44 : Epluchage ; Comparaison des PFs en fonction de la stabilité chimique à l'hydrolyse et de l'hydrophobicité des différents pesticides pour les légumes fruits ou les fruits avec épicarpe et les légumes racines. Compilation des PFs de notre étude ainsi que ceux de la littérature [BfR, 2009; Burchat et al., 1998; Chavarri et al., 2005; DAR: Spanien, 2006; FAO Plant Production and Protection Paper, 1995, 1998, 2005, 2009; Kaushik et al., 2009; Kong et al., 2012; Rasmussen et al., 2003; Timme & Walz-Tylla, 2004; FAO Plant Production and Protection Paper, 2001]

Pour les légumes racines (Fig.44), à part le chlorpropham qui est persistant et hydrophobe (III) et qui est éliminé pour plus de 90%, les autres résidus de pesticides sont nettement moins bien réduits que pour les légumes fruits. Cette réduction importante pour le chlorpropham peut être expliquée par son application post-récolte sur les pommes de terre contrairement au

linuron, faisant partie de la même catégorie, qui a été appliqué à un stade précoce du développement des plants de carottes. Avec son caractère systémique, ce dernier a pu se propager dans la chair des carottes et être moins bien éliminé lors de l'épluchage. La diminution observée est de l'ordre de 50% sauf pour les pesticides de la classe IV et VI c'est-à-dire tous les pesticides avec un coefficient de partage octanol-eau intermédiaire. Par conséquent ces pesticides ont eu l'occasion de traverser la cuticule et de se retrouver à l'intérieur de la feuille.

Les différences importantes entre matrices sont observées pour le diméthoate et le thiaméthoxam. Ces deux résidus sont éliminés d'environ 90% des légumes fruits et absolument pas des légumes racines. Cette différence peut-être expliquée par la différence d'exposition de ces commodités. Ces deux pesticides systémiques sont également des composés intermédiaires ($-5 \leq \log K_{ow} \leq 2,5$), ces deux propriétés leur confèrent la capacité de passer à l'intérieur des feuilles et se retrouver dans le phloème et donc dans la chair. La différence de composition entre les épicarpes et les feuilles permet sans doute d'avoir une meilleure protection des fruits, ce qui n'a pas lieu pour les légumes racines.

Pour le blanchiment, les deux types de matrices ne sont représentés que par deux commodités (Fig.45). Par conséquent, il est délicat d'essayer de généraliser la situation. Cependant, à part pour la deltaméthrine, 50% des résidus sont éliminés des légumes feuilles et un peu moins pour les légumes fruits. Dans les deux cas, nous aurions pu penser que les pesticides peu stables à l'hydrolyse (classe V et VI) auraient été plus affectés que les autres lors du blanchiment mais ce n'est point le cas. Dans le cas des légumes feuilles, la différence plus importante observée au sein de la catégorie I entre le boscalid et la deltaméthrine peut être expliquée par le délai tardif de l'ultime application de la deltaméthrine. Pour les légumes fruits, cette même catégorie est également soumise à des différences. Dans ce cas, c'est sans doute le mode d'action qui permet de les expliquer. Le boscalid et la λ -cyhalothrine sont des pesticides de contact alors que le difenoconazole et le tebuconazole sont systémiques.

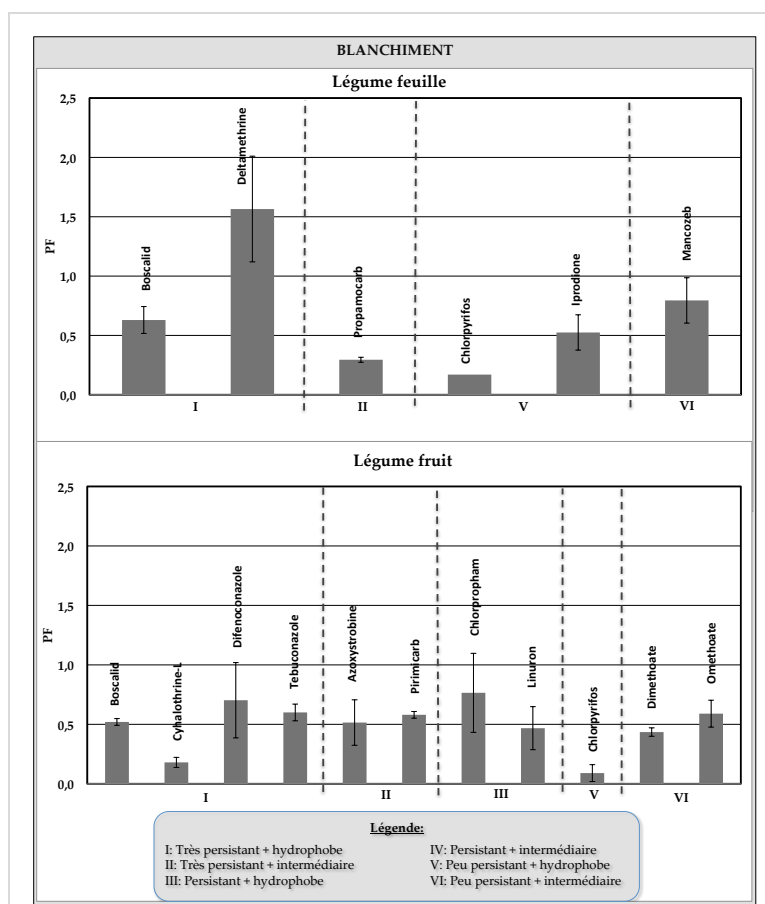


Fig.45 : Blanchiment ; Comparaison des PFs en fonction de la stabilité chimique à l'hydrolyse et de l'hydrophobicité des différents pesticides pour les légumes feuilles et les légumes fruits. Compilation des PFs de notre étude ainsi que ceux de la littérature [Chavarri et al., 2005]

Dans le cas de la cuisson au micro-ondes, le graphe n'est pas représentatif étant donné que pour les légumes feuilles, il n'y a que les épinards et pour les légumes racines, les carottes et les céleris. De plus, en général nous n'observons pas de diminution de résidus lors de ce mode de cuisson.

Le dernier mode de cuisson pouvant être abordé est la stérilisation. Pour cette dernière, pour chaque type de matrice, uniquement deux commodités différentes ont été étudiées. La Figure 46 montre que pour les légumes feuilles, moins le pesticide est stable et hydrophobe, plus il est éliminé. Pour

les légumes fruits une diminution de minimum 30% est observée alors que pour les légumes racines, les résidus de pesticides faisant partie de la classe I ne sont en général pas affectés (exception : λ -cyhalothrine).

Cette approche montre qu'il manque certaines variables dont il faut tenir compte pour pouvoir expliquer les différences observées entre PFs au sein d'une même catégorie. Il est donc important non seulement de connaître les propriétés physico-chimiques de chaque pesticide mais également, les moments d'application et les conditions climatiques qui permettent d'expliquer les différences de transfert dans les plantes.

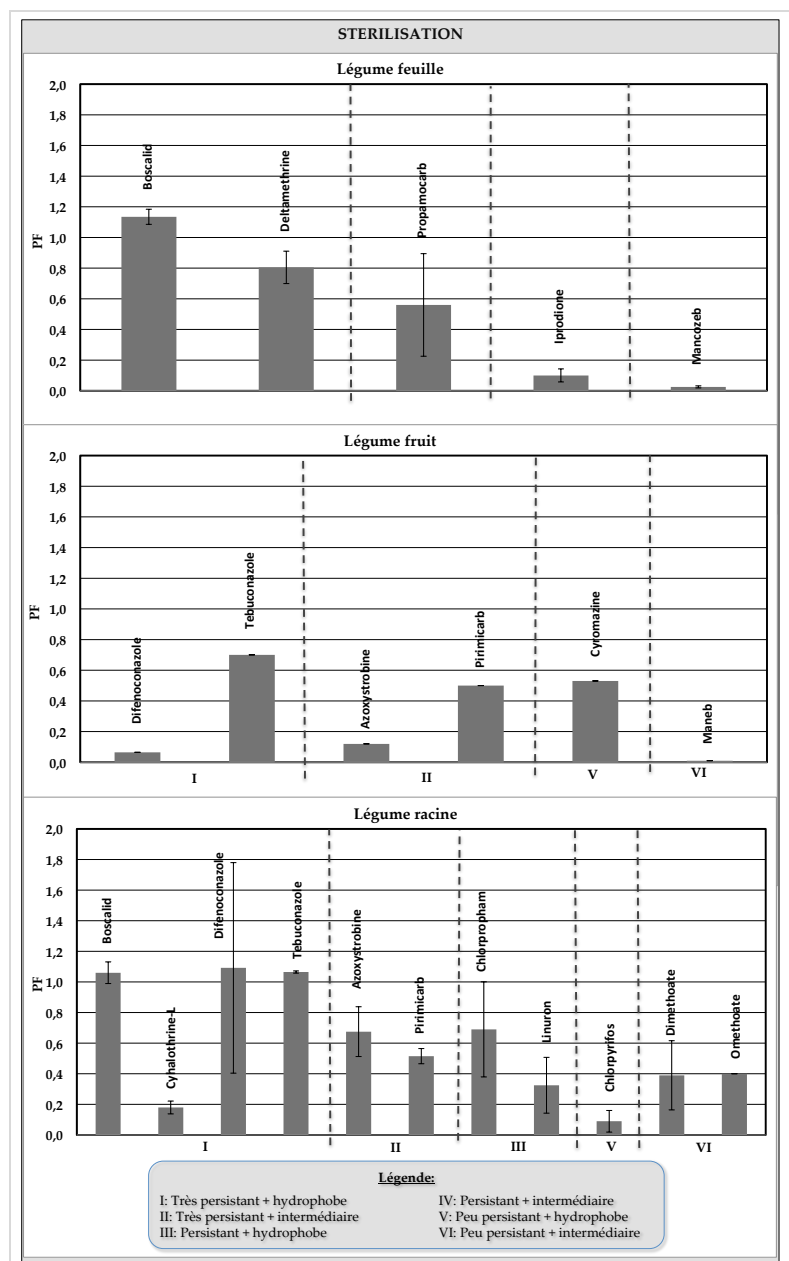


Fig.46 : Stérilisation ; Comparaison des PFs en fonction de la stabilité chimique à l'hydrolyse et de l'hydrophobicité des différents pesticides pour les légumes feuilles, les légumes fruits et les légumes racines. Compilation des PFs de notre étude ainsi que ceux de la littérature [BfR, 2009; DAR: Deutschland, 2007; FAO Plant Production and Protection Paper, 1995, 199, 2007, 2008, 2009; Kaushik et al., 2009; Kong et al., 2012]

Dans cette optique de séparation en différentes classes, il serait aussi envisageable de présenter par classe de pesticides (fongicide, herbicide, insecticide) un classement sur base des PFs. En imaginant trois classes de PFs (classe 1 : 1-0,8 ; classe 2 : 0,8-0,5 ; classe 3 : 0,5-0,1) et en regardant les PFs des insecticides, des fongicides et des herbicides de notre étude et de la littérature, quelques tendances ressortent. Avec cette nouvelle approche, nous pouvons nous rendre compte que 50% des insecticides se retrouvent après le lavage dans la première classe de PF et sont par conséquent peu éliminés. Ils sont par contre beaucoup plus affectés par l'épluchage et le blanchiment en se retrouvant respectivement à 75% et 100% dans la classe 3. Lors de la stérilisation, ils se retrouvent principalement dans la classe intermédiaire (67%). Les fongicides sont en général mieux éliminés que les insecticides. En effet, pour le lavage, l'épluchage et le blanchiment, ils sont majoritairement dans la dernière classe. Par contre, lors de la stérilisation, 50% des fongicides ne sont pas éliminés à plus de 20%. Les herbicides, quant à eux, n'ont été étudiés que lors du lavage et de la cuisson au micro-ondes. Dans le cas du lavage 75% des herbicides sont éliminés entre 20 et 50%. Comme expliqué auparavant, la cuisson au micro-ondes n'affecte aucune des classes de pesticides.

Etant donné le nombre limité de substances actives par catégorie, ces résultats ne peuvent pas être généralisables mais nous montrent cependant que les PFs varient énormément suivant le type de transformation et de commodité!

Si nous raisonnons en tenant compte du type de commodité, du pesticide et des propriétés physico-chimiques, nous arrivons à expliquer bon nombre de comportements des résidus de pesticides face aux transformations. Cependant ceci nécessite beaucoup d'informations qu'un modèle simplifié ne peut prendre en compte totalement.

3. EXPOSITION DU CONSOMMATEUR AUX RESIDUS DE PESTICIDES : EXEMPLE DE L'UTILISATION DES FACTEURS DE TRANSFORMATION

Comme expliqué dans l'introduction, les PFs permettent d'affiner l'évaluation du risque pour le consommateur. Voici quelques exemples qui permettent de se rendre compte du pourcentage de résidus réellement ingérés par rapport aux doses journalières autorisées.

Plusieurs études ont comparé des approches déterministes et probabilistes de manière à évaluer l'exposition des populations aux résidus de pesticides via les fruits et légumes [Claeys *et al.*, 2011; Poulsen *et al.*, 2007].

Vu les données de consommations à notre disposition, pour pouvoir évaluer la quantité réellement ingérée, une approche déterministe a été réalisée en prenant uniquement en compte nos résultats. Pour chaque substance active, l'ingestion réelle ($\text{mg}/\text{kg}_{\text{poids corporel}}\cdot\text{j}$) a été calculée. Celle-ci est le produit de la concentration du résidu (mg/kg) et de la consommation ($\text{g}/\text{kg}_{\text{poids corporel}}\cdot\text{j}$). Cette consommation est en réalité le quotient de la quantité de fruits ou de légumes consommée par jour par un individu et de sa masse corporelle (kg). En tenant compte de la DJA, un pourcentage de DJA peut-être calculé pour chaque combinaison matrice-pesticide et permet de se rendre compte si la marge est grande entre la valeur autorisée et la valeur réellement ingérée.

La Figure 47 représente ce pourcentage de DJA pour une femme et pour chaque commodité. Les calculs ont été faits en tenant compte de la consommation moyenne de fruits (189 g/j) et de légumes (233 g/j) et du poids moyen (64.7 kg) pour une femme car elles sont plus exposées que les hommes à ce type de consommation alimentaire.. En effet, ce sont de plus grandes consommatrices de fruits et légumes (156 g/j de fruits et 211 g/j de légumes pour les hommes) et ont une masse corporelle plus faible (77.9 kg pour les hommes). Ces données de consommation proviennent d'une étude de consommation qui a eu lieu en Belgique en 2004 avec la participation de 3200 consommateurs de plus de 15 ans. Ces moyennes de consommation sont pondérées et ajustées pour le jour de l'interview, la saison, le sexe et l'âge [Devriese *et al.*, 2004]. Les enfants ne sont pas pris en compte dans cette

estimation car aucune donnée les concernant ne se retrouve dans l'étude de consommation. Cependant, vu leur masse corporelle, ils sont plus exposés que les adultes et leur pourcentage de DJA est plus important. Sur la Figure 47, les PFS ont été représentés pour chaque transformation prise séparément et non pour les transformations successives, afin d'en illustrer l'intérêt.. Pour les quatre commodités qui ont été fortement traitées en résidus de pesticides, tout en respectant les BPAs, les pourcentages de DJA sont relativement faibles et diminuent nettement avec le lavage et l'épluchage. Ceci est observé pour les autres transformations qui permettent en général de réduire davantage ce pourcentage de DJA. Pour aucune des combinaisons commodités-pesticides étudiées, le pourcentage de DJA n'est critique.

Si nous calculons la somme des teneurs en résidus de pesticides pour chaque matrice, les épinards sont les plus contaminés avec 0.0330 mg/kg.j (Tableau 50, Annexe III).

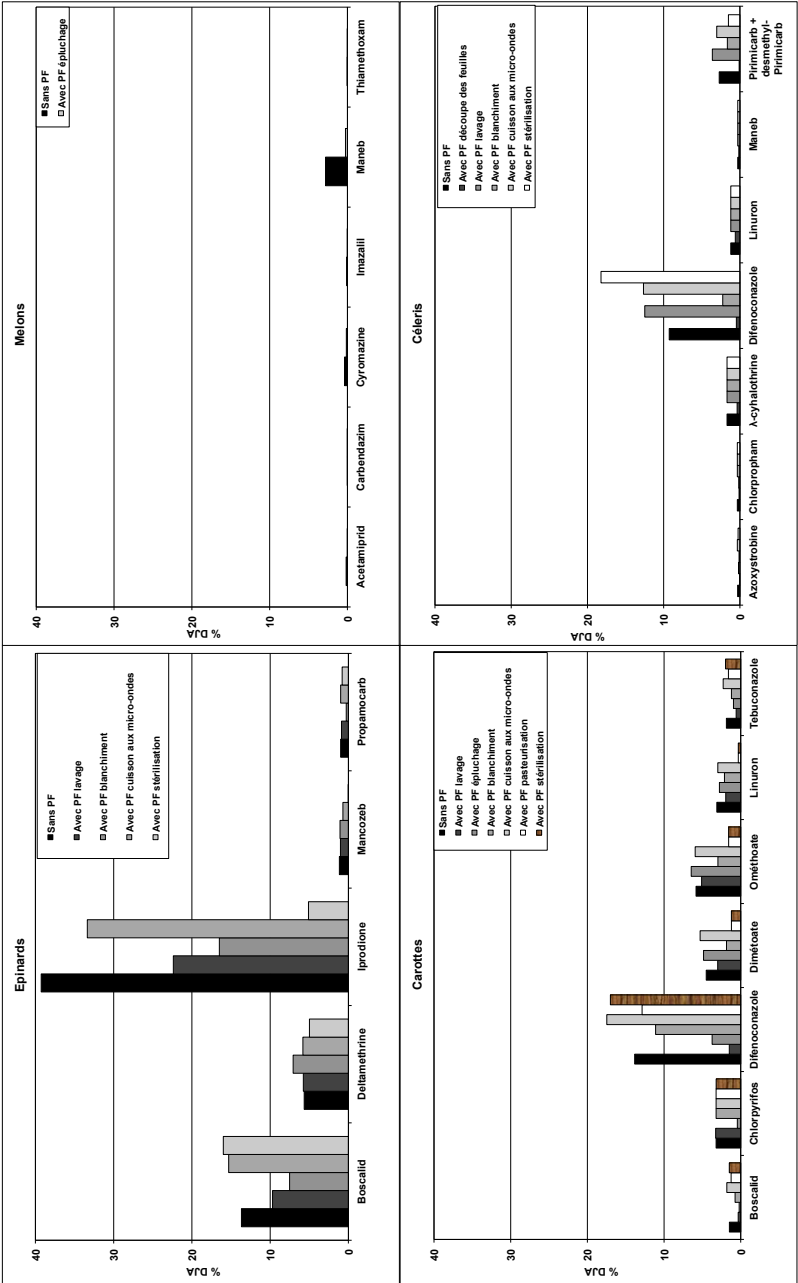


Fig.47 : Exposition des femmes (pourcentage de la DJA) lors de la consommation d'épinards, melons, carottes et céleris (données de la culture 1 de chaque commodité). Lorsque les résidus étaient non détectés, le PF a été calculé à l'aide de la LOQ/2. Les valeurs chiffrées se trouvent dans le Tableau 56 (Annexe III).
Remarque: Les PFs peuvent être calculés pour des transformations cumulées mais dans ces tableaux, les PFs représentés dans ces tableaux sont uniquement pour une seule transformation.

Lors de l'analyse des carottes, nous avons cependant pu constater que les fanes étaient la partie la plus contaminée. Les concentrations pour le boscalid, le difenoconazole, l'omethoate et le tebuconazole étaient assez élevées (jusqu'à 4 mg/kg). Dans ce cas particulier, les fanes de carottes pourraient poser un problème de santé publique lorsqu'elles sont utilisées pour faire de la soupe. Pour les céleris, les feuilles ne contenaient pas beaucoup de résidus mais la même problématique que les fanes pourrait se poser car de fortes disparités de contamination ont été observées sur les céleris (jusqu'à 14 mg/kg d'azoxystrobine pour les céleris bis). Pour rappel, les céleris bis sont d'autres céleris qui ont été cultivés un an plus tard par rapport au Golden Spartan et au Spartacus F1 pour vérifier l'hypothèse d'un manque d'homogénéisation lors de l'échantillonnage des feuilles de ces deux variétés. Les conditions climatiques ont clairement joué un rôle sur la quantité finale de résidus retrouvés. Une estimation de l'ingestion a été réalisée comme pour les quatre commodités mais en prenant uniquement en compte les fanes de carottes et les différentes feuilles de céleris. La Figure 48 représente le cadre d'un scénario peu courant étant donné que ces pourcentages d'ARfD sont établis pour une femme de 64.7 kg qui consommerait 233 g de fanes ou feuilles sur la journée. Cette fois-ci, ce n'est plus un pourcentage de DJA qui est calculé mais un pourcentage d'ARfD (basé sur une exposition d'une journée). En effet, manger 233g de fanes ou de feuilles de céleris chaque jour de notre existence semble irréaliste et par conséquent l'ARfD est plus adaptée que la DJA dans ce cas-ci. Comme pour l'exposition des femmes lors de la consommation de carottes, céleris, épinards et melons, aucun dépassement n'est observé (Fig. 48).

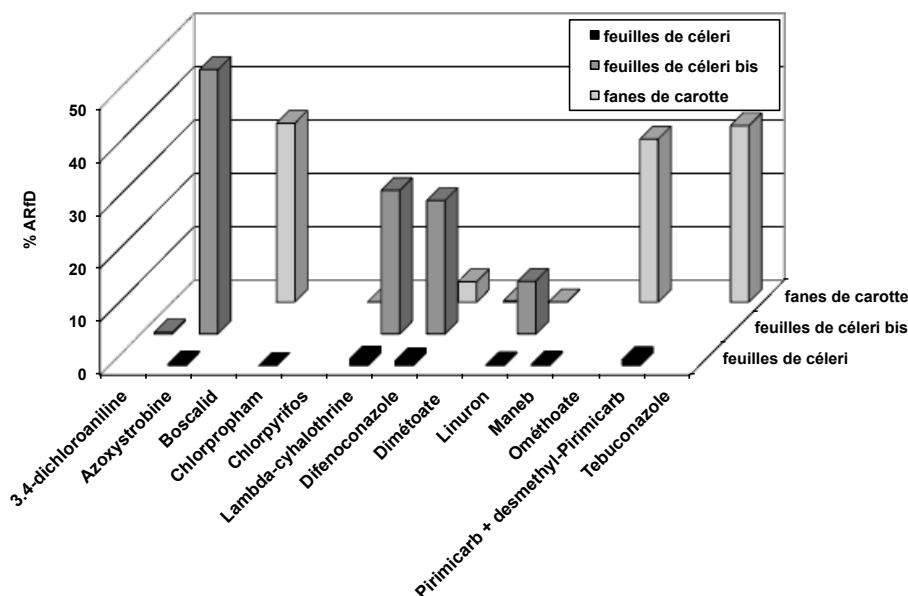


Fig.48 : Exposition des femmes (pourcentage d'ARfD) lors de la consommation de fanes de carottes et de feuilles de céleris. Lorsque les résidus étaient non détectés, le PF a été calculé à l'aide de la LOQ/2. Les feuilles de céleris bis sont issues d'une récolte différente (2011) que celle des autres feuilles de céleris (2010)

Notons cependant que si certaines pratiques alimentaires (soupe de fanes de carottes ou de feuilles de céleris,...) entraînent la consommation quotidienne de fanes de carottes ou de feuilles de céleris, l'ARfD doit être remplacée par la DJA. Dans ce cas très particulier, un dépassement de la DJA pourrait être observé comme c'est le cas pour les feuilles de céleris bis (Fig. 49). Ces céleris ont été cultivés dans d'autres conditions climatiques que les autres feuilles de céleris et présentent des concentrations de pesticides beaucoup plus élevées malgré le respect des BPAs. Ce cas poussé à l'extrême montre que les résultats sont très différents suivant l'origine des feuilles de céleris. Il serait par conséquent intéressant de recueillir plus de données sur les concentrations en résidus de pesticides retrouvées sur les feuilles de céleris. Il faut également noter que les approches réalisées dans ce chapitre sont des approches déterministes. A l'aide d'une approche probabiliste, les risques pourraient être affinés.

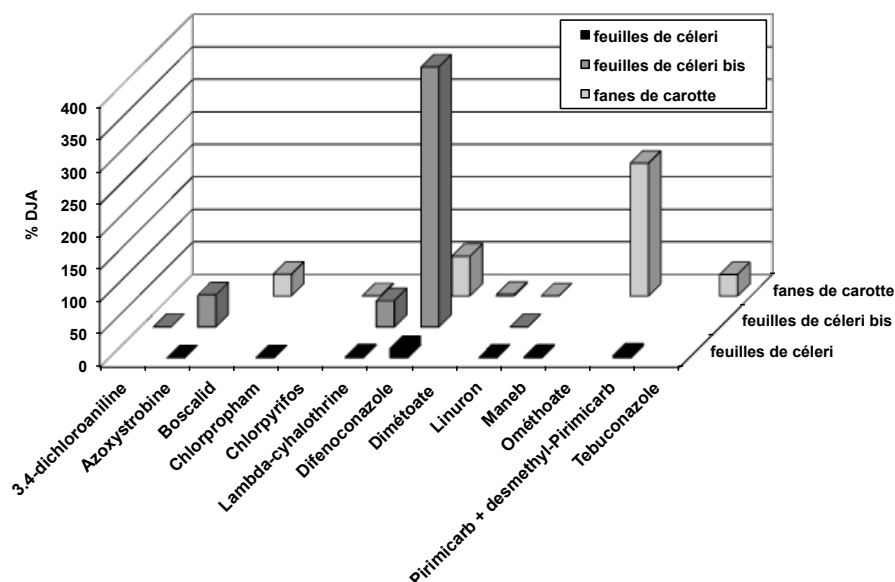


Fig.49 : Cas très particulier de l'exposition des femmes (pourcentage de DJA) lors de la consommation de fanes de carottes et de feuilles de céleris au cours d'une vie. Lorsque les résidus étaient non détectés, le PF a été calculé à l'aide de la LOQ/2. Les feuilles de céleris bis sont issues d'une récolte différente (2011) que celle des autres feuilles de céleris (2010)

Un autre risque relatif aux fortes teneurs en pesticides retrouvées dans les fanes de carottes concerne la consommation de ces fanes par les lapins. Hormis le point de vue de la santé animale, il existe un véritable risque de bioaccumulation de certains résidus de pesticides dans la chair animale. Par conséquent, la santé du consommateur pourrait également être affectée via l'alimentation animale et pas uniquement végétale.

Chapitre 6: CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

De nombreux pesticides sont utilisés afin d'optimiser les rendements de récoltes en limitant les pertes dues aux agents phytopathogènes, ravageurs et compétiteurs adventices. Ces pesticides peuvent aussi avoir des effets sur la santé et l'environnement. Il importe donc de déterminer le plus précisément possible les quantités de pesticides réellement ingérées par le consommateur. A cette fin, des facteurs de transformation (PFs) sont usuellement déterminés et permettent d'affiner l'évaluation du risque pour le consommateur.

C'est dans ce but que des PFs, pour chaque procédé de transformation (lavage, épluchage, blanchiment, cuisson au micro-ondes, pasteurisation et stérilisation), ont été déterminés pour une sélection de pesticide en combinaison avec une commodité (carotte, céleri, épinard, melon). Les produits de dégradation des résidus de pesticide pertinent ont également été recherchés.

Les résultats de notre étude apportent des indications précieuses pour l'industriel, le législateur, le scientifique et le consommateur. En effet, ce travail montre que les transformations permettent en général de réduire les résidus de pesticides. Comme l'étude de la littérature appuyée par nos résultats le montre, il y a cependant des différences notables suivant le type de matrices. En effet, lors de l'épluchage des carottes et des melons, certaines substances systémiques notamment, ne réagissent absolument pas de la même manière suivant la matrice. Cette variabilité de comportement a toutefois pu être expliquée par la structure physique différente des deux commodités (légume racine et légume fruit). Les carottes ne sont pas exposées directement aux pulvérisations contrairement aux melons. Les melons ont un épicarpe épais qui protège efficacement la chair des résidus des pesticides contrairement aux fanes de carottes qui permettent de véhiculer les pesticides systémiques au cœur de celles-ci.

En général, le lavage, l'épluchage et le blanchiment ont toujours réduits les résidus à l'exception de la deltaméthrine dans les épinards. L'utilisation du micro-onde n'a par contre aucun effet sur la teneur en résidus, alors que la pasteurisation et la stérilisation réduisent drastiquement les résidus, même ceux qui n'avaient pas été affectés par les autres transformations précédentes (lavage, épluchage, blanchiment et micro-onde). Il est à noter que c'est également lors des étapes de cuisson (intervention de la chaleur) qu'apparaissent les produits de dégradation, pouvant être plus ou aussi toxiques que les composés parents, tels que l'ETU et la 3,5-dichloroaniline. Lors de la stérilisation des épinards, nous avons remarqué que ces deux produits de dégradation s'étaient formés en quantités non résiduelles.

Tous les PFs des épinards ont pu être expliqués à l'aide des propriétés physico-chimiques (systémique vs. contact, solubilité dans l'eau et coefficient de partage octanol-eau). Pour les autres commodités (melon, carotte et céleri), la partie la plus consommée (fruit, racine, bâton) n'est pas ou peu exposée lors de la pulvérisation. Les propriétés physico-chimiques des pesticides ne suffisent pas à expliquer les PFs mais les conditions météorologiques durant la culture ainsi que les moments d'application des substances actives sont également de variables explicatives pertinentes. En effet, nous avons pu remarquer que certains pesticides systémiques appliqués tardivement réagissent comme des pesticides de contact, en restant limités à la surface du légume ou fruit.

Nous avons également observé une variabilité des PFs inter-variétés malgré une pulvérisation synchrone et identique (même solution de substances actives). Ceci suggère que la variété ait une influence sur les concentrations résiduelles. Cabras et al. ont effectivement réalisé une étude sur la différence de concentration de résidus de pesticides observée en étudiant deux variétés de salades différentes. Suivant que la salade soit « ouverte » ou « en boule », les feuilles extérieures seront soit très exposées aux substances actives, soit beaucoup moins [Cabras, 1988].

Lors de la discussion générale, plusieurs approches, statistiques ou non ont été abordées pour essayer de dégager une tendance. Statistiquement, les

résultats de notre étude sur les quatre matrices ont montré des différences significatives entre matrice de type différents (légumes feuille, racine ou fruit) et également entre variétés suivant les matrices. Plusieurs autres approches ont aussi été effectuées en combinant nos résultats avec ceux de la littérature. Une d'entre elle consistait à observer la variété de PFs pour chaque transformation et essayer de déterminer pourquoi le résidu réagissait différemment en fonction du pesticide. Cette observation a permis de déterminer l'importance du type de matrice sur les PFs mais également que la façon dont ont été traités les fruits et légumes avant la transformation joue un rôle important sur le PF calculé. En effet, la fortification des échantillons peut soit se faire en laboratoire soit en champ. Dans le cas d'une fortification en champ, cette dernière permet aux pesticides d'interagir avec les matrices actives biologiques et par conséquent le profil d'extraction des résidus de pesticides peut être affecté par l'absorption ou la translocation dans les tissus vivants de la plante mais également par les conditions climatiques. Ce type de fortification reflète beaucoup mieux la réalité et est imposé par les lignes directrices de l'OECD 508 dans le cadre de détermination de PFs utilisés pour l'évaluation du risque [OECD, 2008]. Etant donné les variations observées entre les PFs suivant les commodités, les variétés, les conditions climatiques,... il serait utile de réfléchir à une évolution de cette norme et de la renforcer en demandant notamment d'obtenir plus de deux PFs pour une même combinaison pesticide-commodité-transformation.

Les autres approches consistaient à porter en graphe les PFs de notre étude ainsi que ceux de la littérature en regroupant les pesticides soit par famille, par coefficient de partage octanol-eau, par moment de dernière application, par stabilité chimique et par classes (stabilité chimique et hydrophobicité). La dernière approche fut la plus concluante en séparant les PFs pour les différents types de matrice. Malheureusement, comme nous venons de l'expliquer, ces essais ont été réalisés avec des PFs qui ne sont pas déterminés de la même façon (fortification en laboratoire ou en champ). Nous sommes donc loin de pouvoir généraliser le comportement des pesticides en ne tenant compte que de certains facteurs. Nous pouvons

Chapitre 6 : Conclusions et perspectives

néanmoins conclure que dans le cas du lavage jusqu'à 40% des résidus de pesticides sont éliminés des légumes feuilles et jusqu'à 90% des légumes fruits et racines. Lors l'épluchage, jusqu'à 80% de huit résidus sur quatorze sont éliminés des légumes fruits et trois sur onze des légumes racines. Au moins 50% de la majorité des résidus de pesticides sont éliminés dans les légumes feuilles et 40% des légumes fruits lors du blanchiment. Jusqu'à 99% de ceux-ci sont éliminés des légumes feuille, fruit et racine suite à la stérilisation. Cette synthèse est représentée dans la Figure 50 mais n'est pas généralisable à toutes les combinaisons différentes, vu le nombre de paramètres influençant le comportement des résidus de pesticides suite aux transformations.

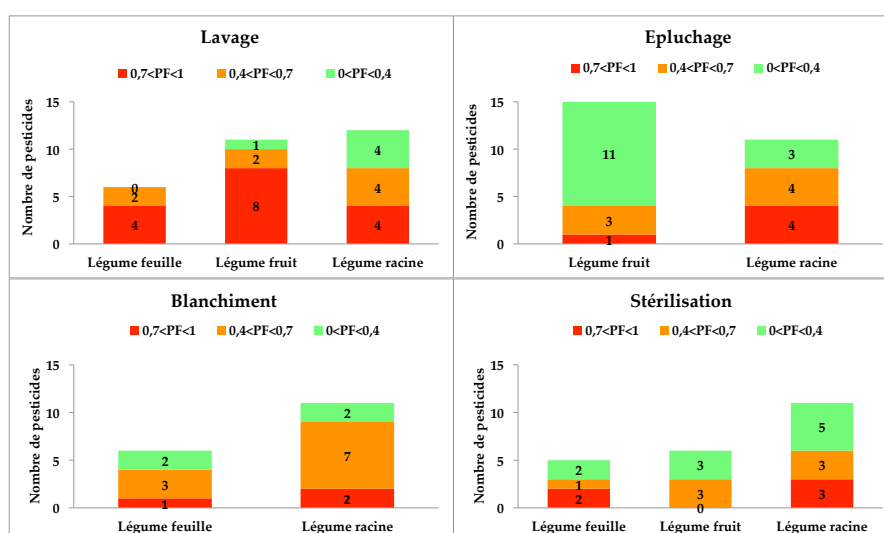


Fig.50 : Représentation schématique pour les quatre transformations principales (lavage, épluchage, blanchiment et stérilisation) du nombre de pesticides éliminés de 0 à 30% (rouge), de 30 à 60% (orange) et de 60 à 100% (vert). Les chiffres en gras indiquent le nombre de pesticides considérés dans chacune des catégories.

Notre étude a mis en évidence plusieurs points critiques qui limitent la généralisation des PFs pour toutes les combinaisons pesticide-matrice-transformation (Fig.51). Comme l'indique la Figure 51, beaucoup de variables jouent un rôle dans le comportement des résidus de pesticides

suite aux transformations et tous ces facteurs sont rarement présents dans les études disponibles dans la littérature.

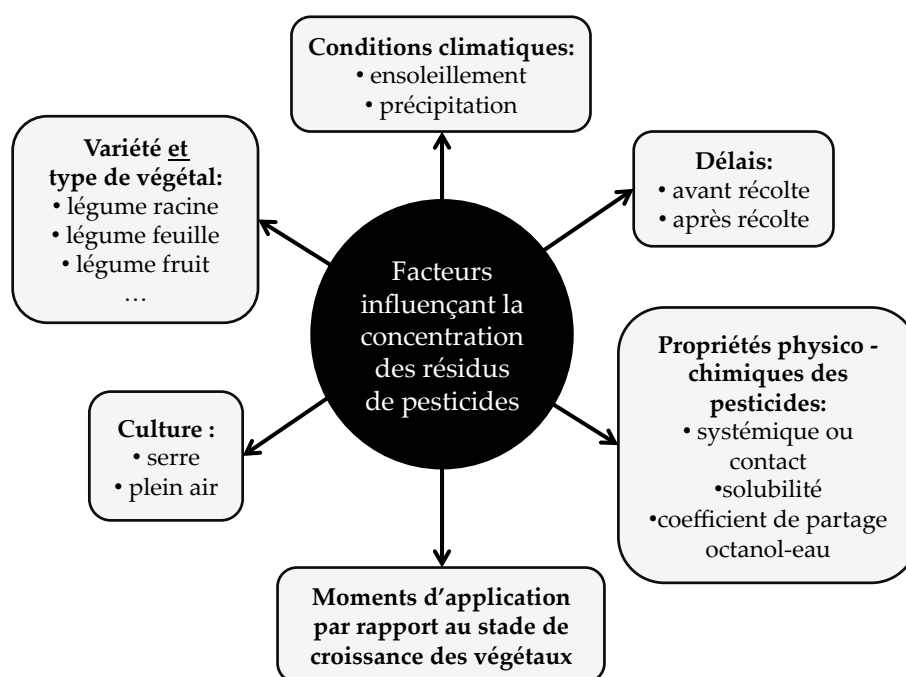


Fig.51 : Résumé schématique reprenant tous les facteurs influençant les PFs découvert dans notre étude. Les PFs sont autant influencés par les conditions climatiques, les délais, les propriétés physico-chimiques des pesticides, les moments d'applications, le type de culture, la variété et le type de végétal.

Lors de ce travail, aucune véritable tendance générale n'a pu être établie étant donné le nombre limité de matrices étudiées (carotte, céleri, épinard et melon) et de pesticides. En combinant les données retrouvées dans la littérature, nous avons enrichi le nombre de PFs, mais malheureusement peu d'études fournissent tous les paramètres que nous avons suivis. De plus, certaines études n'ont pas été réalisées en champ mais en laboratoire et par conséquent, les résultats obtenus peuvent présenter des divergences. Le comportement d'un résidu de pesticide pour une matrice donnée pourrait sans doute être extrapolable pour un même type de matrice et d'exposition au pesticide. Nous avons démontré que les moments d'application sont essentiels pour le comportement des résidus de pesticides suite aux

transformations ainsi que les conditions météorologiques. Par conséquent, il vaudra mieux privilégier la consommation de fruits et légumes de culture de plein air que de culture en serre pour qu'une élimination des résidus ait déjà pu être partiellement réalisée sur le champ.

Les perspectives de ce travail sont nombreuses :

- Suite à l'analyse des fanes de carottes et des feuilles de céleris, un travail concernant l'étude de la bioaccumulation serait intéressant à mettre en œuvre. En effet, nous ne consommons que très rarement les fanes de carottes qui sont comme nous l'avons vu, fortement contaminées. Néanmoins, ces fanes sont données aux lapins ou autres animaux. Vu le caractère lipophile et la stabilité de certains composés, ils peuvent se concentrer dans les tissus adipeux et finalement être consommés par l'homme via la chaîne trophique. Quid de cette voie d'accumulation de résidus de pesticides ?
- Dans le cadre de l'illustration de l'intérêt des PFs, approche effectuée dans la discussion générale, nous nous sommes restreints aux pesticides sélectionnés dans notre étude. Nous n'avons pas observé de problème potentiel mais un autre choix de combinaison pesticide-commodité-transformation pourrait potentiellement en révéler. Pour ces combinaisons problématiques, il serait intéressant de retrouver la concentration initiale en résidus pour pouvoir calculer l'ingestion avec et sans PF et ainsi se rendre compte d'un risque potentiel pour le consommateur pour une certaine combinaison pesticide-commodité-transformation. A l'heure où la question cruciale des effets cumulatifs liés à la présence de plusieurs matières actives de composition proche ou similaire est d'actualité, une meilleure connaissance des PFs réels est sans aucun doute nécessaire.
- Comme nous l'avons constaté, dans la plupart des cas, une diminution des résidus est observée suite à une transformation.

Cependant, pour certaines combinaisons matrice-pesticide-transformation (ex : épinards-deltamethrine-blanchiment), la concentration en résidus de pesticides est plus importante après la transformation qu'avant. Comme le relevé systématique des PFs de la littérature a été réalisé dans ce travail (Annexe I) pour les pesticides étudiés, il serait intéressant de relever dans ce tableau toutes les combinaisons matrice-pesticide-transformation pour lesquelles les PFs sont élevés. De plus, ce travail pourrait également être réalisé pour les autres combinaisons pesticide-commodité-transformation. Une liste de combinaisons pour lesquelles il faudrait être plus attentifs pourrait dès lors être établie, notamment si les commodités et transformations en question sont utilisées dans la fabrication d'aliments pour bébés. Dans ce cadre, le suivi des produits de dégradation est essentiel car les petits pots bébés sont stérilisés et les épinards qui rentrent souvent dans la composition de ces préparations.

- Une étude pourrait aussi être réalisée en déterminant les PFs pour les mêmes pesticides et les mêmes transformations sur des matrices qui auraient été traitées parallèlement en champ et en laboratoire. En effet, l'étude bibliographique a permis de mettre en avant que certaines études sont réalisées à partir de fruits et légumes contaminés en laboratoire et d'autres en champ. Les PFs obtenus suivant les deux méthodes ne sont pas égaux car l'interaction entre la matrice biologique active ne peut se faire lors d'une application en laboratoire. Or lors d'une application en champ, les résidus de pesticides ont l'occasion d'interagir avec les plants mais sont également soumis aux conditions climatiques ce qui reflète plus la réalité qu'un essai en laboratoire. Actuellement, le manque de données élaborées selon les lignes directrices de l'OECD 508 est criant et une marge d'imprécision existe avec les études réalisées en laboratoire. De manière à limiter cette imprécision, il faudrait mettre en œuvre plus d'études réalisées selon les lignes directrices de l'OECD 508 [OECD, 2008]. Lors de la prise en compte de PF pour

l'évaluation du risque, il serait donc impératif de ne considérer que les études réalisées avec des fortifications en champ.

- Au vu de tous ces points, une réflexion sur le type de substance active, la façon dont les pesticides sont appliqués, les moments d'application... devrait avoir lieu lorsque quelques substances actives différentes sont appliquées sur une culture. Ainsi le schéma de traitements à appliquer tiendrait compte du choix du pesticide à utiliser suivant sa solubilité, son coefficient de partage octanol-eau, le moment où il sera appliqué et du type de commodité.
- Dans cette étude, nous avons travaillé selon les standards européens exigés pour la détermination des PFs et nous avons observé à plusieurs reprises des variations de PFs entre les deux variétés. Par conséquent, étant donné cet effet de la variété observé dans certains cas, réaliser l'étude sur une troisième variété pourrait s'avérer utile pour refléter l'impact des différentes variétés.
- L'étape de lavage dans ce travail a été effectuée selon les conditions industrielles. Il serait aussi intéressant de faire une étude pour évaluer si le lavage du particulier est plus ou moins efficace que celui de l'industriel.

Au-delà des perspectives de recherche, voici quelques conseils adressés au particulier, à l'agriculteur et à l'expert.

Pour le **particulier**, le slogan « Manger cinq fruits et légumes par jour » est bien connu de tous. Cependant pour l'ingestion de pesticides que cela implique, il ne faudrait pas passer à côté d'une étape cruciale : le lavage qui permet de diminuer la quantité de résidus de pesticides. En effet, même si de nos jours les végétaux ont l'air propre, un bon lavage (un bain d'environ cinq minutes) apporte une réduction parfois substantielle de certains résidus de pesticides.

Même si nous détectons couramment des résidus de pesticides dans des conditions d'utilisations normales, nous n'observons heureusement pas de

dépassement de la DJA. Toutefois, dans des conditions pessimistes (worst-case scenario), telles que la consommation quotidienne de fanes de carottes ou de feuilles de céleris, un dépassement de la DJA peut être observé. Même si l'approche développée ici est bien éloignée de la pratique habituelle et relativement « irréaliste », il nous semble néanmoins utile de recommander de ne pas consommer régulièrement ces parties de végétaux plus particulièrement exposées lors de pulvérisations des produits phytopharmaceutiques.

L'épluchage permet d'éliminer en général une grosse partie des résidus de pesticides, mais sur le plan diététique, cette pratique peut conduire à une perte de vitamines [FAO-Département de l'agriculture, 1991]! Un compromis doit donc être trouvé, mais pour s'assurer d'ingérer moins de résidus que ceux présents sur les commodités, le lavage est toujours conseillé. Un raisonnement simple permet aussi de se poser la question : cette partie du végétal a-t-elle été en contact direct avec une pulvérisation ? Sous cet angle, il est évident qu'il faut considérer autrement l'épluchage d'une pomme et d'une carotte, par exemple.

Pour l'**agriculteur** désireux de réduire les résidus de pesticides sur ses fruits et légumes, toutes les observations de ce travail ont démontré l'intérêt de mieux comprendre le devenir des pesticides aux champs, pour ainsi essayer d'acquérir les connaissances nécessaires afin de limiter au maximum les quantités résiduelles observées via l'adoption des pratiques agricoles. Ce travail a permis de mettre le doigt sur le fait que le moment d'application et les variétés jouent un rôle primordial sur le comportement des pesticides face aux transformations. En effet, nous avons montré qu'un pesticide systémique appliqué plus tardivement sur la récolte aura plus de chance d'être éliminé, par exemple lors de l'épluchage, avant consommation, contrairement à celui qui a été pulvérisé lors d'un stade précoce de développement. A l'heure où les approches « zéro résidus » sont encouragées, il conviendrait sans doute de sensibiliser et encourager l'agriculteur à adopter un plan de pulvérisation le plus performant possible pour limiter les résidus sur les commodités.

Pour l'**expert** qui doit conseiller l'utilisation d'un pesticide plutôt qu'un autre, choisir les moments d'applications optimaux et les doses à appliquer... mais aussi évaluer le risque lié à la présence de résidus de pesticides, notre étude éclaire plusieurs points cruciaux. Il est important de se rendre compte que suivant le moment d'application sur la culture, le comportement des résidus de pesticides est différent. Le type de matrice ont aussi leur importance ainsi que les variétés. Le modèle privilégié jusqu'à présent par les scientifiques pour l'évaluation des risques pour le consommateur, à savoir la combinaison matrice-pesticide-transformation, demeure empirique et offre une vision simplifiée de la réalité. En effet, un large panel de variables allant même jusqu'à la variété d'une commodité influence fortement la détermination des PFs.

Chapitre 7: BIBLIOGRAPHIE

- Codex alimentarius. 2012(a)
www.codexalimentarius.net/web/index_fr.jsp
- General information about the Codex Alimentarius. 2012(b).
www.who.int/foodsafety/codex/general_info/en
- JMPR. 2012.
http://www.codexalimentarius.net/web/jmpr_fr.jsp
- Achim A. **Analyse de variance**. UQAM, 2004. Accès vérifié le 12/10/2012:
<http://www.er.uqam.ca/nobel/r11274/psy4031h1.pdf>
- AFSCA. Controls of pesticide residues in food Belgium 2006. 2007.
http://www.favv.be/publicationsthematiques/_documents/2006_Belgium-summary.pdf
- AFSCA. Controls of pesticide residues in food Belgium 2007. 2008.
http://www.favv.be/publications-en/_documents/2007_Belgium-summary.pdf
- Al-Sayeda H. Transfert d'un insecticide systémique, l'imidaclopride, chez la tomate: implication du transport phloémien. Thèse de l'école doctorale SEVAB (Toulouse), 2007. Accès vérifié le 03/10/2012: http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00000579/01/al_sayeda.pdf
- Al-Sayeda H, Pascal-Lorber S, Nallanthigal C, Debrauwer L, Laurent F. Transfer of insecticide [¹⁴C] imidacloprid from soil to tomato plants. *Environmental Chemistry Letters*; vol. 6(4): 229-34.
- Balinova AM, Mladenova RI, Shtereva DD. **Effects of processing on pesticide residues in peaches intended for baby food**. *Food Additives and Contaminants* 2006a; vol. 23(9):895-901.
- Baccini A. **La procédure GLM de SAS, les commandes means et lsmeans, la méthode de Bonferroni et les graphiques d'interaction**. Insitut de Mathématique de Toulouse, 2010. Accès vérifié le 12/10/2012: <http://www.math.univ-toulouse.fr/~baccini/zpedago/bonfer.pdf>
- BCPC. The pesticide manual. British Crop Production Council; 2009.
- BfR. BfR compilation on processing factors for pesticide residues.
<http://www.bfr.bund.de/cd/579>

- Blasco C, Font G, Pico Y. **Determination of dithiocarbamates and metabolites in plants by liquid chromatography-mass spectrometry.** Journal of Chromatography A 2004 Mar 5; vol. 1028(2):267-76.
- Bolognesi C, Merlo FD. **Pesticides: human health effects.** Encyclopedia of Environmental Health 2011 Feb;438-53.
- Bonnechère A, Hanot V, Van Loco J. **A rapid and environmental friendly determination of the dithiocarbamate metabolites ethylenethiourea and propylenethiourea in fruit and vegetables by ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry.** Journal of Chromatography A 2011 Jul 22; vol. 1218(29):4627-31.
- Bonnechère A, Hanot V, Jolie R, Hendrickx M, Bragard C, Bedoret T, et al. **Effect of household and industrial processing on levels of five pesticide residues and two degradation products in spinach.** Food Control 2012 May(a); vol. 25(1):397-406.
- Bonnechère A, Hanot V, Bragard C, Bedoret T, Van Loco J. **Effect of household and industrial processing on levels of pesticide residues and degradation products in melons.** Food Additives and Contaminants: Part A 2012 Mar 7(b); vol. 29(7):1058-66.
- Bonnechère A, Hanot V, Jolie R, Hendrickx M, Bragard C, Bedoret T, et al. **Processing factors of several pesticides and degradation products in carrots by household and industrial processing.** Journal of Food Research 2012 May(c); vol. 1(3):68-83.
- Boulaid M, Aguilera A, Camacho F, Soussi M, Valverde A. **Effect of household processing and unit-to-unit variability of pyrifenoxy, pyridaben, and tralomethrin residues in tomatoes.** Journal of Agricultural and Food Chemistry 2005; vol. 53(10):4054-8.
- Burchat CS, Ripley BD, Leishman PD, Ritcey GM, Kakuda Y, Stephenson GR. **The distribution of nine pesticides between the juice and pulp of carrots and tomatoes after home processing.** Food Additives and Contaminants 1998; vol. 15(1):61-71.
- Cabras P, Garau VL, Melis M, Pirisi FM, Spanedda LCF, Cubeddu M. **Persistence of some organophosphorous insecticides in orange fruit.** Italian Journal of Food Science 1995; vol. 7(3):291-8.
- Cabras P, Angioni A, Garau VL, Pirisi FM, Brandolini V, Cabitza F, et al. **Pesticide Residues in Prune Processing.** Journal of Agricultural and Food Chemistry 1998 Jul 30; vol. 46(9):3772-4.
- Cabras P, Meloni M, Manca MR, Pirisi FM, Cabitza F, Cubeddu M. **Pesticide residues in lettuce. 1. Influence of the cultivar.** Journal of Agricultural and Food Chemistry 1988 Jan 1; vol. 36(1):92-5.

- Campbell NA. *Biologie*. 3 ed. Québec: 1995. p. 1-1190.
- Chavarri MJ, Herrera A, Arino A. **The decrease in pesticides in fruit and vegetables during commercial processing**. *International Journal of Food Science & Technology* 2005 Feb; vol. 40(2):205-11.
- Cherin P, Voronska E, Fraoucene N, de Jaeger C. **Toxicité aiguë des pesticides chez l'homme**. *Médecine et longévité* 2012 Jun; vol. 4(2):68-74.
- Christensen HB, Granby K, Rabolle M. **Processing factors and variability of pyrimethanil, fenhexamid and tolyfluanid in strawberries**. *Food Additives and Contaminants* 2003; vol. 20(8):728-41.
- Claeys WL, De Voghel S, Schmit J-F, Vromman V, Pussemier L. **Exposure assessment of the Belgian population to pesticide residues through fruit and vegetable consumption**. *Food Additives and Contaminants: Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment* 2008; vol. 25(7):851-63.
- Claeys WL, Schmit JF, Bragard C, Maghuin-Rogister G, Pussemier L, Schiffers B. **Exposure of several Belgian consumer groups to pesticide residues through fresh fruit and vegetable consumption**. *Food Control* 2011; vol. 22(3-4):508-16.
- Comité scientifique de l'AFSCA. **Avis 02-2010 du Comité Scientifique de l'AFSCA: Exposition de la population belge aux résidus de pesticides via la consommation de fruits et légumes: année 2008**. 2010 Feb.
- Copping LG, Hewitt HG. **Chemistry and mode of action of crop protection agents**. London: 1998. p. 1-145.
- DAR: Germany. **Boscalid - Monograph**. 2002 November. Accès libre via http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/04_Pflanzenschutzmittel/02_eu_berichte/Boscalid-DAR.pdf?__blob=publicationFile&v=2
- DAR: Spanien. **Thiamethoxam - Draft Assessment Report**, List of Endpoints. 2006 May. Accès libre via http://www.ctb.agro.nl/ctb_files/12913_01.html
- Davies L, O'Connor M, Logan S. **Chronic intake**. In: Hamilton D, Crossley S, editors. *Pesticide residues in food and drinking water*. Chichester: 2004. p. 212-41.
- de Jaeger C, Voronska E, Fraoucene N, Cherin P. **Exposition chronique aux pesticides, santé et longévité. Rôle de notre alimentation**. *Médecine et longévité* 2012 Jun; vol. 4(2):75-92.

- de Kok A. **Developments in GC-MS(/MS) and LC-MS(/MS), Methodology for pesticide residue analysis.** 4th Meeting on Pesticide Residues , 7-9. 2001. Rome.
<http://workshop.iss.it/DiMuccioV/Testi/Relazioni/adekok.ppt>
- Debbarh I, Moore N. **A simple method for the determination of ethylene-thiourea (ETU) in biological samples.** Journal of Analytical Toxicology 2002; vol. 26:216-21.
- Devriese S, Huybrechts I, Moreau M, Van Oyen H. **Enquête de consommation alimentaire Belge 1 - 2004.** Bruxelles; 2006.
- DG SANCO. EU Pesticides database. 2008.
http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm
- Direction générale opérationnelle de l'Agriculture. **Tableau de bord de l'environnement wallon.** 2010. <http://etat.environnement.wallonie.be>
- Dubey JK, Heberer T, Stan HJ. **Determination of ethylenethiourea in food commodities by a two-step derivatization method and gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection.** Journal of Chromatography A 1997 Mar 21; vol. 765(1):31-8.
- Duby C, Robin S. **Analyse en composantes principales.** 2006 Jul 10.
- Eurostat EC European statistical database. **Food: From farm to fork statistics - Sales of plant protection products [food_in_apest1].** 4-2-2011.
http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/show.do?dataset=food_in_apest1&lang=fr
- FAO. Département de l'agriculture. **Racines, tubercules, plantains et bananes: dans la nutrition humaine.** 1991. Accès vérifié le 12/10/2012: <http://www.fao.org/docrep/t0207f/T0207F0b.htm>
- FAO. FAO Mission and Goals in Forestry. a. 2000.
<http://www.fao.org/forestry/strategic/1963/en/>
- FAO Plant Production and Protection Paper. Pesticide residues in food - 1994 evaluations. Part I - Residues. 1995. Report No.: 131/1 and 131/2 (two volumes).
- FAO Plant Production and Protection Paper. Pesticide residues in food - 1997 evaluations. Part I - Residues. 1998. Report No.: 146.
- FAO Plant Production and Protection Paper. Pesticide residues in food - 2000 evaluations. Part I - Residues. 2001. Report No.: 165.

- FAO Plant Production and Protection Paper. Pesticide residues in food - 2001 evaluations. Part I - Residues. 2002. Report No.: 171.
- FAO Plant Production and Protection Paper. Pesticide residues in food - 2002 evaluations. Part I - Residues. 2003. Report No.: 175/1 and 175/2 (two volumes).
- FAO Plant Production and Protection Paper. Pesticide residues in food - 2006 evaluations. Part I - Residues. 2007. Report No.: 189/1 and 189/2.
- FAO Plant Production and Protection Paper. Pesticide residues in food - 2007 evaluations. Part I - Residues. 2008. Report No.: 192.
- FAO Plant Production and Protection Paper. Pesticide residues in food - 2008 evaluations. Part I - Residues. 2009. Report No.: 194.
- FAO Plant Production and Protection Paper . Pesticide residues in food - 2004 evaluations. Part I - Residues. 2005. Report No.: 182/1 and 182/2 (two volumes).
- Fenoll J, Ruiz E, Hellin P, Lacasa A, Flores P. **Dissipation rates of insecticides and fungicides in peppers grown in greenhouse and under cold storage conditions.** Food Chemistry 2009 Mar 15; vol. 113(2):727-32.
- Fernandez-Alba AR, Garcia-Reyes JF. **Large-scale multi-residue methods for pesticides and their degradation products in food by advanced LC-MS.** TrAC Trends in Analytical Chemistry 2008 Dec; vol. 27(11):973-90.
- Fernandez-Cruz ML, Barreda M, Villarroya M, Peruga A, Llanos S, Garcia-Baudin JM. **Captan and fenitrothion dissipation in field-treated cauliflowers and effect of household processing.** Pest Management Science 2006(a); vol. 62(7):637-45.
- Fernandez-Cruz ML, Grimalt S, Villarroya M, Lopez FJ, Llanos S, Garcia-Baudin JM. **Residue levels of captan and trichlorfon in field-treated kaki fruits, individual versus composite samples, and after household processing.** Food Additives and Contaminants 2006(b); vol. 23(6):591-600.
- Fortes C, Aprea C. **Cancer risks from residential exposure to pesticides.** Encyclopedia of Environmental Health 2011 Feb;489-97.
- Friar P, Reynolds SL. **The effects of microwave-baking and oven-baking on thiabendazole residues in potatoes.** Food Additives and Contaminants 1991; vol. 8(5):617-26.
- Fytoweb. 2012. <http://www.fytoweb.be/indexFr.asp>

- Garau VL, Cabras P, Melis M, Angioni A, Cabitza F, Brandolini V. **Disappearance of some pesticides in celery.** Italian Journal of Food Science 2001; vol. 13(1):107-11.
- Gosciny, S, Hanot, V, Halbardier, J, Michelet, J, Loco, J. **Rapid analysis of melamine residue in milk, milk products, bakery goods and flour by ultra- performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry: from food crisis to accreditation.** Food Control 2011, Vol.22, pp. 226-230
- Holland J, Sinclair P. **Environmental fate of pesticide and the consequences for residues in food and drinking water.** In: Hamilton D, Crossley S, editors. Pesticide residues in food and drinking water. Chichester: 2004. p. 27-62.
- Holland PT, Hamilton D, Ohlin B, Skidmore MW. **Effects of storage and processing on pesticide residues in plant products.** Pure & applied Chemistry 1994; vol. 66(2):335-56.
- Hwang ES, Cash JN, Zabik MJ. **Determination of degradation products and pathways of mancozeb and ethylenethiourea (ETU) in solutions due to ozone and chlorine dioxide treatments.** Journal of Agricultural and Food Chemistry 2003 Jan 18; vol. 51(5):1341-6.
- Juraske R, Castells F, Vijay A, Munoz P, Anton A. **Uptake and persistence of pesticides in plants: Measurements and model estimates for imidacloprid after foliar and soil application.** Journal of Hazardous Materials 2009 Jun 15; vol. 165:683-9.
- Katagi T. **Abiotic hydrolysis of pesticides in the aquatic environment.** Reviews of environmental contamination and toxicology 2002; vol. 175:79-261.
- Kaushik G, Satya S, Naik SN. **Food processing a tool to pesticide residue dissipation - A review.** Food Research International 2009; vol. 42:26-40.
- Kazos EA, Stalikas CD, Nanos CG, Konidari CN. **Determination of dithiocarbamate fungicide propineb and its main metabolite propylenethiourea in airborne samples.** Chemosphere 2007 Aug; vol. 68(11):2104-10.
- Keikotlhaile BM, Spanoghe P, Steurbaut W. **Effects of food processing on pesticide residues in fruits and vegetables: A meta-analysis approach.** Food and Chemical Toxicology 2010 Jan; vol. 48(1):1-6.
- Kong Z, Dong F, Xu J, Liu X, Zhang C, Li J, et al. **Determination of difenoconazole residue in tomato during home canning by UPLC-MS/MS.** Food Control 2012 Feb; vol. 23(2):542-6.

- Kontou S, Tsipi D, Oreopoulou V, Tzia C. **Determination of ETU in tomatoes and tomato products by HPLC-PDA. Evaluation of cleanup procedures.** Journal of Agricultural and Food Chemistry 2001 Feb 21; vol. 49(3):1090-7.
- Krol WJ, Arsenault TL, Harry M, Incorvia Mattina MJ. **Reduction of Pesticide Residues on Produce by Rinsing.** Journal of Agricultural and Food Chemistry 2000 Aug 22; vol. 48(10):4666-70.
- Lauwerys RR, Haufroid V, Lauwerys R, Hoet P, Lison D. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. Masson; 2007. p. 1-1252.
- Lee MG, Jung D. **Processing factors and removal ratios of select pesticides in hot pepper leaves by a successive process of washing, blanching, and drying.** Food Science and Biotechnology 2009; vol. 18(5):1078-82.
- Lentza-Rizos C, Balokas A. **Residue levels of chlorpropham in individual tubers and composite samples of postharvest-treated potatoes.** Journal of Agricultural and Food Chemistry 2001; vol. 49:710-4.
- Ling Y, Wang H, Yong W, Zhang F, Sun L, Yang ML, et al. **The effects of washing and cooking on chlorpyrifos and its toxic metabolites in vegetables.** Food Control 2011 Jan; vol. 22(1):54-8.
- Marot J, Rigo V, Fautre H, Bragard C. **Contribution à l'actualisation des indicateurs de l'état de l'environnement wallon relatifs à l'utilisation des produits phytopharmaceutiques.** Université catholique de Louvain: Unité de phytopathologie; 2008.
- Merhi M. **Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin.** Thèse de l'Université de Toulouse, 2008. Accès vérifié le 03/10/2012: <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00000732/01/merhi.pdf>
- Moniteur belge. **Arrêté royal relatif à la conservation, à la mise sur le marché et à l'usage des pesticides à usage agricoles.** 1994 Feb 28.
- Newsome WH, Laver GW. **Effect of boiling on the formation of ethylenethiourea in Zineb-treated foods.** Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology 1973; vol. 10(3):151-4.
- Observatoire bruxellois de la consommation durable. **Fruits et légumes locaux et de saison.** Bruxelles; 2006.
- OECD 508. **Guideline for testing of chemicals - Magnitude of the pesticide residues in processed commodities.** 3-10-2008.

- Perny A. **Pesticide Residue Analysis In Processed Commodities Of Plant Origin.** 2010.
- Pico Y, Barcelo D. **The expanding role of LC-MS in analyzing metabolites and degradation products of food contaminants.** TrAC Trends in Analytical Chemistry 2008 Nov; vol. 27(10):821-35.
- Plan National Nutrition Santé. **Guide général, vivement recommandé pour jeunes et moins jeunes.** 2011.
- Poulsen ME, Hansen HK, Sloth JJ, Christensen HB, Andersen JH. **Survey of pesticide residues in table grapes: Determination of processing factors, intake and risk assessment.** Food Additives and Contaminants 2007; vol. 24(8):886-95.
- Pussemier L, Larondelle Y, Van Peteghem C, Huyghebaert A. **Chemical safety of conventionally and organically produced foodstuffs: A tentative comparison under Belgian conditions.** Food Control 2006 Jan; vol. 17(1):14-21.
- Randhawa MA, Anjum FM, Asi MR, Butt MS, Ahmed A, Randhawa MS. **Removal of endosulfan residues from vegetables by household processing.** Journal of Scientific & Industrial Research 2007; vol. 66(10):849-52.
- Rasmussen RR, Poulsen ME, Hansen HC. **Distribution of multiple pesticide residues in apple segments after home processing.** Food Additives and Contaminants 2003 Nov; vol. 20(11):1044-63.
- Règlement 396/2005. **Règlement (CE) n°396/2005 du Parlement européen et du conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil.** 2005 Feb 23. Report No.: L70.
- Regnault-Roger C. **Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement.** TEC & DOC ed. Paris: 2005. p. 1-1013.
- Robin M-M. **Notre poison quotidien.** Paris: ARTE Editions; 2011. p. 1-478.
- SANCO/12495/2011. **Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed.** 2009. http://ec.europa.eu/food/plant/protection/pesticides/docs/qualcontrol_en.pdf
- Satchivi NM, Stoller EW, Wax LM, Briskin DP. **A Nonlinear Dynamic Simulation Model for Xenobiotic Transport and Whole Plant Allocation Following Foliar Application. III. Influence of Chemical**

- Properties, Plant Characteristics, and Environmental Parameters on Xenobiotic Absorption and Translocation.** Pesticide Biochemistry and Physiology 2001 Oct; vol. 71(2):77-87.
- Schattenberg HJ, Geno PW, Hsu JP, Fry WG, Parker RP. **Effect of household preparation on levels of pesticide residues in produce.** Journal of Aoac International 1996; vol. 79(6):1447-53.
- Sherma J. **Pesticide Residue Analysis (1999-2000): A Review.** Journal of Aoac International 2001; vol. 84(5):1303-12.
- Singh DK. **Toxicology: Agriculture and Environment - Pesticide chemistry and toxicology.** Delhi: Betham Science Publishers; 2012. p. 1-142. eBook: eISBN: 978-1-60805-137-3
- Skidmore MW, Ambrus A. **Pesticide metabolism in crops and livestock.** In: Hamilton D, Crossley S, editors. Pesticide residues in food and drinking water. Chichester: 2004. p. 63-120.
- Skoog, West, Holler. **Chimie analytique.** 7 ed. Bruxelles: 2002. p. 1-956.
- Soler C, Pico Y. **Recent trends in liquid chromatography-tandem mass spectrometry to determine pesticides and their metabolites in food.** TrAC Trends in Analytical Chemistry 2007 Feb; vol. 26(2):103-15.
- Sottani C, Bettinelli M, Fiorentino ML, Minoia C. **Analytical method for the quantitative determination of urinary ethylenethiourea by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry.** Rapid Communication in Mass Spectrometry 2003; vol. 17(20):2253-9.
- Startin JR, Hird SJ, Sykes MD. **Determination of ethylenethiourea (ETU) and propylenethiourea (PTU) in foods by high performance liquid-chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation-medium-resolution mass spectrometry.** Food Additives and Contaminants 2005; vol. 22(3):245-50.
- Timme G, Walz-Tylla B. **Effects of food preparation and processing on pesticide residues in commodities of plant origin.** In: Denis Hamilton & Stephen Crossley, editor. Pesticides residues in food and drinking water: human exposure and risks. John Wiley & Sons; 2004. p. 121-48.
- Tomerlin JR, Petersen BJ. **Diets and dietary modelling for dietary exposure assessment.** In: Hamilton D, Crossley S, editors. Pesticide residues in food and drinking water. Chichester: 2004. p. 167-211.
- Torres CM, Pico Y, Manes J. **Determination of pesticide residues in fruit and vegetables.** Journal of Chromatography A 1996 Nov 22; vol. 754(1-2):301-31.

- Travis KZ, Hamilton D, Davies L, O'Mullane M, Mueller U. **Acute intake**. In: Hamilton D, Crossley S, editors. Pesticide residues in food and drinking water. Chichester: 2004. p. 243-68.
- Van Eck WH. **International standards: the international harmonization of pesticide residues standards for food and drinking water**. In: Hamilton D, Crossley S, editors. Pesticide residues in food and drinking water. Chichester: 2004. p. 295-338.
- Watson M. **Toxicological assessment of agricultural pesticides**. In: Hamilton D, Crossley S, editors. Pesticide residues in food and drinking water. Chichester: 2004. p. 149-66.
- Watts RR, Storherr RW, Onley JH. **Effects of cooking on ethylenebisdithiocarbamate degradation to ethylenethiourea**. Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology 1974; vol. 12(2):224-6.
- Zhang ZY, Liu XJ, Hong XY. **Effects of home preparation on pesticide residues in cabbage**. Food Control 2006; vol. 18:1484-7.

ANNEXE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE SUR LES FACTEURS DE TRANSFORMATIONS

Pesticides	Commodités	Nature de la commodité	Facteur de transformation	Pourcentage de réduction	Source
Acetamiprid Azoxystrobin	Prunes	Jus	5		Rückstandsdaten aus dem deutschen Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel.
	Oranges	Huile	< 0,08		JMPR 2008
			4,8		JMPR 2008
	Prunes	Pruneaux	0,19		JMPR 2008
	Raisins	Jus	0,36		JMPR 2008
		Raisins secs	0,45		JMPR 2008
	Tomates	Jus	0,36		JMPR 2008
		Purée	0,8		JMPR 2008
		Concentré	2,6		JMPR 2008
		Ketchup	0,47		JMPR 2008
		Conserves	<0,12		JMPR 2008
	Pomme	Jus	0,08		JMPR 2006
	Prunes	Pruneaux	2,8		JMPR 2006
Boscalid		Purée	1,95		JMPR 2006
		Lavées	0,8		JMPR 2006
	Raisins	Jus	0,42		JMPR 2006
		Vin	0,35		JMPR 2006
		Raisins secs	2,42		JMPR 2006
					Deutschland, 2002, List of Endpoints, September 2007
	Pois	Lavés	0,5		Deutschland, 2002, List of Endpoints, September 2007
		Cuits	<0,36		Deutschland, 2002, List of Endpoints, September 2007
		Conserves	<0,36		Deutschland, 2002, List of Endpoints, September 2007
		Pulpe	0,2		BVL 2002
Carbendazim	Orange				G. Timme <i>et al.</i> , 2004
Chlorpropham	Raisins	Raisins secs	1 - 2		JMPR 2001
	Pommes-de-terre	Pelées	0,027		JMPR 2001
		Bouillies	0,33		JMPR 2001
		Lavées	0,7 (PHI = 10) - 0,8 (PHI = 28)		Lentza-Rizos <i>et al.</i> , 2001
Chlorpyrifos		Frites (pdt lavées et pelées)	0,04 (PHI = 10) - 0,01 (PHI = 28)		Lentza-Rizos <i>et al.</i> , 2001
		Epluchées	0,06 (PHI = 10) - 0,03 (PHI = 28)		Lentza-Rizos <i>et al.</i> , 2001
	Orange	Pulpe	0,1		JMPR 2000 et 2004

Pesticides	Commodités	Nature de la commodité	Facteur de transformation	Pourcentage de réduction	Source
Chlorpyrifos	Citron	Jus	0,03		JMPR 2000 et 2004
		Huile	11		JMPR 2000 et 2004
	Pomme	Jus	<0,1		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Epluchures sèches	2-4		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Jus	0,15		JMPR 2000 et 2004
		Lavées	1		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003
		Lavées et essuyées	1		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003
		Bouillies	1		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003
		Epluchées	0,09-0,05 (suivant la variété)		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003
		Jus	0,06		JMPR 2000 et 2004
		Vin	0,08		JMPR 2000 et 2004
		Raisins secs	0,21		JMPR 2000 et 2004
	Tomates	Jus	0,1		JMPR 2000 et 2004
		Purée	0,1		JMPR 2000 et 2004
		Concentré	0,16		JMPR 2000 et 2004
	Poivrons	Lavées		38,00%	M.J. Chavarri <i>et al.</i> , 2005
		Lavés avec détergent		40,80%	Ling <i>et al.</i> , 2011
		Lavés avec NaCl		37,20%	Ling <i>et al.</i> , 2011
		Lavés avec l'eau du robinet		46,60%	Ling <i>et al.</i> , 2011
	Asperges	Cuisson		39,00%	M.J. Chavarri <i>et al.</i> , 2005
		Pelées et détrognés	1,5		M.J. Chavarri <i>et al.</i> , 2006
		Lavées		24,00%	M.J. Chavarri <i>et al.</i> , 2005
		Epluchées		73,00%	M.J. Chavarri <i>et al.</i> , 2005
		Blanchies		83,00%	M.J. Chavarri <i>et al.</i> , 2005
	Choux	Cuisson		92,00%	M.J. Chavarri <i>et al.</i> , 2005
		Lavés avec acide acétique		79,80%	Z-Y. Zhang <i>et al.</i> , 2006
		Lavés avec NaCl		67,20%	Z-Y. Zhang <i>et al.</i> , 2006
		Lavés avec l'eau du robinet		17,60%	Z-Y. Zhang <i>et al.</i> , 2006
		Réfrigération (pendant 48h)		3,40%	Z-Y. Zhang <i>et al.</i> , 2006
		Sautés à l'huile		86,60%	Z-Y. Zhang <i>et al.</i> , 2006
		Lavés avec détergent		23,00%	Ling <i>et al.</i> , 2011
		Lavés avec NaCl		56,60%	Ling <i>et al.</i> , 2011
	Choux de Bruxelles	Lavés avec l'eau du robinet		0,23%	Ling <i>et al.</i> , 2011
		Lavés avec détergent		13,60%	Ling <i>et al.</i> , 2011

Pesticides	Commodités	Nature de la commodité	Facteur de transformation	Pourcentage de réduction	Source
Chlorpyrifos	Choux de Bruxelles	Lavés avec NaCl		25,60%	Ling <i>et al.</i> , 2011
		Lavés avec l'eau du robinet		3,65%	Ling <i>et al.</i> , 2011
	Concombre	Lavés avec détergent		3,91%	Ling <i>et al.</i> , 2011
		Lavés avec NaCl		2,04%	Ling <i>et al.</i> , 2011
	Aubergine	Lavés avec l'eau du robinet		10,60%	Ling <i>et al.</i> , 2011
		Lavés avec détergent		50,70%	Ling <i>et al.</i> , 2011
		Lavés avec NaCl		32,10%	Ling <i>et al.</i> , 2011
		Lavés avec l'eau du robinet		36,30%	Ling <i>et al.</i> , 2011
	Soja	Lavés	0,82	11,20%	Kaushik <i>et al.</i> , 2009
	Pêches	Lavées	<0,33		Balinova <i>et al.</i> , 2006
λ-cyhalothrine	Orange	Jus	<0,1		JMPR 2008
	Pomme	Jus	1		JMPR 2008
		Lavées	1		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003
		Lavées et essuyées	1		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003
		Bouillies	1		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003
		Epluchées	0,13 - 0,15		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003
	Raisins	Jus	<0,5		JMPR 2008
		Raisins secs	3		JMPR 2008
		Vin	0,85		Holland <i>et al.</i> , 1994
	Tomates	Jus	0,06		JMPR 2008
Cyromazine		Concentré	0,31		JMPR 2008
		Cuits	1,68		Rückstandsdaten aus dem deutschen Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel.
	Epinards	Lavés	0,3		Lee <i>et al.</i> , 2009
	Poivrons	Lavés et blanchis	< 0,09		Lee <i>et al.</i> , 2009
		Lavées	0,71		JMPR 2007
	Tomates	Jus	0,75		JMPR 2007
		Conservé	0,53		JMPR 2007
		Purée	1,2		JMPR 2007
		Concentré	2,1		JMPR 2007
		Ketchup	0,84		JMPR 2007
Pommes-de-terre		Epluchées et lavées	0,9		JMPR 2007
		Chips	1,3		JMPR 2007
		Granules	2,8		JMPR 2007

Pesticides	Commodités	Nature de la commodité	Facteur de transformation	Pourcentage de réduction	Source	
Deltaméthrine	Pomme	Jus	<0,09		JMPR 2002	
		Lavées	1		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003	
		Lavées et essuyées	1		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003	
		Bouillies	1		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003	
	Tomates	Epluchées	0,2-0,14		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003	
		Purée	<0,4		JMPR 2002	
	Epinards	Concentré	<0,4		JMPR 2002	
		Ebullition	0,8		Holland <i>et al.</i> , 1994	
	Difenoconazole	Pomme	Lavées	0,71		Rückstandsdaten aus dem deutschen Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel.
			Jus	<0,02		JMPR 2007
Raisins		Jus	0,18		Rückstandsdaten aus dem deutschen Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel.	
		Compote	0,14		JMPR 2007	
		Compote	<0,83		Rückstandsdaten aus dem deutschen Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel.	
		Séchées	1,8		Rückstandsdaten aus dem deutschen Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel.	
Carottes		Jus	<0,5		Rückstandsdaten aus dem deutschen Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel.	
		Raisins secs	1,2		JMPR 2007	
		Jus	0,055		JMPR 2007	
		Consève	0,04		JMPR 2007	
Diméthoate	Tomates	Jus	0,22		JMPR 2007	
		Purée	0,66		JMPR 2007	
		Consève	0,065		JMPR 2007	
		Pulpe	0,14		BVL 2002, JMPR 1998, 2003	
	Orange	Jus	0,14		BVL 2002, JMPR 1998, 2003	
		Jus	0,21		JMPR 1998, 2003	
	Raisins	Lavage + séchage au four		81,00%	Kaushik <i>et al.</i> , 2009	
		Jus		72,7-77,6%	Kaushik <i>et al.</i> , 2009	
		Tomates	Concentré		71,0-81,6%	Kaushik <i>et al.</i> , 2009
			Lavage ac une solution d'ac. Acétique		91,50%	Kaushik <i>et al.</i> , 2009
		Lavage ac une NaCl 10%		90,80%	Kaushik <i>et al.</i> , 2009	

Pesticides	Commodités	Nature de la commodité	Facteur de transformation	Pourcentage de réduction	Source
Diméthoate	Tomates	Lavées à l'eau du robinet		18,80%	Kaushik <i>et al.</i> , 2009
	Pommes-de-terre	Ebullition (30minutes)		37-53%	Kaushik <i>et al.</i> , 2009
	Choux	Ebullition (30minutes)		56-86%	Kaushik <i>et al.</i> , 2009
	Mangue	Epluchée		100,00%	Kaushik <i>et al.</i> , 2009
	Orange	Jus	0,21		BVL 2002, JMPR 1998,2003
Ométhoate	Dithiocarbamates	Pulpe	0,88		BVL 2002
		Pulpe	0,87		BVL 2002
		Cuite à 100°C		74% (maneb)	Kaushik <i>et al.</i> , 2009
		Cuite à 100°C		28% ETU	Kaushik <i>et al.</i> , 2009
		Stérilisation à 121°C pdt 15min		ND% (maneb)	Kaushik <i>et al.</i> , 2009
	Tomates	Stérilisation à 121°C pdt 15min		32% ETU	Kaushik <i>et al.</i> , 2009
		Lavées		43,00%	M.J. Chavarri <i>et al.</i> , 2005
		Pulpe	1 (mancozeb)		Burchat <i>et al.</i> , 1998
		Jus	0,89 (mancozeb)		Burchat <i>et al.</i> , 1998
		Lavées	0,1 (mancozeb)		Burchat <i>et al.</i> , 1998
Imazail	Carottes	Pulpe	1 (mancozeb)		Burchat <i>et al.</i> , 1998
		Jus	0,5 (mancozeb)		Burchat <i>et al.</i> , 1998
		Lavées	< 0,10 (mancozeb)		Burchat <i>et al.</i> , 1998
		Cuisson 15 min	0,07-0,09 (mancozeb)		Holland <i>et al.</i> , 1994
		Cuisson 15 min		18% ETU	Holland <i>et al.</i> , 1994
	Epinards	Lavées		53,00%	M.J. Chavarri <i>et al.</i> , 2005
		Asperges		75,00%	M.J. Chavarri <i>et al.</i> , 2005
		Epluchées		100,00%	M.J. Chavarri <i>et al.</i> , 2005
	Poivrons	Blanchies		> 99%	M.J. Chavarri <i>et al.</i> , 2005
		Epluchées et détrognés			G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Jus	0,3 (thiram)		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
	Pomme	Wet pomace	1 (thiram)		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Dry pomace	4 (thiram)		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Epluchées à la chaleur		29% (thiram)	M.J. Chavarri <i>et al.</i> , 2005
Imazail	Pêches	Jus	0,1 (ziram)		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Wet pomace	1 (ziram)		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Dry pomace	2 (ziram)		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Decoupe des feuilles	0,13 (ziram)		G. Timme <i>et al.</i> , 2001
		Pulpe	0,05		BVL 2002, ATLANTA 2007
	Raisins	Pulpe	0,07		BVL 2002, ATLANTA 2007

Pesticides	Commodités	Nature de la commodité	Facteur de transformation	Pourcentage de réduction	Source
Imazail	Citron vert	Pulpe	0,15		BVL 2002, ATLANTA 2007
	Mandarine	Pulpe	0,05		BVL 2002, ATLANTA 2007
	Mineola	Pulpe	0,1		BVL 2002, ATLANTA 2007
	Orange	Pulpe	0,04		BVL 2002, ATLANTA 2007
		Lavées à 20°C	0,8		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Lavées à 50°C	0,6		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Marmelade au micro-ondes	1,6		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Marmelade cuite traditionnellement	1,5		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
	Pomelo	Pulpe	0,03		BVL 2002, ATLANTA 2007
	Citron	Pulpe	0,06		BVL 2002, ATLANTA 2007
	Banane	Pulpe	0,52		BVL 2002, ATLANTA 2007
	Clausellina	Pulpe	0,03		ATLANTA 2007
	Satsuma	Pulpe	0,05		ATLANTA 2007
	Tomates	Jus	0,5		JMPR 2001
Iprodione		Purée	0,5		JMPR 2001
		Ketchup	0,9		JMPR 2001
		Pulpe	0,12		Burchat <i>et al.</i> , 1998
		Jus	0,75		Burchat <i>et al.</i> , 1998
		Lavées	0,54		Burchat <i>et al.</i> , 1998
	Carottes	Pulpe	0,62		Burchat <i>et al.</i> , 1998
		Jus	0,86		Burchat <i>et al.</i> , 1998
		Lavées	0,54		Burchat <i>et al.</i> , 1998
	Pommes	Lavées	1		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003
		Lavées et essuyées	1		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003
		Bouillies	1		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003
	Poivrons	Lavés	0,2		Lee <i>et al.</i> , 2009
		Lavés et blanchis	0,12		Lee <i>et al.</i> , 2009
	Pommes	Epluchées	0,11-0,09		Rasmussen <i>et al.</i> , 2003
Linuron	Prunes	Lavées 5 min	0,5		Cabras <i>et al.</i> , 1998
	Raisins	Vin	0,13 - 0,3		Holland <i>et al.</i> , 1994
					Rückstandsdaten aus dem deutschen Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel.
	Carottes	Jus	0,29		Rückstandsdaten aus dem deutschen Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel.
		Cuites	0,3		Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel.

Pesticides	Commodités	Nature de la commodité	Facteur de transformation	Pourcentage de réduction	Source
Phenmedipham Pirimicarb	Pomme	Jus	0,745		JMPR 2006
		Compote	0,5		JMPR 2006
		Lavées pls fois avec H2O distillée	0,7		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Lavées et épluchées	0,2		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Epluchées		60-80%	G. Timme <i>et al.</i> , 2004
Pirimicarb	Prunons Prunes	Lavés pls fois avec H2O distillée	0,7		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Pruneaux	2		JMPR 2006
		Pruneaux	2,11		Rückstandsdaten aus dem deutschen Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel.
		Lavées	0,89		Rückstandsdaten aus dem deutschen Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel.
		Compote	0,8		Rückstandsdaten aus dem deutschen Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel.
Propamocarb	Tomates	Conserve	0,5		Rückstandsdaten aus dem deutschen Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel.
		Jus	0,7		JMPR 2006
		Purée	1,49		JMPR 2006
		Lavés pls fois avec H2O distillée	0,6		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Purée	1,4		JMPR 2006
Tebuconazole	Choux	Concentré	3		JMPR 2006
		Cuit	0,17		JMPR 2006
		Choucroute	0,15		JMPR 2006
		Choucroute en conserve	0,18		JMPR 2006
		Jus de choucroute	0,33		JMPR 2006
Tebuconazole	Raisins	Jus de choucroute en conserve	0,32		JMPR 2006
		Jus	0,21		JMPR 1994, 1997
		Jus	0,05		Rückstandsdaten aus dem deutschen Zulassungsverfahren für Pflanzenschutzmittel.
		Vin	0,25		JMPR 1994, 1997
		Raisins secs	1,2		JMPR 1994, 1997
		Jus	0,4		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Wet pomace	1,8		G. Timme <i>et al.</i> , 2004

Pesticides	Commodités	Nature de la commodité	Facteur de transformation	Pourcentage de réduction	Source
Tebuconazole	Raisins	Séchés au soleil (raisins secs)	1		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Séchés au four (raisins secs)	2		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
	Banane	Epluchures	1 - 2		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Pulpe	0,8 - 1		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
	Pomme	Jus	0,1		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Jus	0,42		JMPR 1994, 1997, 2008
		Pomace	18		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Compote	0,5		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
		Compote	0,42		JMPR 1994, 1997, 2008
		Séchées	0,5		G. Timme <i>et al.</i> , 2004
Tebuconazole	Orange	Jus	<0,2		JMPR 1994, 1997, 2008
	Orange	Epluchées	<0,22		JMPR 1994, 1997, 2008
		Marmelade	0,4		JMPR 1994, 1997, 2008
		Epluchures	4		JMPR 1994, 1997, 2008
		Lavées	0,7		JMPR 1994, 1997, 2008
	Prunes	Conserves	0,7		JMPR 1994, 1997, 2008
		Compote	1		JMPR 1994, 1997, 2008
	Pruneaux		3		JMPR 1994, 1997, 2008
	Orange	Jus	1		Thiamethoxam - Draft Assessment Report,
		Marmelade	1		Thiamethoxam - Draft Assessment Report,
Thiamethoxam	Citron	Jus	1		Thiamethoxam - Draft Assessment Report,
	Pomme	Jus	1		Thiamethoxam - Draft Assessment Report,
	Tomates	Jus	1		Thiamethoxam - Draft Assessment Report,
			1		Thiamethoxam - Draft Assessment Report,
	Pommes-de-terre	Epluchées	1		RMS: Spanien, 2001, List of Endpoints, Mai
					Thiamethoxam - Draft Assessment Report,
		Cuites	1		RMS: Spanien, 2001, List of Endpoints, Mai
					Thiamethoxam - Draft Assessment Report,
		Chips	1		RMS: Spanien, 2001, List of Endpoints, Mai
					Thiamethoxam - Draft Assessment Report,
		Frites	1		RMS: Spanien, 2001, List of Endpoints, Mai

ANNEXE II : TESTS DES METHODES D'ANALYSES POUR LES EPLUCHURES

Un bilan de masse était prévu pour les carottes et les melons. Ceci implique d'analyser séparément les épluchures et la chair.

L'analyse des épluchures pouvait poser problème d'un point de vue analytique par rapport à l'analyse de la totalité de la commodité (contenu en eau moins important, éventuels problèmes de rendement,...).

Il fallait donc vérifier que les méthodes utilisées habituellement pour les analyses de fruits et légumes en routine soient applicables aux épluchures.

A. ANALYSE DES DITHIOCARBAMATES

Pour les melons, les épluchures ont été broyées et enrichies en thiram. L'analyse des dithiocarbamates s'est très bien déroulée, offrant un rendement de 80%.

B. ANALYSE DU CHLORPYRIFOS SUR LES EPLUCHURES DE CAROTTES (GC-ECD, GC-NPD)

Pour les épluchures de carottes, il faudra analyser la teneur en chlorpyrifos. Elles ont donc été enrichies en chlorpyrifos et analysées. Le rendement fut de 87,5%.

C. MULTI-LC-MS/MS

Pour l'analyse des épluchures de carottes, nous avons eu les résultats repris dans le tableau ci-dessous *Tableau 48*.

Tableau 48 : Résultats des analyses des épluchures de carottes enrichies à 100ppb

CAROTTE	Concentrations en Pesticides (ppb)				
	Dimethoate	Linuron	Boscalid	Tebuconazole	Difenoconazole
Carottes Blanc	-	2,4	6,9	3,2	10,5
Carottes enrichies 1 (ppb mesurés-ppb blanc)	75,7	103,2	92,0	107,8	99,7
Carottes enrichies 2 (ppb mesurés-ppb blanc)	71,8	80,9	84,1	93,6	92,6
Moyenne	73,8	92,1	88,1	100,7	96,2
Pourcentage	73,8	92,1	88,1	100,7	96,2
STDEV	2,8	15,8	5,6	10,0	5,0
RSD	3,7%	17,1%	6,3%	10,0%	5,2%

Pour l'analyse des épluchures de melons, nous avons dû faire un deuxième essai car le melon de départ contenait énormément d'imazalil et donc il a fallu faire un enrichissement plus important pour voir la différence par rapport au blanc. Les résultats sont repris dans le *Tableau 49*.

Tableau 49 : Résultats des analyses des épluchures de melons enrichis à 100ppb sauf pour l'imazalil qui est enrichi à 500ppb

MELON	Concentrations en Pesticides (ppb)			
	Cyromazine	Acetamiprid	Carbendazim	Imazalil
Melons Blanc	19,0	-	-	1369,3
Melons enrichis 1 (ppb mesurés-ppb blanc)	95,6	116,4	104,4	497,7
Melons enrichis 2 (ppb mesurés-ppb blanc)	84,8	96,6	84,9	306,3
Moyenne	90,2	106,5	94,7	402,0
Pourcentage	90,2	106,5	94,7	80,4
STDEV	7,6	14,0	13,8	135,3
RSD	8,5%	13,1%	14,6%	33,7%

En conclusion, les résultats pour l'analyse des épluchures sont satisfaisants car on obtient des rendements d'extraction compris entre 74% et 106% ce qui est conforme au SANCO/12495/2011 (70% < rendement < 120%) [SANCO, 2011].

ANNEXE III : ESTIMATION DE L'INGESTION DES
RESIDUS DE PESTICIDES ETUDIES DANS CE TRAVAIL

Tableau 50 : Pourcentage de DJA en fonction des différents PFs

Données de consommation		Epinards - culture 1 - femmes					
Masse corporelle moyenne pour une femme (kg)	64,7						
Masse corporelle moyenne pour un homme (kg)	77,9						
Consommation de fruits (kg/j) pour une femme	0,189						
Consommation de fruits (kg/j) pour un homme	0,156						
Consommation de légumes (kg/j) pour une femme	0,233						
Consommation de légumes (kg/j) pour un homme	0,211						
		Epinards - culture 1 - femmes					
Pesticides	DJA (mg/kg.i)	Ingestion moyenne (mg/kg.i)	% DJA sans PF	%DJA avec PF lavage	%DJA avec PF blanchiment	%DJA avec PF cuisson aux micro- ondes	%DJA avec PF stérilisation
Boscalid	0,04	0,0055	13,67	9,70	7,52	15,31	15,99
Deltamethrine	0,01	0,0006	5,65	5,77	7,07	5,82	4,98
Iprodione	0,06	0,0236	39,27	22,38	16,49	33,38	5,10
Mancozeb	0,05	0,0006	1,16	1,02	1,08	0,71	0,02
Propamocarb	0,29	0,0029	0,99	0,88	0,28	0,99	0,80
Total ingéré		0,0330					
		Melons - culture 1 - femmes					
Pesticides	DJA (mg/kg.i)	Ingestion moyenne (mg/kg.i)	% DJA sans PF	%DJA avec PF épluchage			
Acetamiprid	0,07	0,0001	0,18	0,02			
Carbendazim	0,02	0,0000	0,02	0,01			
Cyromazine	0,06	0,0002	0,38	0,14			
Imazalil	0,025	0,0000	0,11	0,01			
Maneb	0,05	0,0014	2,81	0,25			
Thiamethoxam	0,026	0,0000	0,05	0,00			
Total ingéré		0,0018					

Remarque: Les PFs peuvent être calculés pour des transformations cumulées mais dans ces tableaux, les PFs représentés dans ces tableaux sont uniquement pour une seule transformation.

Carottes - culture 1 - femmes									
Pesticides	DJA (mg/kg.i)	Ingestion moyenne (mg/kg.i)	% DJA sans PF	%DJA avec PF lavage	%DJA avec PF épluchage	%DJA avec PF blanchiment	%DJA avec PF cuisson aux micro- ondes	%DJA avec PF pasteurisation	%DJA avec PF stérilisation
Boscalid	0,04	0,0006	1,48	0,32	0,21	0,74	1,82	1,26	1,49
Chlorpyrifos	0,01	0,0003	3,21	3,27	0,45	3,21	3,21	3,21	3,21
Difenoconazole	0,01	0,0014	13,83	1,49	3,73	11,10	17,46	12,86	17,00
Diméthoate	0,001	0,0000	4,50	3,01	4,85	1,85	5,29	1,22	1,22
Ométhoate	0,0003	0,0000	5,82	5,10	6,46	2,97	5,94	1,57	1,57
Linuron	0,003	0,0001	3,12	1,95	2,78	2,13	2,99	0,32	0,32
Tebuconazole	0,03	0,0006	1,87	0,60	0,95	1,21	2,29	1,60	1,98
<i>Total ingéré</i>		<i>0,0030</i>							
Céleris - culture 1 - femmes									
Pesticides	DJA (mg/kg.i)	Ingestion moyenne (mg/kg.i)	% DJA sans PF	%DJA avec PF découpe des feuilles	%DJA avec PF lavage	%DJA avec PF blanchiment	%DJA avec PF cuisson aux micro- ondes	%DJA avec PF stérilisation	
Azoxystrobine	0,1	0,0003	0,30	0,05	0,19	0,11	0,34	0,24	
Chlorpropham	0,05	0,0002	0,33	0,11	0,16	0,33	0,33	0,33	
λ-cyhalothrine	0,005	0,0001	1,69	0,36	1,69	1,69	1,69	1,69	
Difenoconazole	0,01	0,0009	9,27	0,47	12,48	2,25	12,66	18,22	
Linuron	0,003	0,0000	1,20	0,60	1,20	1,20	1,20	1,20	
Maneb	0,05	0,0001	0,29	0,14	0,29	0,29	0,29	0,29	
Primitcarb + desmethyl-									
Primitcarb	0,035	0,0010	2,72	0,10	3,61	1,64	3,05	1,51	
<i>Total</i>		<i>0,0026</i>							

Remarque: Les PFs peuvent être calculés pour des transformations cumulées mais dans ces tableaux, les PFs représentés dans ces tableaux sont uniquement pour une seule transformation.

ANNEXE IV : PUBLICATION ETHYLENETHIOUREE

ANNEXE V : PUBLICATION EPINARD

ANNEXE VI : PUBLICATION MELON

ANNEXE VII : PUBLICATION CAROTTE

Ces annexes ne sont pas disponibles librement.

Annexe VIII
Tableau du marque-page

Tableau récapitulatif reprenant les pesticides étudiés sur chaque commodité avec leur cible (F=fongicide, I=insecticide, H=Herbicide), leurs propriétés physico-chimiques (solubilité, coefficient de partage octanol-eau (log Kow), mode d'action, la stabilité hydrolytique et la photostabilité), la concentration appliquée et le nombre d'applications

Pesticides	Type	Solubilité dans l'eau (mg/L)	Coefficient de partage octanol-eau	Stabilité hydrolytique à pH 7 (jours)	Photostabilité à pH 7 (jours)	Mode d'action	Dose appliquée (g/ha)	Nombre d'applications
EPINARDS => feuilles consommées	Boscalid	F 4,6 (20°C)	2,96 (21°C)	Stable (20°C)	Stable (20°C)	Contact	~400	2
	Iprodione	F 12,2 (20°C)	3,0 (25°C)	1 (20°C)	67	Contact	~1000	4
	Mancozeb	F 2-20 (T ambiante)	1,8 (20°C)	< 1	3 h (pH 8,8)	Contact	~3500	2
	Propamocarb	F 90000 (20°C)	- 1,2 (20°C)	<10% (50°C - 5)	Stable	Systémique	~1400	2
	Deltaméthrine	I 0,0002 (25°C)	4,6 (25°C)	Stable (25°C)	48	Contact	~20	3
	Phenmedipham	H 1,8 (20°C)	3,59 (22°C)	14,5 h (25°C)	Stable	Systémique	~500	1
CAROTTES => racines consommées	Boscalid	F 4,6 (20°C)	2,96 (21°C)	Stable (20°C)	Stable (20°C)	Contact	~270	2
	Difenoconazole	F 15 (25°C)	4,36 (25°C)	Stable	Stable	Systémique	~260	3
	Tebuconazole	F 36 (20°C)	3,7 (20°C)	Stable	Stable	Systémique	~500	2
	Chlorpyrifos	I 1,05 (20°C)	5,0 (25°C)	72 (25°C)	29,6	Contact	~5000	1
	Diméthoate	I 39800 (25°C)	0,704 (25°C)	68 (25°C)	175 (pH 5)	Systémique	~400	3
	Ométhoate	I Miscible	- 0,74	17 (22°C)	-	Systémique	-	-
MELONS => chair consommée	Linuron	H 63,8 (20°C)	3,0 (20°C)	1460 (20°C)	Stable	Systémique	~740	1
	Carbendazim	F 5-7 (T ambiante)	1,5 (20°C)	320 (22°C)	Stable (pH 5)	Systémique	~320	1
	Maneb	F 178 (20°C)	< - 0,45 (20°C)	208 h (20°C)	Stable	Contact	~2000	3
	Imazalil	F 184 (20°C)	3,66 (20°C)	Stable (25°C)	6,1	Systémique	~100	3
	Acetamiprid	I 2950 (25°C)	0,8 (25°C)	Stable (22-45°C)	34	Systémique	~100	2
	Cyromazine	I 13000 (25°C)	- 0,069 (25°C)	Stable (25°C)	Stable	Contact	~60	3
CELERIS => bâtons consommés (feuilles)	Thiamethoxam	I 4100 (25°C)	- 0,13 (25°C)	640 (25°C)	2,3-3,1 (pH 5)	Systémique	~5	3
	Azoxystrobin	F 6,7 (20°C)	2,5 (20°C)	Stable (25-50°C)	8,7-13,9	Systémique	~200	3
	Difenoconazole	F 15 (25°C)	4,36 (25°C)	Stable	Stable	Systémique	~130	3
	Maneb	F 178 (20°C)	< - 0,45 (20°C)	208 h (20°C)	Stable	Contact	~1600	2
	Cyhalothrine-λ	I 0,005 (20°C)	7,0 (20°C)	Stable (25°C)	13	Contact	~19	2
	Pirimicarb	I 3100 (20°C)	1,7 (20°C)	<5% (25°C - 30)	2,28 h	Systémique	~200	3
CELERIS => racines consommées	Chlorpropham	H 110 (20°C)	3,76 (20°C)	> 365 (20°C)	83,3	Contact	~2100	1
	Linuron	H 63,8 (20°C)	3,0 (20°C)	1460 (20°C)	Stable	Systémique	~1300	1