



N° D'ORDRE : 01/2012-M/G.P

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

**Université des Sciences et de la Technologie HOUARI BOUMEDIENE**

**FACULTE DE GENIE MECANIQUE ET DE GENIE DES PROCEDES**

## **MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de MAGISTER**

En : GENIE DES PROCEDES

**Spécialité** : Génie de l'environnement

Par : **Mme BOUMEDINE Katia**

**Etude de la photo dégradation directe et photo induite  
de quelques pesticides dans l'eau**

Soutenu publiquement le : 27 / 09 / 2012, devant le jury composé de :

Mr D.ABDESSEMED	Professeur à l'USTHB	Président
Mr A.BOUDINA	Maître de conférences/A, à l'USTHB	Directeur de mémoire
Mme F. BENTAHAR	Professeur, à l'USTHB	Examinatrice
Mme F. KAOUAH	Maître de conférences/A, à l'USTHB	Examinatrice
Mr A. MOUHEB	Maître de conférences/A, à l'USTHB	Examinateur

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire d'Analyse Organique Fonctionnelle de la Faculté de chimie de l'Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene (USTHB), sous la direction scientifique de Monsieur *A. BOUDINA* Maître de conférences à la Faculté de Chimie de l'USTHB, auquel je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour avoir dirigé ce travail avec beaucoup de patience, pour sa compréhension et pour la confiance qu'il m'a toujours témoignée.

Mes vifs remerciements vont aussi au professeur *A. BAALIOUAMER*, Directeur du laboratoire d'Analyse Organique Fonctionnelle de la Faculté de chimie, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, sans oublier tous ses encouragements.

Mes remerciements vont au Professeur *B.Y. MEKLATI* Directeur du CRAPC pour son aide et ses encouragements.

J'exprime particulièrement ma gratitude à M<sup>f</sup> *C. GERARD* Directeur de l'institut provençal d'information et d'analyses sanitaires (MONS-Belgique) et son équipe du laboratoire de l'environnement ; pour leur aide précieuse durant mon séjour au laboratoire et tout particulièrement à Mlle Stefanie GOSSET.

Je suis gré à M<sup>f</sup> *D. ABDESSEMED*, Professeur à l'USTHB (FGM), pour l'honneur qu'il me fait d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Je remercie *M<sup>me</sup> F. BENTAHAR*, Professeur à l'USTHB (FGM), pour avoir accepté d'être Examinatrice dans ce jury.

Je remercie aussi *M<sup>me</sup> F. KAOUAH*, Maître de conférences à l'USTHB (FCH), pour avoir accepté d'être Examinatrice dans ce jury.

Je remercie également *M<sup>f</sup> A. MOUHEB*, Maître de conférences à l'USTHB (FGM), pour avoir accepté d'être Examineur dans ce jury.

Une partie de mon travail n'aurait pu s'accomplir, sans les encouragements et l'aide généreuse et précieuse de tout le personnel de l'ITAF (institut techniques d'arboriculture fruitière) station de Médéa et je remercie Mme la Directrice *M<sup>me</sup> K. BENYOUCEF* qui m'a ouvert les portes de sa station

Je remercie Mr le Directeur du CNCC *M<sup>f</sup> B. MOKADEM* (le Centre National de Contrôle des Semences) pour l'aide et l'orientation dont j'ai bénéficiée.

Je ne saurais oublier les judicieux conseils et la formation dont j'ai bénéficiés auprès de *toute l'équipe du laboratoire de chromatographie* de la Faculté de chimie de l'USTHB pendant toutes les années que j'ai passé au laboratoire.

Ma profonde amitié et ma reconnaissance vont à *toutes mes amies de la faculté de chimie, ainsi qu'à tout le personnel de la bibliothèque de la faculté de physique* qui m'ont précieusement accompagnée lors de la réalisation de se travail et de leur soutien moral.

Mes sincères amitiés vont à *Mlle F.HIRED et à Mr F.AMIROUCHE de la faculté de génie civil.*

Je ne saurais terminer sans remercier tous les membres de l'équipe du Laboratoire d'organique fonctionnelle et le personnel du CRAPC pour l'ambiance de travail et la bonne humeur qu'ils m'ont permis de partager ; merci à tous.

Enfin, une pensée bien évidemment à toute ma famille en particulier mes parents, merci à eux pour leurs encouragements perpétuels et leur patience exemplaire.

MERCI à tous.

## Abréviations

ALPHYT : Algérienne des phytosanitaires

ASMIDAL : Groupe Industriel au Service du Développement Agricole

ASE : Extraction Accélérée par Solvant (Accelerated Solvant Extraction)

AZX : Azoxystrobine

CEE : Communauté économique européenne

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

DAR : Délai avant récolte

DAD : Diode Area detector

DDT : Dichloro-diphényl-trichloroéthane)

DJA : Dose journalière admise (mg/kg/j)

DL50 : Dose létale (mg/kg)

DT50 : Demi-vie de dissipation

ECD : Electron capture detector

ESI : Ionisation Electro Spray

FAO : Food and Agriculture Organization

HPLC: Chromatographie en phase liquide a haute performance

HPLC/ MS: Chromatographie en phase liquide couple a la spectrométrie de masse

IPCS: International Program on Chemical Safety

ORP : Observatoire des Résidus de Pesticides

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Pop's : Polluants organiques persistants

UIPP : Union des Industries de la Protection des Plantes

UV : Ultra violet

W : Watt puissance électrique

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : demande de pesticides par région du monde .....	6
<b>Figure 2</b> : demande de pesticides par catégorie de produit .....	6
<b>Figure 3</b> : Les quatre 1 <sup>ers</sup> marchés dans le monde en 2006 en millions d'euros .....	7
<b>Figure 4</b> : tonnage des substances actives vendues .....	8
<b>Figure 5</b> : Sites d'entreposage de fûts contenant des pesticides .....	9
<b>Figure 6</b> : Comportement des pesticides dans l'environnement .....	10
<b>Figure 7</b> : Interactions entre pesticides et écosystèmes .....	14
<b>Figure 8</b> : Formule chimique de l'azoxystrobine .....	18
<b>Figure 9</b> : azoxystrobine agit par blocage de la respiration au niveau des mitochondries.....	21
<b>Figure 10</b> : Photo microscopique à balayage montrant une spore de rouille germée et tuée par l'azoxystrobine .....	21
<b>Figure 11</b> : Evolution d'un cycle végétatif de septoria tritici à travers une coupe de feuille de blé .....	22
<b>Figure 12</b> : Dispositif d'essai biologique mesurant la redistribution systémique le long d'une feuille de blé .....	22
<b>Figure 13</b> : Action translaminaire et systémie .....	23
<b>Figure 14</b> : Différent plan d'attaque de l'AZX .....	23
<b>Figure 15</b> : Schéma représentant le principe du fonctionnement de l'ASE .....	26
<b>Figure 16</b> : Extracteur automatique de marque ASE 200-Dionex .....	26
<b>Figure 17</b> : Dispositif de purification .....	27
<b>Figure 18</b> : Turbo évaporateur Turbo Vap II Zymark .....	28
<b>Figure 19</b> : schéma de l'évaporateur rotatif .....	28
<b>Figure 20</b> : Moisture analyser de marque Toledo .....	29
<b>Figure 21</b> : Un schéma d'une interface ESI .....	32
<b>Figure 22</b> : Un schéma du mécanisme de formation des ions .....	32

<b>Figure 23 :</b> Dispositif expérimental utilisé pour les irradiations .....	35
<b>Figure 24 :</b> Raies d'émission de la lampe HPK 125W .....	36
<b>Figure 25:</b> Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX conservé au noir .....	37
<b>Figure 26:</b> Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX après 10 min d'irradiation..	38
<b>Figure 27:</b> Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX après 1h d'irradiation .....	38
<b>Figure 28:</b> Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX après 5h d'irradiation .....	39
<b>Figure 29:</b> Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX après 18h d'irradiation .....	39
<b>Figure 30:</b> Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX après 27h d'irradiation .....	40
<b>Figure 31:</b> Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX après 36h d'irradiation .....	40
<b>Figure 32:</b> Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX après 67h d'irradiation .....	41
<b>Figure 33 :</b> Droite d'étalonnage de l'AZX par HPLC/DAD .....	42
<b>Figure 34 :</b> (1) Evolution de la concentration de l'AZX dans le noir, (2): Evolution l'AZX sous irradiation HPK dans le réacteur en pyrex .....	43
<b>Figure 35:</b> Evolution des principaux photo produits de l'AZX obtenu durant l'irradiation ..	45
<b>Figure 36:</b> Le raisin « dattier de Beyrouth » de la station de Médéa .....	49
<b>Figure 37 :</b> Site de l'échantillonnage « station de Médéa » .....	50
<b>Figure 38 :</b> Schéma représentant le protocole d'extraction utilisé .....	52
<b>Figure 39 :</b> Courbe d'étalonnage de l'azoxystrobine obtenue par HPLC .....	55
<b>Figure 40 :</b> taux de résidu dans la 1 <sup>ère</sup> rangée .....	57
<b>Figure 41 :</b> taux de résidu dans la 2 <sup>ème</sup> rangée .....	57
<b>Figure 42 :</b> taux de résidu dans la 3 <sup>ème</sup> rangée .....	57
<b>Figure 43 :</b> Droite d'étalonnage par GC/ECD .....	64
<b>Figure 44 :</b> courbe d'étalonnages par HPLC/MS .....	67

**Figure 45** : courbe d'étalonnage et résultats des taux de résidus des 3 échantillons de sol par HPLC/MS .....68

## Liste des tableaux

**Tableau 1** : Quelques LMR du raisin dans le monde .....17

**Tableau 2** : Propriétés physiques et chimiques de la matière active Azoxystrobine .....19

**Tableau 3** : Propriétés physiques et chimiques de la formulation « ortiva » 250g/l .....20

**Tableau 4** : conditions de l'analyse des échantillons soumis a la photodegradation .....37

**Tableau 5** : les différentes aires correspondantes aux concentrations d'étalons injectés .....41

**Tableau 6** : Cinétique d'irradiation de l'AZX .....42

**Tableau 7** : Evolution des principaux photo produits pendant l'irradiation de l'AZX .....44

**Tableau 8**: conditions d'analyses des résidus d'AZX dans le raisin .....53

**Tableau 9** : Calcul du rendement de l'extraction .....54

**Tableau 10** : les différentes aires correspondantes aux concentrations d'étalons .....55

**Tableau 11** : Droite d'étalonnage obtenue .....56

**Tableau 12**: Taux de résidus dans le raisin après 7 jours du 1<sup>er</sup> traitement .....56

**Tableau 13**: Taux de résidus dans le raisin après le 2eme traitement .....57

**Tableau 14**: Taux de résidus moyen pour toutes les récoltes .....57

**Tableau 15** : Teneur en humidité du sol .....61

**Tableau 16** : Conditions opératoires d'analyses par CPG .....62

**Tableau 17**: Calcul du rendement de l'extraction .....63

**Tableau 18** : Différentes aires correspondantes aux concentrations d'étalons .....64

**Tableau 19** : Résultat de la droite d'étalonnage .....64

**Tableau 20** : Taux d'AZX trouvé dans le sol en µg/ml .....65

**Tableau 21** : Taux d'AZX trouvé dans le sol en mg/kg .....65

**Tableau 22** : Conditions opératoires d'analyses par HPLC/MS .....66

**Tableau 23** : Taux d'AZX trouvé dans le sol en mg/kg par HPLC/MS.....66

## SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....	1
----------------------------	---

### PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

#### CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES PESTICIDES

I.1. Définition.....	3
I.2. Classification des pesticides.....	3
1.2.1. La première classification des pesticides .....	3
1.2.2. La deuxième classification des pesticides .....	5
I.3. Utilisation des pesticides et législation .....	5
I.3.1. Dans le monde .....	5
I.3.2. En Algérie .....	7
I.3.3. La réglementation nationale .....	9
I.4. Impact des pesticides sur l'environnement.....	10
I.5. Propriétés physico-chimiques et potentielles de transfert des pesticides dans l'environnement .....	11
I.6. Les phénomènes de dégradations .....	12
I.6.1. Photodégradation .....	12
I.6.2. Dégradation biologique .....	13
I.7. Interactions entre pesticides et écosystèmes .....	13
I.7.1. Dispersion dans le sol .....	15
I.7.2. Dispersion dans l'eau .....	15
I.8. Limite Maximale en Résidu (LMR) .....	16
I.9. Toxicité des pesticides .....	17
I.10. Présentation du fongicide étudié .....	18

I.10.1. L'azoxystrobine .....	18
I.10.2. Structure de l'azoxystrobine .....	18
I.10.3. Caractéristiques de l'azoxystrobine .....	19
I.10.4. La forme commerciale « ortiva » .....	19
I.10.5. Mode d'action de l'azoxystrobine .....	20

## **CHAPITRE II : TECHNIQUES EXPERIMENTALES**

II.1 Prélèvement .....	24
II.2 Extraction des pesticides .....	24
II.2.1 La macération .....	25
II.2.2 Extraction par solvant accéléré (ASE) .....	25
II.3 Purification .....	27
II.4 Concentration .....	27
II.5. Taux d'humidité .....	29
II.6. Analyse des pesticides .....	29
II.6.1. Principe de la chromatographie .....	29
II.6.2. Chromatographie en phase liquide (HPLC) .....	30
II.6.2.1. Détecteur UV .....	31
II.6.2.2. Détecteur DAD .....	31
II.6.3. Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (HPLC/MS) .....	31
II.6.3.1. Ionisation par électrospray .....	32
II.6.4. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) .....	33
II.6.4.1. Détecteur ECD .....	33
II.7. Principe de l'étalonnage externe .....	33

## **DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE**

### **CHAPITRE I : PHOTODEGRADATION DE L'AZOXYSTROBINE DANS L'EAU**

I.1. Introduction .....	34
I.2. Matériels et méthodes .....	34
I.3. Produits et réactifs chimiques.....	34
I.4. Dispositif d'irradiation.....	35
I.5. Identification et quantification .....	36
I.5.1. Conditions d'analyses .....	37
I.6. Résultats obtenus .....	37
I.6.1. Evolution de la dégradation par HPLC.....	37
I.6.2. Evolution quantitative de l'AZX.....	41
I.6.3. Evolution qualitative des principaux photoproduits.....	44
I.7. Conclusion .....	46

### **CHAPITRE II : COMPORTEMENT DE L'AZOXYSTROBINE DANS UNE MATRICE VEGETALE (RAISIN DE TABLE)**

II.1 Introduction .....	47
II.2 Présentation de la matrice végétale .....	48
II.2.1. Classification botanique .....	48
II.3. Présentation du site de l'échantillonnage .....	49
II.4. Traitement du raisin avec l'ortiva .....	50
II.5. Echantillonnage .....	51
II.6. Extraction et de purification .....	51

II.6.1. Mode opératoire .....	51
II.7. Identification et quantification .....	53
II.7.1. Conditions d'analyses .....	53
II.8. Résultats obtenus .....	53
II.8.1. Rendement de la méthode d'extraction .....	53
II.8.2. Méthode de calcul du rendement .....	54
II.8.3. Etalonnage de la méthode .....	54
II.8.4. Méthodes de calculs des concentrations en mg/kg .....	56
II.8.5. Quantification des taux de résidus .....	56
II.9. Discussions .....	58
II.10. Conclusion .....	59

### **CHAPITRE III : COMPORTEMENT DE L'AZOXYSTROBINE DANS LE SOL**

III.1. Introduction .....	60
III.2. Echantillonnage .....	60
III.3. Mesure du taux d'humidité .....	60
III.4. Extraction de l'AZX à partir du sol .....	61
III.5. Filtration et évaporation .....	61
III.6. Purification sur cartouche .....	61
III.7. Analyse et quantification .....	62
III.7. 1. Conditions d'analyses .....	62
III.8. Résultats .....	63

III.8.1. Rendement de la méthode d'extraction .....	63
III.8.2. Méthode de calcul du rendement .....	63
III.8.3. Résultats de l'analyse par CPG/ECD .....	63
III.9. Résultats obtenus par HPLC/MS .....	65
III.9.1. Analyse et quantification .....	65
III.9.2. Conditions d'analyses .....	66
III.10. Résultats et discussions.....	69
III.11. Conclusion .....	70
CONCLUSION GENERALE .....	71
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	73

# **Introduction générale**

## INTRODUCTION GENERALE

L'agriculture constitue l'une des plus anciennes activités humaines, elle est depuis longtemps l'objet d'attaques parasitaires. Autrefois attribuées à la malédiction céleste, ensuite les pertes de récolte ont été associées à la présence de plantes ou insectes nuisibles [1].

Les pesticides sont l'une de ces découvertes considérables qui modifient la manière de vivre de l'humanité entière. La première utilisation en agriculture date de l'antiquité. Le développement des pesticides a suivi ensuite celui de la chimie minérale. Les pesticides alors employés sont des dérivés de composés minéraux comme, les composés de l'arsenic, du cuivre, du zinc, du manganèse ou de sulfate.

Dès la seconde guerre mondiale, les pesticides ont profité du développement rapide de la chimie organique. C'est à cette époque qu'apparaissent un grand nombre de composés organiques. Les recherches militaires avaient déjà perfectionné des gaz de combat qui, à défaut d'être utilisés pendant les hostilités, le furent contre les insectes ravageurs [2].

L'utilisation de produits phytosanitaires s'est largement répandue ces dernières années pour protéger les cultures et récoltes des organismes nuisibles, contribuant ainsi à améliorer leurs rendements, leurs qualités et leurs conservations. Mais ces produits peuvent avoir des effets nocifs sur la santé humaine et animale.

Le risque toxicologique dû à la consommation de produits traités dépend de la nature du pesticide, du climat, du matériel biologique traité et des conditions d'emplois de ces substances phytosanitaires.

Pour obtenir un produit conforme, le producteur doit donc se référer à la réglementation nationale ou en cas d'importation, à la réglementation du pays exportateur [3].

Pour protéger le consommateur et les produits phytosanitaires et respecter le milieu naturel, il est important de définir des limites maximales des résidus (LMR) présents sur les parties consommables du végétal, des délais d'emploi avant récolte et de la rémanence des produits phytosanitaires. La (LMR) est fixée par la commission des communautés européennes [4].

La mise en œuvre des stratégies destinées à limiter la contamination de l'environnement par des limitations d'emploi de pesticides reste insuffisante. Cependant l'approche photochimique reste parmi les voies les plus importantes pour faire face à ces problèmes [5].

La photo dégradation est l'un des processus majeur de la disparition des pesticides peu biodégradables dans l'environnement. Ainsi, une mise au point de méthodes d'analyses de

résidus et des produits de dégradation a été menée sur un fongicide très utilisé dans l'agriculture Algérienne: l'azoxystrobine.

Ce dernier est représentatif d'une grande famille récente et couramment employé dans le cadre de la lutte contre les maladies fongiques de la vigne [6].

Dans la première partie de ce travail, nous ferons une revue bibliographique sur les pesticides et les propriétés du fongicide étudié ainsi que des méthodes d'analyses utilisées tout au long de ce travail pour l'analyse de ce composé.

Dans la deuxième partie de cette étude, la photo dégradation dans l'eau de l'azoxystrobine a été suivie au laboratoire en utilisant un simulateur de la lumière solaire.

Dans la troisième partie, les méthodes de préparation de l'échantillon ainsi que les résultats des analyses ont été développées en vue de l'obtention de données sur la disparition du pesticide; dans le raisin de table ainsi que dans le sol agricole du vignoble.

# **PREMIERE PARTIE**

## **Synthèse bibliographique**

**CHAPITRE I**

**GENERALITES SUR LES**

**PESTICIDES**

## I.1. Définition

Le mot pesticide est dérivé du mot anglais peste (ravageur). Il désigne les substances ou les préparations utilisées pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes jugés indésirables, qu'il s'agisse de plantes, d'animaux, de champignons ou de bactéries [7].

Dans le domaine de l'agriculture, on les appelle produits phytosanitaires, ils sont utilisés pour la conservation des récoltes. Ils permettent l'amélioration de la quantité et de la qualité des denrées alimentaires et peuvent diminuer l'ampleur des maladies pouvant être transmises à l'homme. Également utilisés pour l'entretien des zones non agricoles comme les espaces publics, les infrastructures de transport et les jardins de particuliers [8].

Néanmoins, les pesticides restent des produits toxiques qui présentent des dangers potentiels pour la santé de l'homme et des animaux ainsi que la dégradation de l'environnement en général.

La plus part des pesticides utilisés aujourd'hui sont des composés organiques, constitués de deux types:

- Une ou plusieurs matières actives qui confèrent au produit l'effet désiré.
- Un ou plusieurs additifs qui renforcent l'efficacité, la sécurité du produit et sa facilité d'utilisation [9].

## I.2. Classification des pesticides

D'une manière générale, ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre mais aussi en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose. On trouve différentes familles chimiques de pesticides [10, 11].

- pesticides organiques naturels d'origine végétale
- pesticides inorganiques
- pesticides organiques de synthèse
- bio pesticides

### 1.2.1. Première classification des pesticides

Cette classification repose sur le type de parasites à contrôler, il existe trois grandes familles principales:

**a. Les herbicides :** ce sont les plus utilisés dans le monde, ils sont destinés à éliminer les végétaux rentrant en concurrence avec les plantes à protéger, ils possèdent plusieurs modes d'actions tels que :

- Les perturbateurs de la photosynthèse.

- Les perturbateurs de la régulation d'une hormone « l'auxine » qui est la principale hormone agissant sur l'augmentation de la taille des cellules.

**b. Les fongicides :** Ils permettent de combattre la prolifération des maladies des plantes provoquées par des champignons ou encore des bactéries. Ils agissent différemment sur les plantes:

- Les inhibiteurs respiratoires.
- Les perturbateurs du métabolisme des glucides.

**c. Les insecticides :** Ils sont utilisés pour la protection des plantes contre les insectes, ils interviennent en les éliminant ou en empêchant leurs reproductions. Différents types de produits existent comme :

- les neurotoxiques
- ceux agissant sur la respiration cellulaire.
- Les inhibiteurs du cholinestérase.

Outre les trois grandes familles de pesticides citées, il existe des familles secondaires :

**d. Acaricides :** Utilisés pour lutter contre les acariens.

**e. Nematicides :** Utilisés pour lutter contre les vers parasites.

**f. Rongentocides :** Utilisés pour lutter contre les rongeurs.

**g. Molluscides :** Utilisés pour lutter contre les mollusques.

**h. Avicides :** Utilisés pour lutter contre les oiseaux nuisibles.

### 1.2.2. Deuxième classification des pesticides

Cette classification tient compte de la nature chimique de la substance active, les principaux groupes chimiques sont :

**a. Les organochlorés :** ce sont les plus anciens et les plus persistants, Ils sont surtout utilisés comme insecticides en agriculture (DDT, Diéldrine...)

**b. Les organophosphorés :** utilisés comme insecticides (malathion, parathion...)

**c. Les carbamates :** utilisés comme fongicides (carbendazime, bénomyl...), insecticides (propoxur, carbofuran...) et herbicides.

**d. Les organo-azotés :** principalement utilisés comme herbicides (atrazine, simazine.)

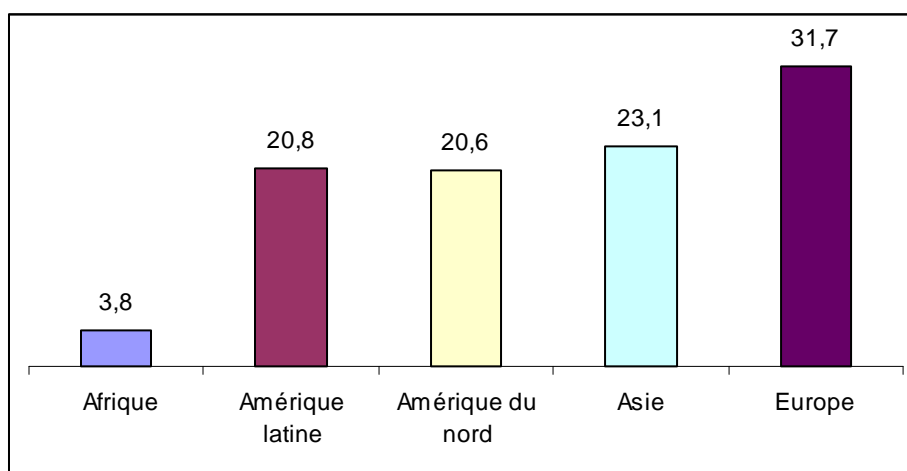
### I.3. Utilisation des pesticides et législation

L'emploi des pesticides améliore certes considérablement la production agricole, mais leur application à de très fortes doses et leur dispersion involontaire dans les différents milieux entraînent de graves problèmes pour la santé humaine et pour l'environnement. Il a été démontré qu'une faible partie de la matière active du pesticide utilisé entre en contact avec les organismes ciblés [12]. Le reste se disperse rapidement dans les trois compartiments eau-sol-air dans lesquels plusieurs processus biogéochimiques sont mis en jeu et détermine son mouvement ou sa persistance.

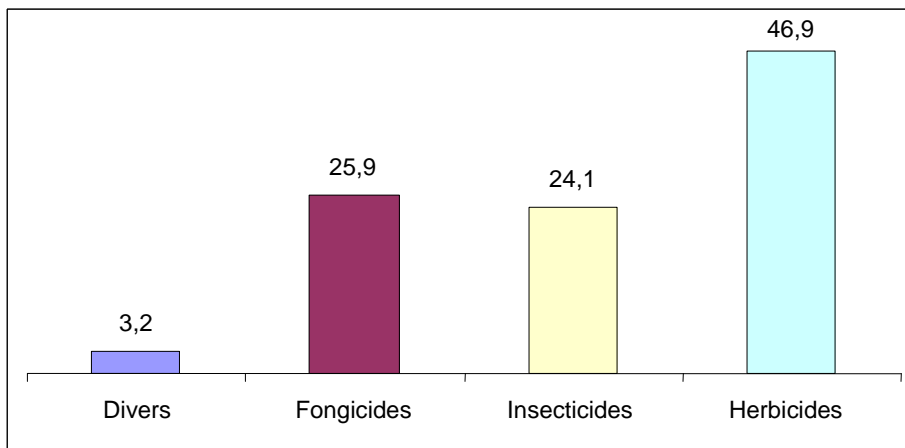
#### I.3.1. Dans le monde

L'usage des pesticides dans le monde a connu un très fort développement au cours de ces dernières décennies ainsi, de 1945 à 1985, la consommation mondiale de pesticides a doublé tous les dix ans [13].

Les données disponibles sont basées généralement sur les chiffres de ventes des produits phytosanitaires. Le marché mondial des pesticides a atteint près de 40 millions de dollars en 2008, et est globalement stable depuis 2000 (Figure 1). Il faut noter que ces chiffres sont influencés par certains événements climatiques [14].

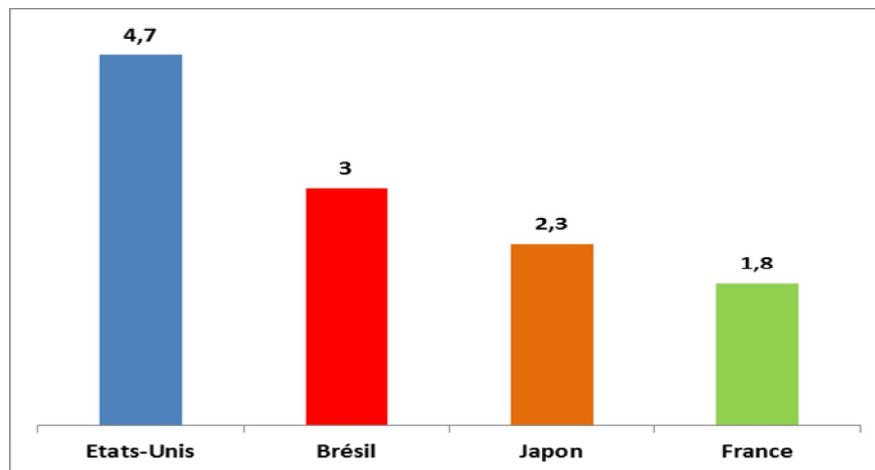


**Figure 1 :** demande de pesticides par région du monde en tonne [14]



**Figure 2 :** demande de pesticides par catégorie de produit en tonne [14]

Selon les pays, la France est le 1<sup>er</sup> utilisateur en Europe de produits phytosanitaires et le 4<sup>ème</sup> mondial derrière les Etats unis , le Brésil et le Japon (Figure 3), avec 78000 tonnes de matières actives utilisées. Le marché français représente à lui seul 1/3 de la consommation européenne.



**Figure 3:** Les quatre 1<sup>ers</sup> marchés dans le monde en 2006 en millions d'euros

L'Union des Industries de la Protection des Plantes, (UIPP), communique chaque année les chiffres de la consommation de produits phytosanitaires dans le monde. Selon leurs utilisations, l'on distingue les produits phytopharmaceutiques et les biocides. La directive européenne 91/414/CEE, qui concerne la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques, également appelés produits phytosanitaires, les définit comme

l'ensemble des produits destinés à protéger les végétaux contre les nuisibles, à exercer une action sur les processus vitaux des végétaux ou encore à assurer leur conservation.

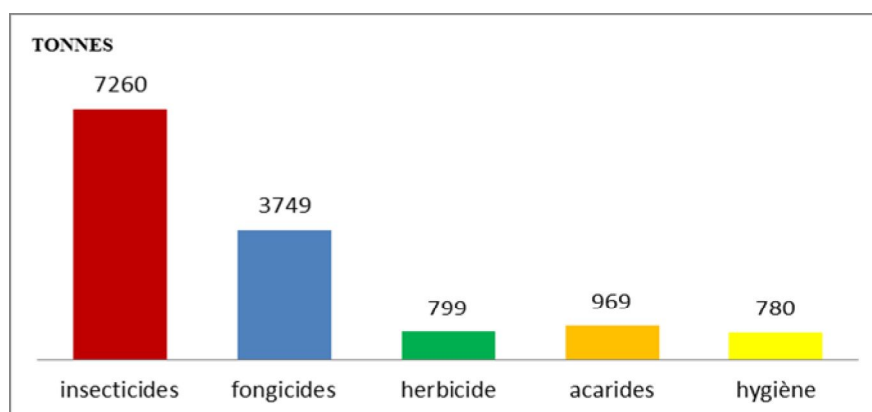
La directive 98/8/CEE concernant les biocides, ou pesticides à usage non agricole, les antiparasitaires et les désinfectants, utilisés en hygiène humaine, vétérinaire et pour les locaux et le matériel, les fongicides et tous les produits de protection contre les organismes nuisibles des matériaux et habitats. Leur répartition n'est par contre pas disponible, car il n'est pas fait de séparation selon le type d'utilisations des produits ; on estime que les usages domestiques de pesticides ou biocides représentaient environ 10% des utilisations totales [15].

### 1.3.2. En Algérie

La production et la commercialisation des pesticides sont assurées en partie par ASMIDAL et ALPHYT (Moubydal). Puis avec l'ouverture du marché, plusieurs entreprises se sont spécialisées dans l'importation. Environ 400 produits phytosanitaires sont homologués actuellement en Algérie, dont 40 sont largement utilisés par les agriculteurs [16].

La loi n° 87-17 du 1<sup>er</sup> Août 1987, relative à la protection phytosanitaire régit les aspects relatifs à l'homologation, l'importation, la fabrication, la commercialisation, l'étiquetage, l'emballage et l'utilisation des pesticides. Les données disponibles sur l'utilisation des pesticides sont généralement basées sur les chiffres de ventes des principales sociétés phytopharmaceutiques [17].

La demande par famille de produits en 2004 est représentée par l'histogramme (Figure 4)



**Figure 4** : tonnage des substances actives vendues en Algérie [18]

En Algérie, Les terres consacrées à l'agriculture, sont d'une superficie de 40,2 millions d'hectares représentant 17% de la superficie du territoire national [19]. L'usage de tous les produits phytosanitaires se répand de plus en plus avec le développement de l'agriculture.

La lutte antiacridienne menée de 2004 à 2005, a entraîné un déversement de plusieurs tonnes de pesticides (des organophosphorés, des carbamates et la Deltaméthrine) par épandage ou par pulvérisation dans les régions infestées par le criquet pèlerin, dans les régions du Sud et dans le Tell.

Les pesticides sont utilisés aussi dans le cadre des actions de lutte contre les vecteurs nuisibles dans toutes les agglomérations ; ce qui pousse aussi les ménages à utiliser en abondance divers types d'insecticides. Ces traitements par les pesticides se font généralement pour parer à l'urgence, mais sans se soucier des conséquences environnementales à long terme liées aux infiltrations de ces substances dans les sols, les sources et les nappes phréatiques [20]. Pour évaluer le degré de contamination des milieux naturels ; des analyses effectuées sur des échantillons d'eau prélevés dans la région d'Alger, ont montré que dans plus de 30% des échantillons, la concentration en organochlorés (lindane, H.chlore, 2,4 et 4,4 DDT) et en organophosphorés (diazinon, parathion), dépasse les normes préconisées par l'OMS [7].

L'inventaire des pesticides réalisé en 2003 par le Ministère de l'Environnement et de l'Aménagement du Territoire a comptabilisé un total de 1731 tonnes de produits toutes natures confondues (insecticides, fongicides, nématicides, herbicides) dont 197,3 tonnes entrent dans la catégorie des « POP's » parmi lesquels 191 tonnes sont constitués par le DDT (96,8%) localisés principalement dans la Wilaya de Mostaghanem (180 tonnes). Les quantités restantes sont constituées par les pesticides organochloré réparties dans 13 Wilayas. L'inventaire de ces sites fait ressortir la présence de 145 sites contaminés à travers tout le territoire national, principalement par le DDT et la dieldrine. La quasi-totalité des contenants présentent des fuites, et ne sont nullement conformes à une bonne gestion de ces déchets dangereux, ce qui suppose que les sites d'entreposages (figure 5) sont contaminés depuis longtemps [21].



**Figure 5** : Sites d'entreposage de futs contenant des pesticides

### **I.3.3. La réglementation nationale**

L'Algérie ne possède pas de législation propre, mais respecte les directives européennes. Tous les organochlorés ne sont plus utilisés en Algérie, excepté le DDT par dérogation du ministère de la santé. Au niveau national, l'exposition de la santé publique et de l'environnement aux pesticides Pops, est liée aux stocks obsolètes et principalement le DDT.

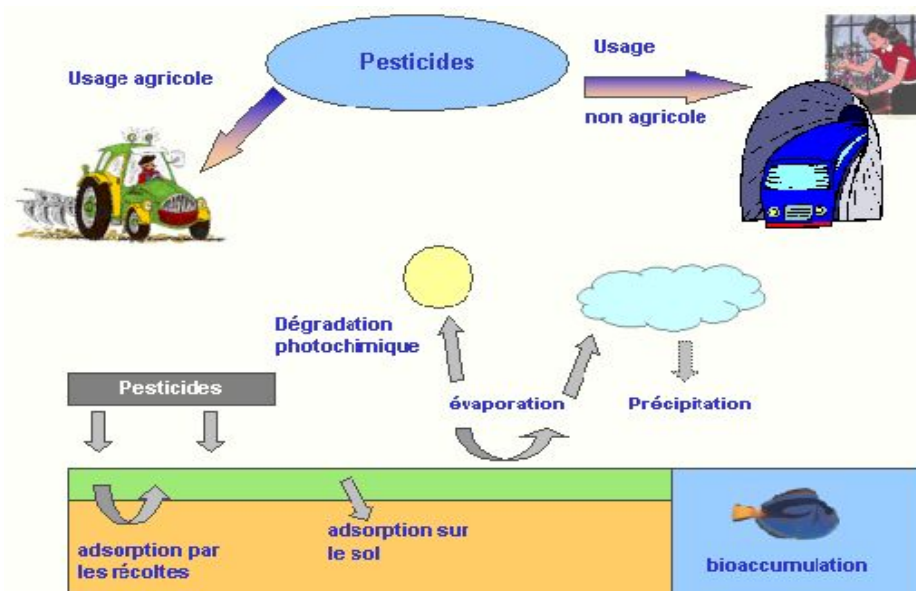
Les autorités du pays ont élaboré en 2000 un rapport national sur l'état et l'avenir de l'environnement qui a servi de base de réflexion à un large débat national sur l'état de l'environnement durant l'année 2001 ; ce qui a permis de concevoir un document de référence intitulé « Plan National d'Action pour l'Environnement et le Développement Durable » (PNAEDD).

Le PNAEDD a débouché tout naturellement sur une stratégie opérationnelle de prise en charge de déchets municipaux " Plan National de Gestion des Déchets Spéciaux " (PNAGDES) qui, partant des données du cadastre national réalisé en décembre 2002, et après avoir été approuvé en conseil du gouvernement en octobre 2004, devient obligatoire et opposable à tous les acteurs. Le PNAGDES prévu pour dix années (2003 à 2013) préconise d'éliminer durant cette période l'ensemble des stocks de déchets spéciaux y compris les déchets contaminés par les PCB et les pesticides périmés [22].

### **I.4. Impact des pesticides sur l'environnement**

Les pesticides ont été depuis près d'une cinquantaine d'années mis en évidence dans tous les compartiments environnementaux. Aussi bien, dans les eaux de rivières, les nappes phréatiques, l'air, les eaux de pluie, mais aussi dans les fruits, les légumes, les céréales, les produits d'origine animale et dans les sols. Le non respect des bonnes pratiques agricoles peut entraîner la contamination des trois compartiments de la biosphère, à savoir : l'eau, le sol et l'air. Ainsi, le cycle géochimique des pesticides est très complexe, car ils peuvent être retrouvés à tous les niveaux [13].

La figure suivante très simplifiée, représente les différentes utilisations et dérives possibles lors de l'utilisation de pesticides [23].



**Figure 6 : Comportement des pesticides dans l'environnement**

### **I.5. Propriétés physico-chimiques et potentielle de transfert des pesticides dans l'environnement**

Le potentiel de transfert des produits phytosanitaires peut être évalué à partir de quelques propriétés physico-chimiques [24] [25].

- **Le temps de demi-vie** : durée au bout de laquelle la moitié de la substance initialement introduite est dégradée. Cette propriété donne une indication sur le temps de persistance dans le sol, l'eau ou l'air.
- **La solubilité dans l'eau** : indique la tendance du produit à être entraîné sous sa forme dissoute.
- **Le coefficient de partage** : reflète la capacité d'un composé à pénétrer dans les membranes biologiques des organismes vivants (quand le coefficient est grand, le risque de bioaccumulation est important).

Le coefficient de partage n-octanol/eau est un paramètre de mesure de polarité d'un composé. Il mesure la distribution à l'équilibre de ce composé entre l'eau et le n-octanol. Ce dernier est un solvant apolaire choisi pour sa polarité similaire à celle des membranes biologiques.

- **La constante d'Henry** : rend compte de la volatilité d'une substance.

- **Volatilité des pesticides :** la volatilité d'un composé est évaluée par la pression exercée par la vapeur de ce produit en équilibre avec une phase pure (liquide ou solide) à une température donnée. Dans le cas de l'Azoxytrobine les valeurs de pression de vapeur sont faibles. Ceci signifie que la volatilisation lors du traitement joue un rôle négligeable [26].
- **Adsorption sur le sol :** le paramètre permettant l'évaluation de l'adsorption d'un composé est donc le coefficient de partage entre le carbone organique et l'eau. Une valeur élevée reflète une forte adsorption du pesticide sur le sol. Toutefois, plusieurs études mettent en évidence la présence de ces pesticides dans les eaux naturelles, ce qui signifie que cette adsorption n'est pas irréversible [27]

## I.6. Les phénomènes de dégradations

L'accumulation des pesticides provoquée par les épandages successifs peut occasionner de sérieux problèmes, aussi bien pour l'écosystème que pour la santé humaine. En outre, certains pesticides peuvent subir des transformations, menant parfois à la formation de produits intermédiaires plus toxiques [28].

Dans les années 90 l'Environmental Protection Agency [29], oblige les industries à fournir des tests de dégradation des pesticides avant d'autoriser leur mise sur le marché. Ainsi de nombreuses études abordent ce sujet sous formes d'essais au laboratoire et en plein champ, cherchant à identifier les principales voies de dégradation pour chaque famille de pesticides pour les intégrer dans les modélisations sur le devenir des polluants dans l'environnement.

La réaction de dégradation chimique prédominante est l'hydrolyse, en phase aqueuse mais surtout au niveau des surfaces des constituants du sol; [30] elle peut être liée au PH ou catalysée par les systèmes d'oxydoréduction du sol. Les mécanismes de dégradation microbienne peuvent être aérobies ou anaérobies, dépendent du PH, de la température, de l'aération et l'humidité. La présence de matières organiques, qui participent à la rétention des produits, joue un rôle essentiel dans cette dégradation biotique.

### **1.6.1. Photo dégradation**

Les réactions photochimiques sont initiées par les rayons ultraviolets provenant du soleil. La photolyse transforme en général petit à petit les pesticides en produits moins toxiques. Les produits obtenus dépendent en grande partie de l'énergie de la lumière solaire qui affecte la molécule initiale.

Les études d'estimation du taux de photolyse sont très complexes. En effet, il est difficile d'estimer le degré d'atténuation de la lumière par le sol et les feuilles. Le taux de photolyse dépend aussi d'autres facteurs comme la nature du produit appliqué, la nature du sol et la durée depuis l'application [31].

La photo dégradation par les rayonnements solaires peut se produire dans l'atmosphère, dans les eaux et à la surface des plantes et des sols. Elle dépend à la fois du recouvrement entre les spectres d'absorption de la matière active et le spectre d'émission solaire, et de la capacité de la matière active à se photo dégrader.

### **1.6.2. Dégradation biologique**

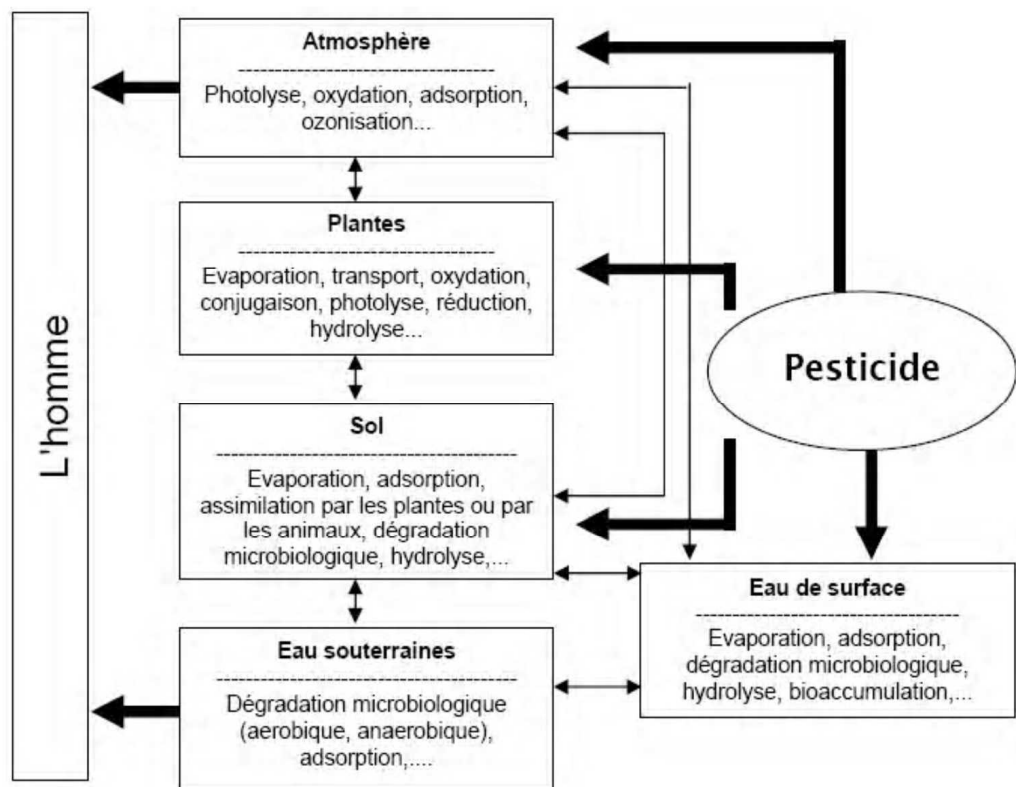
Pour la plupart des produits phytosanitaires, la dégradation biologique représente le processus le plus important d'altération. La grande diversité métabolique des souches bactériennes et leur capacité d'adaptation et de mutation leur permettent de dégrader un large spectre de molécules dans des conditions variées. Cette transformation peut se traduire par la minéralisation complète et relativement rapide ce qui peut entraîner une détoxification du milieu ou au contraire provoquer une intoxication le long des chaînes alimentaires à cause de la bioaccumulation microbienne par adsorption sur les parois ou pénétration à l'intérieur [32].

La dégradation d'une molécule dans le sol par les microorganismes est souvent liée à leur activité enzymatique. Les principales réactions qui se produisent sont des réactions d'oxydoréduction, d'hydrolyse et de synthèse. Cependant la synthèse d'enzymes actives peut être influencée par la nature chimique et la concentration du produit [33] et par les conditions environnementales, notamment pédoclimatiques comme la nature de la matière organique, le pH et la température du milieu, la granulométrie du sol et sa teneur en eau et en air. A noter que certains composés se dégradent en aérobie, alors que d'autres en anaérobie. Mais en principe le processus aérobie est le plus dominant [34].

Pour un certain nombre de produits, la biodégradation peut être accélérée à la suite d'applications répétées du même produit ou appartenant à la même famille sur la même parcelle. La cause de ce problème résulte de l'adaptation de la microflore du sol à utiliser ces molécules comme source de carbone nécessaire à leur développement. Ceci entre dans le processus de l'autoépuration du milieu naturel [35].

### I.7. Interactions entre pesticides et écosystèmes

Les recherches consacrées à la dispersion des pesticides dans l'environnement ont prouvé la présence de ces produits dans plusieurs points de la biosphère qui n'ont subi aucun traitement. Les phénomènes de transfert qui affectent les produits phytosanitaires sont très complexes et les réactions possibles de l'écosystème à leur présence sont largement méconnues. La figure suivante présente les différentes interactions qui peuvent avoir lieu entre les pesticides et les écosystèmes [36].



**Figure 7** : Interactions entre pesticides et écosystèmes

Le transport des produits de traitement est gouverné par quatre facteurs majeurs:

- Les propriétés chimiques du produit : solubilité dans l'eau, ionisation, volatilité, persistance dans le milieu, présence ou absence de groupes réactionnels, etc.
- Les propriétés du sol: structure, type et quantité d'argile, pourcentage de matières organiques, pH, taux d'humidité, faune et flore, etc. Les conditions et le type d'application: taux d'application, surface traitée, nature de la cible, nature de la formulation, moment d'application, etc.
- Les conditions climatiques et hydrogéologiques : intensité et fréquence de la pluie, température du sol, profondeur de la nappe, etc.
- Leurs métabolites : ce qui permet leur fixation pour une longue période dans les profils du sol. Cependant, 20 à 70% de la quantité appliquée peut se lier aux colloïdes du sol et y persisté ce qui peut attribuer une perte de l'activité biologique du produit avec le temps.

### **I.7.1 Dispersion dans le sol**

Les études sur les phénomènes de rétention des pesticides dans le sol sont nombreuses. Toutefois, pour les pesticides qui peuvent exister sous forme cationique, l'adsorption se fait le plus souvent par échange d'ions avec les groupements carboxyliques des composés humiques. Les molécules anioniques peuvent quant à elles, se lier aux groupements acides, cétones ou amines de la matière organique par des ponts hydrogènes et même par piégeage physique aux substances minérales du sol [37].

### **I.7.2. Dispersion dans l'eau**

La dispersion des pesticides dans les eaux peut engendrer des nuisances aussi bien au niveau de leur potabilisation que de leur richesse écologique. La diffusion de cette pollution est liée à l'entraînement de ces produits par transfert en surface ou en profondeur des eaux d'irrigation et des pluies vers les fleuves, les lacs, les nappes phréatiques ou encore les mers et les océans. Ce phénomène de transport dépend en grande partie des conditions climatiques, des caractéristiques du produit, de la topographie et des pratiques culturales [38].

### **a. Transfert horizontal**

Ce phénomène se traduit par entraînement des produits par ruissellement soit sous forme dissoute fixés aux particules du sol. Pour les événements pluvieux intervenant justes après l'application, les pertes peuvent dépasser 20% de la quantité appliquée. Généralement, ce mode de transfert intervient dès que la pluviométrie dépasse la capacité d'adsorption des sols [39].

### **b. Transfert vertical**

Les modalités du transfert vertical de l'eau sont très complexes du fait de l'extrême variabilité et hétérogénéité des sols. Pour un sol argileux, la vitesse de filtration est très faible alors que la perméabilité des sols à structure grossière est trop importante. Le lessivage des pesticides est fonction de leur stabilité et dépend en grande partie de la présence de fissures et d'irrégularités dans le terrain [40].

### **c. Dégradation chimique dans l'eau**

Quel que soit leur mode d'utilisation, la plupart des pesticides employés atteignent les eaux de surfaces et souterraines. Ces molécules peuvent ensuite être soumises à des réactions d'hydrolyse ou d'oxydo-réduction qui sont fonction de leur persistance [41]. Les produits très peu solubles dans l'eau ou qui se trouvent en suspension, résistent beaucoup plus aux phénomènes de dégradation en milieu aqueux [42].

## **I.8. Limite Maximale en Résidu (LMR)**

Un résidu de pesticide est défini comme étant une ou plusieurs substance(s) présente(s) dans les végétaux ou produits d'origine végétale, des produits comestibles d'origine animale ou dans l'environnement et constituant le reliquat de l'emploi d'un produit phytosanitaire, y compris leurs métabolites et produits issus de la dégradation ou de la réaction. Parallèlement aux mesures d'homologation, la réglementation internationale fixe des limites en teneur maximale de pesticides dans les aliments et l'eau afin d'assurer la santé des consommateurs [43].

C'est la teneur en résidus légalement admise pouvant se trouver dans ou sur un produit destiné à l'alimentation humaine ou animale. Pour les produits phytosanitaires autorisés en agriculture, les LMR fixées correspondent à la teneur maximale que l'on peut admettre si le produit en question a été utilisé conformément aux règles et restrictions imposées dans son autorisation de mise sur

le marché. Cette LMR est exprimée en milligramme par kilogramme (mg/kg) de produit frais, de plus un délai avant récolte (DAR) supérieur au délai de rémanence permet de garantir une LMR assez faible, par exemple un DAR de 28-70 jours pour le raisin de table [44]. La LMR est fixée en tenant compte de :

- **la dose journalière admissible** : elle est de 0,18mg/kg pour l'azoxystrobine

- **la dose de référence aigue** : elle n'est pas exigée pour l'azoxystrobine car la toxicité par voie orale est faible

- Pour chaque produit phytosanitaire, il existe une LMR pour chaque denrée brute : fruit, légume ou céréale pour lequel un usage est autorisé.

- Une LMR est rattachée à une substance active ; ainsi un produit contenant 2 substances actives aura 2 LMR par culture.

Quelques LMR fixée pour l'azoxystrobine dans le raisin de table : on remarque selon le tableau 1 qu'elle diffère d'un pays à un autre.

La LMR de L'azoxystrobin pour le raisin de table, le règlement CE n° 396/2005 la fixe à 2ppm, mais le conseil de l'union européenne à Bruxelles en juin 2009 a décidé vue les études multiples de toxicologie (humaine et animale) menés sur l'azoxystrobine, de diminuer la LMR à 0,5ppm pour le raisin de table [45-46].

**Tableau 1:** Quelques LMR du raisin dans le monde

<b>Eu</b>	<b>Amérique</b>	<b>Japon</b>	<b>Agriculture biologique</b>	<b>Raisin de cuve</b>	<b>Raisin de table DAR 21J</b>	<b>Raisin de table DAR 70J</b>
0,5ppm	1 ppm	5 ppm	0,01ppm	0,05ppm	2ppm	3ppm

### **I.9. Effet des pesticides sur la santé humaine**

Le phénomène de toxicité chronique résulte de deux causes; la cumulation et la sommation des effets. Les substances toxiques ingérées ne sont pas éliminées, mais sont accumulées dans l'organisme jusqu'à une dose limite à partir de laquelle vont apparaître les troubles.

Ce type d'intoxication est souvent dû à la présence de pesticides résiduels dans différents milieux et ne peut être mesuré scientifiquement que plusieurs années après l'homologation des produits. De nombreuses études scientifiques indiquent, malgré quelques réserves, que l'exposition chronique aux pesticides est susceptible d'augmenter l'incidence de dérèglement des systèmes reproducteurs [47-48], endocriniens [49], immunitaires [50] et nerveux. Certains pesticides peuvent également induire des effets tératogènes [51] ou cancérigènes [52].

## I.10. Généralités sur le fongicide étudié : L'azoxystrobine

### I.10.1. Présentation du produit

Découverte et brevetée par Zeneca, l'azoxystrobine est un fongicide de la famille des strobilurines à très large spectre dont le principe actif est directement issu d'une substance naturelle sécrétée par des champignons des forêts.

L'azoxystrobine allie un profil environnemental favorable à un mode d'action nouveau lui conférant un haut niveau d'activité sur les quatre familles majeures de champignons pathogènes. Produit d'envergure mondiale, l'azoxystrobine est développée à ce jour sur la vigne et sur les céréales, son large spectre, sa persistance d'action et son excellente sélectivité conduisent à des gains de rendement inégalés.

Sur la vigne, l'azoxystrobine est actuellement la seule matière active contrôlant efficacement cinq maladies majeures dont le Mildiou et l'Oïdium [53].

### I.10.2. Structure de l'Azoxystrobine

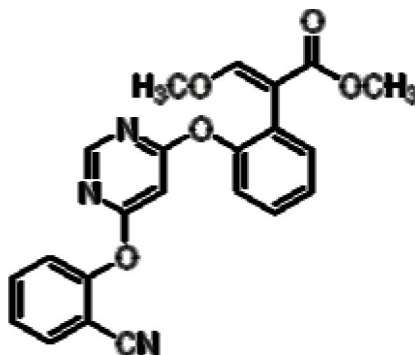


Figure 8 : Structure de l'azoxystrobine

Formule Brute : [C<sub>22</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>](#) [\[Isomères Z et E\]](#)

**Nomenclature IUPAC:** Méthyl (E)-2-{2[6-(2-cyanophenoxy) pyrimidin-4-yloxy] phényl}-3-methoxyacrylate

### I.10.3. Caractéristiques de l'azoxystrobine

Les caractéristiques physico-chimiques de l'azoxystrobine sont résumées dans le tableau 2.

**Tableau 2 :** Propriétés physiques et chimiques de la matière active azoxystrobine [53].

Propriétés	Résultats	Commentaires
État physique et couleur	Poudre blanche	
Odeur	Pas d'odeur caractéristique	
Point de fusion	116 °c	
Densité à 25 °C	1,25 g/l	
Pression de vapeur à 20 °C	1,1 x 1 013 kPa	Relativement non volatil en conditions naturelles
Constante de la loi d'Henry à 20 °C	7,3 x 10 <sup>14</sup> atm m <sup>3</sup> /mol 1/H = 3,3 x 10 <sup>11</sup>	Faible potentiel de volatilisation à partir de plans d'eau et de surfaces humides
Spectre d'absorption ultraviolet (UV)-visible	Absorption maximale à 211 nm Aucune absorption à > 300 nm	Faible potentiel de photo transformation par ultraviolet dans l'environnement
Solubilité dans l'eau à 20°C	6,0 mg/L	Faible solubilité dans l'eau
Solubilité dans des solvants organiques à 20 °C	Solubilité (g/l) : Acétone 8,6 Acétonitrile 34 Dichlorométhane 40 Acétate d'éthyle 13 1-octanol 0,14 Méthanol 2 Toluène 5,5	
Coefficient de partage n-octanol-eau (Kow) à 20°C	Log Kow = 2,5	Bioconcentration ou bioaccumulation peu probable

### I.10.4. La formulation commerciale : « ortiva »

C'est l'ensemble des opérations nécessaires afin d'obtenir, à partir de la substance active, un produit commercialisé, le produit fini est lui-même regroupé sous l'appellation «formulation ». Les pesticides sont en effet présentés sous des formes diverses, visant à faciliter leur utilisation. Ces formulations peuvent donner des produits prêts à l'emploi, ce qui est le cas des produits à usage domestique, sous forme de sprays, d'aérosols, voire de poudres ou de granulés. Le plus souvent en usage agricole, les produits sont dilués dans l'eau avant utilisation; poudres

mouillables, granulés auto-dispersibles, concentrés émulsionnables, suspensions liquides concentrées, concentrés solubles. Les solvants, les additifs, ainsi que les adjuvants utilisés peuvent être de toxicité non négligeable par eux-mêmes et peuvent également modifier la toxicité de la formulation [54].

Les impuretés de fabrication, les produits de dégradation et les isomères sont parfois beaucoup plus toxiques que la substance active elle-même, ou augmentent son potentiel toxique en outre, pour des raisons de commodité, les utilisateurs peuvent être tentés d'utiliser plusieurs produits lors d'une même application, or ces associations présentent un risque de diminution de l'efficacité (incompatibilité physico-chimique ou antagonismes au niveau du mécanisme d'action), mais aussi de toxicité accrue pour les êtres vivants [55].

Les caractéristiques physico-chimiques de la formulation « ortiva » utilisé dans ce travail sont résumés dans le tableau 3 [56].

**Tableau 3 :** Propriétés physiques et chimiques de la formulation « ortiva » 250g/l [53].

Propriétés	Résultats	Commentaires
Constante de dissociation (PKa)	Dissociation non prévue	
Stabilité : l'ortiva est compatible avec agent oxydant (permanganate de métal) potassium aqueux, un agent réducteur (poudre de zinc), l'eau et le dioxyde de carbone.		
Propriétés	Résultats	
Couleur Odeur État physique et Type de formulation Teneur nominale	Jaune opaque Odeur de peinture Liquide Concentré en suspension 250g/L.	
Description du contenant Densité pH Caractère oxydant ou réducteur	Bouteilles de polyéthylène haute densité 1,04 g/cm <sup>3</sup> à 20 °C 6 à 9 Le produit n'a pas de propriétés oxydantes ou réductrices.	
Stabilité à l'entreposage Explosibilité	Le produit est stable pendant au moins un an en entreposage. Le produit n'a aucune propriété explosive.	
Autorisation de vente en Algérie	99.905.853	
Commercialisation	Groupe syngenta	

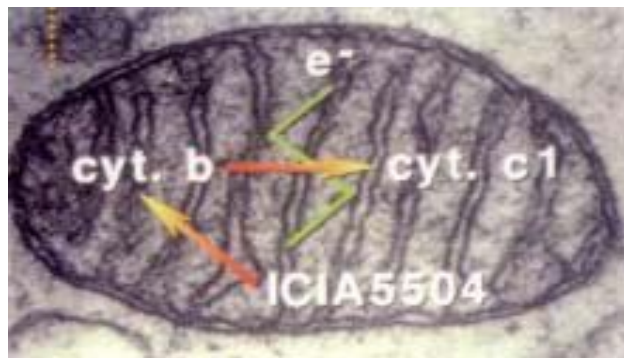
### I.10.5. Mode d'action de l'azoxystrobine

Le principal intérêt de l'azoxystrobine est son mode d'action totalement différent des modes d'actions connus pour les autres fongicides, sans aucun risque de résistance croisée.

Cette propriété constitue une alternative fondamentale aux fongicides à mode d'action différent [57].

#### a- Action sur le transfert d'électrons

Le mode d'action de l'azoxystrobine se situe au niveau des mitochondries. Elle interfère au niveau du processus énergétique en inhibant le processus respiratoire et en bloquant le transfert d'électrons entre le cyt.b et le cyt.c1. Grâce à ce mode d'action, les premiers stades de développement du pathogène sont complètement inhibés.



**Figure 9** : Azoxystrobine agit par blocage de la respiration au niveau des mitochondries

#### b- Action antigerminative et antimycelium

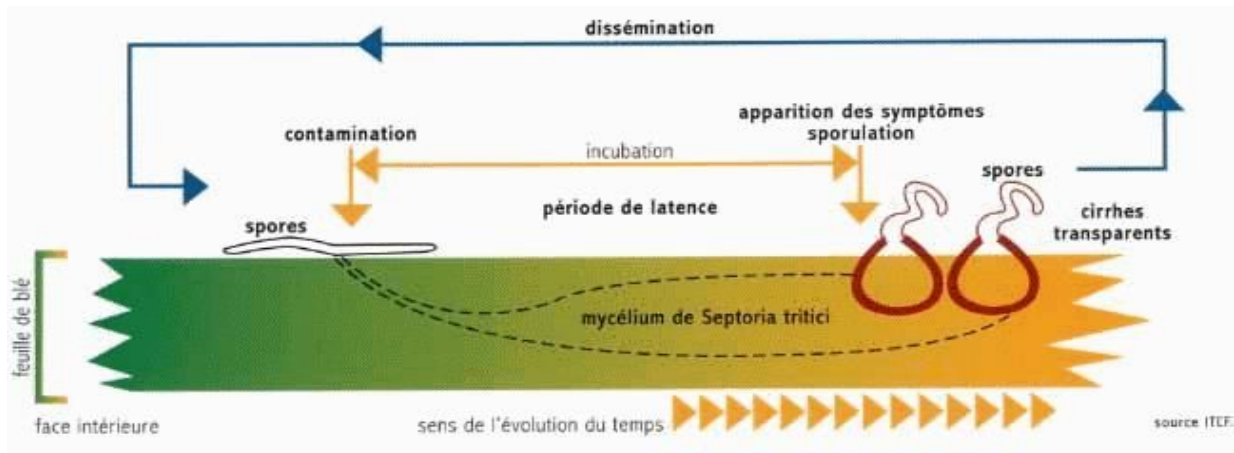
Cette inhibition du processus énergétique empêche la germination et la pénétration de la spore dans la plante. Elle empêche également le développement initial du mycelium.



**Figure 10** : Photo microscopique à balayage montrant une spore de rouille germée et tuée par l'azoxystrobine.

### c- Antisporulante

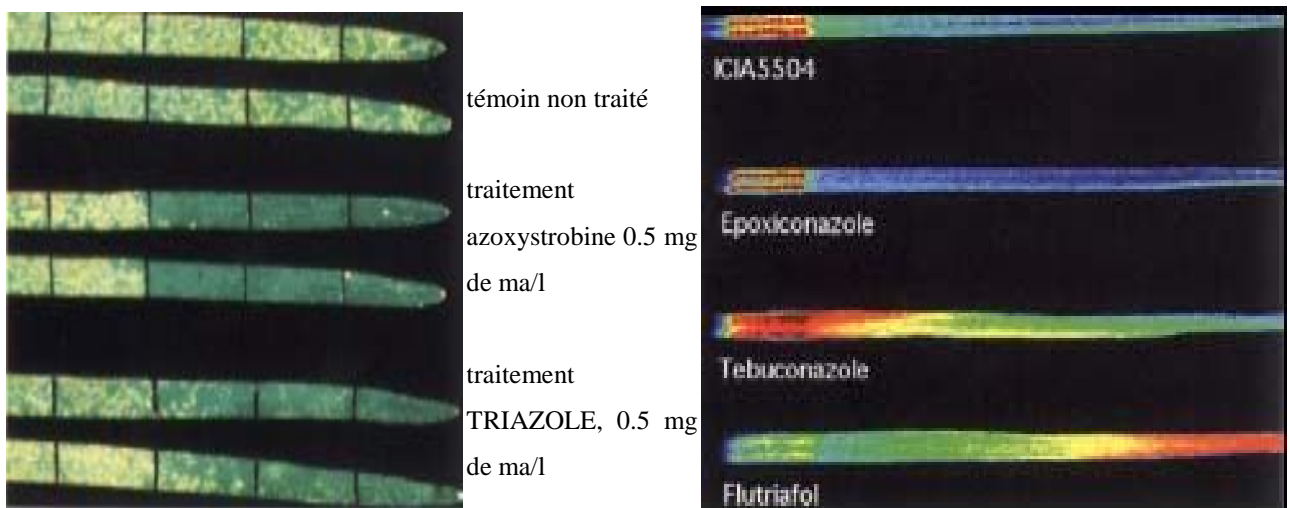
Cette caractéristique est particulièrement intéressante pour inhiber la dissémination de la maladie.



**Figure 11 :** Evolution d'un cycle végétatif de septoria tritici à travers une coupe de feuille de blé

### d- Action systémique couvrante

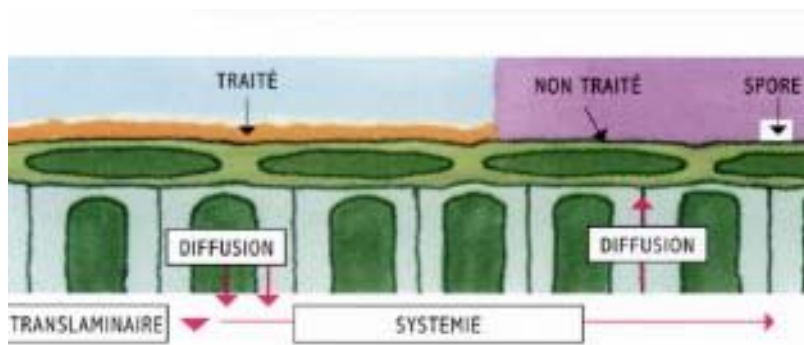
Transportée par le xylème de la base vers le bout de la feuille, la matière active se diffuse uniformément sans aucune accumulation à l'extrémité. Toute la feuille est donc parfaitement protégée. L'absorption est progressive et activée par la rosée.



**Figure 12 :** Dispositif d'essai biologique mesurant la redistribution systémique le long d'une feuille de blé.

### e- Action translaminaire et systémie progressive

L'activité translaminaire assure une diffusion du produit à travers les membranes permettant une protection de la face inférieure de la feuille et une redistribution ascendante d'un étage foliaire à l'autre. De cette manière, à chaque étage, les nouvelles feuilles sont, à leur tour, protégées par systémie.



**Figure 13 :** Action translaminaire et systémie

### f- Longue persistance d'action

La bouillie de pulvérisation est fortement absorbée à la surface foliaire et diffuse progressivement dans les parties végétales. La réserve de matière active ainsi constituée à la surface de la feuille est continuellement diluée et mise à la disposition de l'ensemble de la plante. Les feuilles non déroulées lors de l'application seront donc aussi protégées. Cette caractéristique permet d'obtenir une très longue persistance d'action.



**Figure 14 :** Différent plan d'attaque de l'AZX

# **CHAPITRE II**

## **Techniques expérimentales Utilisées**

## CHAPITRE II TECHNIQUES EXPERIMENTALES UTILISEES

Quelle que soit la matrice dans laquelle les polluants doivent être analysés, la procédure analytique comporte plusieurs étapes indispensables qui sont la collecte de l'échantillon, sa préparation à l'étape d'extraction, la purification et la concentration de l'extrait et enfin la mesure des polluants recherchés dans l'extrait purifié.

### II.1. Prélèvement :

L'échantillonnage, représente l'étape décisive dans la fiabilité des résultats futurs. La caractérisation dépend tout d'abord, de l'objectif visé par l'étude et la précision attendue des résultats. La prise d'échantillon sur le terrain impose une liste de conditions à respecter pour assurer de bons résultats d'analyse. Parmi ces conditions :

- Le choix du site de prélèvement.
- La matrice à prélever : chaque matrice a ses propres moyens de prélèvement.
- Le préleveur : les prélèvements à caractère judiciaire doivent être effectués par un agent formé à cette mission. Les autres types de prélèvements peuvent être réalisés par un simple opérateur.
- Les moyens de prélèvement.
- La quantité de l'échantillon à prélever.

Dans la pratique le polluant étant mélangé à d'autres éléments, on prend le soin de dimensionner largement l'échantillon pour être sûre de contenir la quantité minimale requise : la masse de matériel pollué à prélever est d'environ 100 grammes.

- La profondeur de prélèvement (pour le sol) : il est important de connaître la position des polluants par rapport à la matrice.
- L'étiquetage, la conservation et l'expédition des échantillons.

### II.2. Extraction des pesticides :

Elle consiste à séparer les polluants recherchés des autres constituants de la matrice. Pour cela, il faut tenir compte de :

**-La nature du solvant :** Il doit être sélectif et volatil avec une grande capacité de dissolution et une bonne mouillabilité pour fournir des solutions riches en soluté désiré, non toxique, ininflammable et non explosif. De plus il doit avoir une température d'ébullition peu élevée. Sa viscosité et sa masse volumique doivent être peu élevées pour faciliter la diffusion du solvant dans l'échantillon [58].

**-La température :** L'élévation de la température permet l'accroissement de la solubilité, la diffusivité du soluté et la diminution de la viscosité. Elle doit être limitée pour éviter les risques d'extraction des composés nuisibles et la dégradation thermique du soluté [58].

Il existe différentes méthodes d'extraction parmi les quelles, nous citerons celles qui ont été utilisées dans notre étude :

### **II.2.1. La macération**

Opération chimique qui consiste à laisser séjourner dans un liquide, une substance dont on veut extraire les principes solubles.

Dans l'antiquité les extraits odorants (essence) sont obtenus par macération de plantes dans le solvant approprié : eau, alcool, huile, glycérine....

La macération se fait dans un extracteur, ceci nous permet d'extraire au maximum les principes actifs des plantes. Les macérations peuvent être effectuées à froid ou à chaud. La macération est pressée puis filtrée.

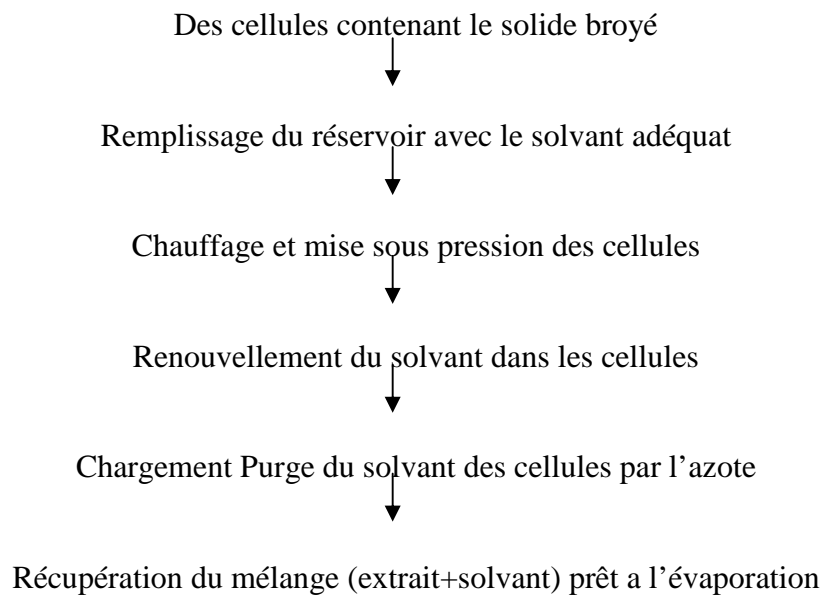
### **II.2.2. L'extraction accélérée par solvant (Accelerated Solvent Extraction ASE)**

Son principe repose sur l'extraction liquide solide au moyen de solvants portés à haute température et à haute pression. La combinaison d'une haute température et d'une pression élevée, permet d'augmenter la vitesse de diffusion du solvant à travers des interstices de la matrice.

La désorption des composés adsorbés et le pouvoir de solvation du solvant se fait, tout en évitant le phénomène d'ébullition.

Ces conditions accélèrent le processus d'extraction (durée 5-15min) avec une utilisation minimale de solvant (15ml). D'autre part, la pression élevée permet de maintenir le solvant sous forme liquide à température élevée [59].

L'extraction se déroule automatiquement dans des cellules métalliques selon les étapes décrites dans la figure 15 en utilisant l'appareil ASE Figure 16.



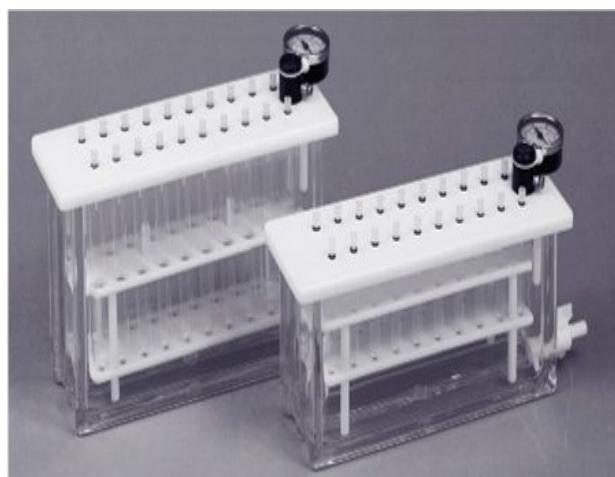
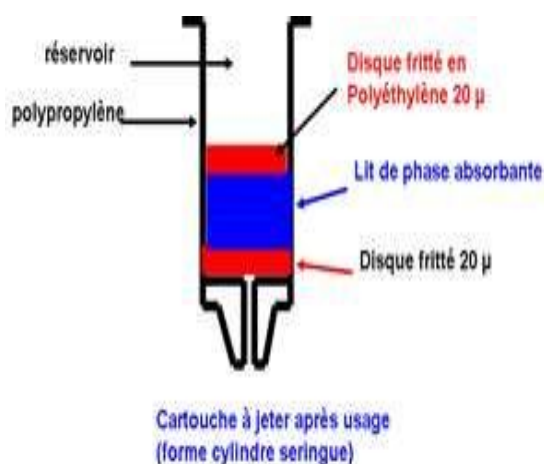
**Figure 15 :** Schéma représentant le principe du fonctionnement de l'ASE



**Figure 16 :** Extracteur automatique de marque ASE 200-Dionex

### II.3. La purification

Une étape de purification des extraits obtenus s'avère souvent nécessaire avant l'analyse. Elle a pour but d'éliminer les substances co-extraites avec le polluant, qui peuvent interférer lors de la phase de l'analyse. La technique de purification utilisée dépend de la nature du polluant recherché et des constituants de l'échantillon co-extrait [60].



**Figure 17 : Dispositif de purification**

Les cartouches, type Florisil sont placées dans le vac-elut, en ayant pris soin de placer des tubes à essai dans le présentoir pour récupérer les extraits purifiés en utilisant une pression adéquate (selon la viscosité de l'extrait).

### II.4. La concentration

La concentration des solutions obtenues a été réalisée avec deux types d'appareil à évaporation

#### a. Evaporateur turbo Vap

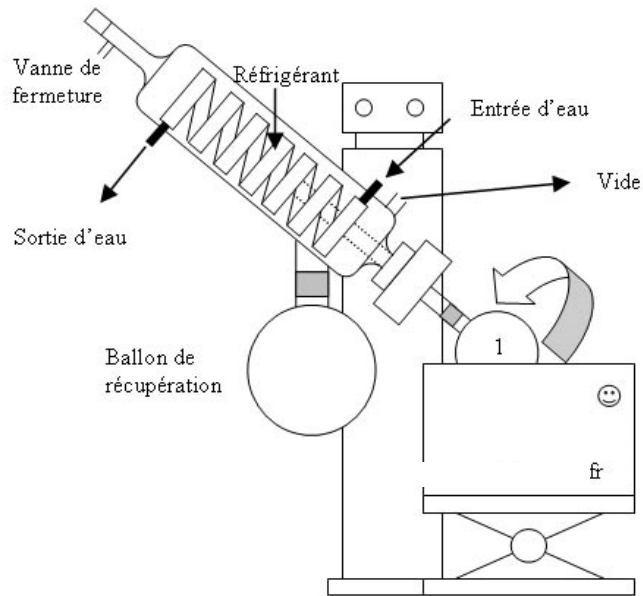
Les extraits sont concentrés dans l'évaporateur turbo Vap par un courant d'azote qui évapore le solvant, jusqu'à atteindre un volume de 0,5ml, la température est réglée selon la nature du solvant. L'évaporation du solvant est réalisée sous d'importantes précautions de manipulation afin de limiter la volatilisation des composés recherchés



**Figure 18 : Turbo évaporateur Turbo Vap II Zymark**

## b. Evaporateur rotatif

Le principe de cet appareil est basé sur la distillation sous vide. La solution est chauffée dans un bain marie selon la température du solvant à éliminer et mise en rotation pour accélérer l'évaporation. La pression est diminuée grâce, généralement, à une [trompe à eau](#).



**Figure 19:** schéma de l'évaporateur rotatif

## II.5. Taux d'humidité

La mesure du taux d'humidité des sols étudiés a été faite en utilisant une balance infrarouge de marque Toledo.

Le dessiccateur infrarouge fonctionne selon le principe thermogravimétrie, c'est-à-dire que le poids initial de l'échantillon est enregistré, puis l'échantillon est séché à l'aide d'une lampe infrarouge tandis qu'une balance intégrée mesure en continu le poids de l'échantillon. La perte globale de poids est alors interprétée comme correspondant au taux d'humidité.



**Figure 20:** Moisture analyser de marque Toledo

## II.6. L'analyse des pesticides :

Les pesticides se trouvent généralement dans toutes les matrices et à de faibles concentrations de l'ordre du ppm. Ainsi des équipements lourds et onéreux sont indispensables.

### II.6.1. Principe de la chromatographie

La chromatographie est une méthode analytique d'identification et de quantification. Le principe repose sur les équilibres de concentration des composés présents, entre deux phases non miscibles dont l'une est emprisonnée dans une colonne ou fixée sur un support et l'autre mobile. Deux substances seront séparables si l'une d'elles est plus fortement retenue par la phase stationnaire ; l'autre ayant tendance à se déplacer plus vite au sein de la phase mobile ; et ceci sous l'influence de deux effets :

- effet d'entraînement exercé par la phase mobile
- effet de rétention exercé par la phase stationnaire [61].

### II.6.2. La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Elle permet de séparer des constituants d'un mélange en utilisant les différences entre les constantes d'équilibres de ces composés lors de leur partage entre une phase mobile (liquide) dans laquelle ils sont solubles, et une phase dite fixe ou stationnaire qui exerce sur eux un effet retardateur. Les interactions (soluté-solvant), font appel à la présence de dipôles permanents (polarité).

La phase mobile est liquide dont les interactions avec la phase stationnaire doivent être très réduites, ce qui est obtenu lorsque leurs polarités sont suffisamment différentes. Pour assurer une bonne séparation, les composés à analyser doivent se dissoudre le mieux dans la phase mobile, ils sont de ce fait entraînés plus rapidement [62].

- **Un réservoir de solvant (éluant)** : contient la phase mobile en quantité suffisante. Plusieurs flacons d'éluant (solvants de polarités différentes) sont disponibles pour pouvoir réaliser des gradients d'éluant à l'aide de la pompe doseuse.

- **La pompe** : son rôle consiste à pousser l'éluant à travers la colonne à une pression élevée et à un débit constant, elle est munie d'un système de gradient permettant d'effectuer une programmation de la nature du solvant (en mode isocratique ou en mode gradient).

- **Vanne d'injection** : c'est un injecteur à boucles d'échantillonnage, qui va permettre d'introduire un volume constant de l'échantillon à analyser.

- **La colonne** : est un tube construit dans un matériau le plus possible inerte aux produits chimiques, souvent en inox ou en verre (la où se passe la séparation des constituants de l'échantillon suivant leur affinités avec la phase stationnaire).

- **Le détecteur**: couplé à un enregistreur permet de visualiser la séparation en dirigeant un signal. Les principaux détecteurs utilisés en HPLC sont les suivants : détecteur U.V., DAD et détecteur électrochimique.

### **II.6.2.1. Spectroscopie dans l'ultraviolet et le visible UV**

Mesure l'absorbance absolue d'un solvant et soluté ou la différence d'absorbance entre le solvant et le solvant plus soluté (en présence d'une cellule de référence) à longueur d'ondes fixe entre 254 - 280 nm.

### **II.6.2.2. Détecteur DAD (Diode Area Detector)**

Il mesure l'absorption de la lumière par le produit, on opère à longueur d'onde constante. Une lampe Deutérium est utilisée pour des longueurs d'ondes variant de 190-350 nm. Le détecteur à barrette de diodes permet d'obtenir un domaine de longueurs d'ondes simultanément.

Il fournit en plus du chromatogramme des renseignements spectraux afin d'assurer l'identité des composés séparés. Ce détecteur est composé d'une rangée de diodes, chacune indique l'absorbance moyenne sur un interval très étroit de longueur d'ondes.

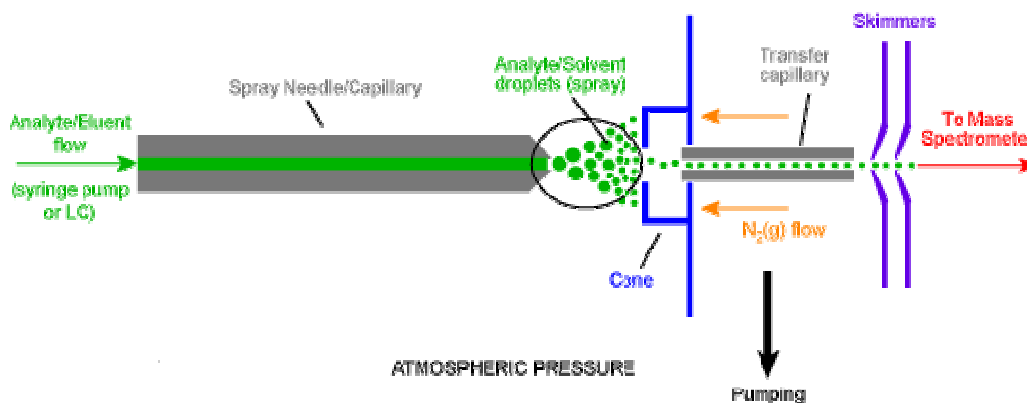
### **II.6.3. Chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse:**

La HPLC /MS comprend un chromatographe en phase liquide à haute performance (HPLC) avec une interface adaptée à un spectromètre de masse (MS). Le principal avantage de l'HPLC / MS c'est qu'il est capable d'analyser un plus large éventail de composants. Les composés qui sont thermiquement labiles, présentant une polarité élevée ou une masse moléculaire élevée. Les composés sont séparés sur la base de leur interaction relative entre la phase stationnaire et le solvant d'élution. Les composants d'élutions sont ensuite introduits dans le spectromètre de masse via une interface spécialisée. Les deux interfaces les plus utilisées pour la HPLC / MS

sont l'électrospray et l'ionisation chimique à la pression atmosphérique. Dans notre cas nous avons utilisé l'ionisation par électrospray [63].

### II.6.3.1. Ionisation par électrospray

En ionisation électrospray l'analyte est introduit à la source à des débits généralement de l'ordre de  $1\mu\text{l}/\text{min}$ . la solution d'analyte traverse l'aiguille d'électrospray qui a une différence de potentiel élevée qui lui est appliquée (2,5 à 4 kV). Cela force la pulvérisation de gouttelettes chargées de l'aiguille avec une charge de surface de la même polarité à la charge sur l'aiguille. Les gouttelettes sont repoussées de l'aiguille vers la source d'échantillonnage sur la contre-électrode. Comme la traversée de la gouttelette dans l'espace entre la pointe de l'aiguille et le cône, l'évaporation du solvant se produit. Quand l'évaporation du solvant se produit, la gouttelette se rétrécit jusqu'à atteindre le point que la tension de surface ne peut plus supporter la charge à quel point une " explosion coulombienne » se produit et la gouttelette est déchirée. Ces molécules chargées peuvent être seules ou à plusieurs charges. Il s'agit d'une méthode très douce de l'ionisation.



**Figure 21** : Un schéma d'une interface ESI

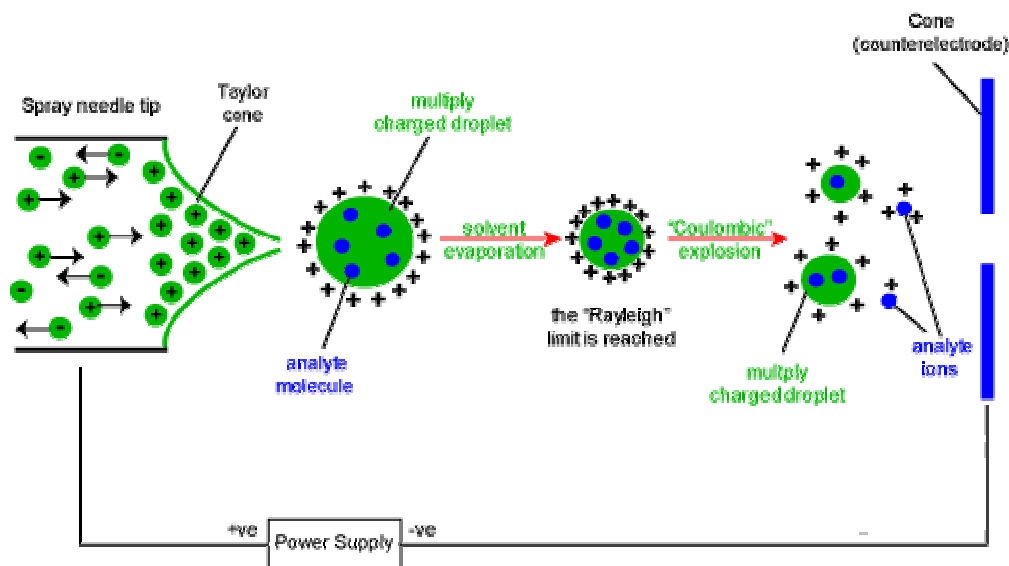


Figure 22 : Schéma du mécanisme de formation des ions

#### II.6.4. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

C'est une méthode d'analyse par séparation, s'applique aux composés gazeux ou susceptible d'être vaporisés par chauffage sans décomposition.

L'échantillon liquide et volatil est introduit en tête de colonne à travers l'injecteur, au moyen d'une micro seringue. Ainsi les constituants de l'échantillon sont entraînés par le gaz vecteur, vont se détacher les uns des autres à travers la colonne, selon leur affinité pour la phase stationnaire [64].

##### II.6.4.1. Détecteur à capture d'électrons (ECD)

C'est l'un des détecteurs sélectifs, d'une très grande sensibilité pour les composés tels les dérivés halogénés, nitres et cyanés [64]. Le gaz vecteur pénètre dans la cellule est ionisé par des particules  $\beta$  émises par une source radioactive, deux électrodes créent un champ électrique. Les molécules de gaz vecteur freinent les électrons, si bien que le courant de polarisation ne varie pas; quand les solutés sans affinités avec ces électrons passent dans le détecteur.

Au contraire, un soluté ayant une forte affinité pour ces électrons capte une partie de ceux-ci, ce qui entraîne une diminution du courant de polarisation, enregistré après amplification.

## **II.7. Principe de l'étalonnage externe**

La méthode d'étalonnage externe est une analyse quantitative de la chromatographie basée sur le fait que l'aire des pics chromatographiques est proportionnelle à la concentration ou à la quantité du produit analysé [65].

Dans cette méthode, il est nécessaire de disposer d'une quantité suffisante du produit à doser à l'état pure afin d'établir une courbe d'étalonnage  $\text{Aire} = f(\text{masse ou concentration du produit})$  pour cela on prépare une gamme de solutions étalons que l'on injecte tour à tour à un volume constant. L'injection du même volume de l'échantillon à doser permet, à l'aide de la mesure de l'aire du pic reportée sur la courbe d'étalonnage, de connaître la masse ou la concentration recherchée.

**DEUXIÈME PARTIE**  
**ÉTUDE EXPERIMENTALE**

# **CHAPITRE I**

## **Photo dégradation de l'Azoxystrobine dans l'eau**

# CHAPITRE I LA PHOTO DEGRADATION DE L'AZOXYSTROBINE DANS L'EAU

## I.1. Introduction

La photo dégradation par les rayonnements solaires peut se produire dans l'atmosphère, dans les eaux et à la surface des plantes et des sols. Elle dépend à la fois du recouvrement entre les spectres d'absorption de la matière active et le spectre d'émission solaire, et de la capacité de la matière active à se photo-dégrader. L'étude photochimique des pesticides consiste à décrire les processus induits par l'absorption de photons par la molécule. Ainsi la dégradation d'un pesticide peut être de deux types : directe si le pesticide absorbe lui-même la lumière solaire, ou photo-induite par les chromophores présents dans le milieu naturel [66,67].

La photo dégradation directe est une voie très importante d'élimination des polluants organiques chimiquement stables ou peu dégradables, c'est le cas de nombreux pesticides comportant des groupements aromatiques [68]. Pour se rapprocher des conditions environnementales, nous avons envisagé dans ce travail d'étudier le comportement de l'azoxystrobine dans l'eau sous l'effet de la lumière émise par une lampe HPK.

## I.2 Matériels et Méthodes

Dans le but de prévoir le comportement d'un pesticide : l'azoxystrobine dans l'environnement, et afin de mieux comprendre les réactions mises en jeu au cours de sa dégradation photochimique ainsi que la persistance et l'accumulation de ses produits de dégradation dans l'eau, une cinétique de dégradation est établie au laboratoire sous une lumière solaire simulée avec une lampe HPK. Cette étude nous a permis de suivre les produits de photo-dégradation de l'azoxystrobine dans l'eau ultra pure.

## I. 3. Produits et réactifs chimiques

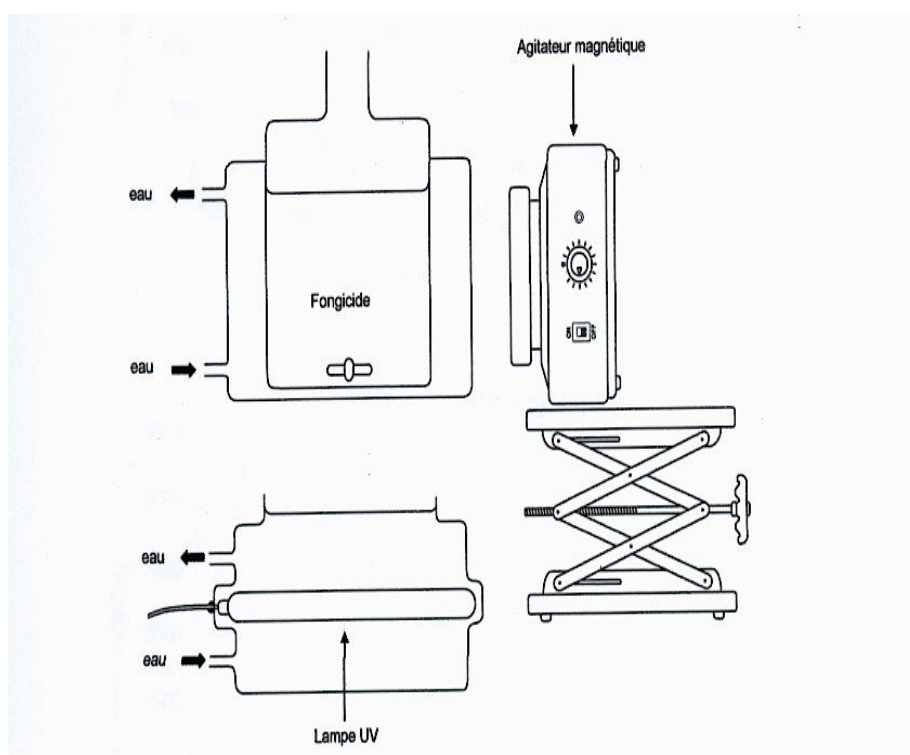
AZX de pureté > 99.6% (w/w) a été utilisé pour les expériences de photodégradation. Ce produit a été obtenu de FLUKA-RIEDEL DE HAEN. Les standards : 2-hydroxy-benzonitrile (pureté > 98) est utilisé pour l'identification du photoproduit.

Une solution d'un volume de 50 ml et de 19.8  $\mu$ M (8ppm) en AZX dans eau/méthanol (99:1 v/v) a été irradiée durant 67 h en continu dans le réacteur. Des échantillons de la solution irradiée ont été recueillis pour l'analyse en HPLC-DAD à des intervalles de temps réguliers.

#### I.4. Dispositif d'irradiation

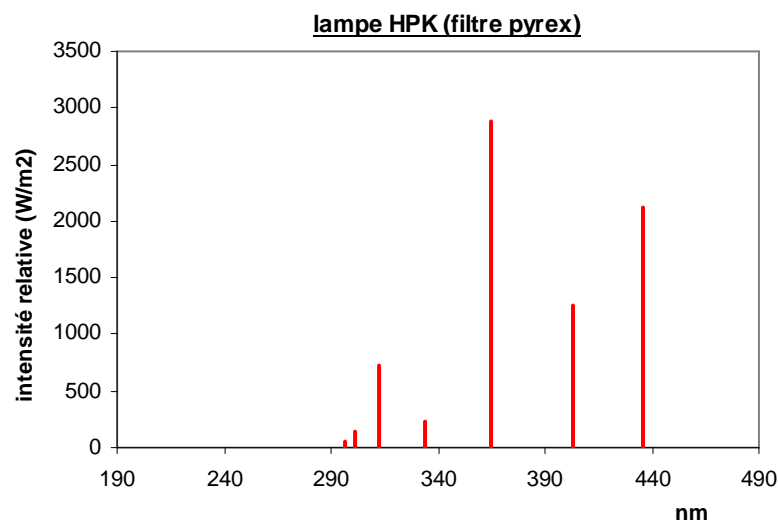
Les expériences de photo dégradations ont été réalisées dans un photo-réacteur équipé d'une lampe Philips d'une puissance nominale électrique de 125W, qui est un brûleur en quartz à vapeur de mercure à très haute pression (HPK). Le photo-réacteur utilisé Figure 23 est en pyrex, son volume est de 50 ml, il est équipé d'un système d'agitation magnétique permettant l'homogénéisation de la solution, ainsi que d'un système de refroidissement afin d'éviter l'échauffement de la solution.

On remarque que le pyrex ne laisse passer que les longueurs d'ondes supérieures à 290 nm.



**Figure 23 :** Dispositif expérimental utilisé pour les irradiations

Dans la figure 24 on représente le spectre d'émission de la lampe HPK avec un filtre en pyrex, celui ci est composé d'une succession de raies entre 290 et 400 nm permettent de reproduire plus ou moins le spectre solaire.



**Figure 24** : Raies d'émission de la lampe HPK 125W

### I.5. Identification et quantification

La chromatographie en phase liquide (HPLC) est l'une des techniques les plus utilisées pour l'analyse qualitative et quantitative ainsi que l'identification des constituants d'un mélange. Ainsi, elle est devenue l'une des méthodes les plus importantes dans l'analyse du pesticide. Les prélèvements d'échantillons de la solution au cours de l'irradiation ont été effectués à des intervalles de temps réguliers durant la photolyse. Ces échantillons sont analysés par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) : un système SHIMADZU muni d'une pompe programmable LC-10ATVP et équipé d'un détecteur à barrettes de photodiodes (DAD) modèle CLASS-VP. Pour les études cinétiques de disparition du pesticide, la phase mobile est constituée d'un mélange eau-acétonitrile contenant 1 % d'acide phosphorique ; qui est distribuée avec un débit de 1 mL/min. La détection a été effectuée à 220 nm pour ce produit.

L'ensemble du système est piloté par un ordinateur utilisant un système de gestion CLASS-VP. L'analyse quantitative et qualitative a été réalisée par comparaison des temps de rétention  $t_R$  et les aires des pics avec celui de la solution standard préparée dans les mêmes conditions opératoires.

### I.5.1. Conditions d'analyses

Les conditions d'analyses sont résumées dans le tableau suivant 4.

**Tableau 4** : conditions de l'analyse des échantillons soumis à la photo dégradation

Chromatographe en phase liquide (HPLC)	un système SHIMADZU
Détecteur	UV-Visible variable (DAD)
colonne	C18 Kromasil (5 $\mu$ m, 150*40mm)
Débit	1ml/min
Longueur d'onde	220nm
Solvant	Acétonitrile/eau et 1% d'acide phosphorique
Gradient de Solvant	T=0 60% en eau et 40% en acétonitrile T=12min 25% en eau et 75% en acétonitrile Cette composition finale est maintenue 13min
Boucle d'injection	20 $\mu$ l
quantité injectée	1 $\mu$ l

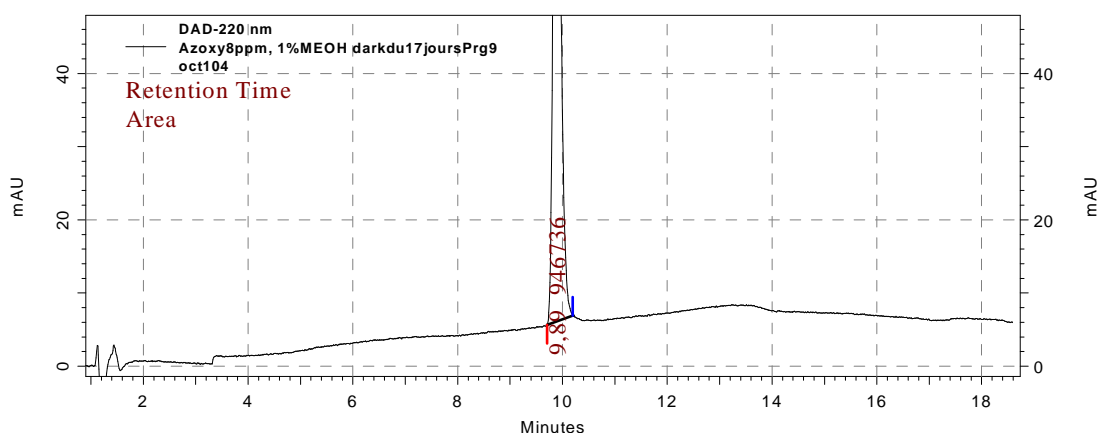
## I.6. Résultats et discussions

### I.6.1. Evolution de la dégradation par HPLC :

Des prélèvements de la solution irradiée à des intervalles de temps différents ont été analysés par HPLC/ DAD. Les figures 25-32 représentent les profils chromatographiques obtenus après irradiation de l'azoxystrobine dans l'eau, avec une lampe HPK.

Ainsi, la figure 25 suivante représente le chromatogramme de l'analyse de la solution aqueuse de l'AZX conservée à l'abri de la lumière pendant 17jours.

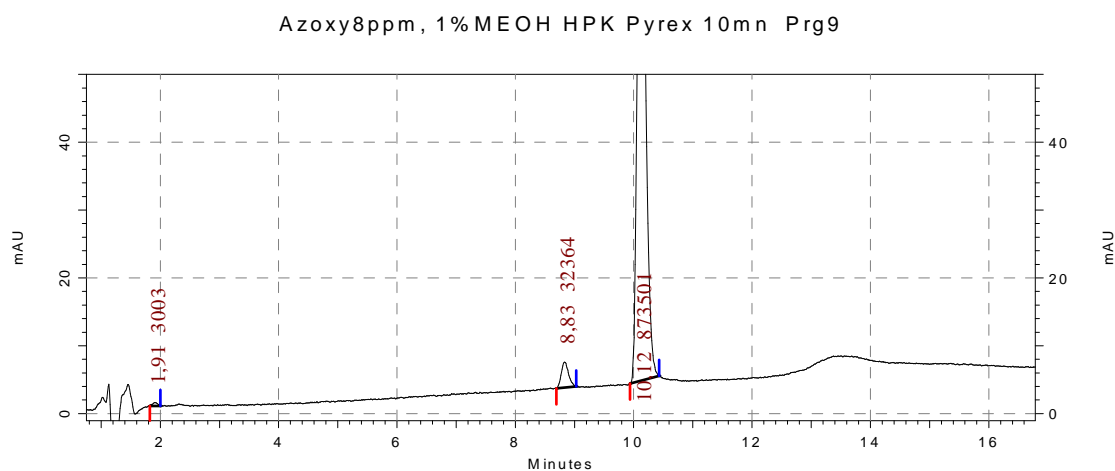
Azoxy8ppm, 1%MEOH 17jours Prg9



**Figure 25** : Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX conservé au noir

On remarque clairement dans ce chromatogramme, qu'il y a un seul pic, celui de l'azoxystrobine de configuration géométrique E. D'autre part on constate qu'il n'y a eu aucun produit de dégradation, durant ce temps et à l'abri de la lumière. Donc, on peut dire que la solution aqueuse d'AZX est stable.

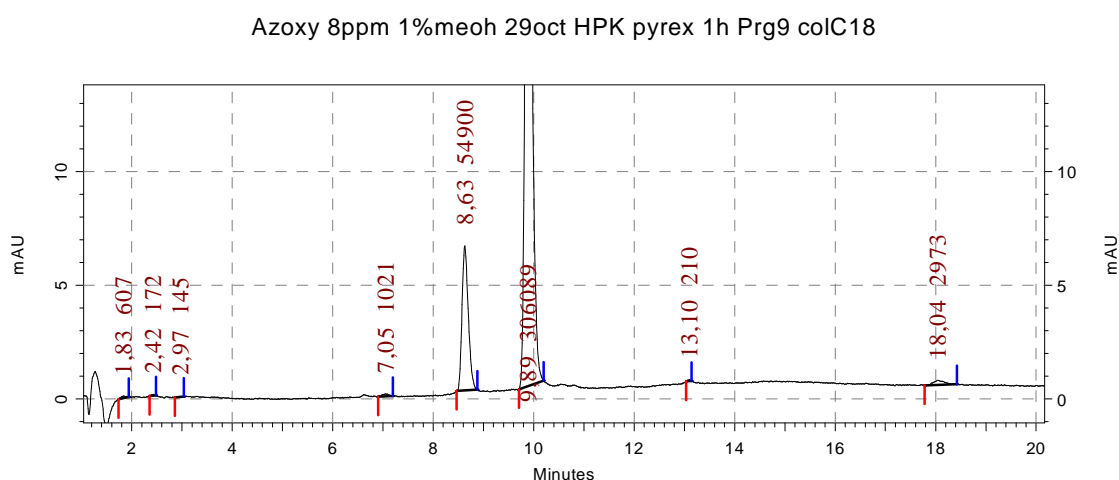
Par contre le Chromatogramme représenté dans la figure 26, montre que l'échantillon d'AZX irradié pendant 10min est dégradé vu que la surface du pic de l'AZX a baissé.



**Figure 26:** Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX après 10 min d'irradiation

Dans cette figure on remarque aussi clairement qu'il y a eu formation d'un produit de dégradation à  $t_r = 8,8$  min.

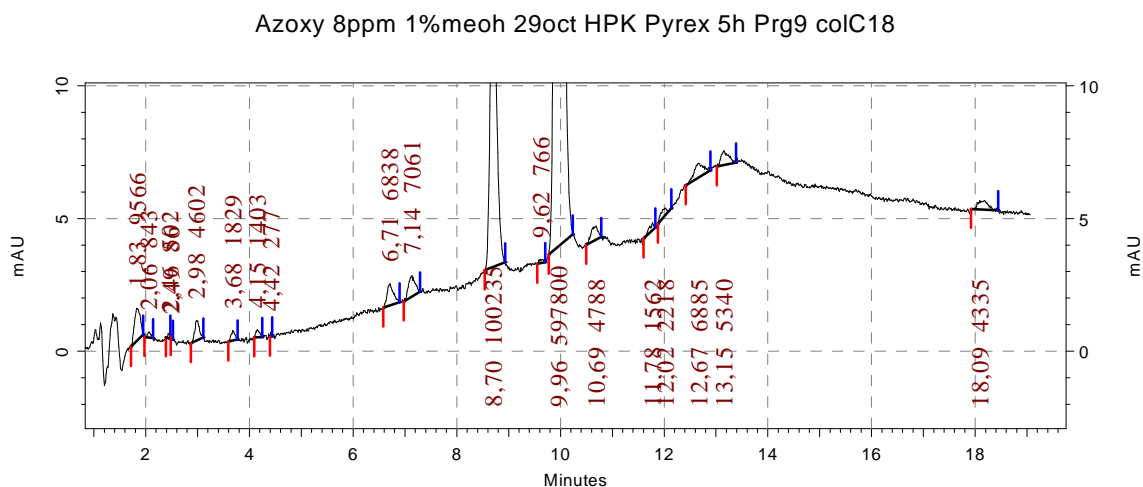
Le Chromatogramme figure 27 représente un échantillon d'AZX irradié pendant 1h.



**Figure 27 :** Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX après 1h d'irradiation

On remarque que la surface du pic de l'AZX a sensiblement diminué, durant ce temps il y a apparition d'un photo produit à  $t_r = 13$  min et un autre à  $t_r = 18$  min.

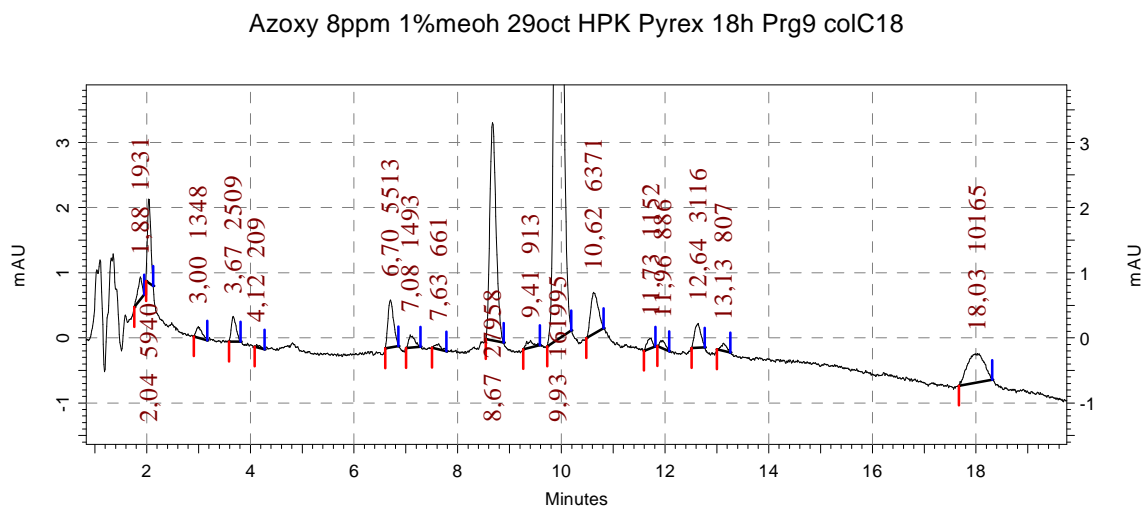
La figure 28 suivante représente le chromatogramme d'un échantillon d'AZX irradié pendant 5h.



**Figure 28 :** Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX après 5h d'irradiation

Dans ce chromatogramme on remarque clairement la formation de nouveaux photoproduits à 2,98min, 3,68min, 7,14min ainsi que l'augmentation très nette de la surface du pic à 8,7min.

Le Chromatogramme de la figure 29 représente un échantillon d'AZX irradié pendant 18h.



**Figure 29 :** Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX après 18h d'irradiation

On remarque une augmentation très nette des aires de pics des photoproduits, sauf pour le pic à 8,7min sa surface diminue légèrement.

La figure 30 suivante représente un échantillon d'AZX irradié pendant 27h.

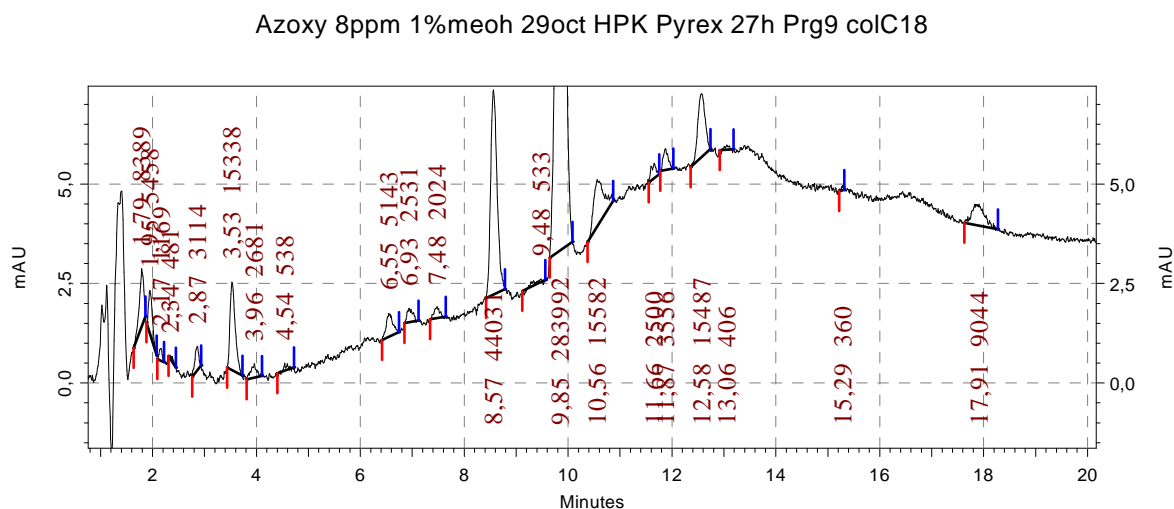


Figure 30 : Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX après 27h d'irradiation

On remarque la diminution de l'aire du pic à 3min, 6min, ainsi que celui à 8,6min. Pour l'échantillon d'AZX irradié pendant 36h et représenté dans la figure 31.

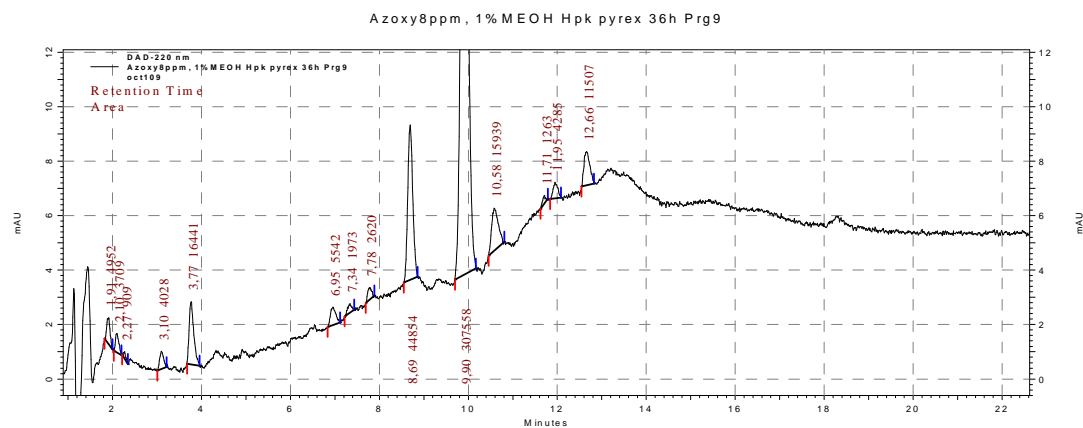


Figure 31 : Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX après 36h d'irradiation

On remarque clairement la disparition de certains photoproduits comme ceux à 13min et à 18min et la diminution de tous les autres photoproduits sauf celui à 10min sa surface augmente d'avantage.

Enfin pour l'échantillon d'AZX prélevé après 67h d'irradiation représenté dans la figure 32.

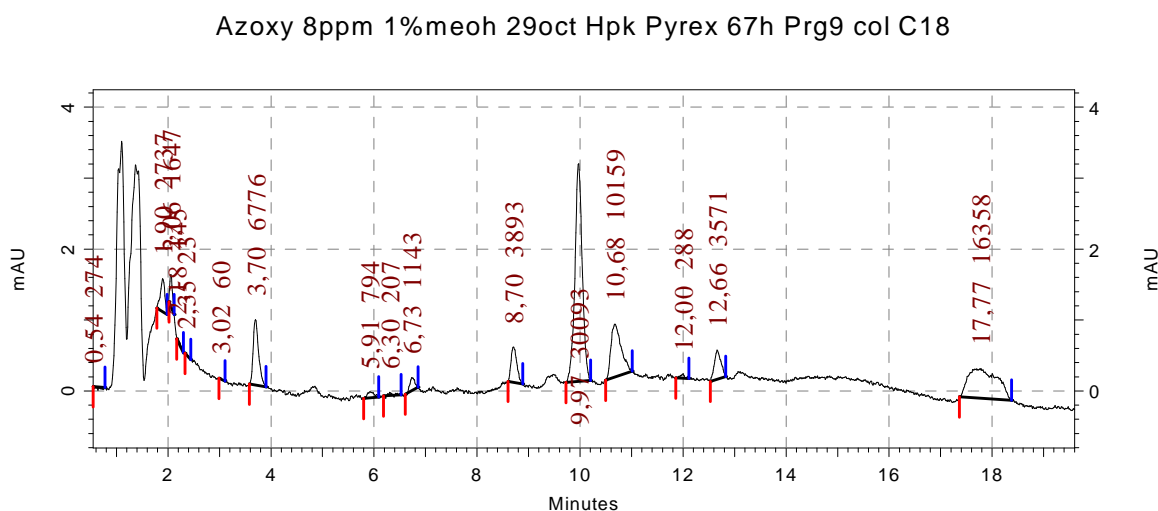


Figure 32 : Chromatogramme de la HPLC à 220 nm de l'AZX après 67h d'irradiation

On remarque la diminution des aires de tous les photoproduits, sauf celui à 10min qui reste sensiblement le même, ce qui nous amène à supposer que ce photoproduit s'accumule dans la solution irradiée avec une lampe HPK.

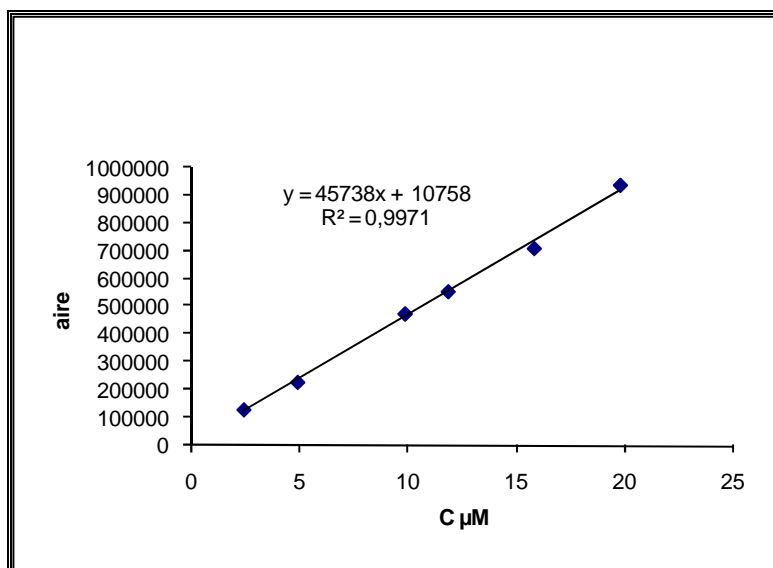
### I.6.2. EVOLUTION QUANTITATIVE DE L'AZX:

Dans le but de quantifier les photoproduits obtenus après irradiation de l'AZX, il a été nécessaire d'établir une courbe d'étalonnage, dans cette perspective une gamme de concentrations connues d'AZX a été analysée par HPLC dans les mêmes conditions citées auparavant dans le tableau 4. Les résultats ainsi obtenus sont reportés dans le tableau 5.

**Tableau 5:** Concentrations et Aires obtenus par HPLC de l'AZX

Concentration ( $\mu\text{M}$ )	aire
19,83	935514
15,86	708863
11,9	554721
9,91	474811
4,96	229580
2,48	131309

A partir de ces résultats la courbe d'étalonnage obtenue est représentée dans la figure 33



**Figure 33** : Droite d'étalonnage de l'AZX par HPLC/DAD

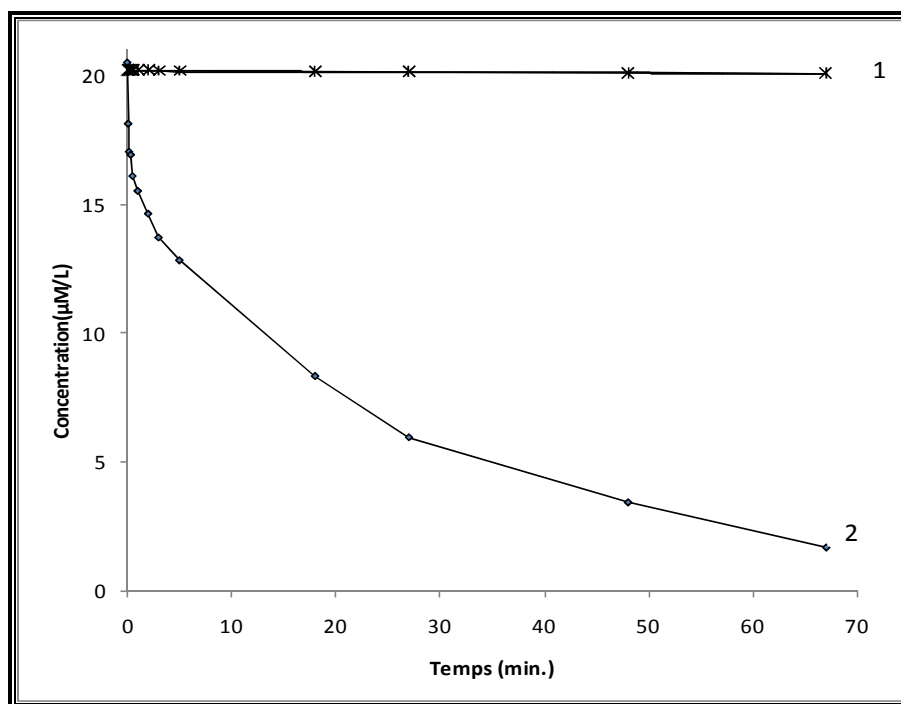
Dans le tableau 6 suivant on résume les valeurs des aires de l'AZX irradié ainsi que l'AZX conservé à l'abri de la lumière aux intervalles de temps étudiés:

**Tableau 6** : Cinétique d'irradiation de l'AZX

Temps (h)	Aire AZX irradié	Aire AZX dans le noir
0	948485	935518
0,083	840008	935515
0,166	815346	935400
0,333	794969	935300
0,5	747118	935250
1	720732	935207
2	680338	935000
3	638149	933000
5	597800	932998
18	392506	931640
27	283992	932107
48	168636	930000
67	88630	928603

L'étude cinétique a été réalisée dans un réacteur en pyrex avec une la source d'irradiation qui est une lampe HPK 125w (lampe à vapeur de mercure haute pression).

Dans l'eau et à l'obscurité (température ambiante), on remarque qu'il n'y a pas de dégradation de l'azoxystrobine (configuration E), comme le montre la figure 34 (1).



**Figure 34 :** (1) Evolution de la concentration de l’AZX dans le noir, (2): Evolution l’AZX sous irradiation HPK dans le réacteur en pyrex

Par contre, sous irradiation lumineuse, la décroissance de la concentration de l’AZX est rapide tout à fait au début de l’irradiation (0-5min) figure 34 (2), durant ce temps il y a formation d’un photoproduit assez particulier à 8,7min. Ce type de transformation est révélé pour ce genre de produit présentant une isomérisation géométrique E [69, 70, 71]. La réaction de photo isomérisation ici présente est instantanée, elle est de type (E→Z). Après les 5 premières minutes la dégradation devient de plus en plus lente car un équilibre de la photoisomérisation est atteint. On remarque aussi dans cette étude, que le premier photoproduit Z est formé instantanément au début de l’irradiation, exemple du chromatogramme à 10 min d’irradiation (Figure 26), la concentration de ce dernier évolue assez rapidement en fonction de temps. Nous avons pu identifier ce photoproduit majoritaire ( $t_r \approx 8,7$  min), en comparant dans les mêmes conditions d’analyses son temps de rétention à celui du standards ainsi que son spectre UV à celui du standard de l’isomère E.

### **I.6.3. EVOLUTION QUALITATIVE DES PRINCIPAUX PHOTOPRODUITS:**

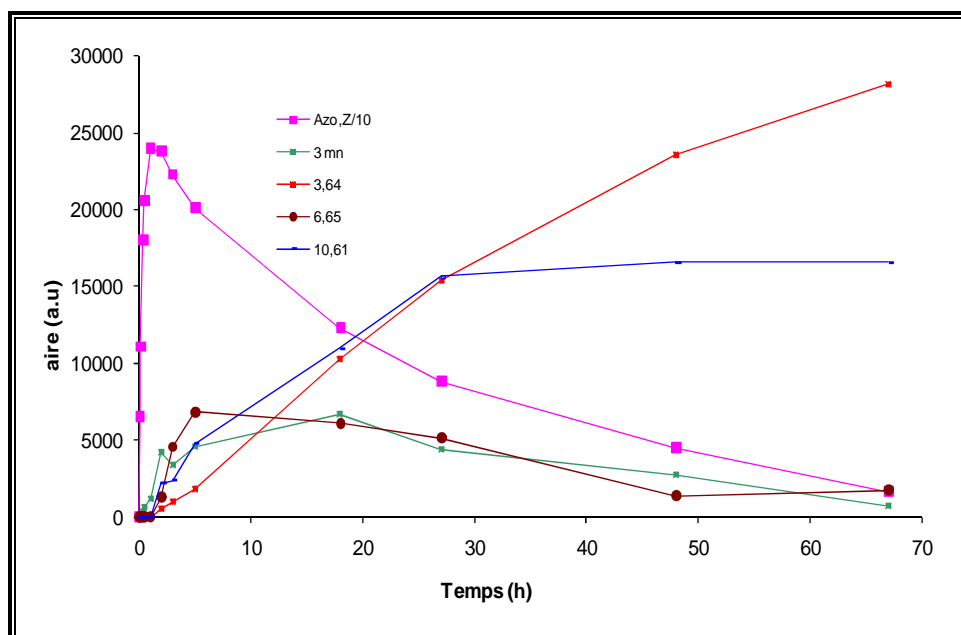
Afin de mieux comprendre les réactions mises en jeu au cours de la dégradation photochimique, et aussi, afin d’évaluer la persistance des photoproduits dans l’environnement, nous avons suivi leur évolution au cours de la dégradation.

Le tableau suivant résume l’évolution de chaque photoproduit.

**Tableau 7 :** Evolution des principaux photoproduits pendant l'irradiation de l'AZX

Temps d'irradiation (h)	Photoproduit (3min)	Photoproduit (3,64min)	Photoproduit (6,65min)	Photoproduit (10,61min)	Isomère Z
0	0	0	0	0	0
0,083	0	0	0	0	6524,6
0,166	0	0	0	0	11055,2
0,333	370	0	0	0	17985,2
0,5	596	0	0	0	20526
1	1203	0	0	0	23926,4
2	4235	514	1290	2179	23707
3	3338	1000	4560	2407	22209,4
5	4602	1829	6838	4788	20047
18	6675	10287	6072	10938	12284,2
27	4380	15338	5143	15582	8806,2
48	2758	23516	1378	16526	4473
67	765	28108	1763	16537	1685

Dans la figure 35, on présente les courbes d'évolution du photoproduit à  $t_r = 8,7$  min. issu de la photoisomérisation de l'AZX, les photoproduits à  $t_r = 3$  min, 3,64 min, 6,65 min, et à 10,61 min, obtenus après irradiation d'AZX avec la lampe au HPK, et analysés par HPLC /DAD.



**Figure 35:** Evolution des principaux photoproduits de l'AZX obtenu durant l'irradiation

Dans cette figure, l'aire de pic AZX (Z) à  $T_R=8,7$  min est divisée par 10. La détermination des aires en unité arbitraire (a.u) est réalisée à  $\lambda = 220$  nm. Plus de 90% d'AZX sont transformés en d'autres espèces après 67 h d'irradiation, le composé AZX (de configuration Z) est le photoproduit le plus dominant. La concentration de ce photoproduit Z augmente jusqu'à atteindre un maximum en 5-10min d'irradiation avant de subir une dégradation à son tour.

Dans une étude précédente [68]. Le maximum de ce produit de photoisomérisation a été atteint aux alentours de 25 heures, dans cette dernière l'auteur a utilisé un autre dispositif d'irradiation utilisant une lampe à Xénon (1500W). Nous remarquons dans le présent travail que la lampe HPK a sensiblement accélère la photo transformation du pesticide, et par conséquent son élimination en un temps plus au moins court.

Un autre photoproduit à  $t_r = 3$  min est identifié par comparaison de son spectre d'absorption UV-Visibles obtenus à l'aide du détecteur à barrettes de diodes du système chromatographique avec celui du produit standard comme étant le 2- cyano-phénol, produit issu de la coupure de la liaison éther. Trois autres photoproduits non identifié dans cette étude apparaissent à 3,64 min, 6,65 min, et à 10,61 min sous irradiation ont tendance de s'accumuler dans la solution.

## **I.7. Conclusion**

Ce travail, montre l'influence de l'irradiation sur le comportement de l'azoxystrobine en solution aqueuse. La forme géométrique E-(AZX) se photodegrade rapidement en phase aqueuse sous l'effet de lampe HPK pour donner la forme géométrique Z-(AZX). Un équilibre entre les deux formes géométriques est atteint au alentour de 5min.

L'évolution de certains produits de dégradation a été suivie par chromatographie en phase liquide avec une détection DAD.

Nous avons remarqué que certains photoproduits disparaissent au cours de l'exposition à la source lumineuse, tandis que d'autres persistent et s'accumulent dans la solution aqueuse (exemple de 3.64min et 10.61min), ce qui peut présenter un problème pour l'environnement.

**CHAPITRE II**

**COMPORTEMENT DE**

**L'AZOXYSTROBINE DANS UNE**

**MATRICE VEGETALE**

**(RAISIN DE TABLE)**

## **CHAPITRE II : COMPORTEMENT DE L'AZOXYSTROBINE DANS UNE MATRICE VEGETALE (Raisin de Table)**

### **II.1. Introduction**

L'intensification de la production agricole associée à la recherche d'une meilleure qualité de produit, récoltée fait de la lutte antiparasitaire une nécessité. Pourtant l'utilisation accrue de produits phytosanitaires a soulevé des inquiétudes concernant leurs effets sur la santé. C'est pourquoi les organismes internationaux (OMS, FAO) et les Etats exigent une diminution constante des seuils de tolérance des résidus de pesticides. Des teneurs maximales en résidus pour certains pesticides et/ou pour leurs métabolites ont été fixées par différents pays afin d'assurer la libre circulation des denrées et la protection du consommateur [72].

Il est donc indispensable d'utiliser des méthodes de dosages très sensibles, spécifiques et recouvrant un panel de substances actives le plus large possible. Au cours des années, les méthodes analytiques ont beaucoup progressé. Ainsi le perfectionnement de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) puis en phase liquide (HPLC) seuls ou couplés à la spectrométrie de masse a permis progressivement d'abaisser les seuils de détection de résidus à la limite de détection de la méthode analytique utilisée.

Parallèlement à l'amélioration des techniques d'analyse, les séparations précédant le dosage sont aussi optimisées. Ces opérations commencent par une étape d'extraction qui permet de libérer le pesticide de la matrice. Puis souvent une ou plusieurs étapes de purification commencent avant de concentrer l'extrait et de le doser.

La dispersion des résultats analytiques est due en grande partie à l'échantillonnage et ceci malgré les multiples recommandations existantes [73]. Cette dispersion des résultats est d'autant plus grande que la quantité à mesurer est faible.

En effet, l'analyse est réalisée sur une matrice végétale (le raisin de table).

## II.2. Présentation de la matrice végétale

La vigne mérite d'être cultivée pour son feuillage tout autant que pour ses fruits. Sa production de raisin s'additionne à son intérêt décoratif, en effet, son joli feuillage découpé se pare du plus bel or en automne. La vigne s'accroche seule à son support grâce à ses petits crampons et aime les situations ensoleillées. [74].

Le raisin utilisé est une variété autochtone depuis quelques générations déjà, à **Benchicao** dans la wilaya de Médéa appelé le « dattier de Beyrouth ». Notre choix s'est porté sur la vigne car le fongicide « ortiva » est largement utilisé sur la vigne.

La variété « Dattier de Beyrouth » : comme son nom l'indique, est originaire de la région de Beyrouth au LIBAN et a été multiplié dans un premier temps dans la région de Cavaillon (Vaucluse, en France). Puis introduit en Algérie en 1884 [75].

Les premières exploitations viticoles en Algérie remontent aux années 1836 puis le développement le plus important c'est fait de 1850 à 1880, la surface cultivable en vigne est passée de 2000ha à 399.447ha

### II.2.1. Classification botanique

- Synonymie : rosaki, régina.
- Description : grappes assez grandes, 20-25cm, coniques, assez lâches; baies ellipsoïdes, très grosses 25 X 15mm, jusqu'à 32 X 22mm, blanc doré, peau épaisse, pulpe charnue.
- Porte greffe conseillé: vigoureux et moyennement vigoureux
- Taille: taille longue
- Floraison: mars à début avril
- Maturité: août, septembre
- Zones de production: bonnes terres bien exposées et se réchauffant facilement, cépages sensible aux maladies et à la pourriture, et aux gelées d'hiver.

Vitis vinifera 'Dattier de Beyrouth' de L'ITAF de Médéa



**Figure 36 :** Le raisin « dattier de Beyrouth » de la station de Médéa

### **II.3. Présentation du Site de l'échantillonnage**

Les prélèvements des échantillons de raisins ont été effectués à la station expérimentale de l'ITAF (Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière et de la vigne) à Benchicao wilaya de Médéa.

La wilaya de Médéa est située à 80Km au sud-ouest d'Alger, Benchicao l'une de ces 64 communes située sur les hauts plateaux qui ferme la vallée de Mitidja.

Des champs de vignobles s'étendent à perte de vue transformant les plaines et les collines en tapis verdoyant. Appelée aussi « la vallée du Ahmar Bouaamar », Benchicao avec ses 7200Ha de vigne a un potentiel de 80% de récolte viticole national.

Le vignoble se trouve dans une ferme pilote datant de l'époque coloniale, se compose de plusieurs rangées de vigne (85 au total) dont plusieurs variétés autochtones ou bien acclimatés qui surplombent une belle plaine. A une altitude de 1200metres et avec un climat sub-humide (400 a 600 mm de pluie).

Depuis la création des coopératives agricoles en 1970-1972 ; il n'y a pas eu de subvention de l'Etat pour l'arrachage des vieilles vignes. Cela a conduit à une baisse considérable de rendement et donc le vignoble a développé une résistance aux maladies. D'après les viticulteurs les deux maladies les plus redoutables de la vigne sont l'oïdium et le mildiou dues au taux élevé d'humidité dans la région, selon leurs dires aucun traitement n'est efficace sauf le soufre et le cuivre, mais actuellement peu disponible sur le marché et leurs ventes très réglementées par l'Etat Algérien [76].



**Figure 37** : Site de l'échantillonnage « station de Médéa »

#### **II.4. Traitement du raisin avec l'ortiva**

L'objectif de notre travail, est l'essai du fongicide azoxystrobine « ortiva » sur la vigne, dans le but de quantifier le taux de résidu dans le raisin, le sol et de réduire l'attaque de l'oïdium et du mildiou (sachant que début septembre 2009, il y a eu de fortes pluies, cette humidité a favorisé l'apparition du mildiou).

Nous avons effectué un premier traitement le 17 Août 2009 puis un 2<sup>ème</sup> traitement après 7 jours, en utilisant toujours la même dose (la dose préconisée par le fabricant) qui est de 1L/ ha pour la vigne

La formulation utilisée pour ce traitement est « l'ortiva » de syngenta, notre choix s'est porté sur cette formulation car c'est la plus concentrée en azoxystrobine à 250g/l et ne contient pas d'autres molécules interférentes.

Ce traitement s'est effectué avec un pulvérisateur à dos pour bien cibler uniquement les trois rangés de récolte. Le traitement a été réalisé par un ouvrier qualifié de la station de Médéa en tenant compte du sens du vent pour l'orientation de la lance de traitement. Au final on a étiqueté les points de récoltes sur chaque rangée pour faire le traitement et la récolte que sur ces rangées. La concentration initiale de traitement est de 0,42g/l.

## **II.5. Echantillonnage**

Pour notre travail, nous avons pris trois rangées très espacées l'une de l'autre que l'on nommera 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> rangée et sur chaque rangée nous avons pris 3 points de récolte.

Chaque grappe prélevée est étiquetée, le transport du raisin s'est effectué dans une glacière jusqu'au laboratoire.

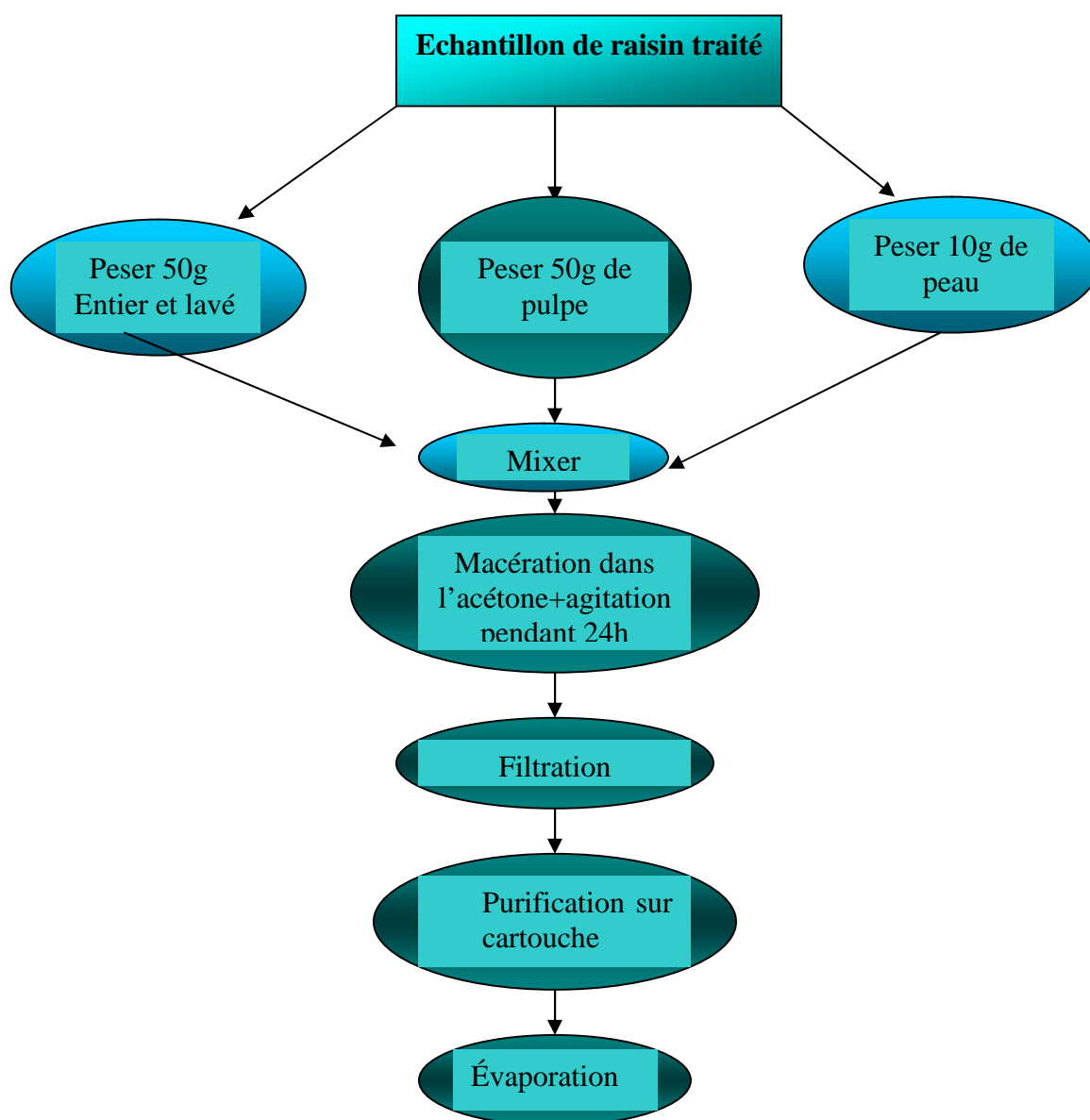
## **II.6. Extraction et purification**

Le mode d'extraction utilisé est la macération dans un solvant organique (l'acétone), pendant 24h sous agitation à l'abri de la lumière pour éviter toute possibilité de photodégradation. Puis purification sur des cartouches de Florisil après avoir pris soin d'évaporer dans un évaporateur rotatif, l'extrait obtenu est prêt pour l'analyse [77].

### **II.6.1. Mode opératoire**

Les extractions sont faites sur 50g de raisin entier et lavé puis sur 10g de peau et 50g de pulpe, ensuite ces éléments sont broyés à l'aide d'un mixeur, puis on a ajouté 30ml d'acétone et à l'abri de la lumière, le tout est mis sous agitation pendant 24h.

Filtrer sur du papier filtre garni de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, puis évaporer dans un évaporateur rotatif à 2ml, ensuite la purification sur cartouche florisil le filtrat récupéré est évaporée sous courant d'azote. L'échantillon est prêt pour l'analyse.



**Figure 38** : Schéma représentant le protocole d'extraction utilisé

## II.7. Identification et quantification

La chromatographie en phase liquide (HPLC) est l'une des techniques d'analyses les plus utilisées aussi bien au laboratoire que dans l'industrie pour l'analyse qualitative ainsi que pour

l'isolement et l'identification des constituants d'un mélange. Elle est devenue l'une des méthodes les plus importantes dans l'analyse du pesticide.

Dans le but d'identifier notre fongicide, nous avons procédé à son analyse par chromatographie en phase liquide à l'aide d'un chromatographe (Hewlett Packard) HP série 1100 équipé d'un détecteur UV-visible et l'identification est effectuée à l'aide d'un logiciel « Chemstation ». Les conditions d'analyses sont les suivantes :

### II.7.1. Conditions d'analyses

Les conditions analytiques de l'analyse chromatographique des résidus d'AZX dans les échantillons de raisin de table

**Tableau 8 :** conditions d'analyses des résidus d'AZX dans le raisin

Chromatographe en phase liquide (HPLC)	HP série 1100
Détecteur	UV-Visible
colonne	C18
Débit	1ml/min
Longueur d'onde	254nm
Programmation de solvant	Initialement 60% en acétonitrile et 40% en eau puis on arrive à 25% en acétonitrile et 75% en eau au bout de 12min, cette composition est maintenue pendant 13min.
Boucle d'injection	20µl
quantité injectée	1µl

## II.8. Résultats obtenus

### II.8.1. Rendement de la méthode d'extraction

Afin de déterminer le rendement de la méthode d'extraction des résidus d'AZX dans le raisin nous avons fait un essai sur un échantillon de référence (raisin non traité) supplémenté avec de l'AZX «l'ortiva ». Cet échantillon dopé a subi le même procédé d'extraction et de purification que les échantillons traités précédemment « figure 38 ».

L'essai a été fait sur deux échantillons de raisins non traités, récoltés avant le début de traitement, de 50 g de poids chacun : le premier extrait directement sans traitement supplémentaire « le blanc », alors que le second a été préalablement supplémenté avec 2 µl d'ortiva.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 9.

**Tableau 9:** Calcul du rendement de l'extraction

Echantillon	Concentration initiale	Concentration calculée	Rendement
Non contaminé (blanc)	0	0	-
Contaminé avec AZX	500µg	310µg	62%

### II.8.2. Méthode de calcul du rendement

Le rendement d'extraction de l'AZX est calculé selon la relation :

$$R = \frac{C_c}{C_i} \times 100$$

R : Rendement d'extraction en %

C<sub>c</sub> : Concentration d'azoxystrobine calculée après analyse en µg

C<sub>i</sub> : Concentration initiale (dopage) d'azoxystrobine en µg

### II.8.3. Etalonnage de la méthode

A partir d'une solution standard du pesticide « azoxystrobine » de concentration connue, les dilutions nécessaires sont réalisées de façon à obtenir une gamme de concentrations connues du pesticide. Ces solutions sont analysées et on établit pour chacune sa surface du pic correspondant, une courbe des concentrations fonction de ses surfaces.

La zone de linéarité de réponse du détecteur est ainsi délimitée.

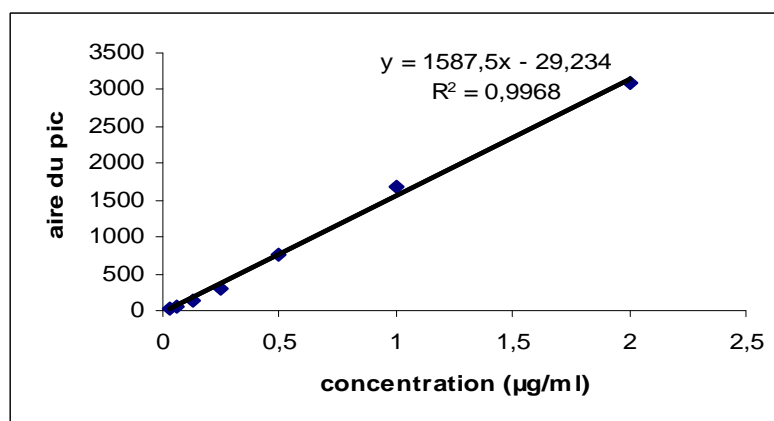
Dans les mêmes conditions d'analyses suscitées dans le tableau 8, une gamme de concentration connue d'azoxystrobine pure (étalon), a été injectée pour obtenir la droite d'étalonnage.

Le tableau ci-dessous récapitule les différentes aires correspondantes aux concentrations d'étalons injectés :

**Tableau 10** : Concentrations et Aires obtenus par HPLC/UV de l'AZX

Concentration (µg/ml)	Surface du pic (Aire)	Temps de rétention tr (min)
2	3090	7,459
1	1690,58447	7,473
0,5	757,20801	7,645
0,25	311,28604	7,563
0,125	144,56074	7,435
0,0625	67,37603	7,479
0,03125	34,92906	7,484

Les concentrations et les surfaces de pics serviront à tracer la courbe d'étalonnage, représenté figure 39.



**Figure 39** : Courbe d'étalonnage de l'azoxystrobine obtenue par HPLC.

Après avoir établi la courbe d'étalonnage, la droite de calibration déterminée servira au calcul du taux de résidu dans les extraits de raisins en µg/ml, le tableau suivant nous donne les paramètres de la droite d'étalonnage.

**Tableau 11** : Droite d'étalonnage obtenue

Etalon	Tr (min)	Calibration	R <sup>2</sup>
azoxystrobine	7,548	Y= 1587,5 X – 29,234	0,9968

La norme Européenne exige que le taux de résidu en pesticide dans les produits frais soit exprimé en mg/kg.

## II.8.4. Méthodes de calculs de concentrations en mg/kg

Pour le calcul des concentrations, les taux de résidus trouvés dans le raisin en  $\mu\text{g/ml}$  ont été exprimés en  $\text{mg/kg}$  en utilisant la formule suivante [78]:

$$Q_i = \frac{V_i * C_i}{M_i}$$

$Q_i$ : Quantité de résidu dans le raisin en  $\text{mg/Kg}$

$V_i$ : Volume de l'extrait en ml

$M_i$ : Masse de l'échantillon en gramme (g)

$C_i$ : Concentration de l'azoxystrobine dans le résidu en  $\mu\text{g/ml}$

## II.8.5. Quantification des taux de résidus

Après quantification des taux de résidus par HPLC, les différents taux de résidus d'AZX trouvés dans le raisin pour toutes les récoltes exprimés en  $\text{mg/kg}$  sont regroupés dans les tableaux suivants :

Les valeurs moyennes du taux de résidu d'AZX pour les trois rangées du 1<sup>er</sup> traitement

**Tableau 12:** Taux de résidus dans le raisin après 7 jours du 1<sup>er</sup> traitement.

Rangée n°	pulpe (mg/kg)	peau (mg/kg)	entier lavé (mg/kg)
1	0,037 ± 0,002	0,066 ± 0,002	0,018 ± 0,0005
2	0,027 ± 0,005	0,067 ± 0,001	0,050 ± 0,002
3	0,028 ± 0,006	0,066 ± 0,012	0,009 ± 0,008

Les valeurs moyennes du taux de résidu d'AZX pour les trois rangées du 2eme traitement

**Tableau 13:** Taux de résidus dans le raisin après le 2eme traitement

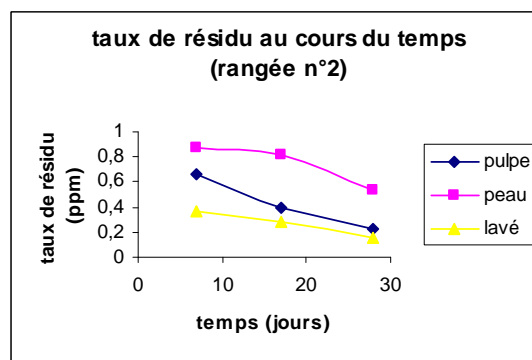
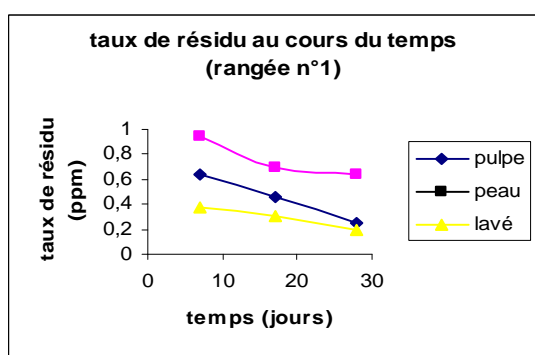
Délai avant récolte (jours)	7			17			28		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
pulpe (mg/kg)	0,64	0,66	0,53	0,46	0,40	0,37	0,25	0,22	0,60
peau (mg/kg)	0,95	0,88	0,74	0,70	0,82	0,63	0,64	0,54	0,31
lavé (mg/kg)	0,38	0,37	0,40	0,31	0,28	0,30	0,20	0,15	0,10

Les valeurs moyennes du taux du résidu pour les deux traitements :

**Tableau 14:** Taux de résidus moyen pour toutes les récoltes

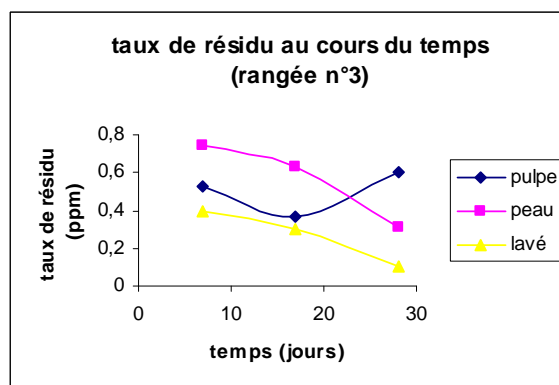
Délai avant récolte (jours)	7 1traitement	7 2traitements	17 2traitements	28 2traitements
pulpe (mg/kg)	0,030±0,005	0,61±0,070	0,41±0,045	0,35±0,211
peau (mg/kg)	0,066±0,0005	0,85±0,106	0,71±0,096	0,50±0,169
lavé (mg/kg)	0,025±0,021	0,38±0,015	0,29±0,015	0,15±0,05

L'évolution du taux de résidu au cours du temps pour le 2<sup>ème</sup> traitement, dans la peau et la pulpe du fruit ainsi que dans le raisin entier et lavé, cela pour les trois rangées de récolte, sont représentés dans les figures des courbes suivantes



**Figure 40 :** taux de résidu dans la 1<sup>ère</sup> rangée

**Figure 41 :** taux de résidu dans la 2<sup>ème</sup> rangée



**Figure 42 :** taux de résidu dans la 3<sup>ème</sup> rangée

## II.9. Discussions

Les résultats obtenus sont représentés dans les histogrammes des figures 1 à 12 dans l'annexe 1. Les courbes obtenues après le 2<sup>ème</sup> traitement montrent une décroissance régulière, notre étude montre que le taux en résidu est plus important sur la peau du fruit que dans la pulpe. Dans la peau le taux en résidu est plus important de 49% pour le premier traitement et de 66% pour le deuxième traitement par rapport à la pulpe et cela après plusieurs jours de traitement car notre produit est un produit systémique. Cependant lors du lavage, il se produit un lessivage des fruits et ainsi, le principe actif diminue considérablement, par rapport au fruit non lavé.

Pour la vigne traité par l'ortiva, la disparition de la matière active l'azoxystrobine est accentuée lors des premiers jours qui suivent le 1<sup>er</sup> traitement, on trouve un taux de résidu inférieur à la limite maximale en résidu après 28 jours du 2<sup>ème</sup> du traitement. Néanmoins ce taux pourra être plus important si la dose utilisée est supérieure à la dose préconisée par le fournisseur du produit. Notons que la culture se faisant en plein champ, le produit ortiva est sensible au ultra violet du rayonnement solaire, comme il a été montré dans le premier chapitre. Donc son principe actif se dégrade sur les fruits. L'ensoleillement des parcelles est un paramètre important dans la disparition du principe actif.

Ainsi, nous avons remarqué que les traitements ont été suivis par une période de pluie ce qui a contribué à » l'élimination plus ou moins importante du produit du végétal.

Néanmoins on remarque que les taux de résidus augmentent avec le nombre de traitement. Dans le 2<sup>ème</sup> traitement le taux de résidu est supérieur par rapport au premier, mais par la suite il diminue au bout de la 3<sup>ème</sup> récolte.

Donc il a été constaté que plus le délai avant récolte (DAR) est important plus le taux de résidu diminue, comme le montre le tableau 14, cela est en accord avec les résultats trouvés dans les travaux précédents [79] et [80].

On remarque aussi que le taux de résidus diminue considérablement avec le lavage du fruit. Dans notre cas il diminue en moyenne de 30% par rapport au taux trouvé dans la peau et de 43% par rapport au taux trouvé dans la pulpe. Les résultats retrouvés sont en concordance avec les travaux antérieurs [81]. D'autre part, on constate clairement (d'après les résultats présentés dans le tableau 14) que le taux le plus élevé de résidu se retrouve sur la peau du fruit. Les taux de résidus trouvés dans toutes les récoltes varient entre 0.25 mg/kg et 0.65 mg/kg et cela pour un DAR de 28 jours. Cela reste conforme à la norme Européenne 396/2005/CE, ce qui incite à respecter l'application de la dose prescrite par le fabricant.

## **II.10. Conclusion**

Au vu des différentes techniques de détermination de pesticides dans les aliments, il semble clair qu'une procédure universelle applicable à tous les échantillons n'existe pas. Cependant, l'HPLC convient à l'analyse des résidus de pesticides. Il convient aussi d'utiliser les performances des différents adsorbants conventionnels disponibles en application de la SPE comme technique de purification lors de l'analyse des pesticides dans les échantillons alimentaires.

Les résultats obtenus indiquent qu'il y a eu peu de différences entre les différentes rangées, les conditions de travail étant assez similaires.

Le fongicide, azoxystrobine est toujours employés par les producteurs de vigne. Les doses d'emploi préconisées par les firmes doivent être respectées pour éviter l'accumulation, surtout s'il y a plusieurs traitements successifs et rapprochés dans le temps. D'après les résultats qualitatifs trouvés, les taux de résidus restent dans les normes (LMR).

La dégradation de ce fongicide est remarquée dans les premiers jours après le traitement puis ralentit pour arriver à des doses de 0,35ppm pour la pulpe, 0,50ppm pour la peau et enfin 0,15ppm pour le raisin entier et lavé au bout de 28jours.

Ce mode de traitement permet d'intervenir également pour obtenir une action phytosanitaire plus précise et moins polluante pour l'environnement. A la lumière de ces résultats, un bon lavage des produits frais avant la consommation s'impose.

**CHAPITRE III**

**COMPORTEMENT DE**

**L'AZOXYSTROBINE DANS**

**LE SOL**

## **CHAPITRE III : COMPORTEMENT DE L'AZOXYSTROBINE DANS LE SOL**

### **III.1. Introduction**

Dans certaines zones agricoles traitées aux différents pesticides, les champs sont souvent drainés artificiellement pour les rendre plus faciles à cultiver. Les eaux issues ainsi du drainage peuvent dans certaines conditions se ré infiltrer dans les aquifères pour atteindre les différents types d'environnements : lacs, ruisseaux, et accumulation dans le sol [82].

Une méthode d'extraction du fongicide azoxystrobine du sol et de son analyse par GC/ECD a été décrite par plusieurs auteurs [83]. L'effet de l'azoxystrobine sur l'environnement suggère que l'AZX se dégrade lentement dans le sol, avec un temps de demi-vie de 54-135 jours dans des conditions aérobiques et de 36-45 jours dans des conditions anaérobiques [84].

La décomposition des pesticides dans les sols est régie par différents facteurs tels que la constitution du sol, les micros organismes qui y vivent, les facteurs environnementaux, les propriétés du sol (nature du sol, pH, composition.....) [85].

Ce travail est une contribution à l'analyse par la chromatographie en phase gazeuse qualitative et quantitative des résidus de notre fongicide dans un échantillon de sol, prélevé dans un champ du vignoble après deux traitements avec de l'ortiva.

### **III.2. Echantillonnage**

L'échantillonnage du sol a été fait à la même station, à Médéa au pied de la vigne pour les deux rangés de récolte utilisées dans l'étude du résidu dans le raisin, à une profondeur de 25cm. Un échantillon de sol loin du lieu de récolte (lieu de traitement) a été aussi prélevé.

### **III.3. Mesure du taux d'humidité**

Les échantillons de terre sont séchés à l'air libre, puis pillés au mortier et tamisés avec un tamis de 500µm. La mesure de l'humidité a été effectuée par infra rouge en utilisant l'appareil « Moisture analyser » de marque « Toledo ». 10g de sol sont mis dans un creuset en Aluminium placé dans le moisture. La valeur du taux d'humidité est donnée directement par la différence de masse après exposition de l'échantillon aux infrarouges.

Les résultats du taux d'humidité des sols étudiés sont regroupés dans le tableau 15:

**Tableau 15** : Teneur en humidité du sol

Emplacement	Taux d'humidité (%)
1ere Rangée	2,70
2eme Rangée	2,55
Non Contaminé	3,59

#### **III.4. Extraction de l'AZX à partir du sol**

La méthode utilisée pour la recherche de pesticides dans le sol, est celle de l'extraction accélérée par solvant au moyen de l'extracteur automatique de marque (ASE 200-Dionex) cette technique consiste à extraire les contaminants à partir d'une matrice solide par un solvant organique à haute température et sous haute pression.

20g de sol sont introduits dans des cellules d'extraction (cartouches en acier inoxydables), les deux extrémités de la cellule sont bouchées avec des filtres en cellulose. Les cellules sont ensuite placées dans l'extracteur. Le solvant d'extraction qui est dans notre cas le mélange acétone/cyclohexane est mis dans le réservoir de l'extracteur. L'extraction est lancée après programmation des conditions citées ci-dessous sur l'ASE. Lorsque les consignes de pression et de température sont atteintes, l'étape d'extraction se poursuit et les analytes passent de l'échantillon vers le solvant. Le temps d'extraction est fixé à 15 min. A la fin, la vanne de l'ASE est ouverte et le solvant est envoyé vers le flacon de récupération.

#### **III.5. Filtration et évaporation**

Les extraits obtenus par l'ASE sont filtrés sur du papier filtre contenant du  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ensuite concentrés dans un turbo évaporateur de marque (Turbo Vap II Zymark) dans lequel un courant d'azote évapore le solvant, jusqu'à atteindre un volume de 0,5 ml. La température du bain de l'évaporateur est fixée à 10°C.

#### **III.6. Purification sur cartouche**

La purification est réalisée sur cartouche florisil. Le conditionnement de la cartouche de purification placée dans le vac elut, est effectué avec 3 ml d'un solvant apolaire dans notre cas c'est l'hexane. Ensuite, l'extrait déjà filtré et évaporé est versé dans la cartouche pour être élué deux fois avec 3 ml d'hexane. La totalité de l'éluât récupéré, est concentré dans le turbo-évaporateur.

### III.7. Analyse et quantification

La CPG est actuellement l'une des techniques d'analyses les plus utilisées aussi bien au laboratoire que dans l'industrie pour l'analyse qualitative et quantitative, ainsi que pour la séparation et l'identification des constituants d'un mélange. Elle est devenue l'un des procédés les plus importants dans l'analyse des pesticides.

Dans le but de quantifier le résidu d'AZX dans le sol étudié, nous avons procédé à son analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG) à l'aide d'un chromatographe HP6890 séries CG system, équipé d'un détecteur ECD et d'un intégrateur de type HP3395.

#### III.7. 1. Conditions d'analyses

L'analyse chromatographique des échantillons de sol a été réalisée en utilisant les conditions regroupées dans le tableau 16 ci-dessous :

**Tableau 16** : Conditions opératoires d'analyses par CPG

Chromatographe en phase gazeuse	HP 6890 séries CG
Détecteur	ECD (Détecteur à Capture d'Electron)
Colonne	HP-5 capillaire en silice fondue (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)
Phase stationnaire	5% Phenyl méthyl siloxane
La température de la colonne	Température initiale : 150 °C pendant 5 min Température finale : 270°C pendant 20 min Vitesse de chauffage : 15 °C/min
Température du détecteur	300°C
Température de l'injecteur	280 °C
Mode d'injection	Split (1/7)
Quantité injectée	1µL
Gaz vecteur	Hélium
Débit	2 mL/min

### III.8. Résultats

#### III.8.1. Rendement de la méthode d'extraction

Afin de déterminer le rendement de la méthode d'extraction des résidus d'AZX dans le sol nous avons fait un essai sur un échantillon de référence (sol non exposé au traitement) supplémenté

avec de l'AZX «l'ortiva ». Cet échantillon dopé a subi le même procédé d'extraction et de purification que les échantillons de sols précédents.

L'essai a été fait sur deux échantillons de sols non contaminés (avant traitement), pris avant le début de traitement, de 20 g de poids chacun : le premier extrait directement sans traitement supplémentaire « le blanc », alors que le second a été préalablement supplémenté avec 1µl d'ortiva. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 17.

**Tableau 17:** Calcul du rendement de l'extraction

Echantillon	Concentration initiale	Concentration calculée	Rendement
Non contaminé (loin de la zone de traitement)	0	0	-
Contaminé avec AZX	250 µg	221µg	88,4%

### III.8.2. Méthode de calcul du rendement

Le rendement d'extraction de l'AZX dans les échantillons de sol est calculé selon la même relation utilisée précédemment (page 56).

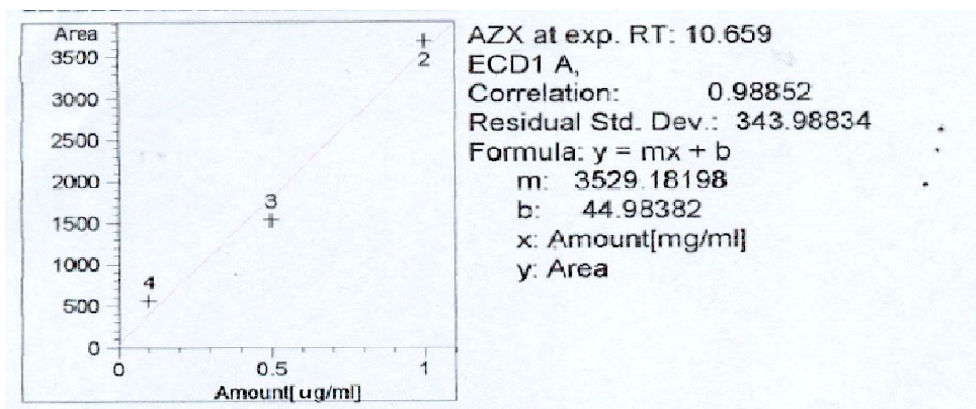
### III.8.3. Résultats de l'analyse par CPG/ECD

L'analyse quantitative des échantillons de sol a été effectuée par la méthode d'étalonnage externe, dont le tableau ci-dessous récapitule les différentes aires correspondantes aux concentrations d'étalons injectés :

**Tableau 18 :** Différentes aires correspondantes aux concentrations d'étalons

Concentrations (µg /ml)	Aire (ua)	Temps de rétention (min)
1	3730,65	10,653
0,5	1534,46	10,661
0,1	562,537	10,659

La courbe d'étalonnage est tracée automatiquement par GC/ECD selon les résultats du tableau 18 :



**Figure 43** : Droite d'étalonnage par GC/ECD

Le tableau suivant regroupe les paramètres de la droite d'étalonnage tracée.

**Tableau 19** : Résultat de la droite d'étalonnage

Étalon	Tr (min)	Calibration	R <sup>2</sup>
Azoxystrobine	7,548	Y= 3529,18198 X +44,98382	0,98852

Le calcul du taux d'AZX dans les trois échantillons de sols étudiés a été fait après avoir établi la courbe d'étalonnage. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 20** : Taux d'AZX trouvé dans le sol en µg/ml

Emplacement du sol	Aire du pic	Concentration d'AZX µg/ml
1ere Rangée	2159,12	0,60
2eme Rangée	936,557	0,25
Non Contaminé (après traitement)	1048,54	0,28

Pour exprimer les résultats trouvés dans le sol en µg/ml en mg/kg nous avons utilisé la même formule que dans le chapitre précédent, résidus dans le raisin,

**Tableau 21 :** Taux d'AZX trouvé dans le sol en mg/kg

Emplacement du sol	Concentration d'AZX mg/kg
1ere Rangée	1,35
2eme Rangée	0,56
Non Contaminé (après traitement)	0,63

Les résultats des résidus de l'AZX dans le sol obtenus par GC/ECD, ont été confirmés par l'analyse HPLC/MS.

**III.9. Résultats obtenus par HPLC/MS :** Les mêmes extraits de sol ont subits l'analyse par HPLC/MS.

#### **III.9.1. Analyse et quantification de l'azoxystrobine**

Dans le but d'évaluer le taux de résidu de l'azoxystrobine dans les sols étudiés, nous avons procédé à leurs analyses par HPLC/MS de marque HP 1100 séries SDS, la détection en masse a été exécutée en utilisant un ESI (ionisation electrospray) et muni d'un logiciel « mass-lynx » pour l'identification.

#### **III.9.2. Conditions d'analyses**

L'analyse chromatographique des échantillons de sol a été réalisée, en utilisant les conditions regroupées dans le tableau 22 ci-dessous :

**Tableau 22** : Conditions opératoires d'analyses par HPLC/MS

Chromatographe HPLC/MS	HP 1100 Série LC-SDS
Détection	ES+ (ionisation electrospray)
Colonne	C <sub>18</sub> (5µm x 250 mm x 4mm)
Tension capillaire	300V
Programmation du solvant	Initialement 60% en acétonitrile et 40% en eau puis on arrive à 25% en acétonitrile et 75% en eau au bout de 12min, puis de 25% en acétonitrile et 75% en eau, puis on arrive à 10% en acétonitrile et 90% en eau au bout de 8min.
Pression de nébulisation	55 psi
Température de vaporisation	400 °C
Débit du gaz N <sub>2</sub>	13 l/min
Quantité injectée	20µL
Mode	Scan de 367 a 404
Débit de la pompe	1 mL/min

Les résultats du taux de résidus d'AZX trouves dans le sol par analyse HPLC/MS en mg/kg sont représentés dans Tableau 23 suivant:

**Tableau 23** : Taux d'AZX trouvé dans le sol en mg/kg par HPLC/MS

Emplacement du sol	Concentration d'AZX mg/kg
1ere Rangée	1, 54
2eme Rangée	0,50
Non Contaminé (après traitement)	0,42

Les droites d'étalonnages ainsi que les résultats des taux d'AZX dans nos échantillons de sols par HPLC/MS sont représentés dans les figures 44 et 45 suivantes :

Azoxystrobine

#	Name	Type	Std. Conc	RT	Area	IS Area	Response	Conc.	%Dev	Ion Ratio	Ratio Flag	RT Flag	S/N	Vial
1	211210 et11	Standard	1.000	5.36	416		415.88	0.697	-30.3	4.30	NO	NO	28	1:18
2	211210 et10	Standard	5.000	5.36	1665		1664.80	4.176	-16.5	3.79	NO	NO	132	1:19
3	211210 et9	Standard	10.000	5.36	4832		4832.50	13.002	30.0	3.92	NO	NO	355	1:20
4	141210 et1	Standard	30.000	5.33	11002		11001.63	30.191	0.6	4.08	NO	NO	388	1:17
5	141210 et2	Standard	50.000	5.36	20194		20194.44	55.805	11.6	4.22	NO	NO	2029	1:18
6	141210 et3	Standard	80.000	5.36	28541		28541.22	79.061	-1.2	4.11	NO	NO	3276	1:19
7	141210 et4	Standard	100.000	5.36	40096		40096.38	111.257	11.3	4.02	NO	NO	3230	1:20
8	141210 et5	Standard	250.000	5.36	86489		86489.10	240.520	-3.8	4.06	NO	NO	7817	1:21
9	141210 et6	Standard	500.000	5.36	176492		176491.53	491.291	-1.7	4.04	NO	NO	14759	1:22
10	141210 et7	Standard	750.000	5.37	243842		243841.56	678.946	-9.5	4.02	NO	NO	24661	1:23
11	141210 et8	Standard	1000.000	5.37	278005		278004.78	774.134	-22.6	4.05	NO	NO	25673	1:24

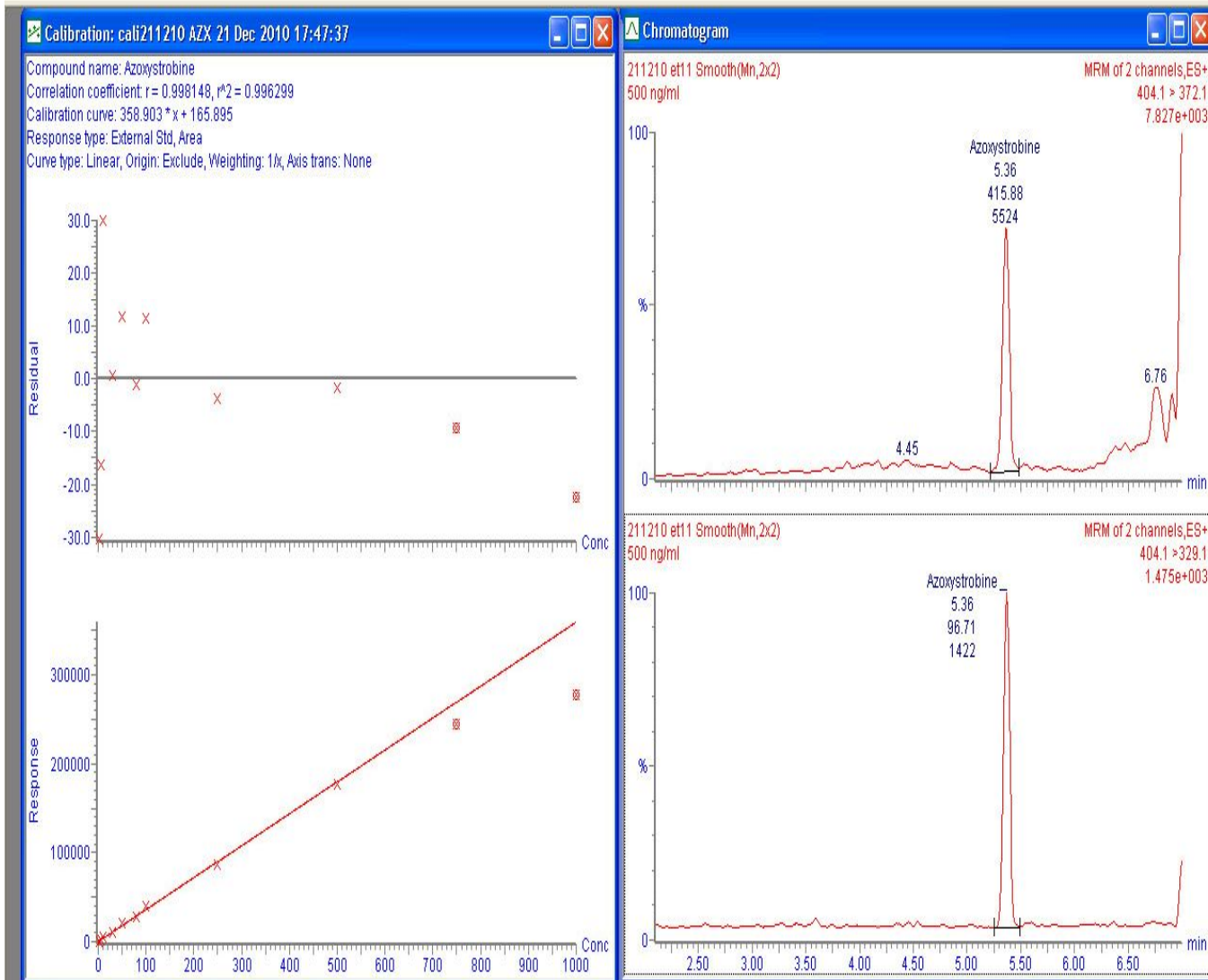
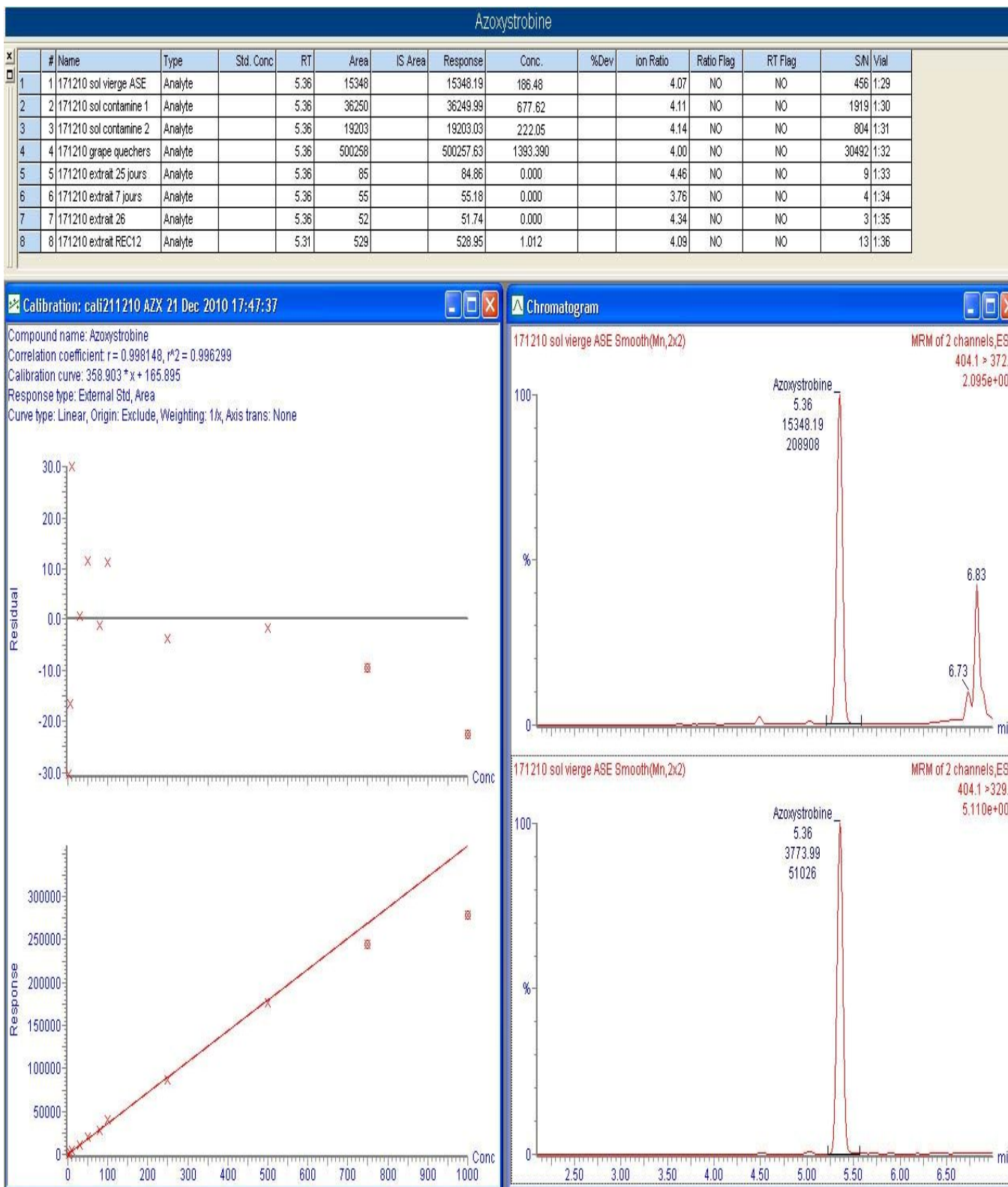


Figure 44 : courbe d'étalonnages par HPLC/MS



**Figure 45** : courbe d'étalonnage et résultats des taux de résidus des 3 échantillons de sol par HPLC/MS

### III.10. Résultats et discussions

L'évolution quantitative de l'azoxystrobine dans le sol est étudiée dans les conditions naturelles de champs. Les deux échantillons de sols analysés dans ce travail sont:

Le premier est prélevé près de la première rangée et l'autre près de la deuxième rangée du vignoble qui a servi à l'analyse quantitative des résidus dans le raisin. Un troisième échantillon de sol est prélevé loin de la zone de traitement ; ce dernier est considéré comme un échantillon non contaminé (un blanc), situé à peu près à 100 m de la zone traitée.

Ces échantillons de sols ont subis une extraction accélérée au solvant « ASE » ; les résultats de l'analyse par chromatographie GC/ ECD confirment la présence de l'AZX dans les différents sols. Les résultats d'analyses chromatographiques montrent qu'après 5 à 6 semaines de traitement une quantité de 1,35 mg/kg pour le sol prélevé au pied de la première rangée et un taux de 0,56 mg/kg d'AZX dans le sol prélevé au pied de la deuxième rangée. Pour l'analyse du sol témoin (non contaminé) nous avons été surpris de trouver une quantité de 0.63mg/kg d'AZX. Ceci peut être expliqué par les phénomènes de transports créés par conditions climatiques du champ surtout l'exposition au vent. Nous signalons aussi que juste après le deuxième traitement une quantité importante de pluie est tombée sur la région de Médéa.

Ce qui nous amène à supposer qu'un phénomène de lessivage s'est produit sur la culture; de ce fait l'AZX a été retrouvé dans le sol aux pieds des rangées ayant servi à l'étude et même dans un sol situé à 100m du lieu des plans de la vigne.

Ces résultats qualitatifs et quantitatifs obtenus en GC/ECD ont été confirmés par une autre méthode d'analyse : l'HPLC/MS. Ces derniers sont représentés dans les figures 44et 45.

Dans la figure 44 on présente la droite de calibration donnée par l'analyse HPLC/MS après injection de plusieurs concentrations de l'AZX pur. Nous remarquons que la réponse du détecteur MS est linéaire dans le domaine de concentration étudiée. Dans la figure 45 sont représentés les résultats de l'analyse quantitative des trois échantillons de sols. Ainsi, pour le sol situé au pied de la première rangée un taux de 1,54mg/kg a été trouvé et un taux de 0,50 mg/kg d'AZX dans le sol de la deuxième rangée. Pour le sol considéré comme témoin un taux de 0,42 mg/kg d'AZX a été détecté.

### **III.11. Conclusion**

L'extraction des pesticides de matrices solides est une étape primordiale du processus d'analyse global. De part sa capacité à extraire des composés en un temps relativement court, de sa faible consommation de solvant et sa capacité à être automatisé, l'ASE semble être un choix idéal pour l'extraction de pesticides dans les sols vu le rendement trouvé par cette technique d'extraction qui est de 88,4%. Par ailleurs, compte tenu de la complexité de ces matrices et vu les sensibilités pouvant être atteintes par GC/ECD et par HPLC/MS, il été nécessaire de purifier les extraits de sols sur cartouches (C<sub>18</sub>). Les résultats obtenus sont comparables à ceux trouvés dans la littérature [86].

# **Conclusion générale**

## CONCLUSION GENERALE

Dans la première partie de ce travail, nous avons étudié l'effet de l'irradiation artificielle en utilisant une lampe HPK de 125 w sur la dégradation de l'azoxystrobine dans l'eau.

Cette étude a montré que l'azoxystrobine est une molécule stable dans le noir, mais qui se dégrade rapidement sous l'effet de la lumière. Nous avons vu que la dégradation de l'azoxystrobine sous irradiation lumineuse se fait en deux temps;

- le premier: l'azoxystrobine se photodégrade rapidement en phase aqueuse sous l'effet de lampe HPK pour donner la forme géométrique Z-(AZX). Un équilibre entre les deux formes géométrique E et Z est atteint au alentour de 5min.

- le deuxième : après l'équilibre (c.à.d. 3 à 5 min), les deux composés E et Z se dégradent lentement pour donner d'autres photoproduits, nous avons remarqué que certains peuvent s'accumuler dans l'environnement.

Nous avons remarqué que certains photoproduits formés s'accumulent dans la solution sans aucune dégradation notable (ex. des photoproduits à 3,64 min et 10,61 min), ce qui pourra poser un problème pour l'environnement.

Dans la deuxième partie de notre travail; un protocole d'analyses a été mis en œuvre pour suivre le devenir de ce produit phytosanitaire: l'azoxystrobine appliqué sur le raisin de table cultivé en plein champ et dans la région de Médéa.

Nous avons montré que la disparition de l'azoxystrobine dans le raisin de table est remarquable durant les premiers 17 jours après traitement pour arriver à des doses de 0,35 mg/kg pour la pulpe, 0,50 mg/kg sur la peau et 0,15 mg/kg pour le raisin lavé après 28 jours du traitement. Aussi, nous avons remarqué que les taux en résidus obtenus pour les différentes rangés sont comparables, ce qui montre que les conditions de travail et de traitement dans le vignoble sont uniformes.

D'après les résultats des analyses quantitatives trouvés, nous avons vu que les taux de résidus restent dans les normes de la limite maximale en résidu permise ; LMR=0,5 mg/kg pour le raisin traité avec l'azoxystrobine.

Enfin, dans la troisième partie de ce travail nous avons vu l'apport de la chromatographie gazeuse GC/ECD et la Chromatographie en phase liquide couplé à la spectrométrie de masse (HPLC/MS) à l'analyse des extraits de sols provenant du vignoble de Médéa.

Vu sa capacité à extraire des composés en un temps relativement court, de sa faible consommation de solvant, l'ASE a été choisi pour l'extraction de ce pesticide des sols de

Médéa. Le rendement d'extraction de l'azoxystrobine du sol par cette technique est égal à 88,4%.

Les résultats des analyses chromatographiques ont montré que pour le sol situé au pied de la première rangée du vignoble renferme un taux en résidu de ce pesticide de 1,54mg/kg de sol, pour celui de la deuxième rangée ce taux descend à 0,53mg/kg. Cette différence peut être expliquée par le fait que la deuxième rangée est située en bas de la première rangée.

Dans cette partie de ce travail et à notre surprise, nous avons détecté un taux de 0,42 mg/kg d'azoxystrobin pour le sol considéré comme témoin (situé à l'écart de la zone traitée). Ce résultat peut être expliqué entre autre par les phénomènes de transport créés par conditions climatiques du champ surtout l'exposition au vent.

# **Références Bibliographiques**

## **Bibliographies:**

- [1] McEwen FL, GR Stephenson. 1979, "*The use and significance of pesticides in the environment*". John Wiley and Sons, Inc., Toronto Canada.
- [2] F. Michael wax man, 1998 "agrochemical and safety" handbook. EDS Lewis Publisher.
- [3] LMR note du 11 fevrier 2010. pdf / Who.int/ whopes/en. Evaluation des pesticides.
- [4] Periquet A, « toxicologie des résidus de pesticides » R.Derache, Ed 1986 Paris.
- [5] Moussaoui et al. 2001. « Utilisation, évaluation et impacts des pesticides en Algérie ». Ecole nationale polytechnique.
- [6] « Index phytosanitaire a usage agricole » Direction de la protection des végétaux et des contrôles techniques, édition 2007.
- [7] M.C. Edelahi ; 2004 « Contribution à l'étude de dégradation des pesticides par procédés d'oxydation avancés », Thèse de doctorat : Université de Marne La Vallée, France.
- [8] Tissut M, Severin F, 1979 « Les pesticides oui ou non » presses universitaires de Grenoble page 213.
- [9] Guide des pesticides « Agence de Normandie » 2006
- [10] Ecobichon, D.J., 1996. "Toxic effects of pesticides". In : Casarett and Doull's Toxicology : the Basic Science of Poison, Ed. Amdur, M.O., Doull, J., Klaassen, C.D. New York. 5th ed., Mc Graw-Hill, New York. Chap. 22, 643-689.
- [11] François Ramade ; 1993 « dictionnaire encyclopédique de l'écologie et des sciences de l'environnement », Ediscience international.
- [12] Pflieger. M, 2009. Thèse de doctorat « Etude de la dégradation photochimique des pesticides adsorbés à la surface de particules atmosphériques » Université de Provence, France.
- [13] UIPP, Union des Industries de la Protection des Plantes, 2006. Dossier d'informations sur les produits de protection des plantes.  
<http://www.uipp.org/index.php>
- [14] UIPP, Union des Industries de la Protection des Plantes, 2008. Rapport d'activité 2007-2008.
- [15] D.Primentel 1995 « Amounts of pesticides reaching target pests : environmental impacts and ethics » J.Agricultural Environ. Ethics 8,17,29 .
- [16] Dossier phytocultures INPV 2004. Plan National de Mise en œuvre (PNM) Algérie – Convention de Stockholm (Directives et règlements européens).
- [17] M .Bouziani, « Santé Maghreb » 2007
- [18] Guide phytosanitaire INPV 2008

[19] Alphyt Algerie SGP – SOMINES Algérienne des phytosanitaires, 2007 Santander Investment Services SA Ciudad Grupo Santander Edificio Amazonia – Plta 2 – 8321 Avda de Cantabria s/n 28660 Boadilla del Monte Madrid, Spain 7

[20] Amadou, C., 2004. La lutte chimique contre les criquets au sahel collection acridologie opérationnelle. Rapport mensuel sur la sécurité alimentaire au sahel et en afrique.

[21] Projet pops-Algérie, INRA 2006

[22] **Deguine, J. et Ferron, P. 2004.** Protection des cultures et développement durable : bilan et perspectives. Courrier de l'environnement de l'INRA n°52, 57-65.

[23] Weber .J.B, “fate and behaviour of pesticides in soils” Appl.plant. Sci, 5,2-3, 1991

[24] Osweiler G.D, T.L.Carson, W.B.Bush, 1985 “chimical and diagnostic veterinary toxicology” 3<sup>rd</sup> Ed Kendal- Hunt Publishing, Dubuque.

[25] Aharonson et all, 1987« potentiel contamination of ground water by pesticides » Pure Appl Chem, 59, 1446-1479.

[26] N.Wolfe 1992 « abiotic transformation of pesticides in natural waters and sediments » Chem. Environ 93-104

[27] Hauot S, “transformation biologiques des produits a usages agricoles (nitrate et pesticides)” INRA, france. 1992

[28] C. Tomlin, « the pesticide Manual » 12th ed, British crop protection council, UK,70-71 2000

[29] USEPA: Environmental Protection Agency (1990) National Survey of pesticides in drinking water wells, Phase i Report; Office of water and office of pesticides programs. U.S. Government printing office: Washington DC, EPA-570/9-90-015.

[30] Maroni M, Colosio C, Ferioli A, Fait A. Biological monitoring of pesticide exposure : a review. *Toxicology* 2000; **143**:1-118.

[31] Klopffen W.K, 1992 “ photochemical degradation of pesticides and other chemicals in the environment ”Sci. total environment 103, 145-150.

[32] Séverin F, Delemotte B. L'utilisation des produits phytosanitaires. In : Testud F, Garnier R, Delemotte B, eds. Toxicologie humaine des produits phytosanitaires. Paris : Eska - Lacassagne, 2001:17-24.

[33] Robert .M, 1997 « dégradation de la qualité des sols : risque pour la santé et l'environnement » Bulle. Acad. Natel. Med 1, 21-42.

[34] Detroux L, 1996 “ produits phytosanitaires et leurs impacts sur la qualité de l'environnement” centre de recherché agronomique, Gembloux, Belgique.

[35] Bouvier,G., 2005. « Contribution à l'évaluation de l'exposition de la population francilienne aux pesticides ». Thèse doctorat, université Rene Descartes, Paris-5.

- [36] Gregor D.J, Gummer W.D, 1989 “evidence of atmospheric transport and deposition of pesticides” Environ. Sci. tech 23, 561-565.
- [37] Haque, R. and V.H. Freed, 1990 “Principles of pesticide degradation in soil”, ed Environmental dynamics of pesticides. Plenum Press, New York, pp. 135–172.
- [38] Wolfer N.Lee, U. Mingelgrin, G.C. Miller 1990 “ Abiotic transformation in water, sediments, and soil” soil, science society of America Book, Madisson Ed.
- [39] Elbakouri.H., 2006 Développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par utilisation des substances organiques naturelles (S.O.N). Thèse de doctorat, université Abdelmalek Esaadi, Tanger, Maroc.
- [40] Goody D.C, Chilton J.P and Harrison I. 2002, “A field study to assess the degradation and transport of diuron and its metabolites in a calcereous soil. *Sci Total Environ*, 297, 67- 83.
- [41] Gouy .V, 1993 “ contribution a la simulation du transfert des produits phytosanitaires de la parcelle agricole vers les eaux superficielles” Thèse de doctorat, université Luis Pasteur, Strasbourg .
- [42] Bolag J.M, Liu S.Y “biological transformation processes of pesticides” Soil science society of America Book, Madison Ed 1990.
- [43] ORP, Observatoire des Résidus de Pesticides, septembre 2010  
<http://www.observatoire-pesticides.gouv.fr/>
- [44] Note réglementaire REG2000-15, *Azoxystrobine*. Le 3 novembre 2000. Agence de Réglementation de la lutte antiparasitaire.
- [45] FAO / OMS. 1970.1971. Evaluation of some pesticide residues in food. Série de l’OMS sur les additifs alimentaires, n° 42, Organisation mondiale de la santé, Genève.
- [46] Food and agriculture organisation FAO “ résidus de pesticides dans les produits alimentaires” rapport de réunion conjointe FAO/OMS, Rome 1978
- [47] Leroux. P, 2003 “Fungicide resistance in plant pathogens: A phenomenon difficult to manage” *Phytoma* 566: 36-40
- [48] Leroux .P, Chapeland. F, Arnold A, Gredt. M, 2000 “New cases of cross-negative resistance between fungicides, including sterol biosynthesis inhibitors”. *Journal of General Plant Pathology* 66: 75-8
- [49] Stevens JT, Sumner DD. Herbicides. In : Hayes WJ, Laws ER, eds. *Handbook of Pesticide Toxicology*. San Diego : Academic Press, 1991:1317-1408.
- [50] Testud F, Fritsch E. Le Soufre. In : Testud F, Garnier R, Delemotte B, eds. *Toxicologie humaine des produits phytosanitaires*. Paris : Eska - Lacassagne, 2001:187-192.
- [51] Aprea C, Sciarra G, Sartorelli P, Mancini R, Di Luca V. Environmental and biological monitoring of exposure to mancozeb, ethylenethiourea, and dimethoate during industrial formulation. *J Toxicol Environ Health A* 1998; **53**:263-81.

[52] Testud F, Marcotullio E, Garnier R, Delemotte B, 2001: « Toxicologie humaine des produits phytosanitaires ». Paris : Ed Eska - Lacassagne, 149-159.

[53] [www.agris.be/zeneca/action.htm](http://www.agris.be/zeneca/action.htm)

[54] Fournier J. Chimie des Pesticides. Paris, 1988.

[55] Bonny, S. 1996. Les biotechnologies en agriculture : perspectives et enjeux. 211, 51-76.

[56] [www1.agric.gov.ab.ca/\\$department/deptdocs.nsf/all/agdex81?opendocument](http://www1.agric.gov.ab.ca/$department/deptdocs.nsf/all/agdex81?opendocument).

[57] Leroux P, 2003 « Modes d'action des produits phytosanitaires sur les organismes pathogènes des plantes ». C R Biologie 326: 9-21.

[58] J. Leybros, Fremeaux .P, 1996 Technique de l'ingénieur « extraction solide-liquide » aspect theorique J2780,page 7-8

[59] Meziane.D, 2009 « contribution a l'étude de la contamination de l'environnement par certains polluants organiques persistants (pops) et autre polluants » thèse de magister, USTHB, Alger.

[60] Francis et Annick Rouessac « Analyse chimique» 4eme édition Dunod, 1998

[61] D .R.Browning « chromatographie » édition Masson et Cie, 1971.

[62] R.Rosset, M.Claude, A.Foucault, A.Jardy. Techniques de l'ingénieur "Chromatographie en phase liquide" 1998.

[63] Bruis A.P ; 1994 atmospheric pressure ionisation mass spectroscopy ; application in pharmacy ; biochemistry and general chemistry 13 (2)81-90.

[64] J.Tranchant ; « manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse » 4eme édition, Masson, 1995 page 699

[65] R ; Rosset, M .Claude « chromatographie en phase liquide » Edition Masson 1995

[66] Photochemical behaviour of dichlorprop [2-(2,4-dichlorophenoxy) propanoic acid] in aqueous solution. L Meunier, E Gauvin, P Boule. **Pest Manag Sci** 58 (2002) 845–852

[67] Photochemincal processes involving nitrite in surface water samples. C. Minero, S. Chiron, G. Falletti, V. Maurino, E. Pelizzetti, R. Ajassa, M. E. Carlotti and D. Vione. **Aquat. Sci.** 69 (2007) 71–85

[68] A. Boudina, C. Emmelin, A. Baaliouamer, J. M. Chovelon, 2007 « Photochemical transformation of azoxystrobin in aqueous solutions » *Chemosphere* 68, 1280-1288

[69] Photochemical and Thermal *cis/trans* Isomerization of Cyclic and Noncyclic Azobenzene Dimers: Effect of a Cyclic Structure on Isomerization. Y. Norikane, N. Tamaoki, **Eur. J. Org. Chem.**

[70] Phototransformation of Stilbene in van der Waals Nanocapsules. Gennady S. Ananchenko, Konstantin A. Udachin, John A. Ripmeester, Thomas Perrier, and Anthony W. Coleman. **Chem. Eur. J.** 2005

[71] A Simple Route to *cis*- and *trans*-Bis-*o*-homobenzenes. J. Sauer, P. Bäuerlein, W. Ebenbeck, H-D. Fühlhuber, C. Gousetis and K. Wernthaler **Eur. J. Org. Chem.** 2001, 3999-4008

[72] Index phytosanitaire Acta 1999. 35eme éditions.

[73] [WWW.agr.ca.html](http://WWW.agr.ca.html)

[74] Publication ITAF 2010.

[75] J.Bayle « quand l'Algérie devenait française » page 223-225, édition Fayard

[76] « Index phytosanitaire a usage agricole » Direction de la protection des végétaux et des contrôles techniques, édition 2007.

[77] Wei li, Yi-jun wu, Dong-Mei Qin, 2008 « A method for quantifying Azoxystrobin residues in grapes and soil using GC with electron capture detection » *Chromatographia*.

[78] A.Boudina 1993 « Analyse par spectrométrie de masse et la chromatographie en phase gazeuse de quelques pesticides » thèse de magister, USTHB, Alger.

[79] Chaido Lentza-Rizos, Elizabeth J.Avrמידes 2006 « Residues of Azoxystrobin from grapes to raisins » *J.Agric.Food chem.* 54,138-141.

[80] Vijay Tularam, Suman Guta, Irani Mukherjee 2011 “persistence of azoxystrobine in/on grapes and soil in different grapes growing areas of India” *Bull Environ Contam Toxicol* 86:90-94.

[82] Bending, G.D., Lincoln, S.D., Edmondson, R.N., Spatial variation in the degradation rate of the pesticides isoproturon, azoxystrobin and diflufenican in soil and its relationship with chemical and microbial properties. *Environ. Pollution* 139,(2006) 279–287.

[83] Bending, G.D., M. Sonia Rodriguez-Cruz, Lincoln, S.D., Fungicide impacts on microbial communities in soils with contrasting management histories. *Environ Chemosphere* 69 (2007) 82–88.

[84] R. K.; GHOSH, N. SINGH, Effect of Organic Manure on Sorption and Degradation of Azoxystrobin in Soil. *J. Agric. Food Chem.* 2009, 57, 632–636

# **Annexes**

## Annexe 1

Les figures suivantes représentent Les chromatogrammes des étalons d'AZX à différentes concentrations.

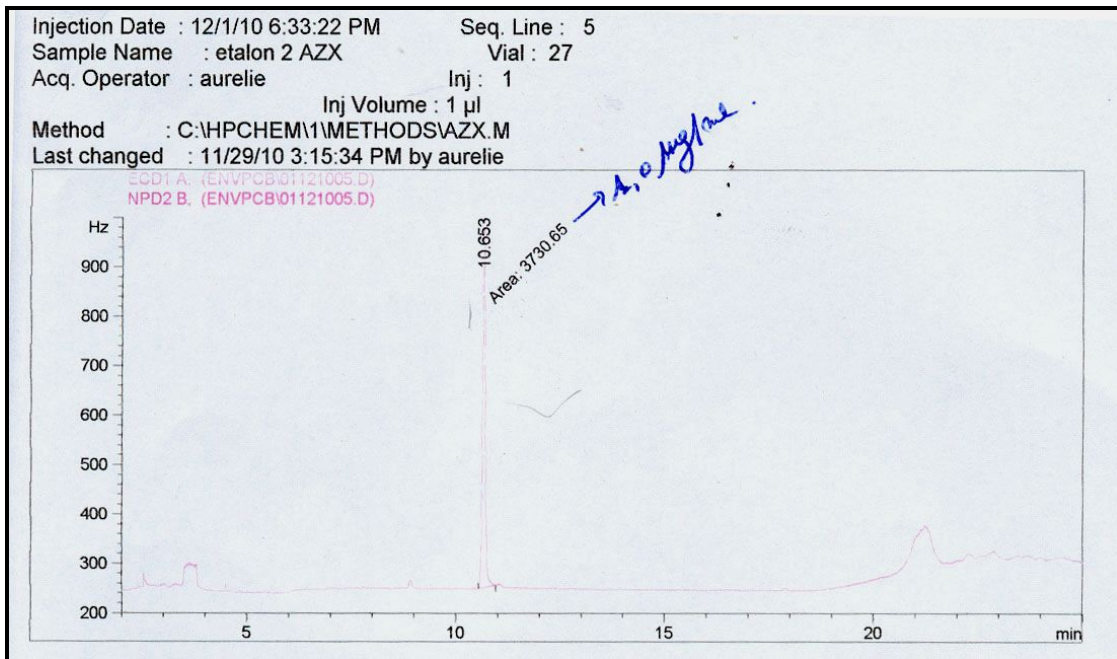


Figure 1 : Chromatogramme par GC/ECD de l'AZX à 1µg/ml

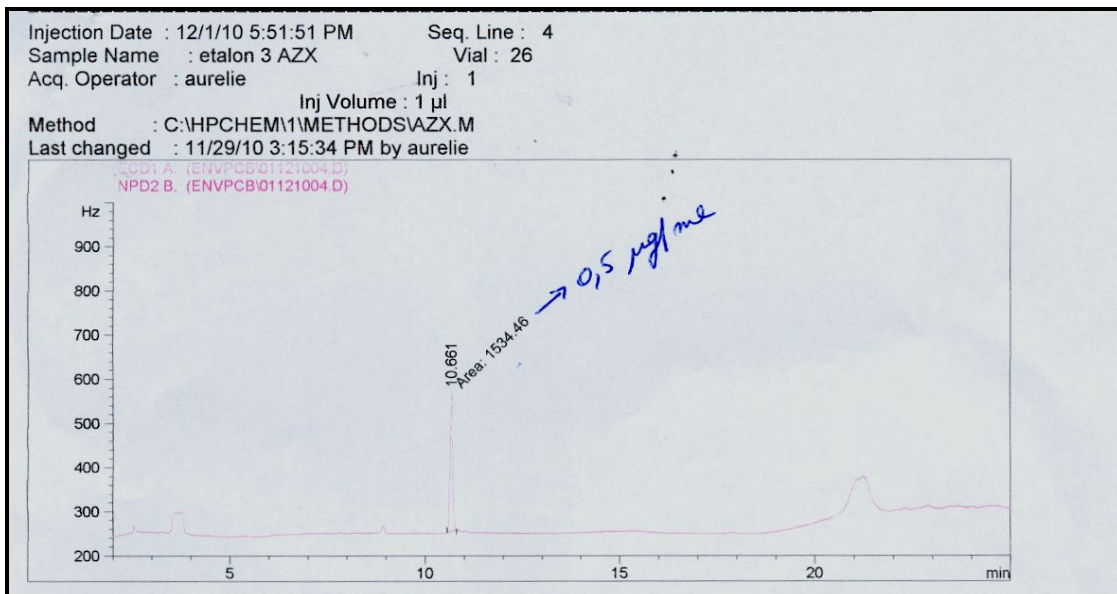


Figure 2 : Chromatogramme par GC/ECD de l'AZX à 0,5µg/ml

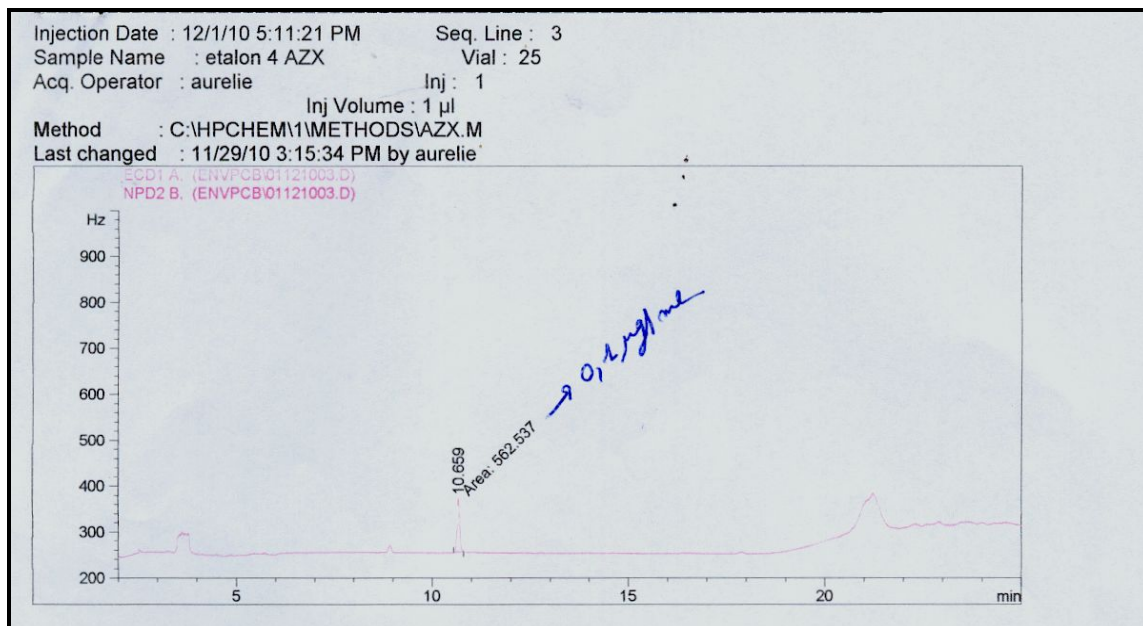
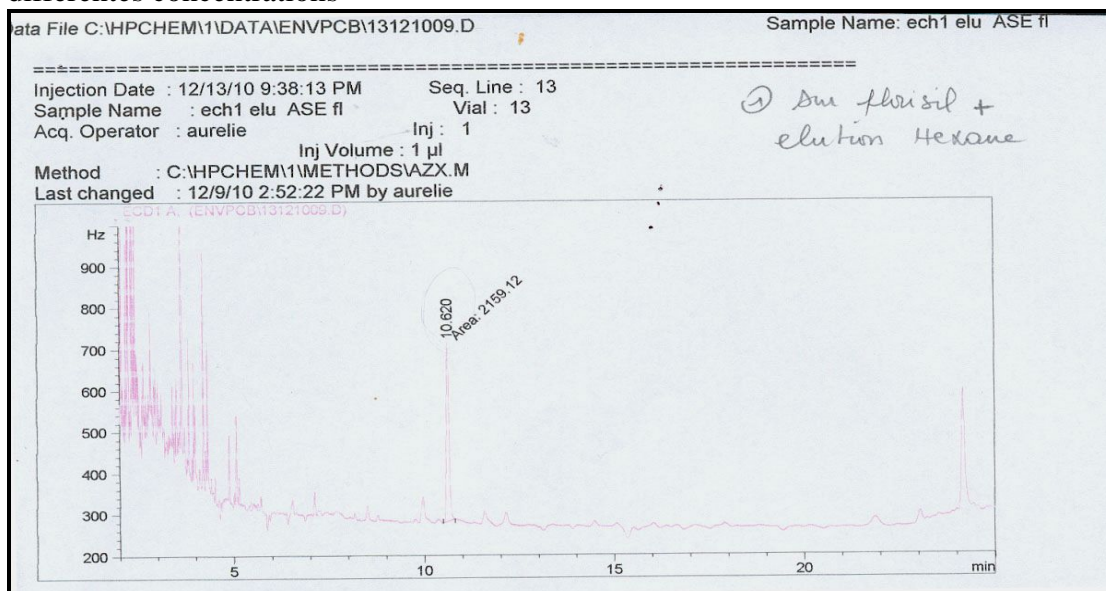


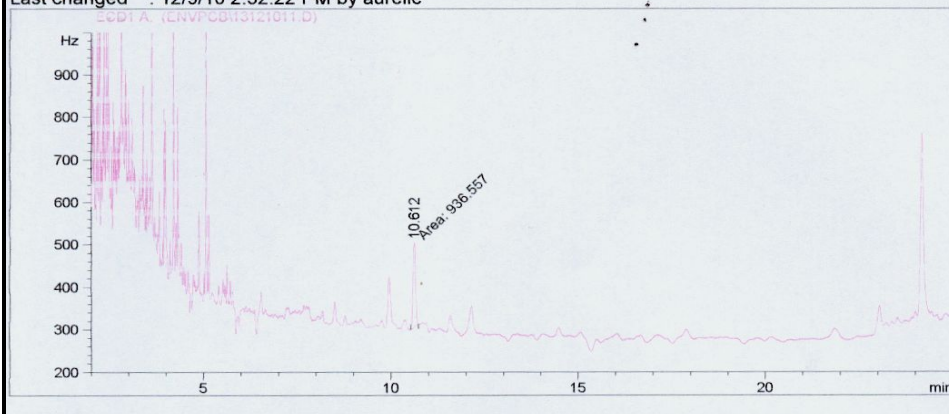
Figure 3 : Chromatogramme par GC/ECD de l'AZX à 0,1µg/ml

Les figures 4,5, 6 représentent Les chromatogrammes des échantillons de sols d'AZX à différentes concentrations



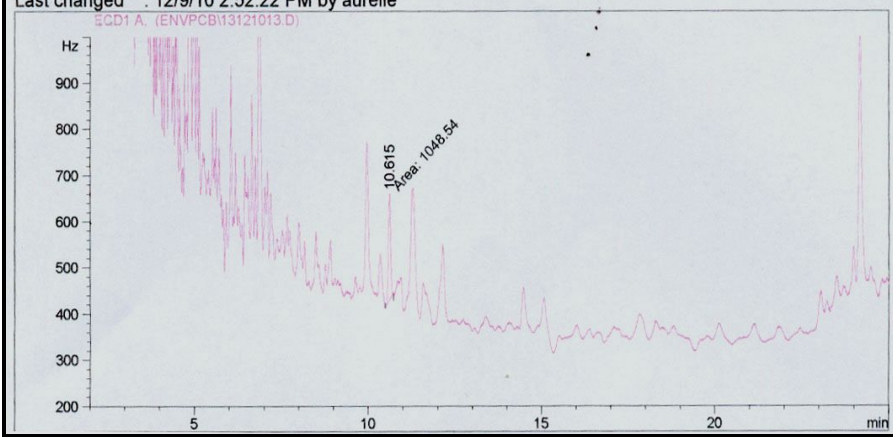
Injection Date : 12/13/10 11:25:15 PM Seq. Line : 15  
Sample Name : ech2 elu ASE fl Vial : 15  
Acq. Operator : aurelie Inj : 1  
Inj Volume : 1 µl  
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\AZX.M  
Last changed : 12/9/10 2:52:22 PM by aurelie

*2<sup>ème</sup> rangée  
su florival + elution à  
l'Hexane (6ml)*

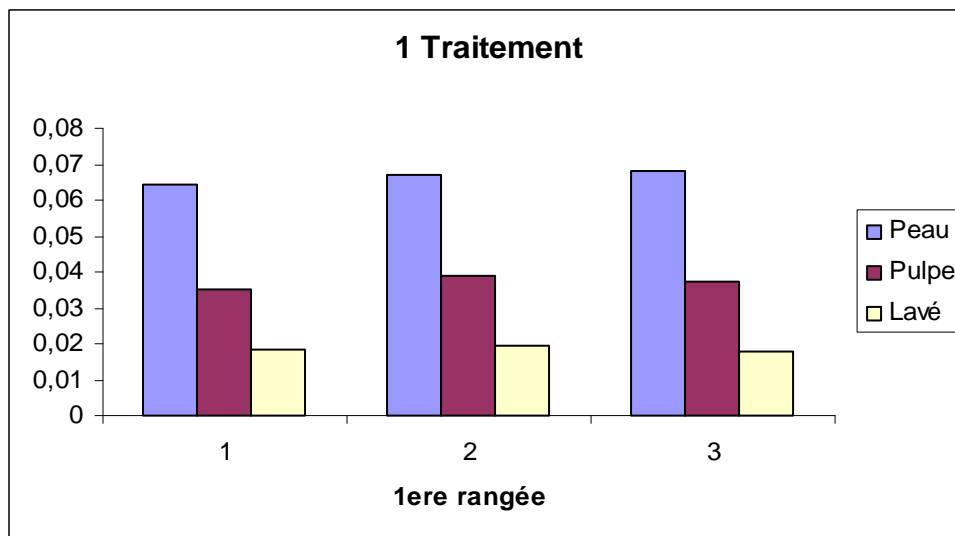


Injection Date : 12/14/10 1:12:59 AM Seq. Line : 17  
Sample Name : ech3 elu ASE fl Vial : 17  
Acq. Operator : aurelie Inj : 1  
Inj Volume : 1 µl  
Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\AZX.M  
Last changed : 12/9/10 2:52:22 PM by aurelie

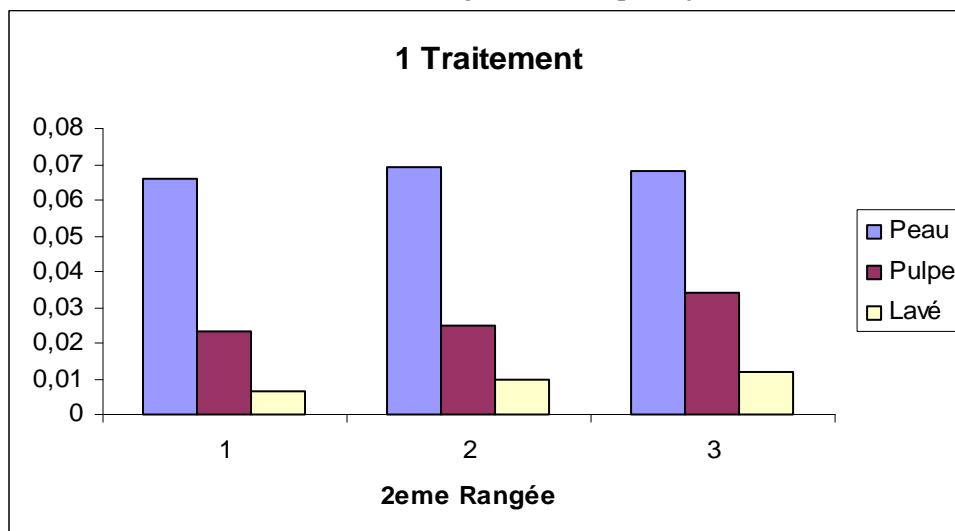
*Sol non contaminé  
elution su florival  
6ml Hexane.*



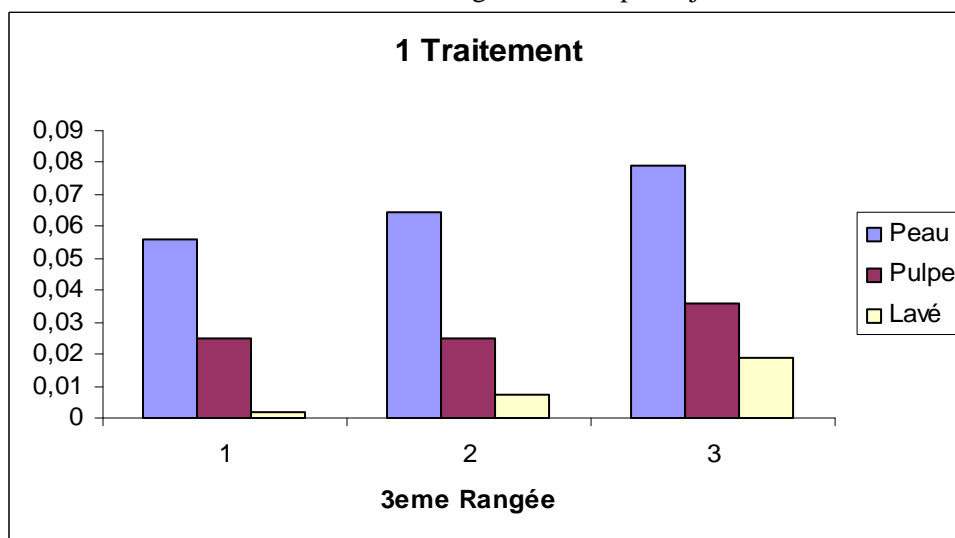
## Annexe 2 1<sup>ERE</sup> RECOLTE



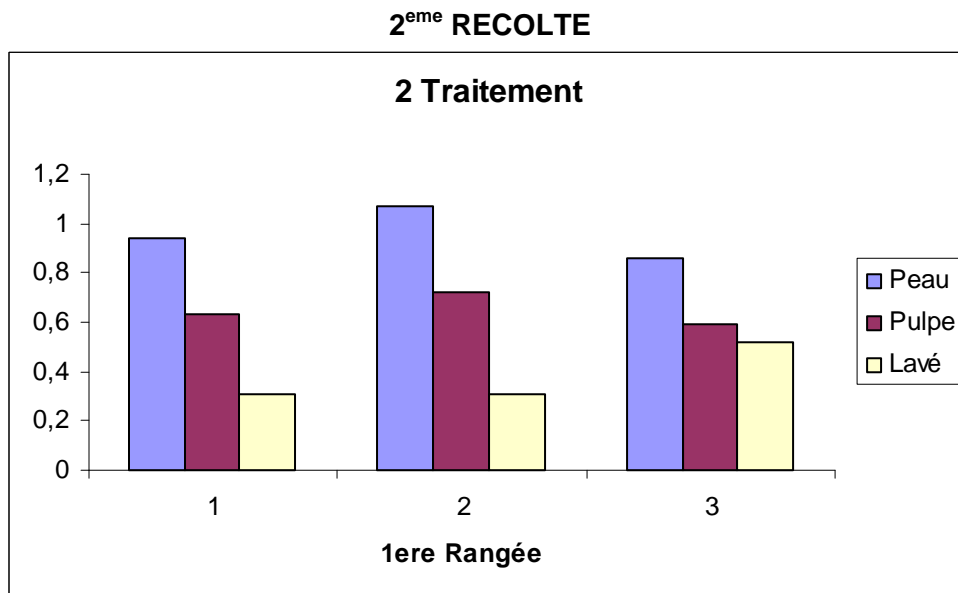
**Figure 1 :** histogramme représentant le taux de résidu de l'azoxystrobine en mg/kg du premier traitement, 1ere rangée récolte après 7 jours



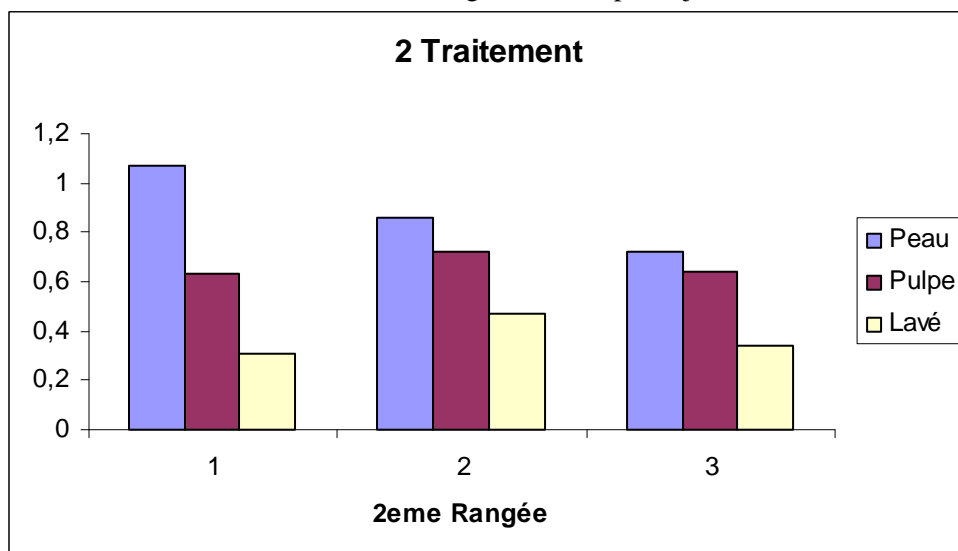
**Figure 2 :** histogramme représentant le taux de résidu de l'azoxystrobine en mg/kg du premier traitement, 2eme rangée récolte après 7 jours



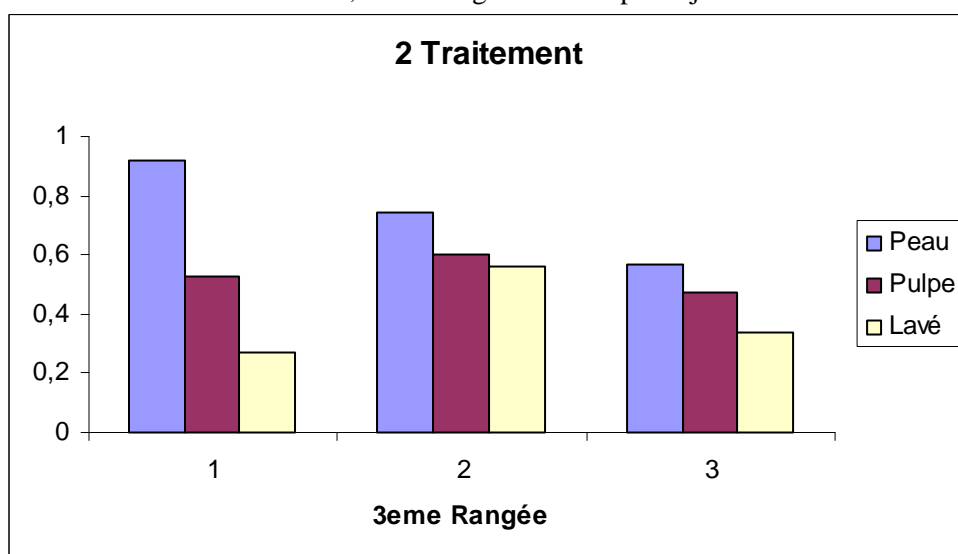
**Figure 3:** histogrammes représentant le taux de résidu de l'azoxystrobine en mg/kg du premier traitement, 3eme rangée récolte après 7 jours



**Figure 4 :** histogramme representant le taux de residu de l'azoxystrobine en mg/kg du deuxieme traitement, 1ere rangée recolte apres 7jours

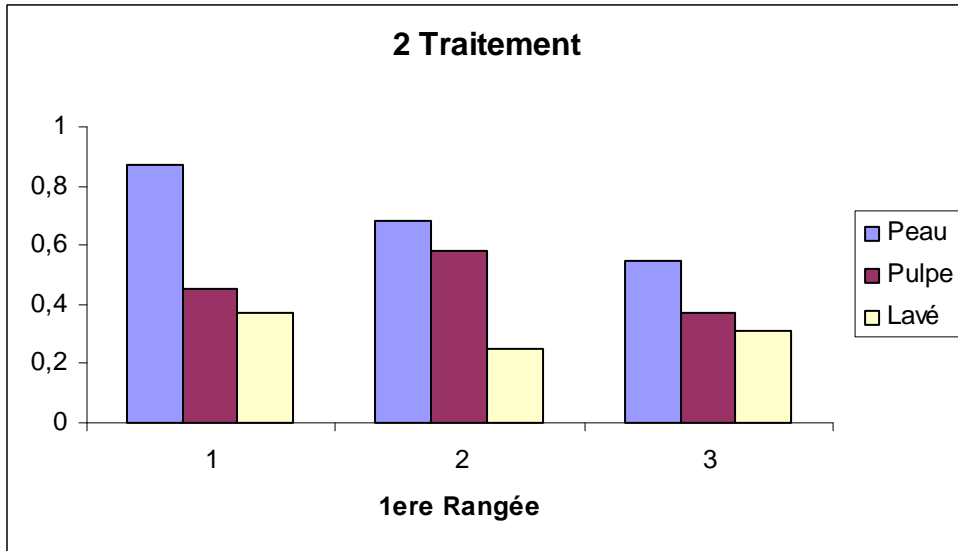


**Figure 5 :** histogrammes representant le taux de residu de l'azoxystrobine en mg/kg du deuxieme traitement, 2eme rangée recolte apres 7jours

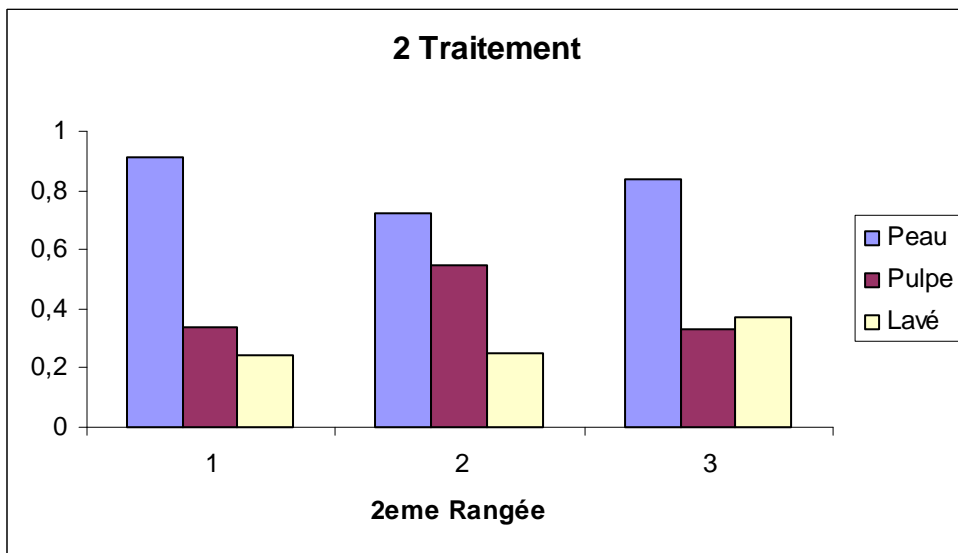


**Figure 6 :** histogramme representant le taux de residu de l'azoxystrobine en mg/kg du deuxieme traitement, 3eme rangée recolte apres 7jours

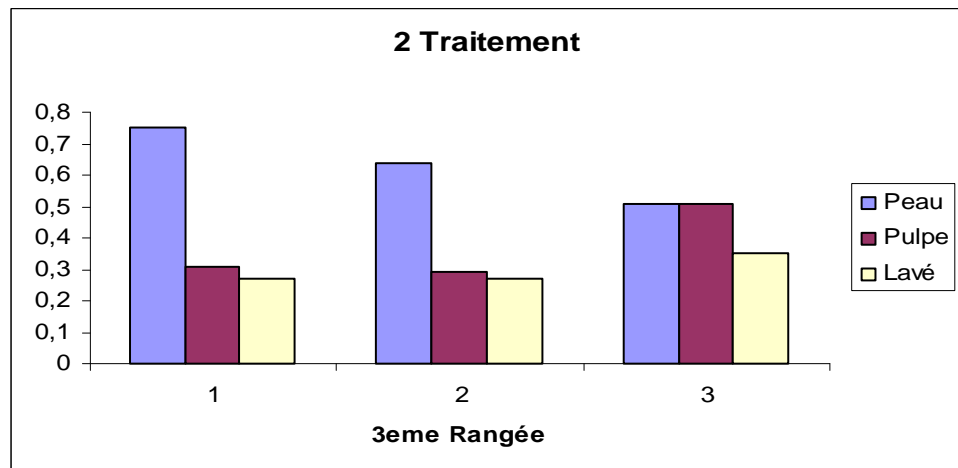
### 3<sup>eme</sup> RECOLTE



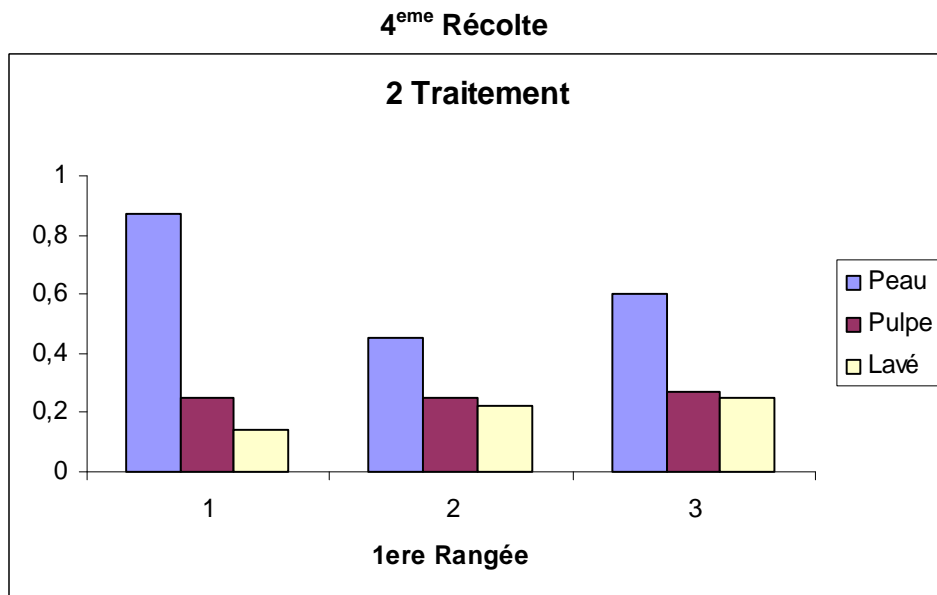
**Figure 7 :** histogramme representant le taux de residu de l'azoxystrobine en mg/kg du deuxieme traitement, 1ere rangée recolte apres 18jours



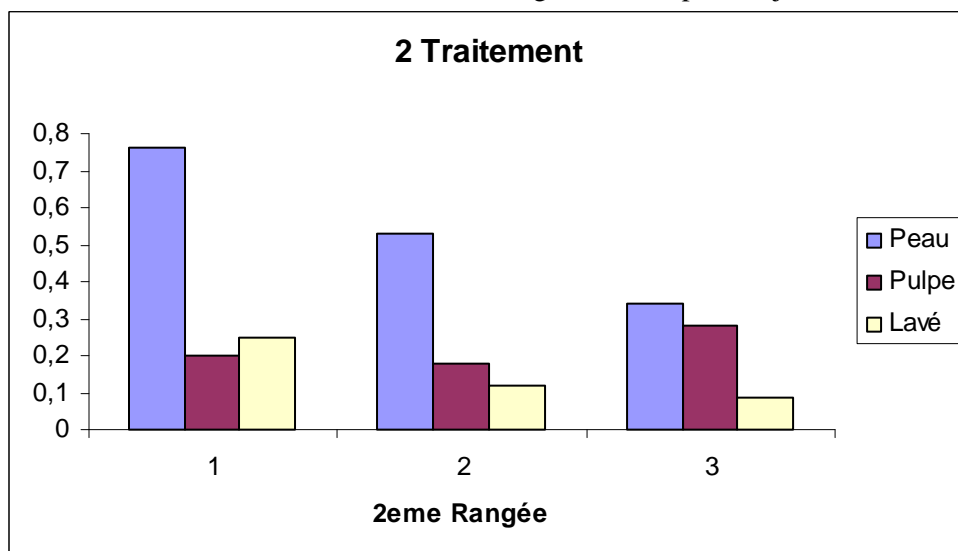
**Figure 8 :** histogramme representant le taux de residu de l'azoxystrobine en mg/kg du deuxieme traitement, 2eme rangée recolte apres 18jours



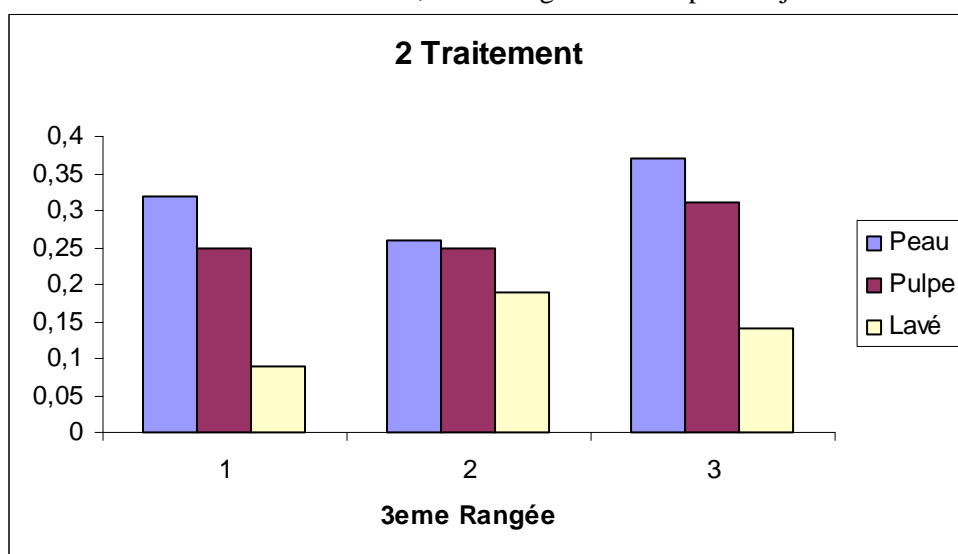
**Figure 9 :** histogramme representant le taux de residu de l'azoxystrobine en mg/kg du deuxieme traitement, 3eme rangée recolte apres 18 jours



**Figure 10** : histogramme representant le taux de residu de l'azoxystrobine en mg/kg du deuxieme traitement, 1ere rangée recolte apres 28 jours



**Figure 11** : histogramme representant le taux de residu de l'azoxystrobine en mg/kg du deuxieme traitement, 2eme rangée recolte apres 28 jours



**Figure 12** : histogramme representant le taux de residu de l'azoxystrobine en mg/kg du deuxieme traitement, 3eme recolte apres 28jours

### Annexe 3

Les figures suivantes représentent les chromatogrammes des étalons d'AZX à différentes concentrations par GC/ECD.

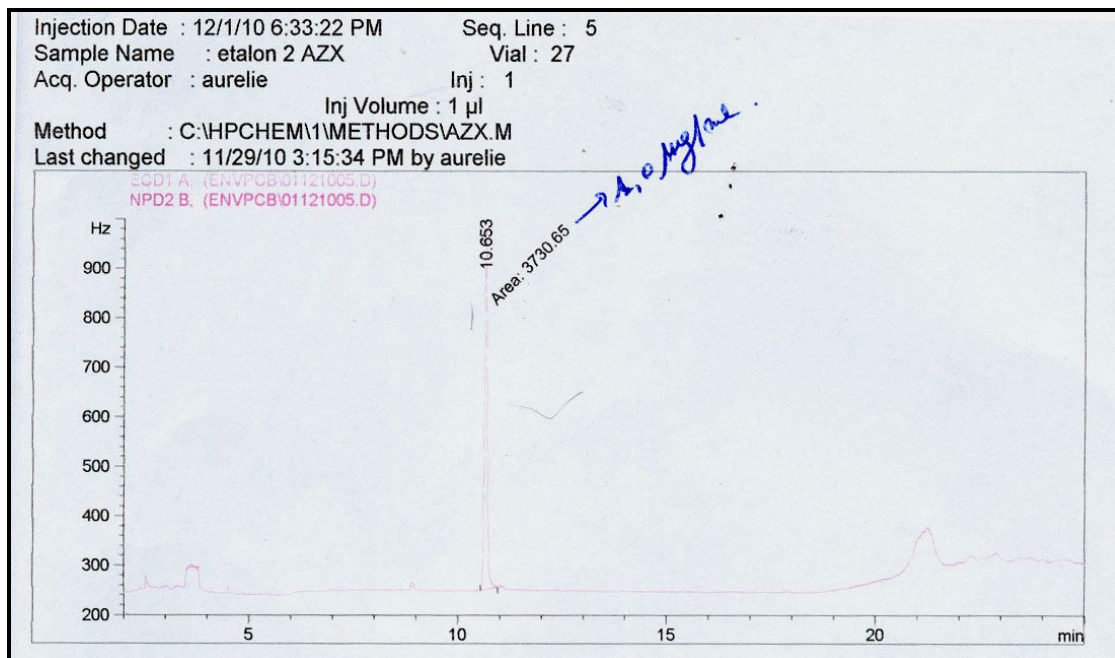


Figure 1 : Chromatogramme par GC/ECD de l'AZX à 1µg/ml

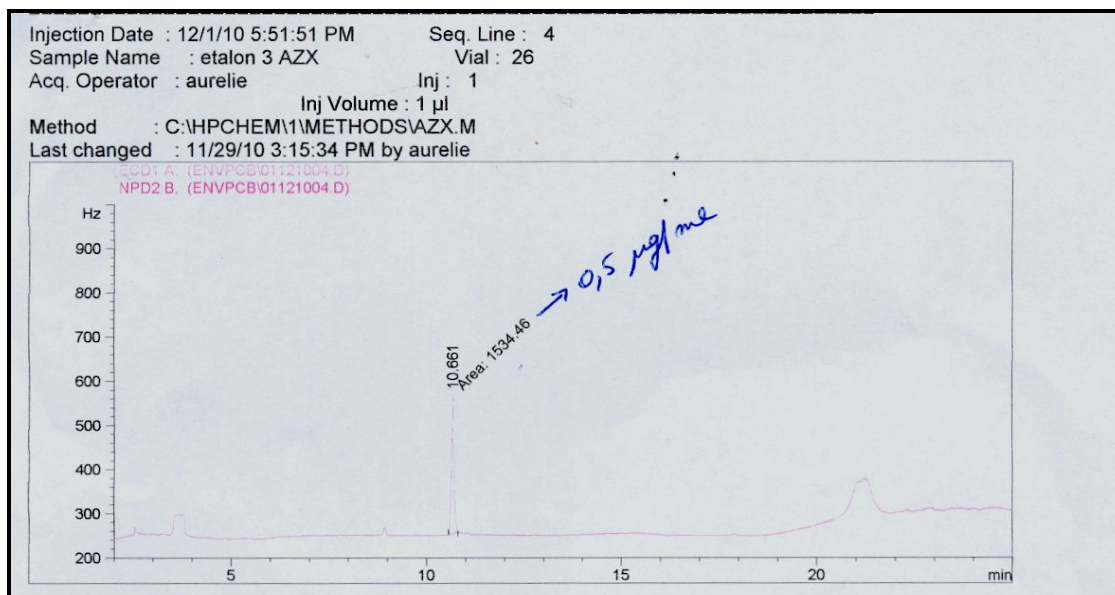


Figure 2 : Chromatogramme par GC/ECD de l'AZX à 0,5µg/ml





## Annexe 4

Les figures suivantes représentent les chromatogrammes (scan) de nos différents échantillons de sol par HPLC/ MS.

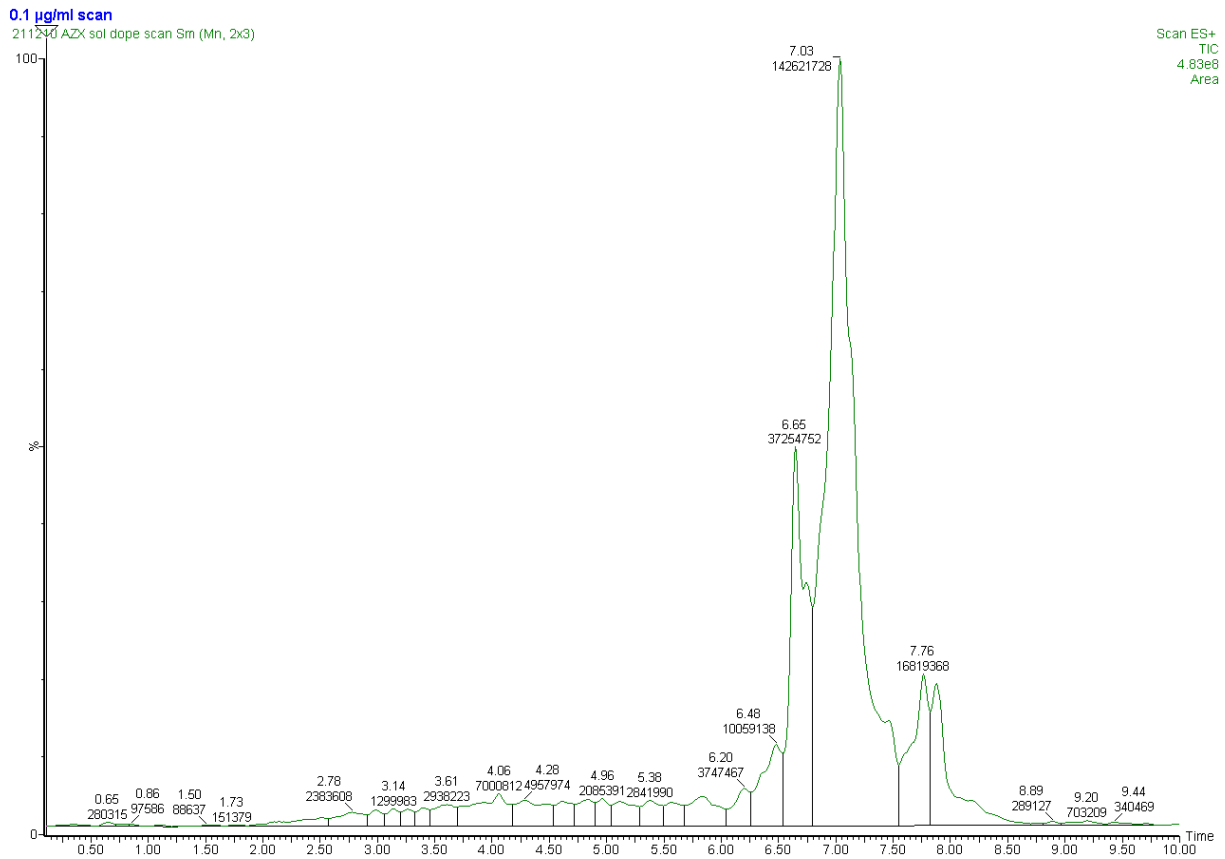


Figure 1 : représente le chromatogramme de l'échantillon du sol de la 1<sup>ère</sup> rangée par HPLC/ MS.

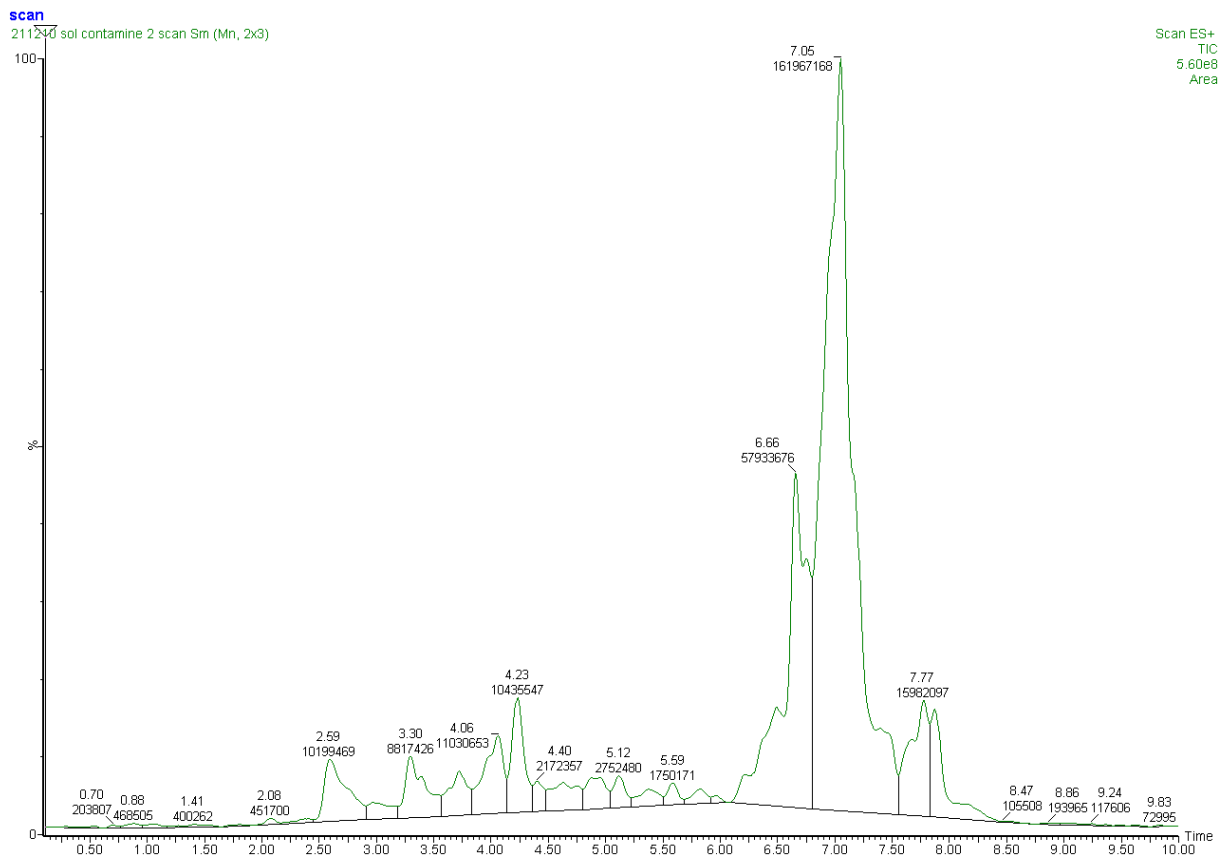


Figure 2 : représente le chromatogramme de l'échantillon du sol de la 2<sup>ème</sup> rangée par HPLC/ MS.

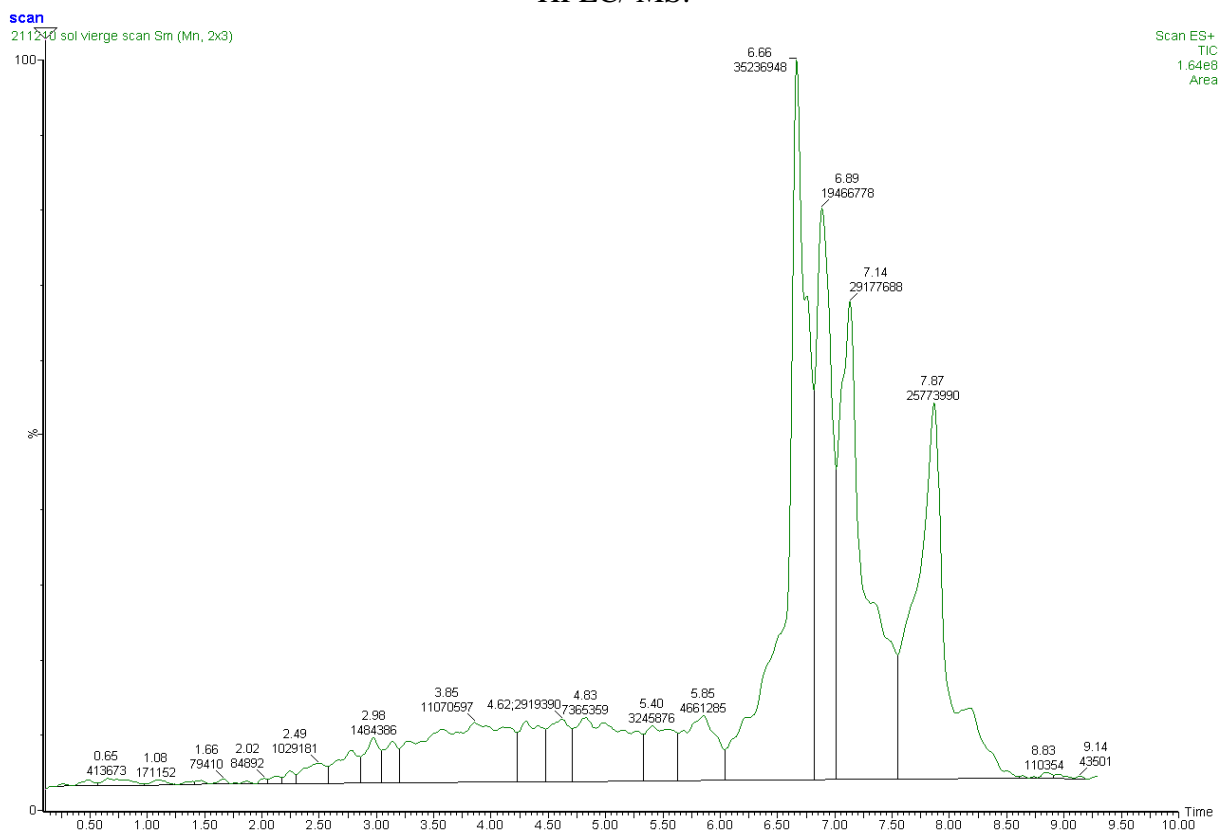


Figure 3 : représente le chromatogramme de l'échantillon du sol non contaminé par HPLC/ MS.