

# Les résidus de pesticides dans les denrées alimentaires. Aspect analytique

*S. Dormal-van den Bruel*

## *Zusammenfassung*

Die Autorin behandelt die analytischen Probleme, die sich aus dem Vorhandensein von Rückständen von Schädlingsbekämpfungsmitteln in der Nahrung ergeben.

Die Analysenmethoden sollen es ermöglichen, Rückstände in der Größenordnung von einigen Milligrammen innerhalb großer Massen pflanzlicher oder tierischer Stoffe zu entdecken, zu isolieren, zu identifizieren und zu dosieren. Die vom Analytiker angewandten Methoden hängen jedoch von den besonderen Problemen ab, die er zu lösen hat (Forschung oder Kontrolle).

Die hauptsächlichsten in der Forschung und Kontrolle verwendeten Dosierungsmethoden sowie die Entdeckungs- und Identifikationsmethoden für Stoffe, deren Herkunft unbekannt ist, werden untersucht. Es folgt eine Diskussion der Anforderungen, welchen solche Vorgehen genügen müssen, um gültige Resultate hervorzubringen.

Den Schluß bildet eine Übersicht über den Rückstandgehalt der auf dem Markt befindlichen Nahrungsmittel in einigen Ländern, wo eine Kontrolle ausgeübt wird.

## *Résumé*

L'auteur fait état des problèmes analytiques posés par la présence de résidus de pesticides dans les denrées alimentaires.

Les procédés d'analyse doivent permettre de déceler, isoler, identifier et doser des quantités de résidus de l'ordre de quelques microgrammes dans des masses importantes de matière végétale et animale. Toutefois, les méthodes et les techniques auxquelles l'analyste doit recourir dépendent des problèmes particuliers qu'il a à résoudre et de la mission de recherche ou de contrôle qui lui incombe.

Les principaux *procédés de dosage* appliqués pour la recherche et le contrôle ainsi que les *procédés de détection et d'identification* utilisés pour le contrôle des échantillons dont les antécédents sont inconnus sont examinés, et les critères auxquels ces procédés doivent répondre pour fournir des résultats valables sont discutés.

Un aperçu des teneurs en résidus des denrées offertes à la consommation, dans plusieurs pays où des contrôles sont exercés, est présenté.

## **I. Introduction**

Il y a une vingtaine d'années, l'analyse des résidus de pesticides se limitait à la recherche, par des procédés chimiques classiques, de l'arsenic et du plomb sur les pommes, du bore sur les agrumes, de l'arsenic et du cuivre dans les vins.

L'apparition des pesticides organiques de synthèse et l'extension rapide et généralisée de leur usage en agriculture ne devaient pas tarder à mettre l'ingéniosité de l'analyste à l'épreuve, et à lui ouvrir un nouveau domaine d'investigations, très vaste et fort complexe. En effet, de nombreux pesticides

utilisés pour protéger les plantes et les denrées emmagasinées abandonnent, sur les substrats traités, des résidus qui pénètrent dans les cuticules, les épidermes et les tissus sous-jacents ou se dissolvent dans les matières grasses et les huiles. Ces résidus subsistent tels quels ou métabolisés durant des périodes variant de quelques heures à plusieurs mois. Les mêmes phénomènes s'observent sur les plantes-racines, à la suite des désinfections du sol par certains pesticides persistants. En outre, l'ingestion par le bétail et la volaille d'aliments recelant des résidus peut entraîner le transfert, la métabolisation et la fixation de ces derniers dans la graisse animale, la viande, le lait, le beurre et les œufs.

La généralisation de la lutte antiparasitaire chimique devait obligatoirement faire l'objet de mesures visant à protéger le consommateur des risques inhérents à la présence de résidus dans les aliments. Aussi, dans les pays où l'usage des pesticides est réglementé, les autorités responsables de la Santé Publique et de la Protection des Végétaux ont estimé devoir limiter le taux des résidus dans les denrées agricoles à des doses ne dépassant pas celles qui résultent de « bonnes pratiques agricoles », pour autant que ces doses restent inférieures aux limites toxicologiques admissibles pour une consommation à long terme chez l'homme.

Pour pouvoir respecter ces exigences, il est nécessaire de connaître le métabolisme et la persistance de chaque pesticide sur et dans les substrats traités et les denrées qui en dérivent, la concentration et la nature des résidus au moment de la récolte ou de l'abattage, leur toxicité à court et à long terme pour diverses espèces animales et leurs effets possibles sur l'homme. Par ailleurs, la mise en vigueur de systèmes réglementaires, basés sur la fixation de limites de tolérances requiert un contrôle de la teneur en résidus des denrées offertes à la consommation.

Ces nombreux objectifs incombent à des laboratoires dûment équipés et spécialisés pour la recherche et le contrôle. Leur exigence commune est la mise au point de procédés analytiques aptes à déceler, isoler, identifier et doser des quantités de résidus de l'ordre de quelques microgrammes dans des masses importantes de matière organique. Toutefois, les méthodes et les techniques auxquelles l'analyste doit recourir dépendent des problèmes particuliers qu'il étudie et de la mission de recherche ou de contrôle qui lui incombe. Les méthodes d'analyse doivent être sélectionnées en fonction de ces circonstances. C'est de cet aspect de la question que je voudrais surtout vous entretenir.

## II. Problèmes de recherche

*La connaissance du métabolisme* des résidus de pesticides dans les substrats traités est la donnée fondamentale qui doit orienter le choix des méthodes de détection et de dosage. En effet, sous l'action des facteurs climatiques et des enzymes, les résidus de pesticides organiques peuvent se transformer, dans les systèmes biologiques, en dérivés qui présentent une activité physiologique

semblable ou même supérieure à celle des composés initiaux. Ces composés se scindent ultérieurement en molécules simples, exemptes de toxicité, qui sont excrétées ou assimilées par le substrat. Pour beaucoup de pesticides, le nombre de métabolites théoriquement possibles est élevé. En fait, on a pu déceler en quantités appréciables, dans divers substrats végétaux et animaux, la présence simultanée de un à deux métabolites toxiques pour le DDT, l'aldrin, l'heptachlor, le parathion et de nombreux autres pesticides, et de quatre à huit de ces composés pour les thiophosphates à radical thio-éther tels que le demeton, le demeton-méthyl, le disyston, le phorate, le thiometon, le fenthion, etc. Les produits de métabolisation formés dans les tissus végétaux sont, en général, semblables à ceux que l'on retrouve dans les tissus animaux, bien que des différences quantitatives puissent s'observer.

Il importe donc de connaître les produits de métabolisation des différents pesticides, afin que tous les constituants actifs des résidus soient pris en considération lors de la mise au point des méthodes d'analyse destinées à l'étude de la persistance et au contrôle. Pour étudier le métabolisme et identifier les différents composés formés, on utilise des molécules marquées et les procédés de séparation, d'identification et de dosage les plus sensibles. Ces recherches relèvent du domaine des sciences fondamentales et ne sont à la portée que d'un nombre restreint de centres de recherches universitaires et privés, qui disposent d'équipes de chercheurs hautement qualifiés et d'une instrumentation très développée.

*L'étude de la persistance des résidus* est un autre problème de recherche; bien que moins complexe que le précédent, il mérite beaucoup d'attention, en raison de l'étendue de son domaine d'application et du grand nombre de laboratoires dont il implique le concours. En effet, la persistance des résidus sur et dans les denrées agricoles varie avec la nature du pesticide et celle du substrat, la composition des formulations utilisées et les conditions climatiques qui ont suivi le traitement. Pour édicter des prescriptions, telles que la fixation de délais entre la dernière application du pesticide et la récolte, en vue de réduire la quantité de résidus à un taux acceptable, il est indispensable d'établir leurs courbes de persistance sur et dans les cultures propres à chaque région ou pays, en fonction des divers traitements phytosanitaires qui s'y pratiquent.

Grâce aux progrès réalisés dans le domaine instrumental, plusieurs techniques analytiques permettent de doser des quantités de résidus de l'ordre du microgramme ( $10^{-6}$  g). Certaines d'entre elles, telles que la chromatographie gaz-liquide avec détection par capture d'électrons, l'induction de la radioactivité par activation de neutrons, la fluorescimétrie, permettent d'atteindre le nanogramme ( $10^{-9}$  g) et même le picogramme ( $10^{-12}$  g). Toutefois, de telles performances ne peuvent être réalisées que si les composés à analyser sont purs ou purifiés de façon appropriée, et c'est là précisément que résident les difficultés.

Le premier stade de l'analyse consiste à extraire quantitativement les rési-

dus de l'échantillon à l'aide d'un solvant ou d'un mélange de solvants choisi en fonction de la nature du pesticide et de celle du substrat. L'extrait ainsi obtenu contient de fortes proportions de pigments, d'huiles, de matières grasses et autres produits naturels ainsi que, le cas échéant, des résidus de pesticides subsidiaires et des impuretés accompagnant les solvants. Ces matières étrangères peuvent fausser le dosage, soit en masquant la présence des résidus, soit en présentant des réactions similaires ou superposables à celles des composés à analyser. *Frehse* (1964) a démontré, par exemple, que la teneur en phosphore des extraits chloroformiques de feuilles de tomates non traitées atteignait 40 ppm, du seul fait des composés phosphorés naturels. Cette dose représente approximativement 100 fois la quantité de phosphore incorporée au végétal à la suite d'une application d'un pesticide organo-phosphoré. L'utilisation de tels extraits s'avère donc exclue pour la recherche des résidus de pesticides organo-phosphorés par microdétermination du phosphore organique total. Il en est de même des extraits végétaux et animaux non purifiés, préparés en vue de la recherche des résidus de pesticides organo-chlorés par microdétermination du chlore; ces extraits sont inévitablement chargés de composés chlorés naturels, solubles dans les solvants organiques.

Les possibilités d'interférence ne se limitent pas au seul cas des méthodes basées sur la détermination d'un élément, tel que le chlore ou le phosphore, qui existe à l'état naturel dans les substrats végétaux et animaux. *Gunther et Blinn* (1955) ont relevé, entre autres, des teneurs apparentes de 2,5 ppm de parathion et de 100 ppm de DDT dans des extraits non adéquatement purifiés d'huiles essentielles d'oranges n'ayant subi aucun traitement par ces pesticides, en soumettant ces extraits à des procédés colorimétriques basés sur le dosage de certains groupes fonctionnels des molécules de parathion et de DDT. Ces résultats étaient dus, vraisemblablement, à la présence, dans les extraits, de composés aromatiques entraînant, dans les conditions de l'analyse, la formation de radicaux similaires ou de molécules absorbant l'énergie lumineuse aux mêmes longueurs d'onde que les composés recherchés. Dans d'autres méthodes et, notamment, en analyse spectrale dans l'infra-rouge et l'ultra-violet, les impuretés peuvent masquer totalement la présence des résidus; en chromatographie gaz-liquide, elles sont susceptibles d'«empoisonner» les colonnes d'adsorbants au point de rendre les dosages impraticables.

La purification des extraits s'avère donc indispensable, si l'on veut obtenir des résultats exacts et reproductibles. Il faut en adapter le procédé à la nature des résidus et des échantillons en cause, ainsi qu'à la méthode de dosage envisagée. Les procédés de purification les plus couramment utilisés sont le partage préférentiel entre solvants non miscibles tels que l'hexane et l'acétonitrile ou la diméthylformamide, l'alcool méthylique et le chloroforme ou l'éther de pétrole, l'alcool isopropylique et le benzène, ainsi que la chromatographie par adsorption, suivie d'élution, sur colonnes de charbon activé, d'oxyde ou de silicate

d'aluminium, de Florisil, d'oxyde de magnésie, de Celite, de silica-gel, etc., ou encore d'un mélange de plusieurs de ces constituants. *Thornburg* (1963) préconise un procédé général de purification permettant l'obtention d'extraits parfaitement exempts de pigments, de matières grasses et de cires, en soumettant l'échantillon à une combinaison appropriée de solvants et d'adsorbants. D'autres techniques basées sur l'entraînement à la vapeur d'eau ou la microdistillation des résidus ou encore sur la réduction, l'oxydation ou la précipitation des impuretés sont appliquées occasionnellement. Récemment, *Morley et Chiba* (1964) ont montré l'intérêt de la chromatographie en couche mince pour purifier les extraits de grains de froment en vue du dosage des composés organo-chlorés par chromatographie gaz-liquide.

Après purification, l'extrait est concentré ou totalement débarrassé de son solvant et soumis au dosage. On peut classer les méthodes de dosage en trois grands groupes, à savoir :

*les méthodes chimiques* basées sur des réactions d'oxydation ou de réduction, de diazotation et de copulation, de déchloruration, de nitration, etc., entraînant la formation de nouveaux composés qui se prêtent aisément au dosage par colorimétrie ou toute autre technique;

*les méthodes physiques* basées sur la mesure d'un effet ou d'une propriété physique, électro-chimique ou électro-magnétique caractéristique des composés examinés ou de leurs groupes fonctionnels, tels que le temps de rétention ou le Rf en chromatographie, la zone d'absorption de l'énergie lumineuse en analyse spectrale, le degré de radioactivité induite dans les dosages par activation de neutrons, le potentiel d'électrolyse ou d'oxydo-réduction, en polarographie, etc.;

*les méthodes biologiques ou bio-essais, et biochimiques* basées sur des effets physiologiques ou toxicologiques exercés par les composés examinés, soit sur des organismes vivants, tels que les drosophiles, les larves de moustiques, certains arthropodes ou poissons, soit sur des tissus ou des organes maintenus en survie, soit encore sur des systèmes enzymatiques, tels que les estérases, l'anhydrase carbonique, etc.

Cette classification n'est cependant pas rigoureuse, car certains procédés d'analyse utilisent la combinaison de plusieurs techniques de principes différents. En outre, on a presque toujours recours actuellement, à des dispositifs électriques ou électroniques pour procéder au stade final du dosage.

Il ne m'est pas possible, dans les limites de cet exposé, d'entreprendre un examen de ces méthodes; celles-ci sont d'ailleurs fort bien décrites et analysées dans les excellents ouvrages de *Gunther et Blinn* (1955), *Gunther* (1962) et *Zweig* (1963/1964). Il me semble néanmoins important de rappeler que les principales qualités qui doivent déterminer le choix des méthodes de dosage destinées à la recherche sont la *spécificité*, l'*exactitude* et la *sensibilité*. La méthode idéale serait celle qui permettrait de doser spécifiquement et quantita-

tivement les constituants physiologiquement actifs des résidus, et qui posséderait un seuil de détectabilité apte à déceler les doses les plus ténues de ces composés. Peu de méthodes répondent à l'ensemble de ces exigences.

Parmi les procédés les plus *spécifiques* figurent la spectrophotométrie infra-rouge et ultra-violette, la fluorescimétrie, la résonance magnétique nucléaire, la chromatographie sur papier, en couche mince et gaz-liquide, et la polarographie. Ces techniques permettent, à la fois de doser et d'identifier les constituants des résidus. Les autres procédés, tels que la colorimétrie, la microdétermination du phosphore ou des halogènes, les méthodes enzymatiques, les bio-essais, etc., peuvent, néanmoins, et malgré leur défaut de spécificité, être appliquées sélectivement au dosage de certains résidus, lorsque les composés susceptibles d'interférer ont été éliminés.

L'*exactitude* d'une méthode est donnée par le taux de récupération obtenu par dosage d'une quantité connue de résidus incorporée à un échantillon. Ce taux est calculé en fonction d'une courbe d'étalonnage établie, en l'absence de substrat, à l'aide du pesticide et de ses produits de métabolisation à l'état pur. Une méthode exacte doit, en principe, fournir des résultats qui assurent un taux de récupération de 100% des composés dosés. Cependant, en raison des pertes inhérentes aux opérations d'extraction et de purification subies par les résidus avant le dosage proprement dit, on estime qu'un taux de récupération de 80% est admissible. Il est toutefois nécessaire de contrôler le degré de dispersion des résultats sur un nombre significatif d'échantillons, afin de pouvoir établir la *précision* de la méthode. La plupart des techniques ont été ajustées dans le but de les rendre utilisables pour l'analyse quantitative des résidus. Pour certaines, cependant, cette mise au point n'est pas achevée. En chromatographie gaz-liquide, par exemple, l'analyse quantitative se limite actuellement à la classe des composés organo-chlorés et soufrés; des conditions opératoires appropriées au dosage d'autres groupes chimiques sont à l'étude.

Le *seuil de détectabilité* exprime la *sensibilité* de la méthode. Lorsque les extraits sont purifiés de façon appropriée, la plupart des procédés permettent de déceler des quantités de résidus jusqu'à la limite inférieure de 10 microgrammes, ce qui équivaut à 0,1 ppm de résidus pour un échantillon de 100 g. L'analyse spectrale dans l'ultra-violet, la fluorescimétrie, certaines techniques chromatographiques gaz-liquide, la polarographie et l'induction de la radioactivité par activation de neutrons permettent d'atteindre une sensibilité plus élevée. Cependant, il serait hasardeux de vouloir généraliser, car la sensibilité d'une technique varie selon la nature des produits analysés. En comparant la colorimétrie et la fluorescimétrie, *Mac Dougall* (1962) a montré, notamment, que la fluorescimétrie était 1250 fois plus sensible que la colorimétrie pour le dosage du DEF (S,S,S-tributyl phosphorotrithioate), mais que ce coefficient se réduisait à 160 pour l'azinphos methyl. Dans la plupart des cas, un seuil de détectabilité de 0,1 ppm est suffisant pour résoudre les problèmes de recherche et

de contrôle. Toutefois, lorsqu'aucune dose de résidus n'est toxicologiquement acceptable, il est nécessaire d'avoir recours à des méthodes ultra-sensibles. On ne peut, en effet, perdre de vue que la non-détection de résidus permet seulement de conclure à une concentration inférieure à la limite de sensibilité de la méthode d'analyse appliquée; elle n'autorise pas de postuler que l'échantillon est totalement dépourvu de résidus. C'est pourquoi, il peut s'avérer utile de retrouver des doses de l'ordre de 0,01 ou 0,001 ppm dans les cas où des impératifs de santé publique imposent l'absence de résidus (*Schechter* 1963).

Les critères de spécificité, d'exactitude et de sensibilité d'une méthode doivent être vérifiés par des tests expérimentaux portant successivement sur des échantillons-témoins, exempts de résidus, sur des échantillons auxquels on a incorporé des doses connues de résidus et sur des échantillons provenant de lots traités dans la pratique. Chaque substrat constitue un cas particulier et les résultats obtenus sur un substrat ne sont pas nécessairement transposables à d'autres. *Frehse* (1964) a signalé, par exemple, que l'analyse des composés organo-phosphorés, par micro-détermination du phosphore, selon la méthode de *Laws et Webley* (1961), donnait des valeurs-témoins équivalentes à des doses de résidus comprises entre 0,1 et 6,6 ppm, selon la nature du végétal.

Il y a aussi lieu d'attirer l'attention sur l'importance de l'échantillonnage. Comme l'ont souligné, à maintes reprises, *Gunther* (1959, 1960, 1961, 1962), *Lykken* (1963) et d'autres auteurs, les procédés d'analyse les plus appropriés sont dénués d'intérêt si les échantillons prélevés ne sont pas représentatifs des traitements appliqués.

Dans la pratique, le choix des méthodes n'est malheureusement pas toujours basé sur des critères suffisamment rigoureux. Il varie d'un laboratoire à l'autre, selon la qualification et l'expérience du personnel scientifique et technique, et selon les budgets disponibles. L'usage de la spectrographie infra-rouge et de masse, la fluorescimétrie, la résonance magnétique nucléaire, l'induction de la radioactivité par activation de neutrons est encore fort restreint. Par contre, la colorimétrie, la chromatographie sur papier et en phase gazeuse, les bio-essais et les méthodes enzymatiques sont d'emploi courant. Bien que l'instrumentation constitue inévitablement un facteur limitatif, la valeur des résultats reste essentiellement liée à l'habileté de l'expérimentateur.

### III. Problèmes de contrôle

La mise en vigueur de systèmes réglementaires basés sur la fixation de limites de tolérance implique un contrôle, par des laboratoires officiels, des résidus dans les denrées indigènes et importées qui sont offertes à la consommation. Les denrées destinées à l'exportation peuvent aussi nécessiter un contrôle, si l'état ou le pays importateur impose des limites quant aux teneurs en résidus des denrées qu'il acquiert.

A cet effet, l'Association of Official Agricultural Chemists (AOAC), en Amérique du Nord, le British Analytical Panel<sup>1</sup> et l'Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes (OEPP) ont estimé nécessaire d'élaborer, par des études collégiales, des méthodes d'analyse internationalement acceptables. Cet objectif a été reconnu par le groupe de Travail FAO des Résidus de Produits Antiparasitaires (1963). Par ailleurs, un comité d'experts de la Communauté Economique Européenne a été chargé, récemment, d'entreprendre des travaux visant à normaliser des méthodes d'analyse pour le contrôle des résidus de pesticides auxquels des limites unifiées de tolérances seront imposées par les pays-membres de la Communauté.

Ces groupes d'études ont convenu que les procédés d'analyse à normaliser doivent être relativement simples pour rester à la portée de tous les laboratoires chargés du contrôle, et suffisamment sensibles pour permettre de déceler et de doser les résidus aux seuils fixés par les limites de tolérances. A présent, plus de 25 méthodes de dosage ont été normalisées, d'autres sont à l'étude (*Miller* et al. 1964). Cette réalisation contribue, incontestablement, à alléger la tâche de l'analyste des laboratoires de contrôle. Toutefois, exception faite d'un seul procédé de détection et d'identification des résidus d'insecticides organo-chlorés dans le lait (*Mills* 1961), les méthodes qui ont été normalisées à ce jour concernent le dosage de résidus dont la nature est supposée connue. Or, dans la majorité des cas, les échantillons prélevés par les services d'inspection sont soumis aux laboratoires de contrôle sans indication quant à leurs antécédents. L'analyste se trouve alors devant un problème particulièrement complexe: il doit pouvoir déceler la présence éventuelle de résidus dans les échantillons et les identifier avant de procéder au dosage.

Il n'existe, pour déceler ou identifier des résidus quelconques de pesticides dans une denrée, aucune méthode qui soit indépendante de la nature et des propriétés de ces résidus et du substrat auquel ils sont incorporés. En effet, les procédés de détection sont basés, soit sur les propriétés toxicologiques ou physiologiques inhérentes aux insecticides, fongicides ou herbicides, soit sur des réactions chimiques ou physico-chimiques spécifiques aux classes chimiques auxquelles les pesticides appartiennent. L'identification requiert, en outre, de mettre en évidence des propriétés spécifiques à chacune des substances du groupe ou de la classe chimique dont elle relève. Il faut enfin que les procédés retenus soient adaptés ou adaptables à l'analyse de tous les substrats, quelles que soient leurs interférences possibles sur le pouvoir discriminatoire de la méthode.

Les procédés les plus satisfaisants sont ceux qui combinent des techniques de sélectivité différente. Nous examinerons ci-après l'intérêt et les limites des techniques qui répondent à cet objectif.

<sup>1</sup> The Analytical Panel of the Scientific Sub-Committee of the Advisory Committee on Poisonous Substances used in Agriculture and Food Storage.

*Les bio-essais* constituent le procédé le moins sélectif. Selon les organismes-test utilisés, ils permettent, en général, de révéler si l'échantillon contient des résidus d'insecticides, de fongicides ou d'herbicides. La combinaison de plusieurs bio-essais sur organismes de sensibilité différente, tels que les drosophiles et les larves de moustiques, peut, en outre, apporter une discrimination entre groupes d'insecticides, tels que le groupe des organo-chlorés et celui des organo-phosphorés. Cependant, sans le concours d'autres méthodes, les bio-essais ne se prêtent que difficilement à plus de précision.

*La microdétermination du chlore ou du phosphore organique* ainsi que la mise en évidence d'une *inhibition des cholinestérases* sur extraits purifiés peuvent également apporter une discrimination quant aux groupes chimiques dont relèvent les résidus, mais ne permettent pas d'identifier individuellement les composés. La combinaison des bio-essais avec la microdétermination du chlore organique et la mesure du pouvoir inhibiteur des cholinestérases, selon le procédé décrit par *Phillips et al.* (1962), peut, toutefois, fournir une présomption sur l'identité des résidus, en ce qui concerne les insecticides organo-chlorés et phosphorés. La présence de composés appartenant à l'un de ces groupes est détectée, d'une part, en déterminant la dose létale moyenne sur drosophiles et, d'autre part, en dosant le chlore organique total ou en mesurant la dose qui produit une inhibition de 50% des cholinestérases *in vitro*. Comme le produit de la dose létale moyenne, sur une espèce déterminée, par le pourcentage en chlore est une constante caractéristique de chaque insecticide organo-chloré, et que, par ailleurs, le rapport entre la dose létale moyenne et la dose produisant 50% d'inhibition des cholinestérases est une constante spécifique aux composés organo-phosphorés, la détermination de ces valeurs peut, en principe, être utilisée pour identifier les résidus de ces produits, si des termes de comparaison ont été établis, au préalable, à l'aide d'un grand nombre d'insecticides connus. En pratique, on ne peut cependant que présumer de l'identité des composés présents dans les échantillons, car des effets de masquage non déterminables, inhérents aux substrats, la présence de produits de métabolisation des pesticides ou l'existence simultanée de résidus organo-chlorés et phosphorés peuvent fausser l'interprétation des résultats.

L'usage de techniques plus sélectives s'avère donc indispensable. Les techniques qui répondent le mieux à cet objectif sont les techniques à détection multiple telles que *la chromatographie sur papier, en couche mince et gaz-liquide, et l'électrophorèse*.

Toutes les *techniques chromatographiques* sont basées sur le même principe. Les constituants des extraits purifiés sont séparés par partage préférentiel entre deux phases liquides, en chromatographie sur papier et en couche mince, entre une phase liquide et une phase gazeuse, en chromatographie gaz-liquide. Ces phases sont choisies en fonction des groupes chimiques recherchés. Après séparation, les constituants du groupe sont révélés soit à l'aide de réactions chimiques,

biochimiques ou photochimiques pour la chromatographie sur papier ou en couche mince, soit à l'aide de détecteurs électroniques ou électro-chimiques, pour la chromatographie gaz-liquide. L'identité des différents composés révélés ou détectés est donnée par le relevé de leurs coordonnées sur les chromatogrammes ou de leur temps de rétention.

*La chromatographie sur papier* est utilisée couramment pour la détection et l'identification des composés organo-chlorés et organo-phosphorés et de leurs produits de métabolisation, des dithiocarbamates et de différents herbicides. De nombreux procédés ont été décrits notamment par *Eichenberger et Gay* (1960), *Mills* (1959, 1961), *Onley et Mills* (1962), *Mills et al.* (1963), *Getz* (1962), *Getz et Friedman* (1963), *Mc Kinley et al.* (1959, 1960, 1962), qui permettent de déceler les résidus de ces composés dans les fruits, les légumes, le lait, les œufs et différentes matières grasses d'origine animale et végétale, avec une limite de sensibilité de l'ordre de 0,1 ppm.

L'usage de *la chromatographie en couche mince* pour la recherche des résidus de pesticides est plus récent. *Bäumler et Rippstein* (1961) et *Walker et Beroza* (1963) ont montré que la technique était applicable à la détection et l'identification d'un grand nombre de pesticides appartenant à différents groupes chimiques. Plusieurs auteurs, parmi lesquels *Blinn et Gunther* (1963) et *Conkin* (1964), l'ont adaptée à la recherche de certains pesticides organo-phosphorés, soufrés et nitrés dans divers substrats végétaux. Enfin, *Kovacs* (1963, 1964) et *Morley et Chiba* (1964) en ont montré l'intérêt pour les laboratoires de contrôle, en mettant au point des procédés permettant de déceler et d'identifier rapidement les résidus de pesticides organo-chlorés et phosphorés dans les extraits végétaux.

L'emploi de *la chromatographie gaz-liquide* est courant pour la recherche des composés organo-chlorés et soufrés, mais n'en est encore qu'à ses débuts pour ce qui concerne les composés organo-phosphorés. En effet, il s'est avéré, depuis plusieurs années, que les détecteurs à capture d'électrons convenaient parfaitement pour la détection des composés organo-chlorés, et que la micro-coulométrie permettait, à l'aide d'un choix approprié de cellules de titration, de capter les composés organo-chlorés et soufrés. Les procédés mis au point par *Watts et Klein* (1962), *Burke et Johnson* (1962), *Eidelmann* (1963), *Mills et al.* (1963), *Minyard et Jackson* (1963), *Onley* (1964), *Burke et Giuffrida* (1964) et *Mc Cully et Mc Kinley* (1964) sont basés sur l'emploi de l'un ou l'autre de ces détecteurs. Ils permettent de déceler la présence des résidus de pesticides organo-chlorés et soufrés dans les fruits, les légumes, le lait, le beurre, les huiles, les matières grasses et les aliments pour animaux, avec une limite de sensibilité pouvant atteindre 0,001 ppm. Par contre, ce n'est que tout récemment qu'on a pu déceler les résidus d'esters phosphoriques et thiophosphoriques par chromatographie gaz-liquide avec un seuil de sensibilité répondant aux besoins de la recherche et du contrôle. *Giuffrida* (1964) et *Giuffrida et Ives* (1964) ont mis au point, à cet effet, un détecteur à ionisation de flamme dont l'électrode est

enrobée dans un film de sel de sodium fondu. Ce système de détection a été dénommé par les auteurs précités «sodium thermionic».

Enfin, *l'électrophorèse* sur extraits d'organes animaux est une technique sélective qui s'avère intéressante pour la recherche et l'identification des esters phosphoriques et thiophosphoriques. Le procédé de *Bruaux* et al. (1964), qui est adapté à la recherche de ces composés dans les fruits et les légumes, est basé sur la séparation, par électrophorèse en gel de gélose, des estérases carboxyliques d'extraits de rein, de rate, de thyroïde ou de testicule de bovidés auxquels on incorpore un extrait des échantillons à analyser. Les zones d'estérases sont révélées à l'aide de réactifs chromogéniques. La présence, dans les extraits, de résidus d'esters phosphoriques ou thiophosphoriques se marque par une inhibition totale ou partielle de l'une ou de plusieurs de ces zones; la spécificité des effets inhibiteurs est utilisée comme moyen d'identification individuelle des composés recherchés.

En pratique, comme les laboratoires de contrôle disposent habituellement de délais très courts de travail, ils doivent souvent limiter leurs investigations à la recherche des résidus les plus probables et les plus toxiques. En général, les échantillons sont soumis, en séries, à plusieurs tests de détection judicieusement choisis et standardisés en vue d'obtenir le maximum de renseignements en un temps limité. Parmi les techniques les plus fréquemment utilisées, on relève *les bio-essais, la chromatographie sur papier ou en couche mince et gaz-liquide.*

#### **IV. Teneurs en résidus des denrées offertes à la consommation**

Malgré les nombreux procédés d'analyse dont on dispose, le contrôle des résidus dans les denrées offertes à la consommation est encore fort limité. A notre connaissance, des contrôles sont exercés, sur grande échelle, aux Etats-Unis, au Canada, aux Pays-Bas et en U.R.S.S. et, sur moins grande échelle, dans un petit nombre d'autres pays, parmi lesquels se range la Suisse, mais la plupart des états semblent ignorer quelle est l'importance des résidus de pesticides dans leurs denrées alimentaires. Par ailleurs, même dans les pays où des contrôles intenses sont exercés, on ne peut encore que se faire une idée approximative de l'état de la question. En effet, les échantillons soumis au contrôle sont souvent prélevés sur la base de présomptions de fraudes ou de contaminations par des pesticides déterminés et ne sont pas nécessairement représentatifs de l'ensemble des traitements phytosanitaires appliqués. Il s'ensuit que les résultats obtenus illustrent souvent un aspect partiel de la situation alimentaire et ne peuvent être généralisés à tout le bilan alimentaire d'un pays. Les rapports qui ont été communiqués à ce sujet, et dont nous examinerons brièvement le contenu, en témoignent.

Aux Etats-Unis, la Food and Drug Administration a analysé, au cours de l'année 1959/60, 2092 échantillons de denrées prélevées sur les marchés. Parmi

ceux-ci, 154, soit 7,4%, contenaient des résidus en doses supérieures aux limites de tolérances. La même administration a procédé, en 1960, à 60 saisies totalisant 1249 tonnes de denrées agricoles brutes et portant, pour la plupart, sur des aïrelles adultérées par des résidus d'aminotriazole et de la pulpe de pommes contenant des résidus de DDT en doses dépassant les limites de tolérances. Durant l'année 1961, les saisies ont porté sur 349 tonnes de grains falsifiés par des semences traitées par des fongicides mercuriques, de légumes présentant des résidus de parathion, de toxaphène et de DDT en doses excessives, et d'arachides recelant du DDT (*Durham* 1963).

En Californie, 1848 échantillons de denrées agricoles ont été analysés en 1958 par le département de l'Agriculture de l'Etat, 1748 en 1959 et 2166 en 1960 (California State Department of Agriculture 1961). La proportion des échantillons qui contenaient des résidus en doses dépassant les limites de tolérances s'élevait à 8,3% pour l'année 1958, à 8,8% pour l'année 1959 et à 6,5% pour l'année 1960. Le rapport relatif à ces contrôles mentionne que les résultats obtenus ne sont pas représentatifs de la valeur réelle des résidus entâchant l'alimentation en Californie, car les échantillons examinés avaient été prélevés uniquement sur la base d'indications présumant de la présence de résidus, à la suite de certains traitements antiparasitaires.

La situation présentée par le lait et les produits laitiers apparaît, néanmoins, plus précise. Les enquêtes menées à ce sujet par la Food and Drug Administration remontent à 1955. Au cours des années 1960-1962, une sous-commission technique de la Commission des Industries Laitières des Etats-Unis a fait procéder à l'analyse de 35.548 échantillons de produits laitiers de tous genres provenant de différentes régions du pays. Selon le rapport de *Henderson* (1965), 61,6% des échantillons contenaient des résidus en doses décelables par chromatographie sur papier, mais inférieures à 2,5 ppm, et 1,6% en quantités supérieures à 2,5 ppm, ces teneurs étant exprimées non pas en fonction du poids brut, mais en fonction du poids de matière grasse des échantillons. Les résidus présents en doses supérieures à 2,5 ppm – ce qui correspond à 0,1 ppm dans le cas du lait entier, dont le titre en matière grasse est de 35 g par litre – se rapportaient à des échantillons de lait entier naturel, évaporé ou chocolaté, de beurre, de graisse anhydre, de fromage Cheddar et de différentes crèmes glacées et autres. Les résidus étaient constitués essentiellement de DDT et de DDE; un certain nombre d'échantillons contenaient, cependant, du lindane, du DDD, du méthoxychlor et d'autres résidus.

D'autres contrôles ont porté sur des mets complets prêts à être consommés. En 1954, *Walker* et al. (1954) concluaient, en se basant sur l'examen de 25 plats provenant de divers restaurants, que l'absorption quotidienne moyenne de DDT et de DDE était de 0,184 mg pour l'adulte. Ces résultats ont été confirmés ultérieurement par *Hayes* et al. (1956), qui ont estimé, en analysant 16 repas provenant d'une institution pénitentiaire, à 0,202 mg l'ingestion quotidienne

moyenne de DDT et DDE par l'adulte. *Hayes* et al. (1958) ont, en outre, démontré que l'apport de DDT et DDE provenait essentiellement de la viande et des matières grasses, car les repas exempts de ces denrées contenaient très peu de DDT et de DDE. Des valeurs similaires ont été obtenues par *Durham* et al. (1961) sur des mets d'hôpitaux en Alaska. Par contre, les mêmes auteurs n'ont pas décelé de DDT ni de DDE dans la nourriture des Esquimaux, à l'exception de doses de l'ordre de 1 ppm dans la chair de chouettes.

En 1961 et en 1962, la Food and Drug Administration a procédé à la détection et au dosage des résidus de pesticides dans un régime alimentaire préconisé par le « Plan des revenus modiques » pour garçons âgés de 19 ans (*Fischbach* 1962). L'Américain de cet âge consomme en moyenne 3,76 kg de nourriture par jour, comprenant approximativement 35% de liquides, tandis que l'adulte d'âge moyen n'en consomme que 2,2 kg. Les 82 aliments et boissons composant le régime préconisé furent acquis dans des « super-marchés » de Washington, Baltimore, Atlanta, Minneapolis et San Francisco; les repas furent préparés par des diététiciens professionnels et réduits ensuite en purée, afin de permettre le prélèvement d'échantillons homogènes pour les analyses. Sur un total de 38 échantillons de ce régime, soumis à la recherche des résidus de pesticides organochlorés par chromatographie sur papier, 27 accusaient la présence de DDT, 20 de lindane, 16 de DDD, 14 de DDE, 7 de dieldrin, 6 d'heptachlor-époxyde, 5 de kelthane et 2 de chlordane. Les doses de chacun de ces produits étaient, néanmoins, très faibles; elles se rangeaient entre 0,002 et 0,02 ppm, à l'exception de deux valeurs relatives à la dieldrin qui atteignaient respectivement 0,050 et 0,075 ppm. En se basant sur les valeurs maxima retrouvées, on peut assumer que l'Américain moyen de 19 ans absorbait quotidiennement, en 1961 et 1962, des doses de DDT et DDE ne dépassant pas 0,112 mg, soit une quantité de ces produits nettement inférieure à celles qu'accusaient, quelques années auparavant, les repas de restaurants et d'institutions analysés par les auteurs précités.

Au Canada, le Food and Drug Directorate du Département de la Santé Publique procède à un contrôle d'environ 2000 échantillons par an (*Swackhamer* 1961). En 1960, sur un total de 1319 échantillons examinés, incluant des fruits, des légumes, des produits laitiers et de la viande, 811, soit 61,5%, contenaient des résidus de pesticides en doses décelables et 26, soit 1,99%, en doses supérieures aux limites de tolérances. Les pesticides les plus fréquents étaient le DDT et l'arsenic. Ici aussi, le rapport signale que les résultats mentionnés ne peuvent être considérés comme représentatifs de la teneur en résidus de pesticides de l'alimentation canadienne, étant donné que les échantillons avaient été prélevés essentiellement dans des lots susceptibles de contenir des résidus. En 1963 et 1964, 500 échantillons de fruits et de légumes furent soumis à la recherche des résidus de parathion, parathion méthyl et EPN, et de leurs produits de métabolisation (*Coffin* 1964). Environ 1% des échantillons contenait des résidus de

parathion en doses décelables, mais inférieures à la limite de tolérance de 1 ppm. Aucune trace de parathion methyl ou de EPN ne fut relevée.

Aux Pays-Bas, le contrôle des résidus de pesticides dans les denrées alimentaires porte sur plusieurs centaines d'échantillons par an. D'après *Hardon* (1960), la situation du marché est satisfaisante; il est rare de trouver des résidus en doses excessives. En 1956, 881 échantillons de fruits et de légumes présentés sur les marchés néerlandais ont été examinés au point de vue de leur teneur en résidus de parathion; 84% en étaient exempts, 5% en contenaient des traces, 10% des quantités variant de 0,01 à 0,1 ppm et 1% des quantités variant de 0,1 à 1,0 ppm.

En Suisse, au cours des années 1956 à 1959, le laboratoire de la ville de Zurich (*Eichenberger* 1960) a procédé à la recherche des résidus de DDT dans les cerises, de parathion dans les prunes, les raisins, les pommes et les fraises et de divers insecticides systémiques dans les fraises. Environ 450 échantillons furent prélevés sur les marchés et examinés. Aucun échantillon de cerises ne contenait de résidus de DDT en doses supérieures à 5 ppm, et 65% en étaient exempts. Des résidus de parathion furent retrouvés en doses généralement inférieures à 0,2 ppm sur un petit nombre d'échantillons de prunes, de raisins, de pommes et de fraises. En 1961, la recherche des résidus de pesticides a porté sur 411 échantillons de fruits, de légumes, de lait, de farine, de riz, d'aliments pour enfants et d'huile d'olive; en 1962, sur 528 échantillons; en 1963, sur 452 échantillons; en 1964, sur 454 échantillons (*Chemisches Laboratorium der Stadt Zürich* 1961, 1962, 1963, 1964). Selon l'année, 17 à 38% des échantillons contenaient des résidus en doses décelables et 1 à 5% en doses supérieures aux limites de tolérances. Des contrôles ont, en outre, été effectués depuis peu par les laboratoires des cantons de Genève et de Bâle.

En Grande-Bretagne, des sondages ont été effectués récemment en vue de déterminer les teneurs en DDT et DDE, dieldrin et HCH du beurre, du lait, de certaines graisses animales et des pommes de terre (*Ministry of Agriculture, Fisheries and Food* 1964). Plusieurs centaines d'échantillons ont été examinés. Dans le beurre, les résidus variaient entre 0,00 et 1,2 ppm pour l'ensemble du DDT et du DDE, entre 0,00 et 0,24 ppm pour le HCH et entre 0,00 et 0,20 ppm pour la dieldrin. Dans le lait, les résidus de DDT et DDE, et de HCH se rangeaient entre 0,00 et 0,01 ppm, ceux de dieldrin entre 0,00 et 0,005 ppm. Dans la graisse de rein de mouton, les résidus de dieldrin atteignaient, dans certains cas, 10 ppm et ceux de HCH 4,7 ppm. Par contre, les pommes de terre n'en recelaient que de faibles doses ne dépassant pas 0,62 ppm pour le DDT et le DDE, 0,019 ppm pour le HCH et 0,09 ppm pour la dieldrin. Si l'on prend comme base de calcul les valeurs moyennes de ces résidus, on peut estimer que la consommation quotidienne moyenne, par tête d'habitant, de l'ensemble des denrées mentionnées est la source d'un apport quotidien de résidus de pesticides organo-chlorés de l'ordre du centième de mg.

Bien que l'examen de ces rapports ne nous permette pas de généraliser, il ressort que les teneurs en résidus de pesticides des aliments, au moment de la consommation, sont, dans la plupart des cas examinés, inférieures aux limites de tolérances fixées. Nous ne pouvons que nous en réjouir. Cependant, on constate que les résidus de certains pesticides organo-chlorés se retrouvent fréquemment dans tous les types d'aliments et, en particulier, dans les aliments de base, tels que le lait et les produits laitiers, alors que, en raison de l'importance de la consommation de ces aliments, notamment par les enfants et les malades, il est recommandé qu'ils soient exempts de résidus (*FAO/OMS* 1963, *Conseil de l'Europe* 1963). La fréquence des résidus de DDT et DDE, de HCH et de dieldrin dans l'alimentation est d'ailleurs confirmée par l'apparition généralisée de ces composés dans les tissus adipeux humains (*Maier-Bode* 1960, *Durham* et al. 1961, *Read et Mc Kinley* 1961, *Hayes* et al. 1963, *Hunter* et al. 1963, *Dale et Quinby* 1963, *Wassermann* et al. 1964).

Cette situation, qui pourrait paraître a priori alarmante, ne semble heureusement pas avoir entraîné de conséquences fâcheuses pour la santé humaine. Toutefois, il n'est pas exclu que les progrès futurs de la recherche, quant à la détection des résidus de pesticides et de leurs effets physiopathologiques, ne révèlent des phénomènes inconnus à ce jour. Cette perspective doit incliner à la prudence et inciter les organismes gouvernementaux à encourager les recherches dans ce domaine et à mettre en œuvre des moyens qui permettent d'amplifier le contrôle des denrées alimentaires.

#### Références bibliographiques

- Bäumler J. und Rippstein S.*: Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Insektiziden. *Helv. Chem. Acta* 44, 1162 (1961).
- Blinn R. C. and Gunther F. A.*: Procedure for distinguishing compound OW-9 residues from Aramite on citrus fruits. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* 46, 204 (1963).
- Bruaux P., Dormal S. et Thomas G.*: Détection et identification des résidus de pesticides organo-phosphorés par électrophorèse en gélose. *Ann. Biol. Clin.* 22, 375 (1964).
- Burke J. and Giuffrida L.*: Investigations of electron capture gas chromatography for the analysis of multiple chlorinated pesticide residues in vegetables. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* 47, 326 (1964).
- Burke J. and Johnson L.*: Investigations in the use of the microcoulometric gas chromatograph for pesticide residue analysis. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* 45, 348 (1962).
- California State Department of Agriculture, Bureau of Chemistry*: Annual Report, Sacramento, California, 1961.
- Chemisches Laboratorium der Stadt Zürich*: Geschäftsbericht des Stadtrates 1961, 1962, 1963, 1964.
- Coffin D. E.*: Residues of parathion, methyl parathion, EPN and their oxons in Canadian fruits and vegetables. *Residue Reviews* 7, 61 (1964).
- Conkin R. A.*: Thin-layer chromatography in the determination of pesticide residues. *Residue Reviews* 6, 136 (1964).
- Conseil de l'Europe, Accord partiel, Comité de Santé Publique, Groupe de Travail sur l'Emploi des Substances Toxiques en Agriculture*, 5e session, document PA/SP/T (63), mai 1963.
- Dale W. E. and Quinby G. E.*: Chlorinated insecticides in the body fat of people in the United States. *Science* 142, 3592, 593 (1963).
- Durham W. F.*: Pesticide residues in foods in relation to human health. *Residue Reviews* 4, 33 (1963).
- Durham W. F., Armstrong J. F., Upholt W. M. and Heller C.*: Insecticide content of diet and body fat of Alaskan natives. *Science* 134, 1880 (1961).

- Eichenberger J.*: Über den Einsatz von chemischen Pflanzenschutzmitteln im Obstbau und die Frage der Bedeutung der Spritzrückstände für die menschliche Gesundheit. *Schweizer. Zeitschr. Obst- und Weinbau* 69, 117, 139, 162, 179 (1960).
- Eichenberger J. und Gay L.*: Zur semiquantitativen Bestimmung von Rückständen systemischer Insektizide in Pflanzenmaterial mit Hilfe der Papierchromatographie. *Mitteil. Gebiete Lebensmittelunters. Hygiene* 51, 423 (1960).
- Eidelman M.*: Determination of microquantities of some chlorinated organic pesticide residues in edible fats and oils. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* 46, 182 (1963).
- FAO/OMS*: Rapport de réunion FAO n° PL/1963/13 du Comité FAO des Produits antiparasitaires en Agriculture et du Comité OMS d'Experts des Résidus de Pesticides sur «L'Evaluation de la toxicité des résidus de pesticides dans les denrées alimentaires», Genève 30 sept.–7 oct. 1963.
- FAO*: Rapport n° PL/1963/16 de la première réunion du Groupe de Travail FAO des Résidus de Produits antiparasitaires. Rome 16–21 déc. 1963.
- Fischbach H.*: Problems stemming from the refinement of analytical methods. Proc. of a symposium on new developments and problems in the use of pesticides. Food Protection Committee, Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences, National Research Council, Washington D. C., publication 1082, 55 (1962).
- Frehse H.*: Special features in the analysis of pesticide residues: residue analysis and food control. *Residue Reviews* 5, 1 (1964).
- Getz M. E.*: Six phosphate pesticide residue in green leafy vegetables: cleanup method and paper chromatographic identification. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* 45, 393 (1962).
- Getz M. E. and Friedman S. J.*: Organophosphate pesticide residues: a spot test for detecting cholinesterase inhibitors. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* 46, 707 (1963).
- Giuffrida L.*: A flame ionization detector highly selective and sensitive to phosphorus. A sodium thermionic detector. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* 47, 652 (1964).
- Giuffrida L. and Ives F.*: Investigation of two gas chromatographic techniques for the determination of organo-phosphate pesticide residues. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* 47, 1112 (1964).
- Gunther F. A.*: Analytical evaluation of residues of pesticide chemicals in foods and feeds: a review of modern concepts, practices and problems. Communication presented at the XVIIth Int. Congress of Pure and Applied Chemistry, Munich, sept. 4, 1959.
- Gunther F. A.*: Analytical evaluation of residues of specific chemical additives in foods. Communication presented at the symposium on «Instrumental methods for the analysis of food additives», East-Lansing, Michigan, march 24, 1960.
- Gunther F. A.*: Problems of residue determination. Communication presented before the Plant Science Division, Asilomar Conference University of California Agricultural Extension Service, jan. 17, 1961.
- Gunther F. A.*: Instrumentation in pesticide residue determination. *Advances in pest control research*. Edited by Metcalf, vol V, p. 191, New York-London: Interscience 1962
- Gunther F. A. and Blinn R. C.*: Analysis of insecticides and acaricides. New York-London: Interscience 1955.
- Hardon H. J.*: Pestiziderückstände in Marktmustern von Gemüse und Obst. *Verhandl. des IV. Int. Pflanzenschutz-Kongresses*. Hamburg, Bd. 2, 1671 (1960).
- Hayes W. J. Jr., Durham W. F. and Cueto C. Jr.*: The effect of known repeated oral doses of chlorophenothane (DDT) in man. *J. Amer. Med. Assoc.* 162, 890 (1956).
- Hayes W. J. Jr., Quinby G. E., Walker K. C., Elliott J. W. and Upholt W. M.*: Storage of DDT and DDE in people with different degrees of exposure to DDT. *Amer. Med. Assoc. Arch. Ind. Health* 18, 398 (1958).
- Hayes W. J. Jr., Dale W. E. and Lebreton R.*: Storage of insecticides in French people. *Nature* 199, 4899, 1189 (1963).
- Henderson J. L.*: Insecticide residues in milk and dairy products. *Residue Reviews* 8, 74 (1965).
- Hunter C. G., Robinson J. and Richardson A.*: Chlorinated insecticide content of human body fat in Southern England. *Brit. Med. J.* 1, 221 (1963).
- Kovacs M. F. Jr.*: Thin-layer chromatography for chlorinated pesticide analysis. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* 46, 884 (1963).
- Kovacs M. F. Jr.*: Thin-layer chromatography for organo-thiophosphate pesticide residue determination. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* 47, 1097 (1964).
- Laws E. Q. and Webley D. J.*: The determination of organo-phosphorus insecticides in vegetables. *Analyst* 86, 249 (1961).
- Lykken L.*: Important considerations in collecting and preparing crop samples for residue analysis. *Residue Reviews* 3, 19 (1963).
- Mac Dougall D.*: The use of fluorometric measurements for the determination of pesticide residues. *Residue Reviews* 1, 24 (1962).
- Maier-Bode H.*: DDT im Körperfett des Menschen. *Med. Exp. (Basel)* 1, 146 (1960).

- Mc Cully K. A. and Mc Kinley W. P.*: Determination of chlorinated pesticide residues in fat by electron capture gas chromatography. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* **47**, 652 (1964).
- Mc Kinley W. P. and Graham S. I.*: Identification of pesticide residues in extracts of fruits, vegetables and animal fats. Rapid qualitative chemical tests for captan and methoxychlor. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* **43**, 89 (1960).
- Mc Kinley W. P. and Grice H. C.*: Identification of pesticide residues in extracts of fruits, vegetables and animal fats. Metabolites of chlorinated hydrocarbon pesticides in animal depot fat. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* **43**, 725 (1960).
- Mc Kinley W. P. and Mahon J. H.*: Identification of pesticide residues in extracts of fruit, vegetables and animal fats. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* **42**, 725 (1959).
- Mc Kinley W. P. and Read S. I.*: Esterase inhibition technique for the detection of organophosphorus pesticides. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* **45**, 467 (1962).
- Müller E. J., Granhall I. and Cook J. W.*: Collaborative studies in the analysis of pesticide residues. *Residue Reviews* **7**, 114 (1964).
- Mills P. A.*: Detection and semiquantitative estimation of chlorinated organic pesticide residues in foods by paper chromatography. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* **42**, 734 (1959).
- Mills P. A.*: Collaborative study of certain chlorinated organic pesticides in dairy products. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* **44**, 171 (1961).
- Mills P. A., Onley J. H. and Gaither R. A.*: Rapid method for chlorinated pesticide residues in nonfatty foods. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* **46**, 182 (1963).
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food*: Review of the persistent organochlorine pesticides. Report by the Advisory Committee on Poisonous Substances used in Agriculture and Food Storage. London, Her Majesty's Stationary Office 1964.
- Minyard J. P. and Jackson E. R.*: Pesticide residues in animal feeds. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* **46**, 843 (1963).
- Morley H. V. and Chiba M.*: Thin-layer chromatography for chlorinated pesticide residue analysis without cleanup. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* **47**, 306 (1964).
- Onley J. H.*: Rapid method for chlorinated pesticide residues in fluid milk. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* **47**, 317 (1964).
- Onley J. H. and P. A. Mills*: Detection and estimation of chlorinated pesticides in eggs. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* **45**, 983 (1962).
- Phillips W. F., Bowman M. C. and Schultheisz R. J.*: Estimation of insecticide residues in foods through parallel screening methods. *J. Agric. Food Chem.* **10**, 484 (1962).
- Read S. I. and Mc Kinley W. P.*: DDT and DDE content of human fat: survey. *Arch. Envir. Health* **3**, 209 (1961).
- Schechter M.*: Comments on the pesticide residue situation. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* **46**, 1063 (1963).
- Swackhamer A. B.*: Operation of pesticide program in Canadian Food and Drug Directorate. Working paper presented at the joint FAO/WHO meeting on «Principles governing consumer safety in relation to pesticide residues». Rome, 9-16. oct. 1961.
- Thornburg W. W.*: Extraction and cleanup procedures. Analytical methods for pesticides, plant growth regulators and food additives. Edited by G. Zweig, vol. I, p. 531, New York-London: Academic Press 1963.
- Walker K. C. and Beroza M.*: Thin-layer chromatography for insecticide analysis. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* **46**, 250 (1963).
- Walker K. C., Goette M. B. and Batchelor G. S.*: Dichlorodiphenyltrichlorethane and dichlorodiphenyldichlorethylene content of prepared meals. *J. Agric. Food Chem.* **2**, 1034 (1954).
- Wassermann M., Has N., Glazer M., Graus L., Iodfat I. et Nabat R.*: Problèmes de la médecine du travail agricole en Israël. Communication présentée au 1er Congrès National de Médecine du Travail, Tel-Aviv, nov. 1964.
- Watts J. O. and Klein A. K.*: Determination of chlorinated pesticide residues by electron-capture gas chromatography. *J. Assoc. Offic. Agric. Chemists* **45**, 102 (1962).
- Zweig G.*: Analytical methods for pesticides, plant growth regulators and food additives. Vol. I, II, III and IV, New York-London: Academic Press 1963-64.

Adresse de l'auteur: Mme Dr *S. Dormal-van den Bruel*, Attaché de Recherches. Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (IRSIA), Bruxelles 5.

A partir du 1-IX-65: 12, av. de Broqueville, Bruxelles 15, c/o Communauté Economique Européenne, Commission, Direction Générale de l'Agriculture.