

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE CELLULAIRE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de Master

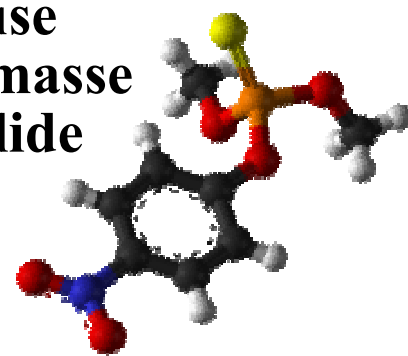
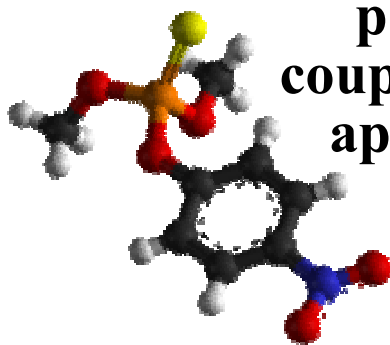
FILIERE : HYDROLOGIE MARINE ET CONTINENTALE

OPTION

EAU, ENVIRONNEMENT ET SANTE PUBLIQUE

Thème

**Validation d'une méthode d'analyse
du parathion méthyle dans les eaux de surface
par chromatographie gazeuse
couplée à un spectromètre de masse
après extraction en phase solide**



Présenté par : **HAMANA Farid**

Devant le jury :

Mr.	GRANDI. M	MAA	USDB	Président
Mme.	EL MAHDI. I	MAA	USDB	Promotrice
Mme.	BELMESKINE .H	MCB	USDB	Examinatrice

SOUTENU PUBLIQUEMENT LE 20. 09. 2017

REMERCIEMENT

Ma gratitude va en premier à ALLAH, pour tous ce qu'il ma offert, santé, volonté et persévérance pour l'accomplissement de cette œuvre.

J'adresse mes remerciements les plus sincères à tous les cadres de l'université Saad DAHLEB de Blida pour m'avoir donné l'opportunité d'achever ce cycle de ma vie.

A leurs têtes madame **HAMAÏDI F**, Maître de conférences, qui ma permet d'accéder au master Eau Environnement et Santé Publique, je la remercie également pour sa disponibilité, sa patience et sa qualité humaine.

Mes profonds remerciements vont aussi à madame **ELMAHDI I.**, Maître de conférences, qui à accepter chaleureusement de diriger ce projet de recherche, pour sa confiance, ces conseils et essentiellement sa grande patience.

Je tiens a remercié également monsieur **GRANDI M.**, Maître de conférences à l'université de Blida pour avoir accepté de présider le jury, d'examiner et d'évaluer ce projet, sans oublier

madame **BELMESKIN H.**, Maître de conférences à l'université de Blida d'avoir acceptée aussi de prendre part à l'appréciation, l'examen et la critique de ce projet.

Mes remerciements vont aussi à tous les enseignants du master EESP pour leurs patience, savoir faire et orientations.

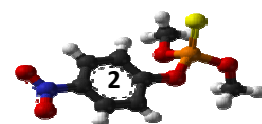
Je ne peux finir mes remerciements sans adresser un grand merci à la

GENDARMERIE NATIONALE,
une institution au service de la nation, la paix et la justice,
L'INSTITUT NATIONAL DE CRIMINALISTIQUE ET DE CRIMINOLOGIE
(INCC/GN)
un pôle d'excellence en matière de science criminalistique (forensic science),
à sa tête Mr Le Directeur Général **BERROUMANA S. A.**,
pour ces encouragements et la confiance qui m'a accordé.

Je tiens aussi à adresser ma gratitude à tous les cadres de l'INCC/GN pour avoir facilité l'achèvement de ce projet de recherche, je nomme :

Mr le Sous Directeur **DOUMANDJI L.**,
Le chef département Toxicologie **Mr BOUMRAH Y.**,
Le chef département Incendie et Explosion **Mr DEKHIL A. H.**,
Le chef département Environnement **Mr BENLARIBI R.**,
Les chefs laboratoires **Mr SEDRATI H.**, **Mr BRAHMI M. A.**,
et spécialement **Mr KESSIR. M.**

ainsi que tous les cadres qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



« Ce projet de recherche a été réalisé à l'INCC/GN, principalement le département de toxicologie »

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents qui ont consacré leur vie pour moi afin de veiller à ma réussite et mon épanouissement intellectuel.

A ma belle mère pour ces encouragements et gentillesse.

A ma très très chère femme HANANE qui m'a soutenu, aidée et encouragée sans cesse tout au long de ce master.

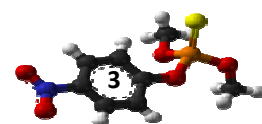
A mes petits garçons
ANESS le champion,
RACIM le prince
et spécialement ACIL le cadeau
que dieu les protègent.

A toutes ma famille.

Mes amis

Mes collègues.

Ma promotion EESP



RESUME

Les pesticides sont des composés chimiques destinés à la protection des végétaux, mais leur utilisation excessive et croissante engendre une contamination accrue de l'environnement. L'identification et la quantification de ces pesticides dans l'eau est devenue une préoccupation mondiale d'où l'intérêt de la mise au point de nouvelles méthodes analytiques capables de répondre aux exigences normatives.

Dans ce contexte, le présent projet de recherche a pour but le développement d'une méthode de dosage du parathion méthyle par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse après une extraction en phase solide (SPE/GCMS). Cette méthode est consolidée par un processus de validation analytique au moyen d'un profil d'exactitude permettant de garantir la fiabilité des résultats obtenus dans un intervalle de validation déterminé et répondre ainsi aux exigences de la norme ISO CEI 17025 :2005 en matière de validation.

La méthode d'analyse développée, a permis la quantification du parathion méthyle dans un domaine de validation compris entre 0,2 mg/l et 0,4 mg/l avec un taux de recouvrement variant de 78,68 % à 108,74 %. La méthode a été évaluée et définie comme étant sélective pour le parathion méthyle. Juste avec un biais de justesse qui varie de -12,89 à + 8,31 %, et fidèle puisque le coefficient de variation passe de 9,31% à 13,34 %. Les limites de détection et quantification sont inférieures aux valeurs du domaine de validation et donc s'avèrent acceptables. De ce fait la méthode est validée pour le dosage du parathion méthyle.

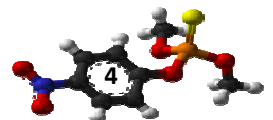
Mots clés : Eau; pesticides; extraction sur phase solide; GC-MS, validation, ISO.

ملخص

المبيدات عبارة عن مواد كيميائية تستعمل أساساً من أجل حماية النباتات، إلا أن استعمالها اللاعقلاني يؤدي إلى تلويث البيئة. فأصبحت مهمة تعريف وتحديد كميات هذه المواد في الطبيعة وخاصة في المياه من الانشغالات الهامة عبر كل أقطار العالم، مما استلزم إحداث طرق تحليلية جديدة قادرة على مراعاة كل المتطلبات والمواصفات المعيارية.

يهدف مشروع البحث الحالي إلى تطوير طريقة تحليلية لتحديد كميات مادة البراثيون ميثيل في الماء، عن طريق الكروماتوغرافيا الغازية المزودة بالكتلة الطيفية بعد عملية استخلاص عبر مرحلة صلبة. هذه الطريقة دُعمت بتحقيق منهجي عن طريق دراسة إحصائية تعتمد أساساً على معيار الدقة من أجل الحصول على نتائج موثوقة تستجيب إلى أدق المتطلبات والمواصفات الخاصة بمعيار ايزو 17025:2005.

هذه الطريقة التحليلية تسمح بالتحديد الكمي لمادة البراثيون ميثيل في مجال كمي محدد من 0.2 مغ/ل إلى 0.4 مغ/ل، مع نسبة استخلاص تتراوح ما بين 78.68 % و 108.74 %، كما أنه تم التحقق من درجة انتقاء الطريقة التحليلية لمادة البراثيون ميثيل. في ما يخص الدقة فقد تم إثباتها بحساب الارتياح النسبي الذي كانت نسبته ما بين 9.31 % و 12.89 % إلى + 8.31 %. أما بالنسبة لمعيار الإخلاص فقد تم حساب معامل التغير الذي يتراوح ما بين 9.31 % و 13.34 %. كما تم تعريف حدود التحليل الكمي والكشفي والتي كانت أقل من قيم المجال الكمي المعمول به، ومن كل هذه المعطيات يمكن أن نعتبر أن الطريقة التحليلية للكشف عن كميات مادة البراثيون ميثيل في الماء متحقق منها.



الكلمات الدالة : ماء، مبيدات، استخلاص على مرحلة صلبة، الكروماتوغرافيا الغازية المزودة بالكتلة الطيفية.

ABSTRACT

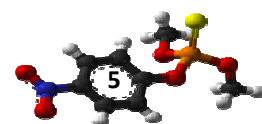
Pesticides are chemicals compounds intended to protect plants, but there increasing use is contaminating the environment. Identification and quantification of pesticides in water is becoming a worldwide concern, for this reason, new methods have to be developed in order to satisfy normative requirements.

The purpose of this project is to develop a parathion methyl measuring method in water using gas chromatography/mass spectrometry after a solid phase extraction (SPE/GCMS). This method was supported by a validation process using the exactitude profile approach which guaranty reliable results on a limited range and fulfill ISO CEI 17025:2005 requirements.

The method allows parathion methyl quantification in a range between 0,2 mg/l and 0,4 mg/l, with an extraction efficiency from 78,68 % up to 108,74 %. Validation has proved that the method is selective for parathion methyl. The accuracy was obtained through bias evaluation, which vary from -12,89 to +8,31 %. Relative standard deviation was calculated to determine the precision of the method, it fluctuate from 9,31 % to 13,34 %. The limits of quantification and detection were also determined and they remain within certain acceptance.

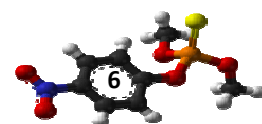
Therefore, the method applicability for the intended use is demonstrated and validated.

Keywords: Water; Pesticides; Solid Phase Extraction; GCMS, Validation, ISO.



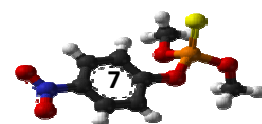
LISTE DES ABREVIATIONS

ACTA	:	Association de Coordination Technique Agricole (France).
CEI	:	Commission électrotechnique Internationale.
DCM	:	Dichlorométhane
FAO	:	Food and Agriculture Organization.
GCMS	:	Gas Chromatography/mass spectrometry.
ICH	:	Conférence Internationale d'Harmonisation
INCC/GN	:	Institut National de Criminalistique et de Criminologie de la Gendarmerie Nationale
INPV	:	Institut National de Protection des Végétaux (Algérie).
IPVO	:	Institut de Protection des Végétaux d'Oran (Algérie).
ISO	:	Organisation International de Normalisation.
JORA	:	Journal Officiel de la République Algérienne
OMS	:	Organisation Mondiale de la Santé.
POP	:	Polluants Organiques Persistants.
SM1	:	Solution mère numéro 01.
SM2	:	Solution mère numéro 02 (intermédiaire).
SM3	:	Solution mère numéro 03 (intermédiaire).
SM4	:	Solution mère numéro 04 (intermédiaire).
SPE	:	Solide phase extraction (extraction sur phase solide).
UIPP	:	Union des Industries de la Protection des Plantes (Europe).
USD	:	United State Dollar.
US-EPA	:	United State Environment Protection Agency.
VIM	:	Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie
RT	:	Temps de rétention d'une molécule
AA	:	Aire du pic
SN	:	Bruit de fond



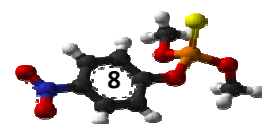
LISTE DES TABLEAUX

Tableau I	:	Consommation des substances actives dans le monde depuis 1990
Tableau II	:	Quantités des pesticides utilisées en Algérie depuis 1990
Tableau III	:	Propriétés physico-chimique du parathion méthyle
Tableau IV	:	Préparation de solution étalons intermédiaires
Tableau V	:	Comparaison des protocoles d'extraction
Tableau VI	:	Programme de température du four
Tableau VII	:	Gamme d'étalonnage (en unités de surface de pic)
Tableau VIII	:	Surfaces des pics retrouvées des séries d'analyses.
Tableau IX	:	Concentrations retrouvées par prédiction inverse en mg/l.
Tableau X	:	Erreurs systématiques (biais).
Tableau XI	:	Erreurs systématiques relatives (biais relatif).
Tableau XII	:	Ecart types et coefficients de variance
Tableau XIII	:	Intervalle de tolérance
Tableau XIV	:	Paramètres de construction du profil d'exactitude



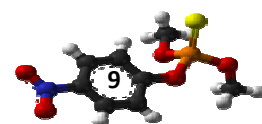
LISTE DES FIGURES

- Figure 1** : Représentation du Dichlorodiphényltrichloroethane DDT
- Figure 2** : Processus de dissipation des pesticides dans l'environnement
- Figure 3** : Représentation en 3D de la molécule du parathion méthyle
- Figure 4** : Représentation graphique de la molécule du parathion méthyle
- Figure 5** : Pictogrammes de danger liés au parathion méthyle
- Figure 6** : Différents conditionnements d'absorbant disponibles
- Figure 7** : Schéma du principe de la GCMS
- Figure 8** : Cartouche SPE Bond Elut C18
- Figure 9** : Dispositif sous vide avec pression réglable
- Figure 10** : Protocole d'extraction sur phase solide
- Figure 11** : Chromatographie en phase gazeuse (GCMS)
- Figure 12** : Chromatogramme du parathion méthyle 5 mg/l
- Figure 13** : Gamme d'étalonnage (surface de pic en fonction des concentrations)
- Figure 14** : Profil d'exactitude obtenu pour le parathion méthyle



SOMMAIRE

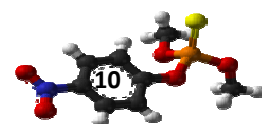
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Tables des matières	
Introduction	01
Chapitre I SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	04
I-1- Définition et classification des pesticides	05
I-1-1- Définition	05
I-1-2- Classification	06
I-1-2-1- Premier système de classification : La cible du produit	06
I-1-2-2- Deuxième système de classification : La structure chimique	06
I-1-2-3- Troisième système de classification : la classification toxicologique	06
I-2- Consommation des pesticides	07
I-2-1- Consommation mondial	07
I-2-2- Consommation algérienne	08
I-3- Loi et réglementation	10
I-4- Les pesticides dans l'eau	11
I-4-1- Transfert vers les eaux souterraines : le lessivage	12
I-4-2- Transfert vers les eaux de surface : le ruissellement	12
I-5 Pesticide étudié	13
I-5-1- Le parathion méthyle	13
I-5-2- Propriétés physico-chimique :	14
I-5-3- Toxicologie et écotoxicologie	15
I-5-3-1- Impact sur l'homme	15
I-5-3-2- Impact sur l'écosystème aquatique	16
I-6- Méthode d'analyse	16
I-6-1- Technique d'extraction	17
I-6-2- Technique d'analyse	18
I-7- Validation de méthode analytique	20
I-7-1- Critères de la validation	20
Chapitre II : Matériel et Méthodes	22
II-1- Matériel	23



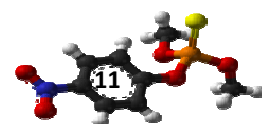
II-1-1-	Réactifs, standards et appareillage.....	23
II-1-1-1-	Réactifs.....	23
II-1-1-2-	Solutions étalons	23
II-1-3-	Appareillage.....	24
II-2-	Méthodes.....	26
II-2-1-	Méthode d'extraction sur phase solide	26
II-2-1-1-	Choix de la cartouche d'extraction SPE.....	26
II-2-1-2-	Optimisation du choix du protocole d'extraction:.....	26
II-2-1-3-	Protocole d'extraction	28
II-2-2-	Méthode d'analyse par chromatographie en phase gazeuse	28
II-2-2-1-	Conditions chromatographiques.....	29
II-2-2-2-	Détection du parathion méthyle	29
II-2-2-3-	Quantification du parathion méthyle.....	29
II-2-2-4-	Outils de calcul.....	29
Chapitre III :	Résultats et Discussion	30
III-1-	Plan de validation	31
III-2-	Vérification des critères de validation	31
III-2-1-	Vérification de la spécificité.....	31
III-2-2-	Mise au point de la gamme d'étalonnage et étude de la linéarité.....	31
III-2-3-	Protocole expérimentale	33
III-2-4-	Calcul des concentrations prédites inverses	33
III-2-5-	Justesse	34
III-2-5-1-	Calcul du biais.....	34
III-2-5-2-	Calcul du biais relatif.....	34
III-6-	Fidélité	35
III-6-1-	Calcul des écarts types et des coefficients de variance	36
III-7-	Le profil d'exactitude.....	37
III-7-1-	Calcul des intervalles de tolérance	37
III-7-2-	Construction du profil d'exactitude	37
III-8-	Limites de détection et de quantification.....	38
III-3-	Interprétation des résultats.....	39
Conclusion	41	

Annexes

Références bibliographique



INTRODUCTION



Introduction

La croissance démographique et l'évolution de l'humanité sont deux faits saillants ayant poussés l'augmentation des besoins nutritionnels des populations à travers toute la planète. A l'horizon de 2050 et selon l'organisation mondiale pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), la population mondiale atteindra les 9,1 milliards d'habitants soit une augmentation de 34 % par rapport à aujourd'hui. La production annuelle de céréales devra atteindre environ 3 milliards de tonnes comparée aux 2,1 milliards actuels, et la production annuelle en viande devra augmenter de plus de 200 millions de tonnes pour atteindre 470 millions de tonnes **(FAO, 2009)**.

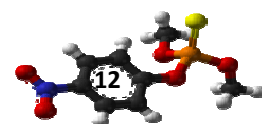
Devant ces besoins et le phénomène de rétrécissement des surfaces cultivables en plus du facteur de pollution, les principaux acteurs en matière d'agriculture sont obligés d'exploiter les meilleures solutions existantes, pour protéger les cultures contre les organismes nuisibles.

Les études statistiques de la FAO ont démontrées que l'utilisation des produits phytosanitaires donne un rendement meilleur pour tous types de cultures. Cette utilisation répond positivement à la problématique de protection des cultures et le maintien de la bonne qualité des aliments **(UIPP, 2008)**.

Depuis l'antiquité, divers produits chimiques et/ou biologiques ont été utilisés dans la lutte contre les agressions pouvant faire réduire la qualité du produits agricole. Publié par l'organisation mondiale de la santé (OMS) en collaboration avec le programme des nations unies pour l'environnement, un bref rappel de l'histoire de l'utilisation des pesticides relate l'utilisation de produits chimiques minéraux contre les insectes qui pourrait remonter à l'époque gréco-romaine **(OMS, 1991)**. Les plus distingué été, l'utilisation du sulfate de cuivre, le sulfate de fer, les sels d'arsenic ou bien encore la nicotine comme moyen de lutte contre les mauvaises herbes et les insectes.

L'évolution de la chimie à permet la synthèse de nouvelle molécule plus performante, particulièrement après la deuxième guerre mondiale où les composés organophosphorés ont remplacés les composés organochlorés considérés comme très toxique.

Cette utilisation excessive des pesticides a commencé de susciter l'indignation des populations qui les suspectent de causer de graves problèmes de santé dont le cancer. C'est à partir de ce moment que des efforts de par le monde se sont orientés vers l'étude des risques liés à l'utilisation des pesticides et leurs impactes sur l'environnement et la santé publique.

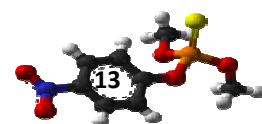


De nouvelles méthodes d'analyse sont développées au fur et à mesure de l'évolution de la technologie. L'utilisation des méthodes instrumentales a permis d'atteindre une plus grande efficacité et de mesures plus précises.

C'est dans cette perspective que l'étude que nous présentons est une contribution à la mise en place d'une méthode de quantification d'un pesticide organophosphoré " le parathion méthyle", dans les eaux de surface. Cette méthode repose sur une technique d'extraction dite extraction sur phase solide (SPE) suivi d'une méthode d'analyse instrumentale par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GCMS).

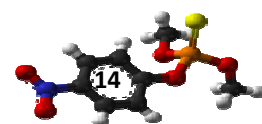
Les performances de cette méthode d'analyse sont validées par un processus de confirmation analytique et statistique afin de démontrer sa compétence à fournir des résultats fiables dans un intervalle de mesure déterminé.

Cette étude est répartie en trois chapitres, un premier chapitre relatant l'étude bibliographique résume les connaissances actuelles liées aux pesticides, leurs consommations et le cadre réglementaire de leur utilisation, le concept de la validation analytique et les critères utilisés. Le deuxième chapitre évoque le matériel utilisé et la conception de la méthode d'extraction et d'analyse utilisée. Les résultats obtenus sont traités statistiquement et discutés dans le troisième chapitre. L'étude est finalisée par une conclusion récapitulative du travail effectué et synthétisant les perspectives futures pourront améliorer cette méthode de quantification de pesticide.



CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE



I-1- Définition et classification des pesticides

I-1-1- Définition

Le mot «pesticide», est un terme très largement utilisé dans la littérature scientifique. Il est repris dans plusieurs ouvrages et articles. Dans le «Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau» de François RAMADE, les pesticides sont défini comme étant «des substances chimiques, minérales ou organiques de synthèse utilisées à vaste échelle contre les ravageurs des cultures, les animaux nuisibles et les agents vecteurs d'affections parasitaires ou microbiologiques de l'homme et des animaux domestiques ». (RAMADE, 1998).

Suivant la loi algérienne n° 87-17 du 1^{er} août 1987 relative à la protection phytosanitaire, un pesticide ou un produit phytosanitaire est « une substance ou mélange de substance destinée à repousser, détruire ou combattre les organismes nuisibles, en vue de la protection ou de l'amélioration de la production végétale » (JORA, 1987). Selon cette même loi, ce terme comprend les agents biologiques, les régulateurs de croissance, les correcteurs de carence, les défoliants, les agents de dessiccation, les agents d'éclaircissage ainsi que les substances appliquées sur les cultures avant et après récolte, pour protéger les produits contre la détérioration durant l'entreposage et le transport. Le pesticide le plus connu au monde est le DDT (Dichlorodiphényltrichloroethane, figure1) qui est actuellement interdit d'utilisation au niveau internationale en raison de ces effets très néfastes.

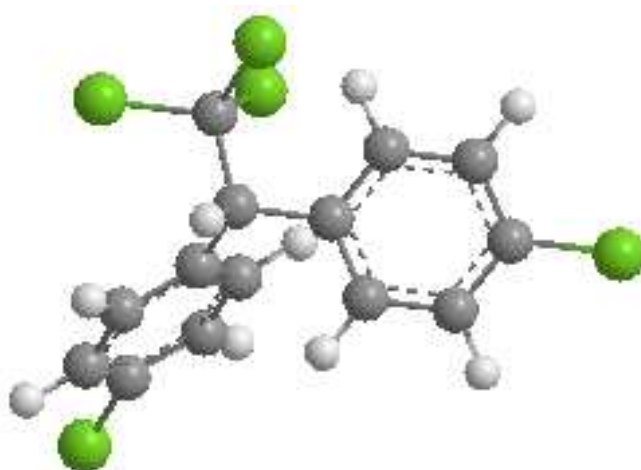
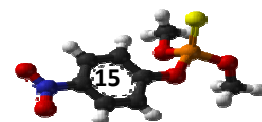


Figure 1 : Représentation 3D du Dichlorodiphényltrichloroethane DDT.

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché, sont caractérisés par une grande variété de structures chimiques, de groupes fonctionnels, ce qui rend leur classification assez complexe (BERTHOLF et al., 2007), il existe de ce fait plusieurs types de classification dont les systèmes cités infra.



I-1-2- Classification

I-1-2-1- Premier système de classification : La cible du produit

Ce système de classification repose sur la cible du produit utilisé, où il ya à citer entre autres : les insecticides, les herbicides et les fongicides.(AYAD, 2012).

- Les insecticides: Destinés à tuer les insectes ou à empêcher le déroulement normal de leur cycle de vie. Ils agissent par contact, par inhalation ou par ingestion des molécules par l'insecte.
- Les herbicides: Destinés à limiter la croissance des espèces végétales nuisibles, ils représentent le plus grand segment du marché.
- Les fongicides: Destinés à éliminer les champignons, en affectant leurs respiration ou leurs division cellulaire, ou en inhibant la biosynthèse des acides aminés et des stérols.

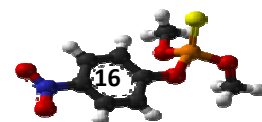
I-1-2-2- Deuxième système de classification : La structure chimique

Ce système de classification repose sur la structure chimique et/ou le groupe fonctionnel. Il existe un très grand nombre de familles, dont les Organophosphorés, les Organochlorés, les Carbamates, les Pyréthrinoïdes, les Triazines, les Phénylurées et les Biopesticides.

I-1-2-3- Troisième système de classification : la classification toxicologique

La classification des produits phytosanitaires repose sur la base des résultats d'études toxicologiques et leurs effets sur la santé. Selon l'Association de Coordination Technique Agricole (ACTA, 2004), les pesticides peuvent être classés comme suit :

- **T+**: Substances et préparations très toxiques, qui par inhalation, ingestion, ou pénétration cutanée, peuvent entraîner des risques extrêmement graves, aigus ou chroniques et même la mort.
- **T**: Substances et préparations toxiques, qui dans les mêmes conditions que ci-dessus, peuvent entraîner des risques graves aigus ou chroniques et même la mort.
- **Xn**: Substances et préparations nocives qui par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peuvent entraîner des risques de gravité limitée.
- **C**: Substances et préparations corrosives qui en contact avec des tissus vivants peuvent exercer une action destructive sur ces derniers.
- **Xi**: Substances et préparations irritantes, elles ne sont pas classées comme corrosives, mais par contact immédiat, prolongé ou répété avec la peau ou les muqueuses, peuvent provoquer une réaction inflammatoire.



I-2- Consommation des pesticides

I-2-1- Consommation mondiale

L'union des industries de la protection des plantes (UIPP) estime le marché des produits phytosanitaires dans le monde à plus de 40 milliards de dollars, avec une croissance supérieure à 40 % sur la période 2007-2012. (UIPP, 2008). Avec les Etats-Unis comme étant le premier consommateur au monde suivi du Japon. (MIQUEL, 2003).

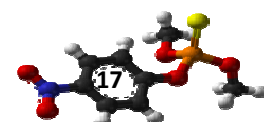
En Europe trois pays, la France, l'Italie et l'Espagne, représentent à eux seuls près des deux tiers des utilisations en volume total. Ce pourcentage atteint plus de 80% si l'on rajoute l'Allemagne et le Portugal. La France qui utilise plus d'un tiers des produits phytosanitaires vendus en Europe, est le plus gros utilisateur de fongicides, d'herbicides et de produits divers. (AUBERTOT et al., 2005).

Selon les sources de la division statistique de la FAO (FAOSTAT, 2017) la consommation des substances actives phytosanitaires dans le monde a atteint des quantités énormes. Exprimé en tonne de matières actives utilisées, le **tableau I** illustre la consommation des substances actives dans le monde depuis 1990.

Tableau I : Consommation des substances actives dans le monde depuis 1990

ANNEE	EGYPT	ALLEMAGNE	ITALIE	JAPON	MAROC	ARABIE SAOUDITE	USA
1990	13214	31289	100596	/	9364	/	400976
1991	8255	32006	88916	/	/	/	384646
1992	6156	29542	88227	/	/	/	400976
1993	4175	25170	89282	/	/	/	391904
1994	/	26330	81217	/	/	/	425923
1995	/	30090	84153	/	/	994	423202
1996	/	31683	74617	/	/	2513	433180
1997	/	30414	84799	/	/	/	434541
1998	/	33377	84117	/	/	/	424562
1999	/	30019	81583	/	/	/	433634
2004	/	34930	83810	64689	15064	/	425016
2005	5471	36386	84647	63830	13966	/	401429
2006	9781	38540	74349	65249	13697	/	392811
2007	9105	40740	80454	61164	/	4216	397800
2008	9527	43413	79643	58750	/	/	/
2009	9013	39289	70851	60970	/	/	/
2010	11590	40832	70697	55576	/	/	/
2011	12945	43754	69627	51796	/	/	/
2012	13991	45522	60803	54716	/	4996	/
2013	13653	43756	54174	52794	/	5412	/
2014	11363	45832	58825	53543	/	/	/

(FAOSTAT, 2017)



I-2-2- Consommation algérienne

La présence des pesticides dans l'eau en Algérie est un constat de plus en plus affirmé, et une situation préoccupante en raison de la diminution continue des ressources en eau. MOUSSAOUI et al 1999 ont rapportés que dans plus de 30 % des échantillons d'eau prélevés dans la région de Sataouli (wilaya d'Alger) les concentrations de certaines molécules organochlorés et organophosphorés (Diazinon, Parathion) dépassent les valeurs préconisées par l'OMS. (MOUSSAOUI et al., 1999).

De même, BOUNACHADA et al. (2011), ont montré que des pesticides sont détectés dans environ plus de 45% des puits échantillonnées dans la région de sétif et dont plus de 57% sont attribuées à ceux situés près des cultures de pomme de terre qui servent le plus souvent de source d'eau de boisson. 50% d'entre eux révèlent la présence de plusieurs pesticides dont le malathion.

En dépit du manque des données relatives aux types et quantités de pesticides utilisés en agriculture, quelques enquêtes ont démontrées que parmi les pesticides utilisées, les organophosphorés représente 15% du taux globale dans la région centre de l'algerois. Cette valeur a atteint 41 % d'utilisation, suite à une étude menée par KHADDAM (2010) dans le cadre d'une enquête sur la gestion des pesticides et Algérie.

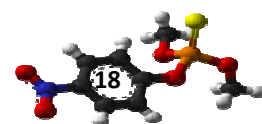
Une autre enquête réalisée en 2012 dans le cadre d'une étude de poste graduation de la faculté des sciences à l'université d'Oran (AYAD, 2012), auprès des fellahs de la chambre d'agriculture et de l'Institut de Protection des Végétaux de la wilaya d'Oran (IPVO), il à été démontré que les pyréthriinoïdes, les organophosphorés et les carbamates sont les pesticides les plus utilisés en Algérie. L'Institut National de Protection des Végétaux (INPV), affirme quant à lui que la plus grande quantité d'insecticides est utilisée dans le cadre de la lutte antiacridienne. (INPV, 2012).

Le marché algérien en pesticides ne cesse d'augmenter, d'après les statistiques de la division statistiques de la FAO (FAOSTAT, 2017), l'Algérie a utilisée des quantités qui varient de 1031 à plus de 27114 de tonnes de substances actives (voir tableau II).

Tableau II : Quantités des pesticides utilisées en Algérie depuis 1990.

Année	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2004
Quantité	9918	13549	6041	5529	6347	11812	2762	2261	1031	1031	10320
Année	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	MOYENNE
Quantité	7292	7117	10347	17860	8272	397	2248	27114	25841	21999	9651

(FAOSTAT, 2017)



I-3- Loi et réglementation

A l'heure actuelle, l'Algérie dispose des réglementations et des lois jugées à notre avis nécessaires pour définir les conditions relatives à l'homologation, la fabrication, la commercialisation et l'utilisation des produits phytosanitaires à usage agricole et cela en application des dispositions de la loi n° 87-17 du 1er Août 1987 relative à la protection phytosanitaire (**JORA, 1987**).

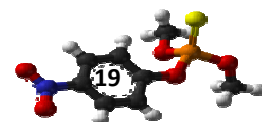
Dans le bulletin d'information phytosanitaire n°29 de l'INPV (**2012**), il est mentionné que le contrôle des produits phytosanitaires n'était pas encore réglementé en Algérie de 1962 à 1967, par conséquent, aucune autorisation n'était exigée quant à la commercialisation et l'utilisation des pesticides à usage agricole.

Ce n'est qu'en 1987, suite à l'apparition de la loi phytosanitaire n°87-17, que le contrôle des produits phytosanitaires est régi par la « commission des produits phytosanitaires » institué auprès du ministre chargé de l'agriculture. (**INPV, 2012**). Étant donné que plusieurs études ont déterminées l'origine agricole de la contamination des eaux par les pesticides, il a été nécessaire de mettre en place une réglementation visant la protection de la santé publique et promouvoir la qualité des eaux destinée à la consommation.

Cette eau est une composante essentielle, dont les propriétés doivent répondre aux normes de qualité fixées par la réglementation algérienne en accord avec les normes de qualité internationales, notamment celles de l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS, 2010**). L'un des objectifs principal de la loi n° 05-12 du 4 août 2005 relative à l'eau (**JORA, 2005**), est la préservation de la salubrité publique et la protection des ressources en eau et des milieux aquatiques contre les risques de pollution à travers la collecte et l'épuration des eaux usées domestiques et industrielles ainsi que des eaux pluviales et de ruissellement dans les zones urbaines (article n°2 alinéa n°2).

Cela dit, la pollution des eaux est devenue un fait réel particulièrement par la présence des pesticides. Pour cela le législateur algérien a mis en place les dispositions nécessaires pour l'approvisionnement en eau de qualité et satisfaire tous les besoins.

Les normes et seuils faisant état de la bonne qualité de l'eau sont évoqués dans plusieurs textes réglementaires, notamment le décret exécutif n° 11-125 du 22 mars 2011 fixant les paramètres de qualité de l'eau de consommation humaine (**JORA, 2011**). Il stipule que la valeur limite des pesticides par substance individualisée (Insecticides organochlorés persistants, organophosphorés et carbamates, les herbicides, les fongicides, les P.C.B. et



PC.T) ne doit pas dépassée 0,1 $\mu\text{g/l}$, alors que la valeur des pesticides totaux doit être inférieur à 0,5 $\mu\text{g/l}$.

Dans la même approche, le décret exécutif n° 11-219 du 12 juin 2011 fixant les objectifs de qualité des eaux superficielles et souterraines destinées à l'alimentation en eau des populations (**JORA, 2011**), précise que les pesticides ne doivent pas dépasser la valeur maximale de 0,5 $\mu\text{g/l}$ pour les eaux souterraines et 1 $\mu\text{g/l}$ pour les eaux superficielles.

Il est à signaler que les valeurs limites applicable en Algérie sont des valeurs strictes et en parfaite concordance avec les différents valeurs limites applicable dans le monde. Par exemple, le code de la santé publique édictant les dispositions réglementaires en matière d'eau potable, en application des directives européennes 89/83/CE et 75/440/CEE, fixe les limites de qualité dans l'eau au robinet du consommateur à 0,1 $\mu\text{g/l}$ pour chaque pesticide et 0,5 $\mu\text{g/l}$ pour le total des substances mesurées alors que pour les eaux brutes les limites sont fixées à 2 $\mu\text{g/l}$ pour chaque pesticide et 5 $\mu\text{g/l}$ pour les pesticides totaux. (**Directives Européennes, 1988 et 1975**).

I-4- Les pesticides dans l'eau

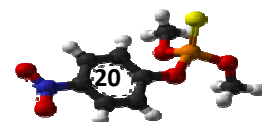
Le volume totale de l'eau sur terre est d'environ 1400 millions de km^3 , dont 2,5% seulement, soit 35 millions de km^3 , est de l'eau douce. La fraction utilisable représente environ 200 000 km^3 , moins de 0,01% de l'ensemble de l'eau présente sur terre. (**PNUE, 2002**).

La pollution des eaux est devenue une menace à haut risque suite aux dangers qu'engendre l'accumulation des polluants dans les écosystèmes et dans la chaîne alimentaire.

L'épandage des pesticides sur les champs de cultures se fait généralement par les agriculteurs eux même, en utilisant pour cela des moyens de pulvérisations adaptés. Cependant la majeure partie des pesticides appliqués atteint le sol et ce n'est qu'une fine partie qui est épandu sur la plante. La figure 2 représente le processus de dissipation des pesticides dans l'environnement et illustre la complexité de du phénomène de pertes des pesticides à l'épandage et leurs devenir.

Peu de références parlent des pertes de pesticides à l'épandage. Des mesures sur terrain ont indiquées un taux de 10 à 45 % de dépôts de pesticides sur le sol et un taux de 15 à 40% de départ dans l'air (**WOHLFAHRT, 2008**). Ces niveaux de pertes sont principalement dépendants de la configuration et du réglage des pulvérisateurs, du stade de développement de la végétation et des conditions météorologiques.

D'autres références indiquent des pourcentages qui peuvent variés entre 10 à 70% de pertes vers le sol et 30 à 50% vers l'air (**WOHLFAHRT, 2008**). Les quantités de pesticides



qui ne sont pas piégées dans le sol sont automatiquement transférées vers l'eau soit par lessivage ou ruissellement.

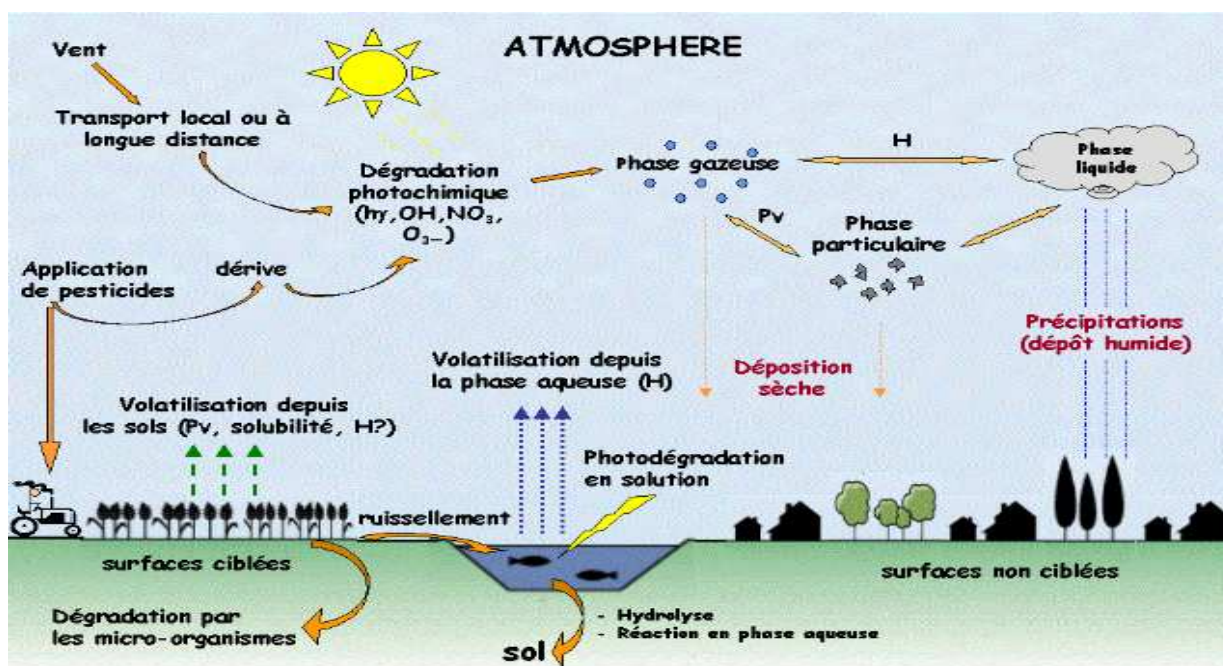


Figure 2 : Processus de dissipation des pesticides dans l'environnement (BERRAH, 2011)

I-4-1- Transfert vers les eaux souterraines : le lessivage

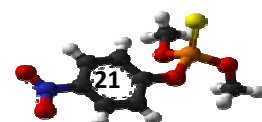
Sur un sol recevant 1kg/ha d'une substance active et soumis à une infiltration de 200 mm/an, le lessivage de 0,1% de cette substance conduit à une teneur approximative dans les eaux de 0,5 µg/l. un très faible lessivage de la quantité épandue conduit ainsi à des teneurs supérieures aux normes de potabilité (WOHLFAHRT, 2008).

L'important stock présent dans le sol se déplace avec l'eau d'infiltration et si des quantités supérieures à 0,1 % des apports parviennent à 1m, la nappe a de fortes chances d'être contaminée (OLIVIER, 2002).

Le processus de lessivage des pesticides correspond au transfert des molécules de la surface du sol, ou des couches superficielles du sol, vers les eaux de profondeur (nappe phréatique), soit de la zone non saturée à la zone saturée du sol. Ce transfert se fait essentiellement via la dilution des pesticides dans la solution du sol.

I-4-2- Transfert vers les eaux de surface : le ruissellement

Le ruissellement est l'écoulement de l'eau à la surface du sol. Il s'accompagne de transport de matières à l'état dissous ou particulaire (érosion). Parce que les effets du ruissellement sont souvent visibles (formation de rigoles, de ravines, déplacements de terre).



Dans certaines conditions (**OLIVIER, 2002**), une part importante de l'eau de pluie ne s'infiltré pas dans le sol et peut conduire à un ruissellement de cette eau à la surface du sol.

Le ruissellement est un facteur clé dans le transfert direct des polluants de la surface du sol vers les rivières : on distingue trois types de ruissellement :

- Lorsque la capacité de stockage du sol est dépassée, c'est-à-dire que les premiers horizons de sol sont totalement saturés ;
- Lorsque l'intensité de la pluie est supérieure à la conductivité hydraulique de l'horizon de surface ;
- Sur des fortes pentes.

I-5 Pesticide étudié

Les pesticides organophosphorés sont des produits à large utilisation en agriculture, leur exploitation a augmenté très excessivement dès l'interdiction des insecticides à base de polluants organiques persistants (POP), (**OMS, 1991**).

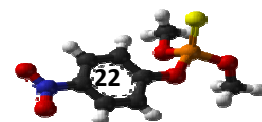
Les pesticides organophosphorés sont plus toxique que les pesticides organochlorés, si le DDT a une DL_{50} de 113 mg/kg pour les rats, le parathion lui a une DL_{50} de 3,6 mg/kg soit une valeur 30 fois moins élevée. Certains organophosphorés sont absorbés à travers la peau ce qui augmente leurs dangers vis-à-vis des utilisateurs. Ils ont une durée de vie courte dans l'environnement et ne sont pas liposoluble, par contre ils ne s'accumulent pas à des niveaux très élevés dans les lipides. Cependant, ceci implique une hydrosolubilité accrue; ainsi, après application sur un champ, ils peuvent s'écouler facilement dans l'eau de pluie ou s'infiltrer dans les eaux souterraines. (**REEVE, 2002**).

Le pesticide étudié dans ce projet de recherche est le parathion méthyle, un pesticide organophosphoré toujours utilisé en Algérie.

I-5-1- Le parathion méthyle

Le parathion méthyle (figure 3 et 4) est un produit chimique agricole appartenant à la famille des organophosphorés, classé comme insecticide et plus particulièrement comme acaricide, il agit par contact, ingestion ou inhalation sur un grand nombre d'insectes. Il est fabriqué sous forme de poudre, concentré émulsionnable, poudre mouillable. Les formulations vont de 1,5% de matière active dans le cas des poudres et 50% à 75% dans celui des concentrés émulsionnables (**ICP, 1997**).

Les concentrés émulsionnables à 50% correspondent à une formulation d'usage courant et tombent dans la catégorie « OMS 1b » des produits fortement dangereux. L'Agence Américaine de Protection de l'Environnement (US-EPA) classe le parathion méthyle comme un produit fortement toxique de première catégorie (**OMS, 1991**). Au niveau de l'Union Européen il est classé très toxique (T+) et est interdit à la suite de l'examen relatif à son



inscription à l'annexe I de la directive 91/414/CEE en application de la décision communautaire 2003/166/CE (**Directives Européennes, 1991 et 2003**).

En matière de fabrication l'Inde est le principale pays fabricant de parathion méthyle, au coté du l'Allemagne le Mexique, le Danemark et le Singapour. (**ICP, 1997**).

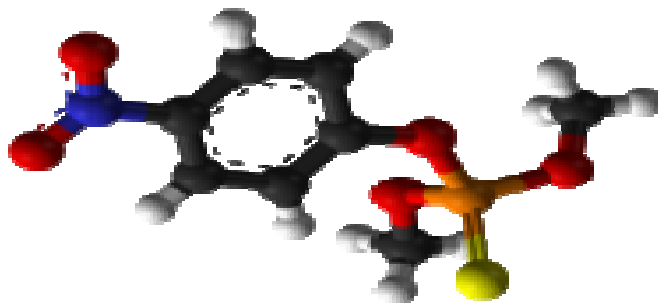


Figure 3 : Représentation 3D du parathion méthyle.

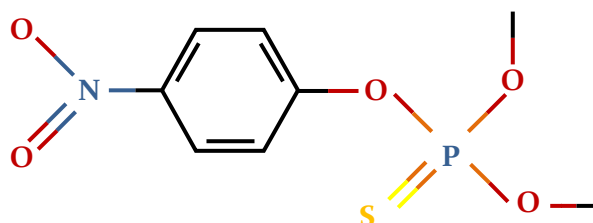


Figure 4 : Structure moléculaire du parathion méthyle.

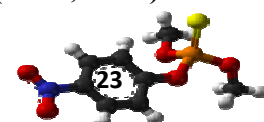
I-5-2- Propriétés physico-chimique :

Le parathion méthyle est une substance active très toxique qui représente les caractéristiques physicochimiques suivantes :

Tableau III : Propriétés physico-chimique du parathion méthyle

Nom commun	Parathion méthyle
Nom chimique	O,O-dimethyl O-(4-nitrophenyl) phosphorothioate
Synonymes	Parathionméthyl, dimethyl parathion, Drexel, Dypar
Numéro CAS	298-00-0
Formule chimique	C ₈ H ₁₀ NO ₅ PS
Hydrolyse à pH 7	très stable
Solubilité	55 mg/l
Coefficient de partage CO-H ₂ O	240 cm ³ /g
Durée de demi-vie	19 jours.
Coefficient de partage octanol-eau	3
Apparence physique	solide sans couleur
Masse molaire	2263,207 ± 0,014 g/mol
T° fusion	35 à 38 °C1
T° ébullition	154 °C à 1,3 mbar. >120 °C explosion
Masse volumique	1,4 g/cm ³ .
Point d'éclair	46 °C1
Pression de vapeur saturante (20°C)	0,13 Pa

(FAO, 2001)



I-5-3- Toxicologie et écotoxicologie

La multitude des substances actives utilisées principalement dans le domaine de l'agriculture présentent de plus en plus de risques pour la santé publique et l'environnement. Nombreux sont les pesticides considérés comme substance bioaccumulable et très toxique. Les organochlorés, les carbamates et les organophosphorés, comme les autres produits phytosanitaires, sont des produits à effets toxiques pour la santé. Ils mènent principalement aux risques de mutagénicités, tératogénicités et cancérogénicités. Pour l'environnement ce sont les risques de persistance dans les sols et les eaux ainsi que la contamination de la chaîne alimentaire par les résidus de pesticides. (OMS, 1991).



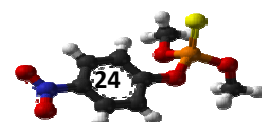
Figure 5 : Pictogrammes de danger liés au parathion méthyle

I-5-3-1- Impact sur l'homme

Les risques sanitaires liés à l'utilisation des pesticides résultent dans la plupart du temps du transfert de ces «polluants» vers les cultures (résidus dans l'alimentation), vers les eaux souterraines ou vers les eaux de surface. (DOUMONT et LIBION, 2006).

Plusieurs auteurs émettent des hypothèses relatives à l'augmentation des risques de cancers suite à une exposition aux pesticides. Cela dit, il est assez facile de déceler les effets toxiques aigus, alors que les effets d'une exposition prolongée à de faibles doses passent souvent inaperçus. (OMS, 1991).

Plusieurs facteurs déterminent la gravité des effets résultant de l'exposition au pesticide, comme la dose, les modalités d'exposition, la nature de la substance active et surtout l'état de santé de la personne en question.



Les pesticides organophosphorés, comme la parathion méthyle, sont des produits développés à des fins militaires, ces composés agissent comme toxique neurotropes (inhibiteurs irréversibles de l'acétylcholinestérase des synapses). Ils conduisent à une paralysie du système nerveux central et périphérique, par accumulation d'acétylcholine et peuvent ainsi entraîner la mort. A petites doses, ils induisent des signes digestifs, diarrhée, vomissement, avec des signes respiratoires comme l'œdème aigue du poumon. (VILAGINES, 2010).

Les fiches des données de sécurité (ICP, 1997), relative au parathion méthyle exposent d'avantage d'effet connu sur la santé humaine. Elles indiquent que les insecticides à base d'organophosphates sont fortement toxiques quelle que soit la voie d'exposition considérée. Par inhalation, les premiers effets sont des écoulements de nez, des toux, des douleurs dans le ventre, des difficultés respiratoires. Les contacts par voie cutanée peuvent provoquer une transpiration localisée et des contractions musculaires involontaires. Les cas d'intoxication graves affectent le système nerveux central, et produisent une perte de coordination, un ralentissement de la parole, une perte de réflexe, de battements cardiaques irréguliers, de pertes de conscience, de convulsions et de coma.

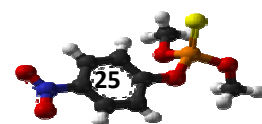
I-5-3-2- Impact sur l'écosystème aquatique

La croissance économique provoque une détérioration rapide de la qualité des eaux de surface d'où la menace d'extinction de la faune et la flore aquatique. Bien que l'utilisation des pesticides a pour objectif la protection des végétaux, il devient évident que leur utilisation excessive est une menace directe pour l'environnement.

CROSSLAND (1984) a mesuré l'impact in situ du parathion méthyle dans trois étangs traitées à la concentration de 100 mg/l. les effets létaux mesurés sur les invertébrés (insectes aquatiques, invertébrés benthiques, zooplanctons) sont bien corrélés avec les données de toxicité létale de laboratoire. Ces auteurs mettent également en évidence des effets létaux et sublétaux à moyen terme (mortalité et diminution significative du taux de croissance des truites juvénile dans le milieu, modification des abondances de population zooplanctonique après un mois environ de traitement).

I-6- Méthode d'analyse

La pollution de l'eau par les pesticides est fortement liée aux phénomènes de ruissellement, d'infiltration et de déposition atmosphérique comme il à été mentionné supra. Cette présence accrue dans les matrices environnementales et particulièrement l'eau



impliquant un grand risque d'atteint à l'environnement et à la santé publique suscite l'intérêt de beaucoup de chercheurs dans le monde.

L'analyse des résidus de pesticides est un processus très complexe du faite de la diversité des produits chimiques et des substances actives utilisées. L'évolution technologique actuel a permet la mise au point d'une multitude de méthodes analytiques qui permettent de couvrir plusieurs catégories de substances.

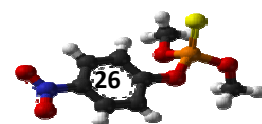
Ces dites méthodes sont un enchainement de plusieurs étapes successives allant de l'échantillonnage au conditionnement, de la manutention au stockage et de l'extraction à l'analyse proprement dite. Plusieurs articles scientifiques citent différents méthodes d'analyse, la norme **ISO 10695 : 2000** traitant le dosage de certains composés organiques azotés et phosphorés par chromatographie en phase gazeuse soit par une extraction liquide-liquide ou une extraction liquide-solide (SPE). Il y a aussi la norme **ISO 8260 : 2008** , qui correspond au dosage des pesticides organochlorés et des polychlorobiphényles par chromatographie capillaire en phase gazeuse-liquide avec détection à capture d'électrons dans le lait et les produits laitiers. **ASTRID et al., (2001)** ils ont effectué des travaux de rechercher d'identification des résidus de pesticides par micro extraction en phase solide , alors que **ZAWIYAH et al., (2006)** ont procédé à la détermination des pesticides organochlorés dans les fruites et légumes par extraction en phase solide et analyse par chromatographie en phase gazeuse .

Dans notre projet de recherche, la quantification du parathion méthyle dans l'eau s'effectue par une technique d'extraction sur phase solide (SPE) suivi d'une analyse instrumentale par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GCMS).

I-6-1- Technique d'extraction

Pour une analyse réussite, il est primordial d'avoir une bonne préparation de l'échantillon, car elle influe directement sur toutes les performances de la méthode d'analyse, comme la limite de détection, la répétabilité et la reproductibilité.

L'extraction en phase solide (SPE) est devenue depuis quelques années une technique de préparation d'échantillon de plus en plus utilisée. Depuis son apparition, de nombreuses phases stationnaires ont été développées par les industriels, permettant des extractions de plus en plus ciblées, ou bien adaptées pour l'extraction d'un grand nombre de substances de natures chimiques variées (**HUMBERT, 2010**). Cette technique est devenu très populaire pour sa diversité et sa rapidité et notamment sa sélectivité.



Le principe de la SPE est semblable à la technique d'extraction liquide-liquide, elle implique la séparation de la solution entre une phase liquide (échantillon) et une phase solide (adsorbant). Cette distribution est gouvernée par des mécanismes de rétention basés sur les différences d'interactions moléculaires entre l'analyte, le site actif de l'adsorbant et la phase liquide. Divers formats d'adsorbant (figure 8) sont disponibles pour l'application de la SPE, le plus couramment employé est le format de la cartouche où l'adsorbant est emprisonné entre deux frittés. Les conditions optimales d'analyse seront élaborées et discutées dans les chapitres suivants



Figure 6 : Différents conditionnements d'absorbant disponibles (HUMBERT, 2010).

L'extraction se déroule généralement en quatre étapes :

- Le conditionnement de la phase stationnaire (facilitant le mouillage et l'activation des groupements fonctionnels).
- La percolation impliquant le chargement de l'échantillon contenant les solutés à extraire à travers la cartouche.
- Le lavage de la cartouche qui permet d'éliminer les interférents faiblement retenus
- L'élution, phase d'extraction de l'analyte.

La technique SPE est une méthode bien adaptée à l'analyse de polluants organiques dans l'eau, mais elle nécessite une optimisation des différentes étapes et des divers paramètres qui peuvent influencer son efficacité lors de son utilisation. (KOUZAYHA, 2011).

I-6-2- Technique d'analyse

La chromatographie est une puissante technique de séparation qui trouve de nombreuses applications dans tous les domaines de la science. Elle fut découverte au début du vingtième siècle par le botaniste russe Mikhail TSWETT qui lui a donné le nom de chromatographie. La



chromatographie regroupe un ensemble important de méthodes variées qui permettent la séparation de substance de propriétés voisines dans un mélange complexe. **SKOOG et al., (2003)**.

Le principe de la chromatographie est très bien décrit par **SKOOG et al., (2003)** dans son ouvrage « Principes d'analyse instrumental », il mentionne que dans la chromatographie en phase gazeuse (GC en anglais), l'échantillon est vaporisé et injecté en tête de colonne. L'éluion est faite par un flux de gaz inerte qui sert de phase mobile. Dans toute séparation par chromatographie, l'échantillon est transporté par une phase mobile. On force l'écoulement de cette phase mobile à travers une phase stationnaire non miscible immobilisée dans une colonne. Les espèces fortement retenus par la phase stationnaire se déplacent beaucoup plus lentement que la phase mobile tandis que, à l'opposé, celle qui sont faiblement retenus se déplacent plus rapidement. Cette différence de mobilité provoque la séparation des constituants d'un échantillon que l'on peut analyser qualitativement ou quantitativement.

Le chromatographe est composé principalement des composés suivants (figure 9):

- Source de phase mobile : bouteille de gaz comprimé.
- Régulateur de pression assurant un débit constant dans la colonne.
- Injecteur permettant l'introduction d'échantillon vers la colonne à partir d'une seringue.
- Colonne chromatographique placée dans un four à température contrôlée.
- Détecteur thermorégulé.
- Intégrateur relié au détecteur et délivrant le chromatogramme.
- Débitmètre pour contrôler le débit délivré.

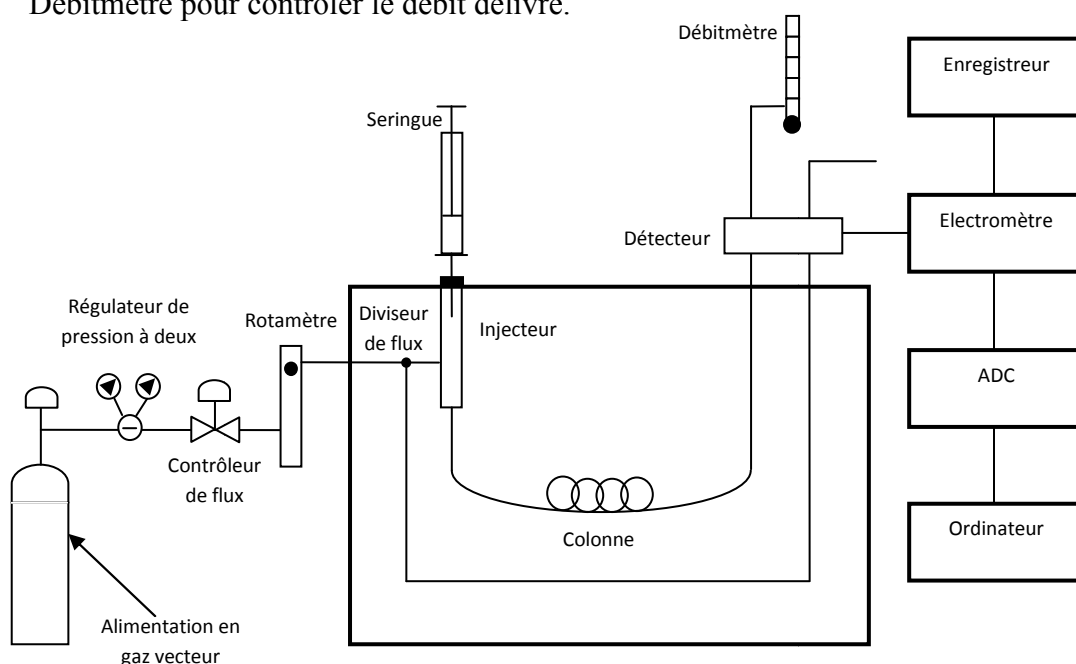
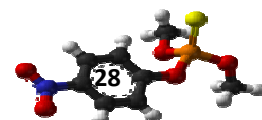


Figure 7 : Schéma du principe de la GCMS (**SKOOG et al., 2003**)



I-7- Validation de méthode analytique

Les exigences techniques pour les laboratoires d'essai suivant la norme **ISO/CEI 17025 : 2005**, se résument dans l'application des méthodes et procédures appropriées pour tous les essais. Cela implique dans le cas de l'introduction d'une nouvelle méthode développée, d'avoir un plan de travail structuré confié à un personnel qualifié doté des ressources adéquates.

La validation est la condition la plus importante pour l'utilisation d'une nouvelle méthode, pour assurer ainsi la qualité des résultats obtenus. Elle est définie dans la norme **ISO/CEI 17025 : 2005**, comme étant « la confirmation par examen et l'apport de preuves objectives du fait que les exigences particulières en vue d'une utilisation prévue déterminée sont remplies ».

La validation peut être également définie suivant la norme **ISO 9000 : 2007**, comme la confirmation par des preuves tangibles que les exigences pour une utilisation spécifique ou une application prévues ont été satisfaites.

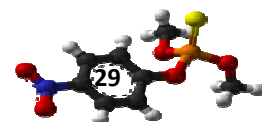
L'existence des méthodes d'analyses, normalisées ou non, des pesticides dans l'eau n'exclut pas la nécessité de recourir à la validation du procédé analytique. Dans ce projet, la validation d'une méthode d'analyse du parathion méthyle dans les eaux de surface par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse après extraction en phase solide entraîne la détermination de plusieurs paramètres de validation. Les caractéristiques classiques qui devraient être prises en compte pour cette validation sont : la spécificité, la linéarité, l'exactitude, la fidélité, la justesse, le domaine d'utilisation, la limite de détection et la limite de quantification.

I-7-1- Critères de la validation

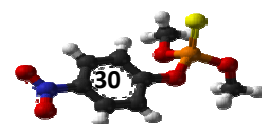
Les critères de validation utilisés dans ce projet sont définis selon le guide de validation des procédures d'analyse (**ICH, 2005**): Texte et méthodologie « ICH Q2 (R1) » établi par la Conférence Internationale d'Harmonisation (ICH) et de la norme **ISO/IEC guide 99 : 2007** Vocabulaire Internationale de Métrologie : concepts fondamentaux et généraux et termes associés (VIM).

Ils sont définis comme suit :

- **Domaine d'utilisation** (ICH) : Est l'intervalle de concentration (ou de quantité) de la substance à analyser sur lequel il a été démontré que la procédure possède une fidélité, une exactitude et une linéarité appropriés, il est convenu à $\pm 20\%$, donc de 80 à 120 % de la concentration des échantillons d'essais.

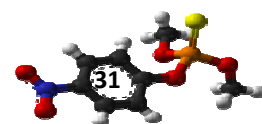


- **Limite de détection** (ICH): C'est la plus faible quantité de la substance analysée que la méthode permet de détecter sans nécessairement fournir la valeur exacte.
- **Limite de quantification** (ICH): C'est la plus faible quantité de la substance analysée que la méthode permet de doser avec un degré acceptable de précision et d'exactitude.
- **Spécificité** (ICH): Est la propriété qui fait qu'une méthode d'analyse rend compte sans ambiguïté de la substance analysée en présence d'autres composantes normalement présentes. Ces dernières peuvent inclure des impuretés, des produits de dégradation, de la matrice, etc.
- **Justesse** (VIM 2.15): Étroitesse de l'accord entre la moyenne d'un nombre infini de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence.
- **Précision** (ICH): Correspond au degré d'accord (degré de dispersion) entre les résultats des mesures obtenues par l'analyse individuelle de plusieurs prélèvements d'un même échantillon homogène, prélevés dans des conditions prescrites. La précision peut s'évaluer à trois niveaux : répétabilité, précision intermédiaire et reproductibilité.
- **Répétabilité** (VIM 2.21): Condition de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent la même procédure opératoire, les mêmes opérateurs, le même système de mesure, les mêmes conditions de fonctionnement et le même lieu, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires pendant une courte période de temps.
- **Fidélité intermédiaire** (VIM 2.23): Condition de mesurage dans un ensemble de conditions qui comprennent la même procédure opératoire, le même lieu et des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires pendant une période de temps étendue, mais peuvent comprendre d'autres conditions que l'on fait varier.
- **Exactitude** (ICH): Correspond au degré de concordance entre la valeur de la méthode obtenue et la valeur de référence ou la valeur considérée comme véritable par convention.
- **Linéarité** (ICH): La capacité de donner des résultats qui sont directement (à l'intérieur de certaines limites) proportionnels à la concentration (Quantité) de la substance analysée dans un échantillon.



CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES



II-1- Matériel

Les travaux de validation de la méthode d'analyse du parathion méthyle par SPE/GCMS, ont tous été effectués au niveau du laboratoire drogues de saisie du département toxicologie de l'Institut National de Criminalistique et de Criminologie de la Gendarmerie National (INCC/GN) sis à Bouchaoui Alger (voir annexe 7). Ce laboratoire a pour mission principal l'analyse de la matière brute pour la recherche, l'identification et la quantification des drogues illicites. Equipé de tous les instruments nécessaires pour son fonctionnement le laboratoire est accréditées depuis 2014 selon la norme ISO/CEI 17025 :2005.

Les travaux de validation de la méthode de dosage du parathion méthyle ont été effectués durant la période allant du mois d'avril 2017 jusqu'à la fin du mois de juillet 2017. Un cahier de laboratoire a été tenu pour tracer les différentes étapes analytiques de validation.

II-1-1- Réactifs, standards et appareillage

II-1-1-1- Réactifs

Tous les réactifs, y compris l'eau, sont de qualité analytique reconnue et appropriée à l'analyse des pesticides. Les solutions sont conservées dans des récipients en verre à une température de +4°C à l'abri de la lumière et ils sont amenées à la température ambiante avant chaque utilisation.

- Standard certifié (voir annexe 3) : Parathion méthyl de 500 mg, C₈H₁₀NO₅PS.
- Eau pure : Eau appropriée d'une conductivité de 0,05 µS.
- Solvants de conditionnement : Méthanol, (CH₃OH) (VWR).
- Solvants d'élution : Dichlorométhane, (CH₂Cl₂) (VWR).

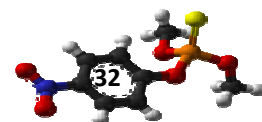
II-1-1-2- Solutions étalons

II-1-1-2-1- Solution mère étalon

La solution mère étalon est préparée par dissolution du standard certifié dans du dichlorométhane. La préparation se fait par dissolution de 500 mg de parathion méthyle dans environ 10 ml de dichlorométhane (DCM), qui doit être dégazée dans un bain à ultrasons pendant 2 minutes et complété à 100 ml dans une fiole jaugée. La solution est stable pendant 6 mois environ. (ISO 10695 : 2000).

II-1-1-2-2- Solutions étalons intermédiaires

Des solutions étalons intermédiaires sont préparées par des dilutions appropriées de la solution mère dans du dichlorométhane. Elles sont stables pendant 2 mois au maximum. (ISO 10695 : 2000).



Dans une fiole jaugée de 100 ml, introduire à l'aide de micropipettes les volumes indiqués dans le **tableau IV** et compléter au trait de jauge avec du dichlorométhane.

Tableau IV : Préparation de solution étalons intermédiaires

Solution	Concentration final	Volume utilisé	Volume DCM utilisée
Solution mère étalon (SM1)	5000 mg/l	500 mg	100 ml
Solution étalon intermédiaire (SM2)	500 mg/l	1 ml de SM1	100 ml
Solution étalon intermédiaire (SM3)	50 mg/l	1 ml de SM2	100 ml
Solution étalon intermédiaire (SM4)	5 mg/l	1 ml de SM3	100 ml

II-1-1-2-3- Solutions étalons de travail

Cinq concentrations différentes sont préparées dans du dichlorométhane par des dilutions appropriées de la solution étalon intermédiaire SM4 pour obtenir une gamme de concentrations allant de 0,1 mg/l à 0,5 mg/l. Les solutions sont stables pendant une (1) semaine au maximum. (ISO 10695 : 2000).

II-1-3- Appareillage

II-1-3-1- Cartouche SPE :

Cartouche SPE Bond Elut C₁₈, d'une de capacité 3 ml, contenant 500 mg de matériau filtrant de granulométrie 50 µm. (Figure 8, annexe 1).

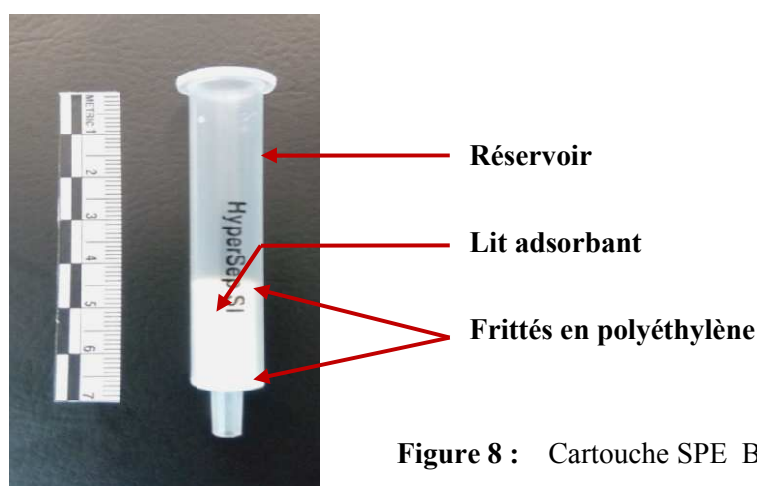
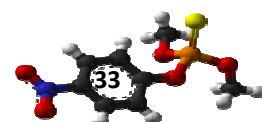


Figure 8 : Cartouche SPE Bond Elut C18



II-1-3-2- Système sous vide

Dispositif sous vide avec pression réglable permettant le contrôle de la pression (voir figure 11). Après plusieurs essais un programme de pression a été utilisé exerçant une pression négative d'environ 400 mbar afin d'obtenir un débit de percolation des échantillons équivalant à 10 ml/mn

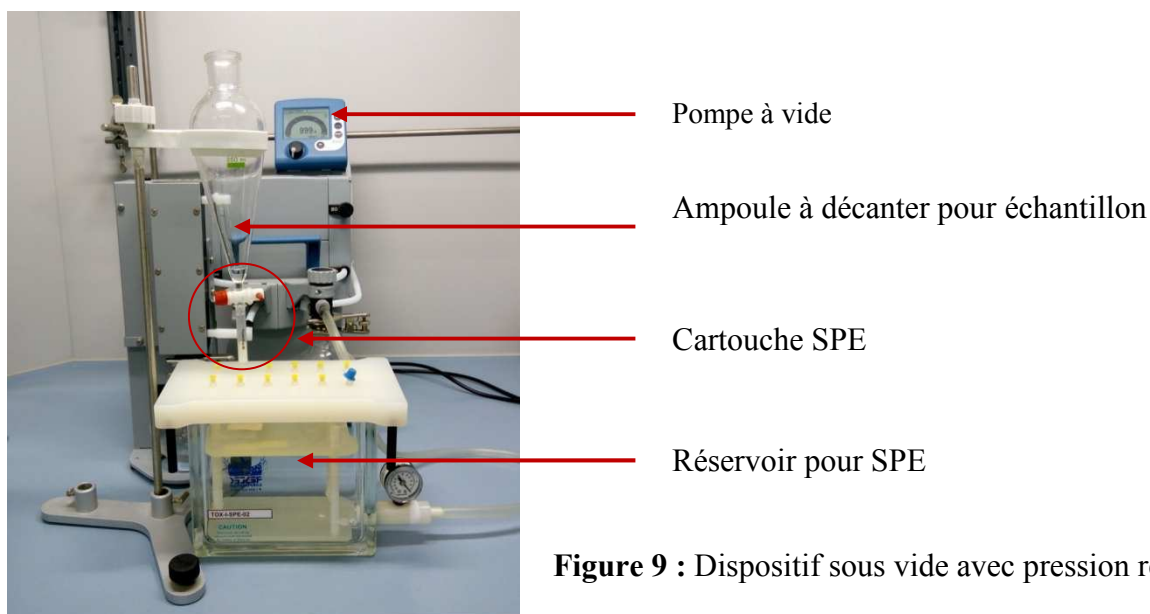


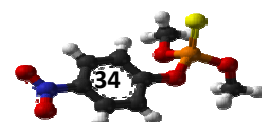
Figure 9 : Dispositif sous vide avec pression réglable

II-1-3-3- Chromatographie en phase gazeuse

Un chromatographe en phase gazeuse de marque THERMO type TRA CE GC ULTRA, équipé d'un injecteur à aiguille de verre et d'une colonne contenant une phase greffée apolaire THERMO (TR5 - 30m x 0,25 - I.D film épaisseur 0,25 μ m). Ce chromatographe est couplé à un spectromètre de masse quadripolaire DSQ Quantum équipé d'une source d'ionisation par impact électronique. Tout le système est contrôlé par un support informatique de type DELL pentium, équipé d'un logiciel « X CALIBURE version : 2.0.7 » utilisé pour traiter les tracés chromatographiques et les spectres de masse.

II-1-3-4- Micropipette

Une micropipette de travail réglable (100 μ l à 1000 μ l) étalonnée avec certificat d'étalonnage en cours de validité a été utilisée dans tous le processus de travail.



II-1-3-5- Verrerie de laboratoire

La verrerie de laboratoire est nettoyée, à l'aide d'un agent nettoyant (détergent), puis un traitement à l'aide d'acide chlorhydrique (pendant 24 h) est appliqué. Après rinçage à l'eau distillée elle est lavée avec du DCM. Une fois le lavage terminé toute la verrerie est séchée à 105°C pendant au moins deux heures. L'efficacité du traitement est vérifiée expérimentalement en effectuant des essais à blanc afin de s'assurer qu'aucune contamination interférente n'a eu lieu. Tous les blancs analysés non pas révélés de trace de contamination. (Voir annexe 2).

II-2- Méthodes

La partie expérimentale de ce projet consiste dans la mise au point d'une méthode de détection et dosage du parathion méthyle dans les eaux de surface par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse après extraction en phase solide. Cette mise au point est consolidée par une procédure de validation analytique basée sur une étude statistique, permettant ainsi de garantir la fiabilité des résultats obtenus dans un domaine de validation déterminé, afin de satisfaire l'emploi prévu pour la méthode.

II-2-1- Méthode d'extraction sur phase solide

II-2-1-1- Choix de la cartouche d'extraction SPE

Le choix de l'adsorbant revêt une importance capitale, il faut trouver celui qui pourra extraire avec un excellent rendement le composé d'intérêt tout en maintenant un extrait propre (ASTRID *et al.*, 2001). Dans notre cas, le choix de l'adsorbant (cartouche d'extraction SPE C18) est fait sur la base de l'adéquation entre les polarités des molécules ciblées ainsi que l'adsorbant, ce choix est par contre limité au type de cartouche disponible au niveau du laboratoire d'analyses, à savoir les cartouches "SPE Bond Elut C₁₈" (Figure 8, annexe 1)..

II-2-1-2- Optimisation du choix du protocole d'extraction:

L'extraction est accomplie de façon à permettre l'obtention du meilleur rendement d'extraction possible. De ce fait une comparaison des différents protocoles d'extraction cités dans la littérature scientifique a été réalisée afin de sélectionner le protocole le plus réalisable. (Voir tableau V).

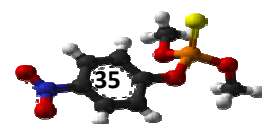


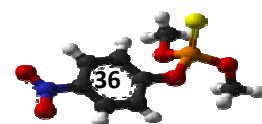
Tableau V : Comparaison des protocoles d'extraction

N°	CONDITIONNEMENT	PERCOLATION	LAVAGE	ELUTION
1	3 ml ACN 3 ml MeOH 3 ml H ₂ O	Échantillon 250 ml à 8-15 ml/mn	2 ml H ₂ O Séchage (2mn)	6 ml ACN
2	3 x 6ml MeOH 2 x 6ml H ₂ O Ne pas laisser sécher	Echantillon 150 ml 5 ml / mn	1x6 ml H ₂ O Sécher légèrement	2.5 ml solution d'éluant d'acétate d'éthyle
3	2 x volume 2 x volume (H ₂ O/ MeOH – 85/15 v/v) Ne pas laisser sécher	Échantillon ?? ml à 3-6 ml/mn	2x0.5 ml (H ₂ O/methanol – 85/15 v/v)	2x1ml DCM
4	3 ml MeOH 3 ml H ₂ O	Échantillon ?? ml à 5-10 ml/mn	/	/
5	10 ml MeOH 10 ml H ₂ O (déioniser) Ne pas laisser sécher	Échantillon 1000 ml à Lentement	Séchage (2mn)	10 ml MeOH
6	5 ml MeOH 10 ml H ₂ O (distiller)	Échantillon 1000 ml à 40-45 ml/mn	Séchage	5 ml acétate d'éthyle 2-3 ml/mn
7	6 x 1 ml MeOH 6 x 1 ml H ₂ O	Échantillon 200 ml 10 ml/mn	Sécher légèrement (2mn)	2 x 0.8 ml DCM

La comparaison a permis de faire ressortir les points suivants :

- Le méthanol et l'eau pure sont les solvants les plus utilisés pour le conditionnement des cartouches d'extraction.
- Le volume de l'échantillon à percoler varie entre 150 ml et 1000 ml avec un débit sous vide allant de 5 ml/mn à 15 ml/mn.
- Le lavage est effectué par un léger séchage sous vide pour une durée très courte.
- Le choix du solvant d'éluant est limité entre : le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le méthanol.

Cette comparaison a permis la mise au point du protocole n°7 (voir tableau V). Un choix justifié par la disponibilité des réactifs, le volume de l'échantillon utilisé, le temps prévu pour l'extraction et la disponibilité du système d'évaporation.



II-2-1-3- Protocole d'extraction

La cartouche SPE est conditionnée au début par une introduction successive de 6 ml de méthanol et de 6 ml d'eau pure. Un volume de 200 ml contenant l'analyte (parathion méthyle) est ensuite percolé à travers la cartouche permettant de bénéficier d'un temps de passage approximatif de 22 mn avec un débit de 10 ml/mn sous vide passif. Le lavage est substitué par un léger séchage sous vide d'une durée de 2 mn. Le dichlorométhane a été utilisé comme solvant d'élution de l'analyte à raison de 1,6 ml par échantillon. Le temps consacré à l'opération d'extraction est estimé approximativement à 30 min ce qui à notre avis un temps très acceptable pour réaliser une méthode d'analyse en routine.

Les extractions obtenues sont conservées à l'abri de la lumière à une température d'environ +4°C. (Voir schéma du protocole d'extraction figure 12). (HUMBERT, 2010).

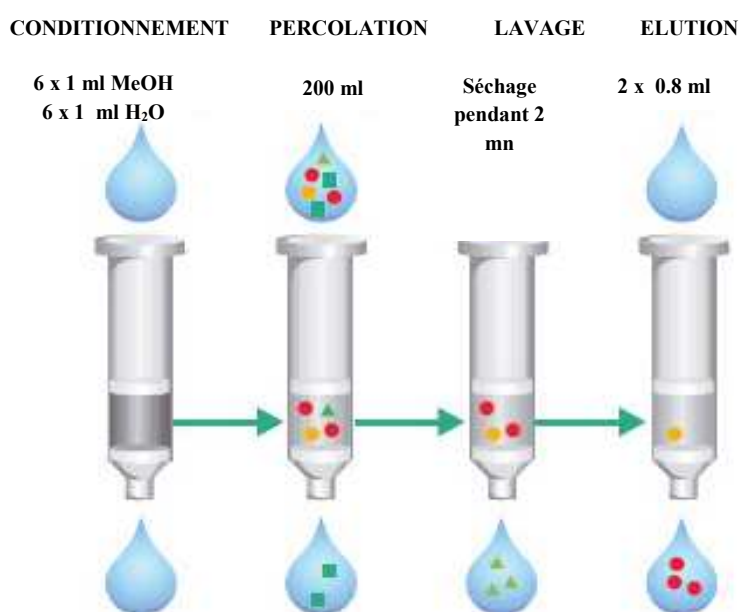


Figure 10 : Protocole d'extraction sur phase solide (HUMBERT, 2010)

II-2-2- Méthode d'analyse par chromatographie en phase gazeuse

II-2-2-1- Conditions chromatographiques

Les analyses ont été effectuées par un chromatographe en phase gazeuse de marque Thermo (voir chapitre 1.1.3.3). Les conditions chromatographiques sont les suivantes (voir annexe 6):

- Le gaz vecteur est l'Hélium (He) avec un débit de 2 ml/min.
- L'injection est en mode splitless.
- La température de l'injecteur est fixée à 250°C.
- Le volume d'injection est de 2µl.
- La colonne capillaire contient une phase greffée apolaire.
- La température du four étant en mode gradient avec le programme décrit dans le **tableau VI**.

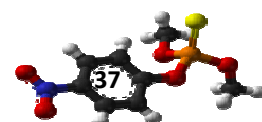


Tableau VI: Programme de température du four

Rampe (C°/min)	T° initial	T° final	Temps (min)
	70	70	1
15	70	175	5
5	175	240	-

**Figure 11:** Chromatographie en phase gazeuse (GCMS)

1: Porte échantillons, 2: Échantillonneur automatique, 3: Compartiment de la colonne, 4: Spectromètre de masse, 5: Enregistreur.

II-2-2-2- Détection du parathion méthyle

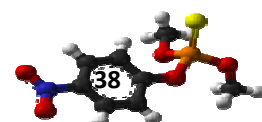
La quantification de parathion méthyle par GCMS est confirmée par observation et comparaison du temps de rétention du pic obtenu et les ions spécifiques des échantillons par rapport au temps de rétention du pic de la solution standard et ces ions spécifiques. La similitude du temps de rétention et des ions spécifique (même abondance des ions) prouve l'existence de parathion méthyle dans l'échantillon.

II-2-2-3- Quantification du parathion méthyle

La quantification du parathion méthyle dans les échantillons d'eau a été déterminée par la méthode de dosage externe, basée sur les surfaces de pics des chromatogrammes obtenus qui sont converties en concentrations retrouvées par prédiction inverse à partir la fonction de réponse de la gamme d'étalonnage.

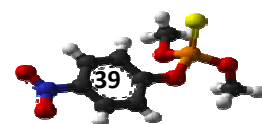
II-2-2-4- Outils de calcul

L'utilisation d'un outil de calcul s'est avérée nécessaire pour l'exploitation des résultats obtenus. Un logiciel de type Excel® de Microsoft Office a été utilisée pour faire tous les calculs nécessaires au protocole de validation basé sur une approche statistique appeler le profil d'exactitude. (FEINBERG *et al.*, 2010).



CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION



III-1- Plan de validation

Le processus de validation est accompli suivant le plan qui suit :

- Vérification de la spécificité.
- Mise au point de la gamme d'étalonnage et étude de la linéarité.
- Exécution du protocole expérimental.
- Calcul des concentrations prédites inverses.
- Evaluation de la justesse.
- Evaluation de la fidélité.
- Construction du profil d'exactitude.
- Détermination des limites de détection et de quantification.
- Interprétation des résultats

III-2-Vérification des critères de validation

III-2-1- Vérification de la spécificité

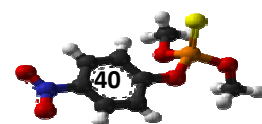
Afin d'évaluer la spécificité de notre méthode, nous avons procédé à l'extraction et l'analyse d'une solution standard certifiée de parathion méthyle avec une pureté de 99,9% (voir annexe 3). La solution a été préparée avec du dichlorométhane (DCM) à une concentration de 5 mg/l et stockée dans l'obscurité à +4 °C. La solution standard a été préparée, extraite et analysée le même jour selon les conditions de la méthode citée supra.

Le résultat obtenu illustre un pic bien distinct avec un temps de rétention de l'ordre de 16,52 mn. Une confirmation du résultat est faite par comparaison du spectre obtenu avec le spectre stocké dans la base de données de l'instrument, ce qui a donné une probabilité de confirmation de 98,98 %. (Voir figure 14, voir annexe 5).

III-2-2- Mise au point de la gamme d'étalonnage et étude de la linéarité

Cinq (5) niveaux de concentration de parathion méthyle ont été déterminés pour définir la gamme d'étalonnage, à savoir : 0,1 mg/l, 0,2 mg/l, 0,3 mg/l, 0,4 mg/l, 0,5 mg/l. Les solutions étalons sont ensuite analysées selon les paramètres de la méthode par ordre croissant des concentrations avec trois (03) répétitions par niveau de concentration.

Ensuite, il faut noter la surface des pics obtenus pour chaque concentration, calculer la moyenne de ces surfaces (voir annexe 4). Et tracer la représentation graphique des moyennes de surface de pics, en fonction des niveaux de concentration. (Tableau VII, Figure 15).



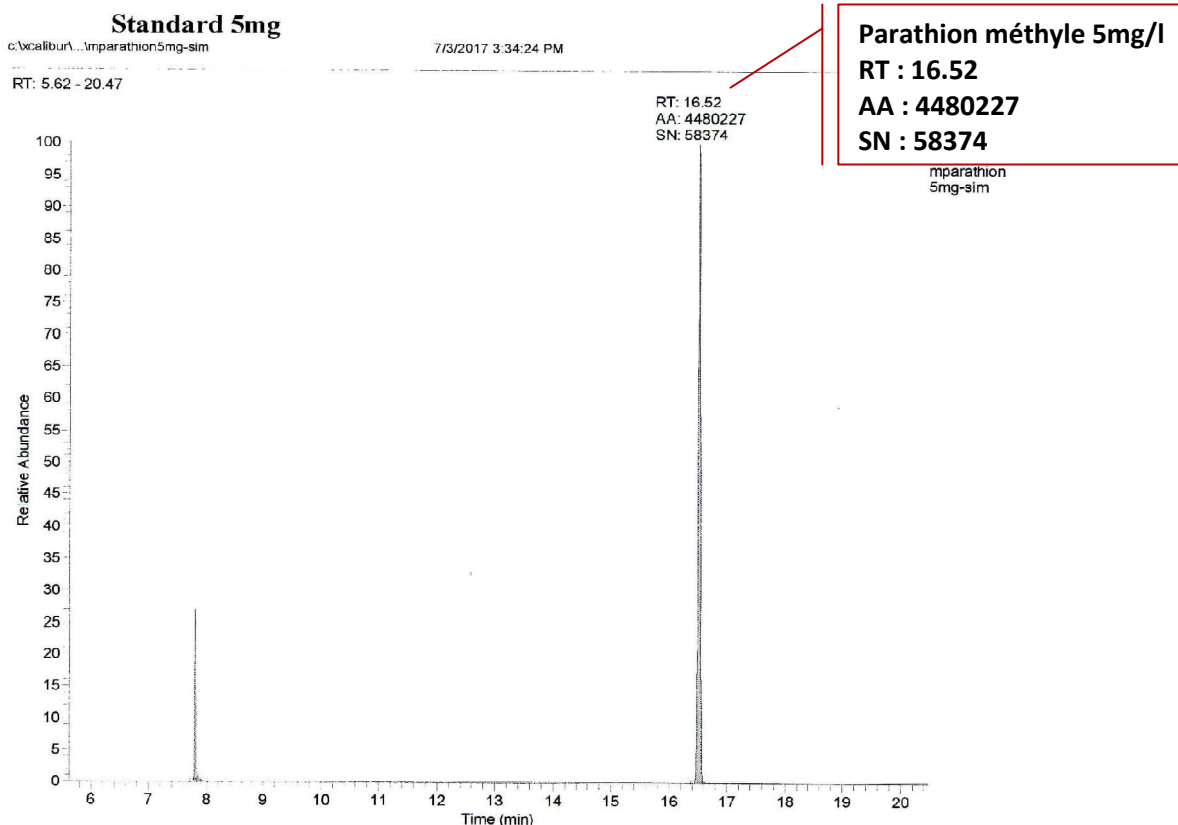


Figure 12 : Chromatogramme du parathion méthyle (5 mg/l)

Tableau VII : Gamme d'étalonnage (en unités de surface de pic)

Valeur de référence (mg/l)	Répétition 1	Répétition 2	Répétition 3	Moyenne	Ecart type
0,1	50682	50680	48118	37370,03	1479,75
0,2	129921	112173	111968	88515,55	10306,50
0,3	218896	207030	271555	174370,33	34344,45
0,4	285957	291761	344750	230617,10	32398,91
0,5	483745	372830	361586	304540,38	67517,14

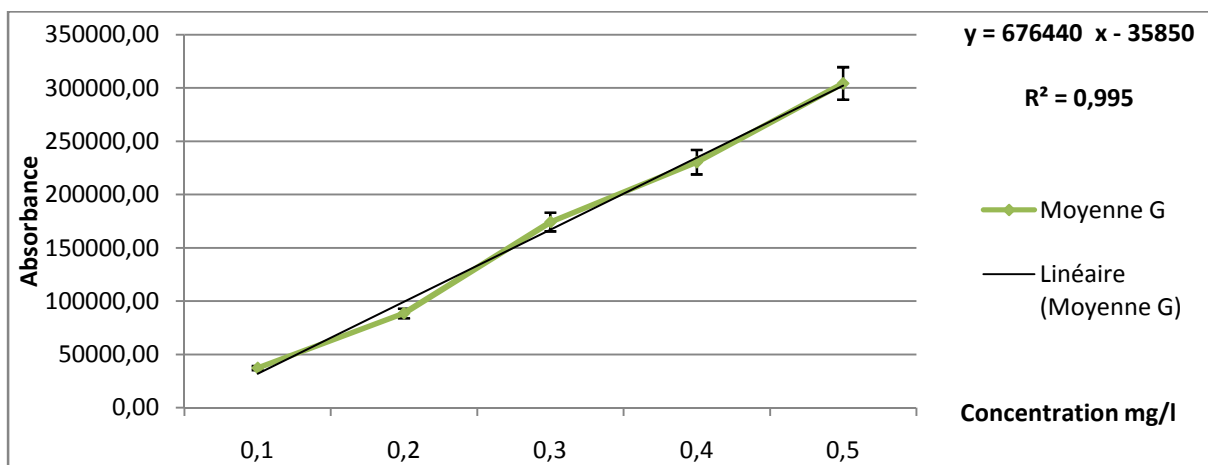
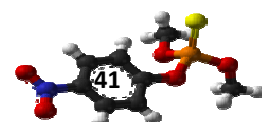


Figure 13 : Gamme d'étalonnage (surface de pic en fonction des concentrations)



La fonction de réponse de la gamme d'étalonnage se caractérise comme suit :

- Type de régression : Linéaire
- Equation de la droite : $y = 676440x - 35850$
- Coefficient de corrélation R^2 : **0,995**
- Ordonnée à l'origine : 35850
- Sensibilité (pente de droite) : 35850

La droite de régression est obtenue avec un coefficient de corrélation égal à 0,995. De cette manière on peut conclure que la méthode est linéaire dans le domaine des concentrations étudiées pour la substance d'intérêt.

III-2-3- Protocole expérimentale

Un intervalle de travail a été choisi dans les limites de la gamme d'étalonnage pour procéder à la validation de la méthode d'analyse et permettre la vérification si la méthode est adaptée aux concentrations recherchées. Le domaine de validation est déterminé entre 0,2 mg/l et 0.4 mg/l.

Afin de procéder à l'évaluation des différents critères de validation dont la fidélité et la répétabilité, plusieurs séries d'analyses ont été effectuées à raison de neuf (09) séries pour chaque concentration du domaine de validation.

III-2-4- Calcul des concentrations prédites inverses

Les résultats obtenus en unités de surface de pic (tableau VIII) sont converties en concentrations retrouvées par prédiction inverse à partir de la fonction de réponse ($y = 676440x - 35850$) de la gamme d'étalonnage.

Tableau VIII : Surfaces des pics retrouvées des séries d'analyses.

Con. mg/l	série 1	série 2	série 3	série 4	série 5	série 6	série 7	série 8	série 09
0,2	62670	76264	72856	77445	92055	85587	85642	94066	95908
0,3	162110	133335	121596	133645	140615	195111	173162	171555	147295
0,4	286121	224156	264824	193500	197468	296584	282979	273615	295793

Les calculs des concentrations retrouvées sont effectués suivant le modèle qui suit :

Avec :

$$y = 676440x - 35850 \quad (01)$$

Où

- y : surface du pic obtenu
- x : concentration correspondante

Donc on obtient :

$$x = (y - 35850)/676440 \quad (02)$$

Les concentrations trouvées suivant l'équation n°02 sont indiqués dans le **tableau IX**.

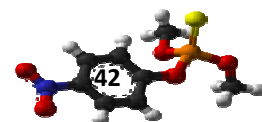


Tableau IX : Concentrations retrouvées par prédiction inverse en mg/l.

Conc. mg/l	série 1	série 2	série 3	série 4	série 5	série 6	série 7	série 8	série 09
0,200	0,146	0,166	0,161	0,161	0,189	0,180	0,180	0,192	0,195
0,300	0,293	0,250	0,233	0,251	0,261	0,341	0,309	0,307	0,271
0,400	0,476	0,384	0,444	0,339	0,345	0,491	0,471	0,457	0,490

III-2-5- Justesse

La justesse est exprimée comme étant l'étroitesse d'accord entre la valeur trouvée et la valeur acceptée comme valeur de référence. Elle est représentée par l'erreur systématique (biais : b) et l'erreur systématique relative (biais relatif : b%) en plus du taux de recouvrement (T_R).

III-2-5-1- Calcule du biais

Le biais est calculé comme suit :

$$b = \text{quantité trouvée} - \text{quantité réelle} \quad (03)$$

Tableau X : Erreurs systématiques (biais).

Conc mg/l	série 1	série 2	série 3	série 4	série 5	série 6	série 7	série 8	série 09	Moyenne
0,2	-0,054	-0,034	-0,039	-0,039	-0,011	-0,020	-0,020	-0,008	-0,005	-0,026
0,3	-0,007	-0,050	-0,067	-0,049	-0,039	0,041	0,009	0,007	-0,029	-0,021
0,4	0,076	-0,016	0,044	-0,061	-0,055	0,091	0,071	0,057	0,090	0,033

III-2-5-2- Calcule du biais relatif

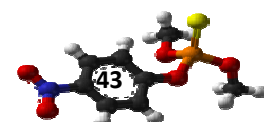
Le biais relatif est calculé comme suit (FEINBERG et al., 2010):

$$b \% = (\text{quantité trouvée} - \text{quantité réelle}) \times 100 \quad (04)$$

Tableau XI : Erreurs systématiques relatives (biais relatif).

Conc mg/l	série 1	série 2	série 3	série 4	série 5	série 6	série 7	série 8	série 09	Moyenne
0,2	-27,178	-17,129	-19,648	-19,648	-5,457	-10,238	-10,198	-3,971	-2,609	-12,897
0,3	-2,450	-16,630	-22,414	-16,477	-13,042	13,812	2,996	2,204	-9,751	-6,861
0,4	18,995	-3,906	11,124	-15,236	-13,770	22,862	17,833	14,373	22,569	8,316

On observe que la moyenne du biais relatif varie entre -12.897 % et 08,316 % et permettent de dire que c'est un intervalle très réduit pour la méthode d'analyse.



III-6- Fidélité

La fidélité est l'étroitesse d'accord entre une série de mesures obtenue dans les mêmes conditions, elle est évaluée pour la répétabilité et la fidélité intermédiaire. Elle est exprimée en termes d'écart type (SD) et de coefficient de variation (CV).

Calcul de variance de répétabilité : (FEINBERG et al., 2010).

$$S_r^2 = \frac{SCE_r}{I(J-1)} \quad (05)$$

Calcul de variance inter-série :

$$S_B^2 = \frac{\frac{SCE_B}{I-1} - S_r^2}{J} \quad (06)$$

Calcul de l'écart type de fidélité intermédiaire :

$$S_{FI} = \sqrt{S_B^2 + S_r^2} \quad (07)$$

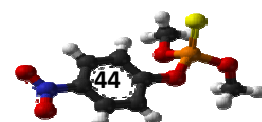
Calcul du coefficient de variation :

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \quad (08)$$

Où

- SCE_r : Somme des carrée de l'écart types intra-série.
- SCE_B : Somme des carrée de l'écart types inter-série.
- I : Nombre de répétitions par série.
- J : Nombre de série.
- \bar{X} : moyenne des concentrations retrouvées.

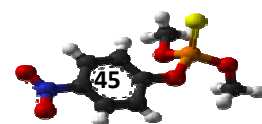
Tous les résultats des calculs sont indiqués dans le **tableau XII**.



III-6-1- Calcul des écarts types et des coefficients de variance

Tableau XII : Ecart types et coefficients de variance (FEINBERG *et al.*, 2010).

Concentration moyenne théorique	0,2 mg/l			0,3 mg/l			0,4 mg/l		
Séries	Rép. 1	Rép. 2	Rép. 3	Rép. 1	Rép. 2	Rép. 3	Rép. 1	Rép. 2	Rép. 3
Jour (Série) 1 (ni =3)	0,146	0,161	0,180	0,293	0,251	0,309	0,476	0,339	0,471
Jour (Série) 2 (ni =3)	0,166	0,189	0,192	0,250	0,261	0,307	0,384	0,345	0,457
Jour (Série) 3 (ni =3)	0,161	0,180	0,195	0,233	0,341	0,271	0,444	0,491	0,490
Concentration moyenne	0,157	0,176	0,189	0,259	0,284	0,295	0,435	0,392	0,473
Concentration des moyennes	0,174			0,279			0,433		
Somme carrés des écarts de série 1	0,0005791			0,0018168			0,0120892		
Somme carrés des écarts de série 2	0,0004155			0,0018001			0,0065249		
Somme carrés des écarts de série 3	0,0005828			0,0060838			0,0014340		
Nombre de séries (I)	3			3			3		
Nombre de mesures (IJ)	9			9			9		
Nombre de répétitions (J)	3			3			3		
Somme carrés des écarts résiduelle	0,00158			0,00970			0,02005		
Somme carrés des écarts totale	0,00227			0,00992			0,02969		
Somme carrés des écarts inter-séries	0,00070			0,00022			0,00964		
Calcul intermédiaire de s ² B	0,00003			-0,00050			0,00049		
Variance de répétabilité (s ² _r)	0,00026			0,00162			0,00334		
Variance inter-séries (S ² B)	0,00003			0,00000			0,00049		
Variance de fidélité (S ² _{FI})	0,00029			0,00162			0,00384		
Fidélité									
Concentration moyenne retrouvé	0,17421			0,27942			0,43326		
Ecart-type de répétabilité (Sr)	0,01621			0,04021			0,05780		
Ecart-type inter-séries (S _B)	0,00532			0,00000			0,02222		
Ecart-type de fidélité (S _{FI})	0,01706			0,04021			0,06193		
Variance	0,09307			0,14390			0,13342		
Coefficient de variance	9,30739			14,39047			13,34162		



III-7- Le profil d'exactitude

L'illustration du profil d'exactitude est basé sur la détermination des intervalles de tolérance et les limites d'acceptabilité (FEINBERG *et al.*, 2010).

III-7-1- Calcul des intervalles de tolérance

Tableau XIII : Intervalles de tolérance

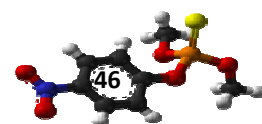
Facteur de couverture de l'intervalle de tolérance			
Rapport des variances (R)	0,108	0,000	0,148
Coefficient B ²	0,837	1,000	0,795
Nombre de degrés liberté	7,162	7,714	6,941
Probabilité tolérance (bêta)	80%	80%	80%
t Student bas	1,415	1,415	1,440
t Student haut	1,397	1,397	1,415
Facteur de couverture (k _{IT})	1,412	1,402	1,416
Ecart-type de tolérance (S _{IT})	0,018	0,042	0,066
Intervalle de tolérance			
Limite intervalle tolérance basse	0,149	0,220	0,340
Limite intervalle tolérance haute	0,200	0,339	0,527

III-7-2- Construction du profil d'exactitude

Tableau XIV : Paramètres de construction du profil d'exactitude

Profil d'exactitude			
Recouvrement %	78,68	86,17	108,74
Limite intervalle tolérance basse en %	74,28	73,33	84,91
Limite intervalle tolérance haute en %	99,92	112,95	131,73
Limite d'acceptabilité basse en %	70	70	70
Limite d'acceptabilité haute en %	130	130	130

La représentation graphique des données du **tableau XIV** est tracée de façon à obtenir un profil d'exactitude (Figure 16). Ce profil est obtenu en reliant les bornes inférieures et les bornes supérieures de l'intervalle de tolérance calculées pour chaque niveau de concentration. La ligne rouge discontinue représente les limites d'acceptation fixées pour ce travail à 30%, les lignes continues noires définissent les limites de l'intervalle de tolérance.



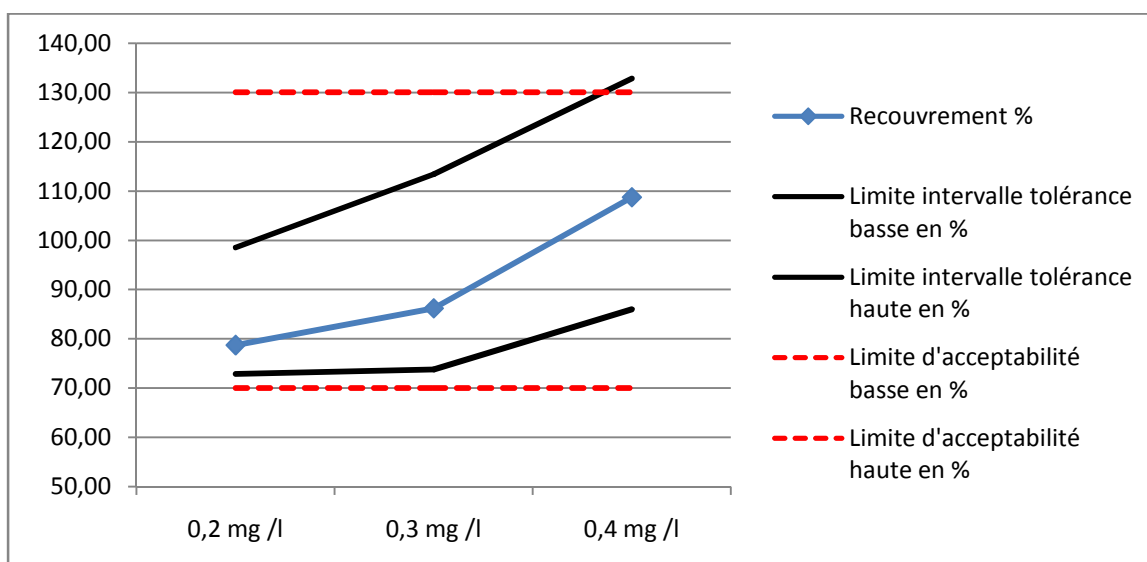


Figure 14: Profil d'exactitude obtenu pour le parathion méthyle

III-8- Limites de détection et de quantification

Les limites de détection et les limites de quantification sont conventionnellement reconnues comme étant (CEAEQ. 2015):

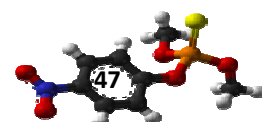
- LOD = Concentration équivalant à une hauteur "h" à 3x le bruit de fond.
- LOQ = Concentration équivalant à une hauteur "h" à 10x le bruit de fond.

Dans notre travaux la concentration la plus basse dans le domaine de validation est de 0,2 mg/l. La moyenne des valeurs obtenues pour les bruits de fond dans les 09 séries d'analyses effectuées à 0,2 mg/l est estimée à 649.

Ce qui nous donne les résultats suivants

- | | | |
|---|---|-------------------------|
| ▪ Equation de la droite | : | $y = 676440x - 35850$ |
| ▪ Moyenne bruit de fond | : | 649 |
| ▪ "h" (3 x le bruit de fond) | : | $649 \times 3 = 1947$ |
| ▪ Concentration par prédiction inversée | : | 0,056 mg/l (LOD) |
| ▪ "h" (10 x le bruit de fond) | : | $649 \times 10 = 6490$ |
| ▪ Concentration par prédiction inversée | : | 0,078 mg/l (LOQ) |

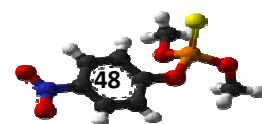
Les résultats de LOD et LOQ obtenus sont inférieurs aux valeurs du domaine de validation et donc s'avèrent acceptables, la méthode est donc adaptée et permet de détecter les substances d'intérêt.



III-3- Interprétation des résultats

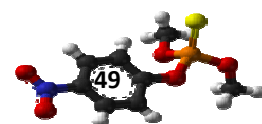
Dans ce projet de recherche, nous avons rassemblé les résultats obtenus en application de la méthode d'extraction et d'analyse citée supra et nous avons procédé à la vérification des critères de validation choisis. Il ressort ce qui suit :

- La technique d'extraction choisie est adaptée à l'analyse du parathion méthyle avec un temps d'exécution estimé à 30 mn qui est très appréciable pour une méthode de routine.
- Le résultat obtenu pour la **spécificité** illustre un pic bien distinct, la confirmation est alors obtenue par comparaison avec la base de données de l'instrument donnant une probabilité de confirmation de 98,98 %, ce qui démontre que **la méthode est bien spécifique** au parathion méthyle (voir annexe 5).
- Le **domaine de validation** déterminé entre 0,2 mg/l et 0,4 mg/l est corrigé suivant les résultats obtenus. Avec des limites de tolérance à 80 % comprises entre les limites d'acceptabilité, le **domaine de validité** s'étend donc entre 0,20 mg/l et 0,39 mg/l **la méthode est valide dans ce domaine**.
- Le taux de recouvrement varie entre **78,68 % à 108,74 %** ce qui est acceptable suivant les recommandations du guide SANCO/825/00 révision 8.1 du 20.06.2010» (SANCO, 2010), qui doit être compris entre 70% et 110%, ce qui implique que la méthode a **un bon taux de recouvrement**.
- Comme pour la fidélité, la **justesse** varie aussi en fonction de la concentration, puisque le biais de justesse varie de -12.89 à + 8.31 %. Avec un intervalle de biais très réduit **la méthode est considérée comme juste**.
- Pour la **fidélité** et en s'appuyant sur la réglementation européenne à savoir le guide des méthodes analytiques des résidus de pesticides « Guide SANCO/825/00 révision 8.1 du 20.06.2010», où il est recommandé dans le cadre de la validation des méthodes pour les pesticides d'avoir un coefficient de variation inférieur ou égal à 20%. Dans ce travail la fidélité variée en fonction de la concentration avec coefficient de variation qui passe de 9,31% à 13,34 %. Avec des coefficients de variation obtenus inférieur à 20% **la méthode est considérée comme fidèle**.
- Dans un intervalle de dosage où le profil d'exactitude est compris dans les limites d'acceptation fixées à 30%, il garantit que 70% des futures mesures

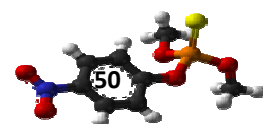


d'échantillons inconnus seront dans les limites d'acceptation et donc **la méthode est considérée comme exacte.**

- Les résultats de **LOD** et **LOQ** obtenus sont inférieurs aux valeurs du domaine de validation et donc s'avèrent acceptables, **la méthode est donc adaptée** et permet de détecter les substances d'intérêt.



CONCLUSION



Conclusion

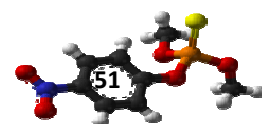
L'utilisation des pesticides comme moyen et agent de protection des plantes n'élimine nullement leur aspect négatif qui se résume aux risques de contaminations et atteinte à l'environnement et la santé publique. C'est dans cette perspective que le dosage des pesticides dans les matrices environnementales est devenu primordial. Cependant ces techniques de dosage doivent être munies des critères les plus exigeants, pour garantir des résultats fiables et représentatifs.

Notre projet de recherche a consisté à mettre en place une méthode d'analyse des pesticides, une méthode qui soit fiable, rapide, réalisable avec un souci du coût amoindri. Un seul type de pesticide a été étudié, le parathion méthyle, un pesticide toujours en utilisation en Algérie avec des potentiels de risque très élevé. Le dosage du parathion méthyle est réalisé par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse après extraction en phase solide. Cette analyse est consolidée par une étude statistique basée sur l'élaboration du profil d'exactitude, une approche de plus en plus utilisée dans le domaine de validation analytique.

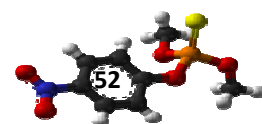
Dans ce contexte, la quantification de parathion méthyle est réalisée par un protocole expérimental qui a donné des résultats très satisfaisants, dont un taux de recouvrement qui dépassent les **78,68%**, un coefficient de variation inférieur à 20% et les limites d'acceptation de résultats fixées à 70%. Aussi, les critères de la validation dans l'analyse quantitative exigée par la norme ISO 17025 ont été vérifiés (linéarité, justesse, fidélité et l'exactitude).

De ce fait, la méthode de quantification de parathion méthyle par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse après extraction en phase solide est une méthode que nous considérons comme méthode valide et fiable, dans le domaine de validation déterminée et apte à être utilisée.

En perspective, cette méthode de dosage pourra être développée et impliquer l'analyse de plusieurs autres types et groupes de pesticides, tout en évaluant ces performances et les améliorées pour atteindre une quantification plus accentuée, à des grandeurs de l'ordre de microgramme par litre.



ANNEXES



Annexe 1 : Caractéristique techniques de la cartouche SPE

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Agilent Product Name: Bond Elut-C8, 500mg 3mL, 50/PK

Agilent Part Number: 12102029

FG Lot Number: 6272816-02

Media Lot Number: 0006272816

Raw Materials

Component Properties			
Property	Specifications	Results	Methods
Tube Pump	Proprietary	Pass	GC FID Test
Tri Pump	Proprietary	Pass	GC FID Test

Base Silica Physical Properties

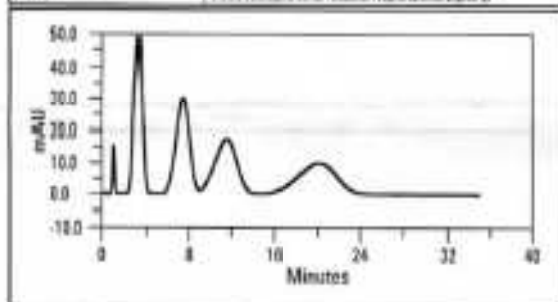
Property	Specifications	Results	Methods
Specific Surface Area (m ² /g)	460-530	480	N2 BET
Average Particle Size (µm)	43-60	53	Malvern 100
Average Pore Diameter (Å)	60-87	75	N2 BET
Particle Size Distribution (%)	<20µm <31µm >60µm 13.2 17.6 1.31	<20µm <31µm >60µm 8 12 3	Malvern 100

Product Specifications/Analysis

Bonded Silica Properties: BOND SI 40UM C8 TOLUENE			
Property	Specifications	Results	Methods
Carbon Loading (%)	11.2-13.5	13.00	CINQ-S Analysis
Hydrogen Loading (TGH)	1.5-4.2	2.76	CHNO-S Analysis
Surface Coverage (µmol/m ²)	3.68-3.81	3.45	Calculated based on %C
Turbidity (NTU)	≤10.0	8.26	Turbidity meter
Washable Residue (mg/g)	≤2.0	0.4	Methanol and Hexane gravimetric
Bed Mass Consistency	Proprietary	Pass	Weight Measurement
Flow Characteristics	Proprietary	Pass	Methanol in low vacuum (1" Hg)

HPLC Test Conditions

Column Dimension	100 x 4.6 mm
Flow	1ml/min
Detector	UVW254 nm
Mobile Phase	Methanol:Water (80:20)
Temperature (°C)	25-30° C
Phases	Uracil, Acetaminophen, Toluen, Neostigmine, Epifed



Release Date: 02/03/2016

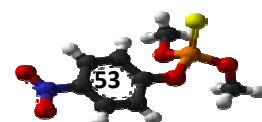
Manufacture Date: 02/03/2016

Quality Control Technician:

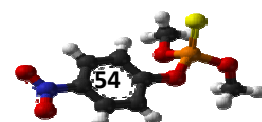
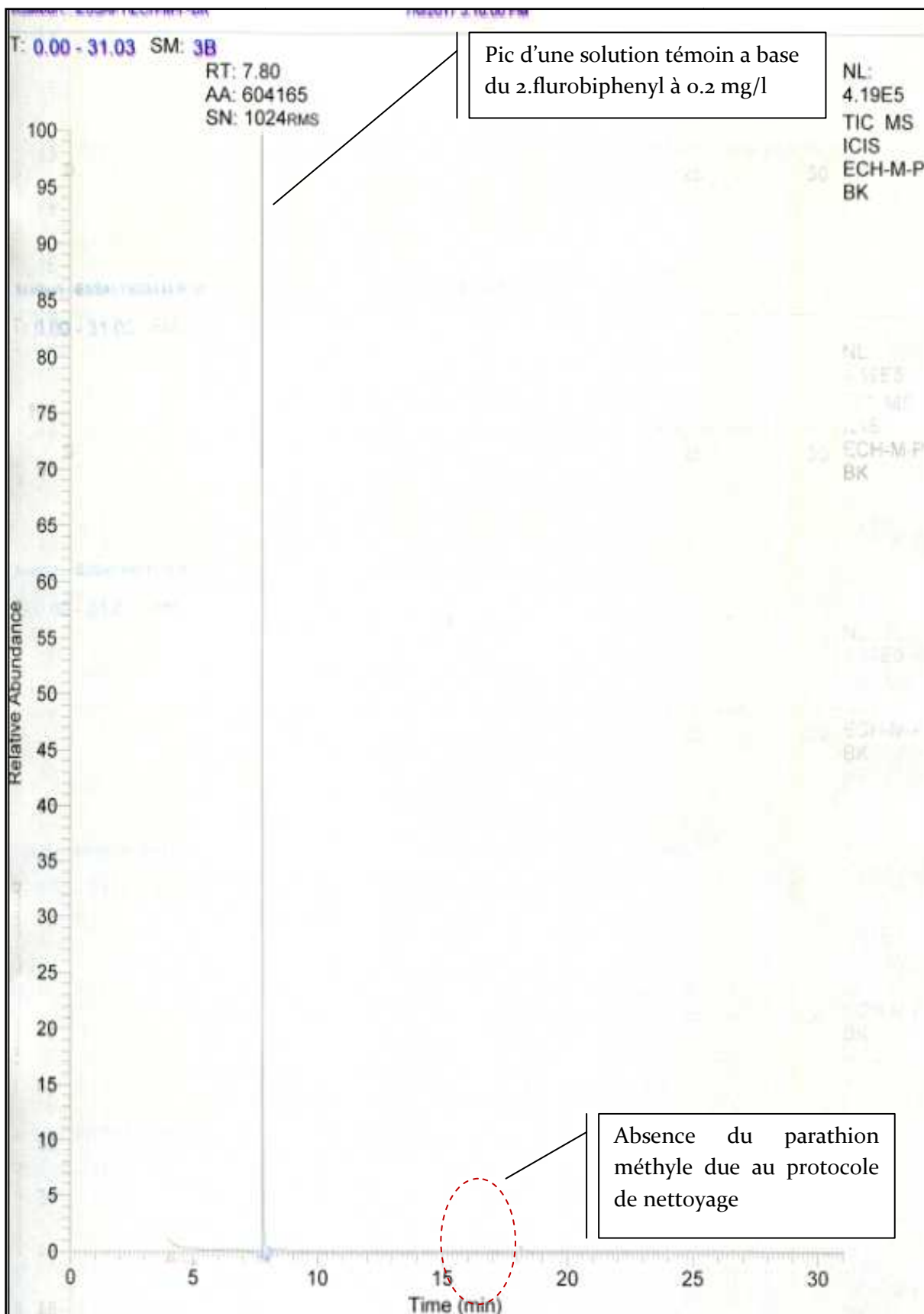
David Pham

MSDS are available at: http://www.chem.agilent.com/scripts/cag_msds.search.asp

All of the manufacturing and testing processes used in the preparation and evaluation of this product are in accordance with an ISO 9001 regulated Quality Management System.

Agilent Technologies, Inc. Folsom, CA 95630, Tel. 800-277-6770 Ext.3, Fax 916-985-1101, www.agilent.com

Annexe 2 : Chromatogramme du blanc de nettoyage



Annexe 3 : Certificat d'analyse du parathion méthyle

Certificate of Analysis

DESCRIPTION: Methyl parathion
SYNONYM: PARATHION-METHYL, METACIDE

CATALOG NO.: 43055 (1)
LOT NO.: LC16218V

MFG. DATE: Aug 2015
EXP. DATE: Aug 2016

CAS NUMBER: 298-06-0
MOLECULAR FORMULA: CC(COP(=O)(OC)OC)OC
MOLECULAR WEIGHT: 242

PHYSICAL PROPERTIES ASSAY

FTIR	Matches: SUPELCO	Lab. No.: USER1 72e
GC - Mass Spec	Matches: NIST	Lab. No.: 101068
Purity (1)	99.98	
Purity (2)	99.98 (a)	

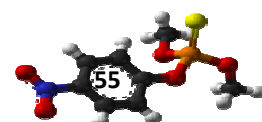
(1) This product is packaged from R417200 Lot number MC11119.
(2) Determined by GC-FID unless otherwise noted.
(a) GC; detector: NPD

Duane Funk

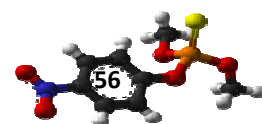
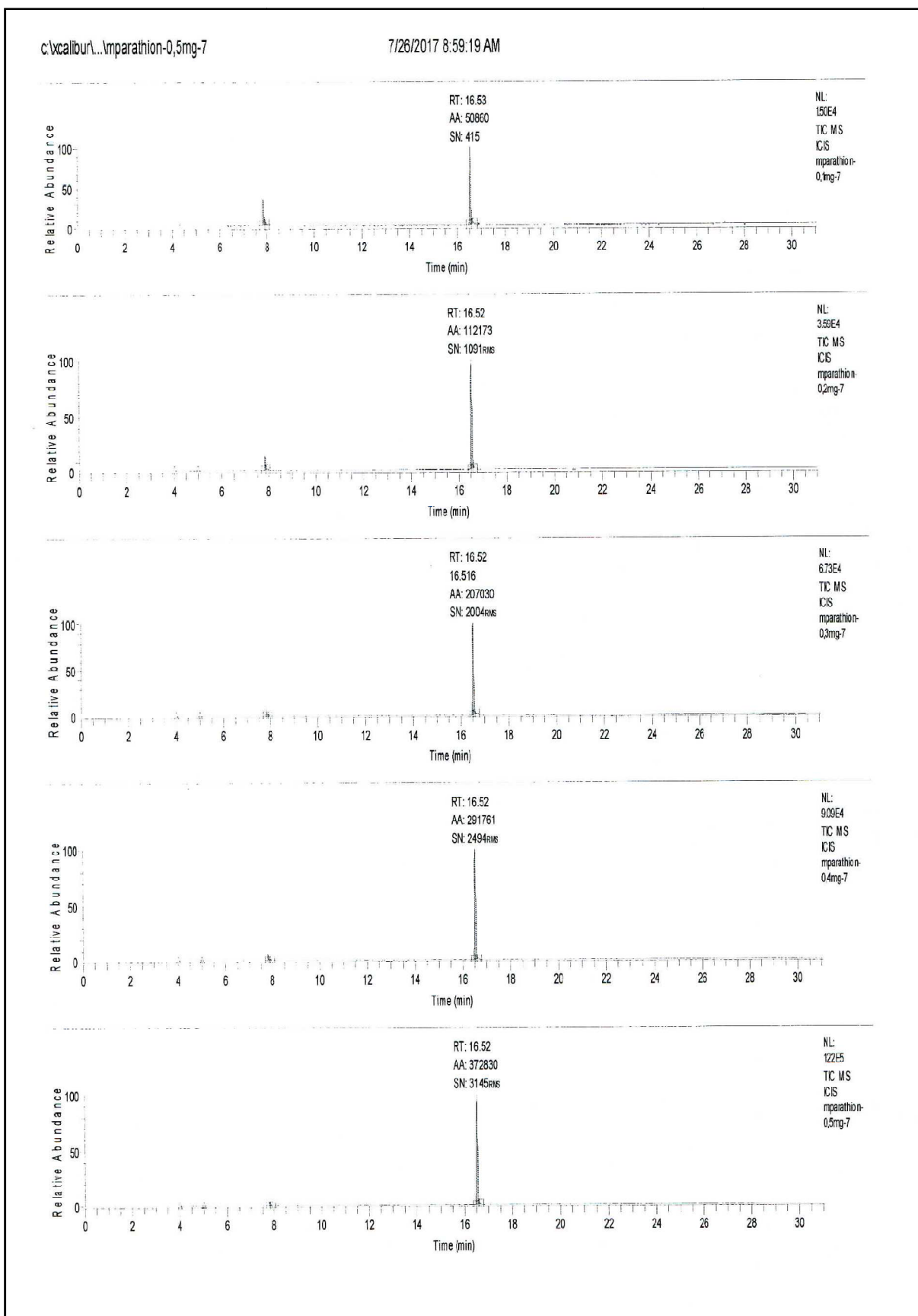
Duane Funk
Quality Manager

SUPELCO
Solutions within.
505 North Merion Road
Bellefonte, PA 16823-0048 USA
Phone (814) 350-3441

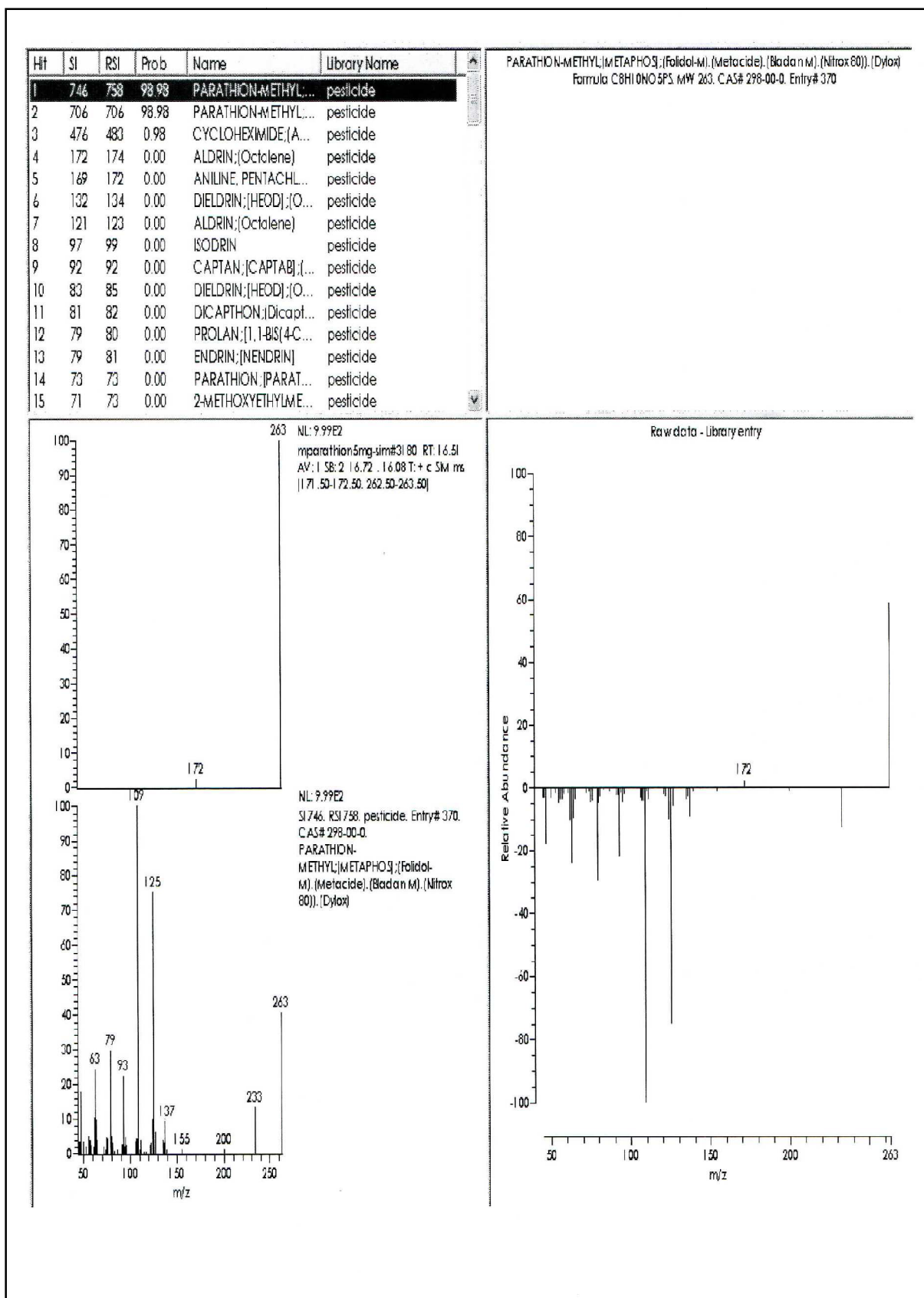
Supelco warrants that its products conform to the information contained in this publication. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. Please see the latest catalog or order invoice and packing slip for additional terms and conditions of sale.
Supelco is a Sigma-Aldrich Company.



Annexe 4 : Chromatogramme d'une gamme de mesure du parathion méthyle



Annexe 5 : Confirmation du parathion méthyle sur la base des données GCMS

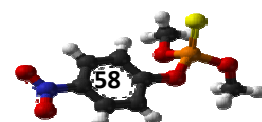


Annexe 6 : Conditions de travail sur GCMS

```
MS Method
Acquisition Time: GC Run Time
Cal Gas: Off
Reagent Gas: Off
Acquire Profile: No
Acq Threshold: 0
Source Temp: 230 C

Segment 1
Start Time: 4.00 minutes
Detector gain: 300000
ChromFilterWidth: Off
Reagent Gas Flow: Off

Scan Event 1
Mass Defect: 0.00
Polarity: POS
Use Tune File Emission Current
Scan Mode: SIM
Mass: 172.00 Width: 1.00 Dwell Time: 100.0
Mass: 263.00 Width: 1.00 Dwell Time: 100.0
```



Instrument Method: PESTICIDES-HAMANA-2-SIM

TRACE GC Ultra Method

Oven Method

Initial Temperature (C):	70
Initial Time (min):	1.00
Number of Ramps:	2
Rate #1 (deg/min):	15.0
Final Temperature #1 (C):	175
Hold Time #1 (min):	5.00
Rate #2 (deg/min):	5.0
Final Temperature #2 (C):	240
Hold Time #2 (min):	5.00
Post Run Temperature:	Off
Enable Cryogenics:	Off
Maximum Temperature (C):	350
Prep Run Timeout (min):	10.00
Equilibration Time (min):	0.50

Right SSL Method

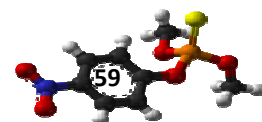
Base Temperature:	On
Base Temperature (C):	250
Mode:	Split
Split Flow:	On
Split Flow Flow (ml/min):	20
Splitless Time (min):	1.00
Surge Pressure:	Off
Surge Pressure (kPa):	3.00
Surge Duration (min):	0.00
Constant Purge:	On
Stop Purge At: (min):	0.00

Right Carrier Method

Mode:	Constant Flow
Initial Value:	On
Initial Value (ml/min):	1.00
Initial Time:	25.00
Rate #1 (ml/min/min):	2.0
Final Value #1 (ml/min):	2.50
Hold Time #1 (min):	4.00
Rate #2 (ml/min/min):	1.0
Final Value #2 (ml/min):	1.00
Hold Time #2 (min):	1.00
Gas Saver:	On
Gas Saver Flow (ml/min):	10
Gas Saver Time:	5.00
Vacuum Compensation:	On

Left OCI Method

Sec. Cooling Time (min):	1.00
Constant Purge:	On
Stop Purge At: (min):	0.00



Instrument Method: PESTICIDES-HAMANA-2-SIM

TRACE GC Ultra Method

Left Carrier Method

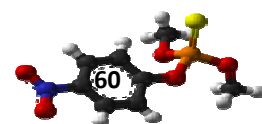
Mode:	Constant Pressure
Initial Value:	Off
Initial Value (kPa):	100.00
Initial Time:	1.00
Gas Saver:	Off
Gas Saver Flow (ml/min):	20
Gas Saver Time:	2.00
Vacuum Compensation:	Off

No Right Detector-----
No Left Detector-----
No Aux Detector-----
Aux Zones

Aux 1 MS Transfer Line:	On
Aux 1 MS Transfer Line (C):	230
Aux 2 :	Off
Aux 2 (C):	30

Run Table

External Event #1	Prep-Run Default:	Off
External Event #2	Prep-Run Default:	Off
External Event #3	Prep-Run Default:	Off
External Event #4	Prep-Run Default:	Off
External Event #5	Prep-Run Default:	Off
External Event #6	Prep-Run Default:	Off
External Event #7	Prep-Run Default:	Off
External Event #8	Prep-Run Default:	Off



Instrument Method: PESTICIDES-HAMANA-2-SIM

TriPlus Autosampler Method - GC Liquids

Analysis type
Analysis type: Single

Mode, Injector, Sync
Injection mode: Basic
Injector port: Injector A [SSL]
Start sync mode: Standard

Sampling parameters
Sample volume (µl): 1.0
Plunger strokes: 2
Air volume (µl): 1.0
Filling volume (µl): 2.0

Vial sampling depth
Vial depth: 90

Injection Depth mode
Pre-injection dwell time (s): 2.0
Post-injection dwell time (s): 6.0

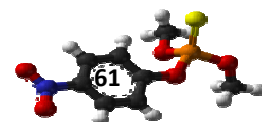
Viscosity
Sample type: Non viscous

Pre-Injection washes parameters
Solvents wash sequence: A,B,C,-
Solvent cycles: 2
Solvent Volume (µl): 10.0

Sample washes parameters
Rinses cycles: 1
Rinses Volume (µl): 5.0

Post-Injection washes parameters
Solvents wash sequence: A,B,C,D
Solvent cycles: 2
Solvent Volume (µl): 10.0

Advanced parameters
Wash solvent depth %: 90
Waste depth %: 10
Needle speed into vial (mm/s): 200
Solvent filling pull-up speed (µl/s): 20.0
Bubble elimin. pull-up speed (µl/s): 80.0
Delay between strokes (s): 0.1



Annexe 7 : Présentation de l'Institut National de Criminalistique et de Criminologie de la Gendarmerie Nationale (INCC/GN).

L'INCC/GN est un établissement public à caractère administratif, créé par décret présidentiel n° 04/183 du 04/06/2004. Doté de la personnalité morale et de l'autonomie financière il est placé sous la tutelle du Ministre de la Défense Nationale. Les pouvoirs de tutelle sont exercés, par délégation, par le Commandant de la Gendarmerie Nationale.



Depuis sa mise en marche en date du 01 janvier 2009, ce pôle d'excellence vient pour faire face à la croissance quantitative et qualitative de la criminalité, caractérisée par l'émergence de nouvelles formes de criminalité économique, financière, informatique et trafics en tous genres.

Sa principale structure, la Direction Criminalistique regroupe plus de 31 laboratoires de criminalistique : dont le département environnement, le département incendies et explosions, le département toxicologie. Tous ces laboratoires assure plus de 124 types de prestations.

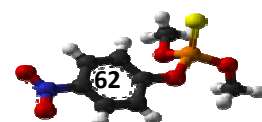
En matière de criminalistique, l'INCC/GN est appelé à

- Réaliser des expertises et examens à la requête des magistrats, enquêteurs et autorités habilitées.
- Assurer une assistance scientifique aux unités lors des investigations.
- Concevoir et réaliser des banques de données criminalistique.

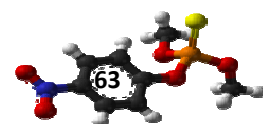
En matière de criminologie, l'INCC/GN est appelé à

- Participer aux études et analyses relatives à la criminalité.
- Contribuer à la définition d'une meilleure politique criminelle.
- Initier et conduire des travaux de recherche ayant trait à la criminalité.

Dans le contexte de l'amélioration de la qualité des prestations de service et la mise en place d'un système de management de la qualité, l'INCC/GN est depuis l'année 2014 reconnu comme un établissement accrédité selon la norme internationale ISO CEI 17025 et depuis l'année 2017, il a été accrédité par l'organisme d'accréditation algérien « ALGERAC » et l'organisme d'accréditation américain « ANAB », pour quarante cinq (45) méthodes, selon les deux normes internationales ISO CEI 17020 et ISO CEI 17025.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



A

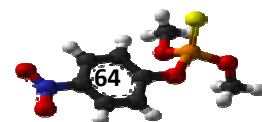
- ACTA. 2004. Index phytosanitaire. Association française de Coordination Technique Agricole. p 751.
- ASTRID S , URRUTY L, POMMIER J J et MONTURY M . 2001. Analyse de résidus dans les fraises par SPME. cas des pyréthriinoïdes ou des molécules très solubles dans l'eau. Centre interrégional de recherche et d'expérimentation de la fraise. p 1.
- AUBERTOT J N, BARBIER J M et CARPENTIER A. 2005. Pesticides, agriculture et environnement : Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. Expertise scientifique collective. INRA et Cemagref, décembre 2005. p18.
- AYAD M N. 2012. Identification et dosage des pesticides dans l'agriculture et les problèmes d'environnement liés. Thèse de magistère en chimie organique. Laboratoire de synthèse organique appliquée. Faculté des sciences. Université d'Oran. pp.

B

- BERRAH A. 2011. Etude sur les pesticide, mémoire de master 2 en toxicologie appliquée. Université de Tébessa Algérie. p90.
- BERTHOLF R L et WINECKER R E. 2007. Chromatographic methods in clinical chemistry and toxicology. Edition Wiley. p139.
- BOUNACHADA M, FENNI M, TEDJAR L et MEKHLLOUF A. 2011. Conséquences des pesticides dans les eaux et leur impacte sur la santé des populations dans les hautes plaines setifiennes. Premier séminaire international d'étude « Agriculture biologique et développement durable ». Université d'Oran. Algérie. 12-15 février 2011.pp.

C

- CEAEQ. 2015. Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie. DR-12-VMC, Québec, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, p 29.
- CROSSLAND N O. 1984. Fate and biological effects of methyl parathion in outdoor ponds and laboratory aquaria. II: Effects. Ecotoxicology and Environmental Safety, 8, p482.



D

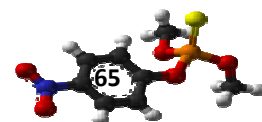
- Directives européennes. 1975. N° 75/440/CEE du 16 juin 1975 concernant la qualité requise des eaux superficielles destinées à la production d'eau alimentaire dans les états memmres. Journal officiel de la communauté européenne n° L 194 du 25 juillet 1975.
- Directives européennes. 1988. N° 89/83/CEE du 16 décembre 1988 de la commission 8983 relative aux mesures de protection contre l'introduction dans les états membres d'organismes nuisibles aux végétaux ou aux produits végétaux. pp.
- Directives européennes. 1991. N° 91/414/CEE du 15 juillet 1991, concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques.
- Directives européennes. 2003. N° 2003/166/CE du 10 mars 2003 concernant la non inscription du parathion méthyle à l'annexe I de la directive 91/414/CEE du conseil et le retrait des autorisation accordées pour les produits contenant cette substance.
- DOUMONT D. et LIBION F. 2006. Impact sur la santé des différents polluants : quels effets à court, moyen et long terme ?. Série de dossiers techniques «06-38 ». p 20.

F

- FAO. 2001. Parathion-methyl technical material (note 01). FAO specifications and evaluation for plant protection products. p 16.
- FAO. 2009. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, Comment nourrir le monde 2050. Rapport du forum d'experts de haut niveau. Rome du 12 au 13 octobre 2009.pp.
- FAOSTAT. 2017. Données statistiques sur les pesticides. Division statistique de L'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAOSTAT). mise à jour du 15/07/2017.
- FEINBERG M et LAURENTIE M. 2010. Validation des méthodes d'analyses quantitative par le profile d'exactitude. Le Cahier des Techniques de l'Institut national de recherche agricole (France). Numéro spécial 2010. pp.

H

- HUMBERT L. 2010. Extraction en phase solide (SPE) : théorie et applications. Annales de toxicologie analytique. p62-65.



I

- ICP. 1997. Procédure d'Information et Consentement préalables du parathion méthyle. Document ICP d'orientation des décisions relatif aux pesticides extrêmement dangereux mettant en péril la santé humaine. Juillet 1997. p 1-6.
- ICH. 2005. Validation of analytical procedures: Text and methodology. Q2 (R1). International Conference on Harmonization (ICH) of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. pp.
- INPV. 2012. INFOS PHYTO revue de L'Institut National de Protection des Végétaux. Bulletin d'information phytosanitaire n°29. Décembre 2012.

J

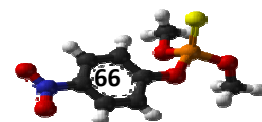
- JORA. 1987. Loi n° 87-17 du 1^{er} aout 1987 relative à la protection phytosanitaire. Journal officiel de la république algérienne N° 32 du 05 aout 1987. p 804.
- JORA. 2005. Loi n° 05-12 du 4 août 2005, relative à l'eau. Journal officiel de la république algérienne N° 60 du 04 septembre 2005. p 3.
- JORA. 2011. Décret exécutif n° 11-125 du 22 mars 2011, relatif à la qualité de l'eau de consommation humaine. Journal officiel de la république algérienne N° 18 du 23 mars 2011. p 6.
- JORA. 2011. Décret exécutif n° 11-219 du 12 juin 2011 fixant les objectifs de qualité des eaux superficielles et souterraines destinées à l'alimentation en eau des populations. Journal officiel de la république algérienne N° 34 du 19 juin 2011. p 4.

K

- KHADDAM B N. 2012. Enquête sur la gestion des pesticides en Algérie et la recherche d'une méthode de lutte alternative contre *meloidogyne incognita*. Thèse de magister en sciences agronomiques. Ecole nationale supérieur agronomique Alger. pp.
- KOUZAYHA A. 2011. Développement des méthodes analytiques pour la détection et la quantification de traces des HAP et de pesticides dans l'eau. Application a l'évaluation de la qualité des eaux libanaises. Chimie analytique. Université Sciences et Technologies - Bordeaux I. p 56.

M

- MIQUEL G. 2003. Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. Rapport sur la qualité de l'eau et assainissement en France. Annexe n°45 données statistiques sur les pesticides. p128.



- MOUSSAOUI K M, BOUSSAHEL R et HARIK D. 1999. Pesticide et environnement : Utilisation, contrôle, recherche des résidus dans l'eau et les aliments. Bulletin international de l'eau et de l'environnement. EDILINF-EAU, p 5-12.

N

- Norme international ISO 10695 : 2000 (F). Qualité de l'eau — Dosage de certains composés organiques azotés et phosphorés sélectionnés — Méthodes par chromatographie en phase gazeuse.
- Norme internationale NF EN ISO/CEI 17025 : 2005 : Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais.
- Norme nationale NA ISO 9000 : 2007 : Systèmes de management de la qualité - principes essentiels et vocabulaire.
- Norme international ISO/IEC guide 99 :2007 Vocabulaire Internationale de Métrologie. pp.
- Norme international ISO 8260 : 2008 (F). Lait et produits laitiers — Dosage des pesticides organochlorés et des polychlorobiphényles — Méthode par chromatographie capillaire en phase gazeuse-liquide avec détection à capture d'électrons.

O

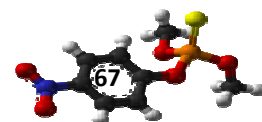
- OMS. 1991. Organisation mondiale de la santé. L'Utilisation des pesticides en agriculture et ses conséquences pour la santé publique. Genève. 1991. p11 -17.
- OMS. 2010. Organisation mondiale de la santé Code international de conduite pour la distribution et l'utilisation des pesticides. Directives pour la publicité des pesticides.
- OLIVIER A.2002. Chimie et pollutions des eaux souterraines. Edition Lavoisier. p 158.

P

- PNUE. 2002. L'avenir de l'environnement mondial 3^{ème} édition. Programme des Nations Unies pour l'environnement. Edition De Boeck. 2002. pp.

R

- RAMADE F. 1998. Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau. Edition : Ediscience. pp.
- REEVE R N. 2002. Introduction to environmental analysis. University of sunderland, UK. Edition john wily &sons, LTD. pp.



S

- SANCO. 2010. Réglementation européenne : Guide des méthodes analytiques des résidus de pesticides : SANCO/825/00 révision 8.1 du 20.06.2010.
- SKOOG D A, HOLLER F J et NIEMAN T A. 2003. Principe d'analyse instrumentale. 5^{ème} édition. De Boeck. p 674 -703.

U

- UIPP. 2008. l'Union européen des industries de la protection des plantes. L'utilité des produits phytopharmaceutiques. Rapport de l'union européen des industries de la protection des plantes (UIPP). Etudes statistiques de la FAO.

V

- VILAGINES R. 2010. Eau, environnement et santé publique 3^{ème} éd. Editions TEC &DOC. p 90.

W

- WOHLFAHRT J. 2008. Développement d'un indicateur d'exposition des eaux de surface aux pertes de pesticides a l'échelle du bassin versant. Institut National Polytechnique de Lorraine. pp.

Z

- ZAWIYAH S, BIN CHE MAN Y, NAZIMAH S A H et CHIN C K. 2006. Determination of organochlorine and pyrethroid pesticides in fruit and vegetables using solid phase extraction clean-up cartridges. Journal of chromatography A, 1127(2006) 254-261. Science direct. p1-2.

