

Faculté des bioingénieurs

Détection de pesticides par spectroscopie Raman et mise en place d'une méthode de prélèvement de pesticides pulvérisés sur des feuilles d'épinard

Auteur : Minh Phi VO

Promoteurs : Dr. Ir. Vincent Baeten (UCL), Dr. Juan Antonio Fernández Pierna (CRA-W)

Lecteurs : Prof. Dr. Ir. Cathy Debier (UCL), Prof. Dr. Ir. Xavier Draye (UCL)

Année académique 2023-2024

Mémoire de fin d'études présenté en vue de l'obtention du diplôme de Bioingénieur : Master [120] : bioingénieur en sciences agronomiques, orientation Human health.

Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au Dr. Vincent Baeten, promoteur de ce mémoire, pour m'avoir fait découvrir le sujet de ce mémoire et pour m'avoir permis de travailler au CRA-W. Je voudrais également le remercier d'avoir pris le temps, malgré son emploi du temps chargé, de superviser et d'examiner mon travail.

Je remercie également le Dr Juan Antonio Fernández Pierna, copromoteur de ce mémoire, d'avoir été présent tout le long de l'année pour répondre à mes questions et superviser mon travail. Ses connaissances en matière de recherche et en analyse chimométrique m'ont grandement aidé à structurer chaque partie de mon mémoire. Je lui suis également reconnaissant d'avoir consacré du temps à la relecture et à la correction de ce mémoire.

Un grand merci à Quentin Arnould pour m'avoir montré comment manipuler les instruments spectroscopiques du CRA-W et pour ses précieux conseils qui m'ont beaucoup aidé à ajuster mes analyses. Je le remercie également pour m'avoir partagé ses connaissances en codage Python m'initiant ainsi au monde du code.

Je remercie également à Delphine Delhotte pour ses réponses à mes questions, sa gentillesse et pour l'ambiance agréable qu'elle apportait au laboratoire.

Je voudrais également remercier Nicaise Kayoka Mukendi pour son aide dans l'interprétation de mes résultats et pour m'avoir guidé dans le choix des prétraitements de mes données spectrales.

J'exprime également ma gratitude à Pierre Hucorne pour m'avoir fourni les échantillons de pesticides de cette étude et pour ses éclaircissements sur certains aspects de l'utilisation des pesticides.

Je remercie le professeur Cathy Debier et le professeur Xavier Draye d'avoir accepté de faire partie du jury de mon mémoire de master, d'avoir lu et évalué mon travail.

Enfin, je tiens à remercier toute l'équipe du CRA-W pour l'ambiance conviviale qui règne au quotidien dans le centre et pour leur disponibilité.

Table des matières

Remerciements	1
Introduction.....	4
Chapitre 1 : Etat de l'art	5
1. Les pesticides.....	5
1.1. Qu'est-ce qu'un pesticide ?.....	5
1.1.1. Rôle.....	5
1.1.2. Mode d'action	5
1.1.3. Composition	5
1.1.4. Classement des pesticides.....	6
1.1.5. La formulation	8
1.2. L'histoire des pesticides après 1945	9
1.3. Utilisation de pesticides	10
1.3.1. Dans le monde.....	10
1.3.2. En Belgique	12
1.4. Problématique des pesticides	12
1.4.1. L'impact des pesticides sur l'environnement.....	12
1.4.2. L'impact des pesticides sur la santé	13
1.5. Les résidus de pesticides dans l'alimentation	14
2. Méthodes de détection des pesticides	15
2.1. Méthode de détection conventionnelle	15
2.2. Méthodes de détection alternatives.....	16
2.2.1. Interactions entre la lumière et la matière	17
2.2.2. Spectroscopie vibrationnelle : la spectroscopie Raman	22
3. Traitements des données spectrales	29
3.1. Prétraitement	29
3.1.1. Algorithme de Savitzky-Golay	29
3.1.2. Standard Normal Variate (SNV)	31
3.2. Analyse multivariée : Analyse en composantes principales (PCA)	31
3.3. Analyses statistiques	33
3.3.1. Statistiques sur la répétabilité	33
3.3.2. Statistiques sur la reproductibilité	33
Chapitre 2 : Présentation de l'étude	35
4. Description de l'étude	35
5. Matériel	35

5.1.	Echantillons de pesticides	35
5.2.	Présentation des spectromètres Raman.....	37
5.2.1.	Spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny)	37
5.2.2.	Microscope Raman Senterra II	38
5.2.3.	Présentation des paramètres d'analyse utilisés	39
5.3.	Présentation du support d'échantillonnage	40
5.3.1.	Support standard.....	40
5.3.2.	Support végétal	40
6.	Méthode.....	41
6.1.	Mode opératoire de l'expérience	41
6.1.1.	Etape 1 : Réponse Raman du matériel expérimental	41
6.1.2.	Etape 2 : Détection de pesticides purs par spectroscopie Raman.....	43
6.1.3.	Etape 3 : Détection de pesticides dilués par spectroscopie Raman	45
6.1.4.	Etape 4 : Mise en place d'une méthode de prélèvement de pesticides sur des feuilles d'épinard	47
6.2.	Reproductibilité et répétabilité de la méthode d'analyse	52
6.2.1.	Répétabilité	52
6.2.2.	Reproductibilité.....	52
7.	Résultats et discussions.....	52
7.1.	Répétabilité et reproductibilité de la méthode d'analyse	53
7.1.1.	Répétabilité	53
7.1.2.	Reproductibilité.....	56
7.2.	Résultats de l'étape 1 : Réponse Raman du matériel expérimental.....	58
7.3.	Résultats de l'étape 2 : Détection de pesticides purs par spectroscopie Raman	59
7.3.1.	Les spectres des cinq pesticides analysés	59
7.3.2.	Interprétation des spectres des différents pesticides	61
7.3.3.	Analyse exploratoire des spectres des différents pesticides	66
7.4.	Résultats de l'étape 3 : Détection de pesticides dilués par spectroscopie Raman	70
7.5.	Résultats de l'étape 4 : Mise en place d'une méthode de prélèvement de pesticides sur des feuilles d'épinard	73
8.	Conclusion et perspectives.....	79
9.	Annexes	81
10.	Bibliographie	90

Introduction

L'utilisation des pesticides a considérablement augmenté de nos jours. Leur application sur les cultures pose de nombreux problèmes environnementaux. De plus, des résidus de pesticides peuvent se retrouver dans les denrées alimentaires commercialisées, entraînant des effets néfastes sur la santé à long terme. Bien que la quantité de résidus sur les aliments soit contrôlée et surveillée selon des normes de sécurité, la surveillance repose sur des méthodes de détection chimique précises mais présentant des inconvénients, tels que des délais d'analyse prolongés, une préparation complexe des échantillons et des coûts élevés.

Parmi les nouvelles technologies de détection, la spectroscopie vibrationnelle apparaît comme une méthode prometteuse pour l'analyse des pesticides. Cette technique englobe un ensemble de méthodes exploitant les interactions entre la lumière et la matière pour analyser et identifier la structure des molécules d'intérêt. Les méthodes spectroscopiques infrarouges sont souvent associées à des traitements de données chimiométriques, permettant une analyse approfondie des données spectrales.

Ce travail se focalisera sur une technologie vibrationnelle en particulier, la spectroscopie Raman, qui repose sur le phénomène de diffusion Raman, permet d'identifier la structure chimique de certaines molécules. Ce rapport se divise en deux chapitres : l'état de l'art et la présentation de l'étude.

Le chapitre 1 de ce mémoire définira le cadre de l'étude et se divisera en trois sections : les pesticides, les méthodes de détection et le traitement des données. La première partie traitera du rôle des pesticides, de leur mode d'action, des différentes catégories de pesticides et de leur réglementation. La deuxième partie présentera les méthodes de détection, avec une explication détaillée de la spectroscopie Raman. La troisième partie abordera les méthodes chimiométriques utilisées pour le traitement des données spectrales.

Le chapitre 2 se concentrera sur l'expérience de ce mémoire, visant à évaluer la faisabilité de la spectroscopie Raman pour identifier différents pesticides appliqués sur des épinards. L'objectif de ce mémoire sera de tenter de répondre aux questions suivantes : La spectroscopie Raman permet-elle d'identifier différents pesticides à des concentrations pures ? Permet-elle de détecter de faibles doses de pesticides ? Quelle est la meilleure méthode pour prélever des pesticides appliqués sur des feuilles d'épinard ?

Chapitre 1 : Etat de l'art

1. Les pesticides

1.1. Qu'est-ce qu'un pesticide ?

1.1.1. Rôle

Les pesticides sont destinés à prévenir, dissuader, contrôler ou éliminer tous les organismes nuisibles ciblés. Les principaux ravageurs concernés sont les insectes, les champignons, les agents pathogènes des plantes, les bactéries et les animaux nuisibles. Les pesticides sont séparés en deux catégories selon leur domaine d'utilisation : les **produits phytopharmaceutiques à usage agricole** et les biocides à usage non agricole (Chabou et al., 2013; Tudi et al., 2021). Dans ce rapport, nous nous ne nous intéressons uniquement aux produits phytopharmaceutiques agricoles, que l'on appellera « pesticides ».

1.1.2. Mode d'action

Les pesticides ont différents modes d'action sur les ravageurs tels que l'altération du métabolisme (respiration, système nerveux, biosynthèse, division cellulaire, régulateur de croissance), la stimulation des réactions de défense de la plante ou l'action systémique (Leroux, 2003; Simon-Delso et al., 2014). Les pesticides peuvent être utilisés sur les cultures avant la récolte pour protéger les plantes des ravageurs ou après la récolte pour prolonger la durée de vie des cultures (Benzidane, 2018; Boland & Koomen, s. d.).

1.1.3. Composition

Un pesticide est un mélange de plusieurs composants :

- **Substances actives** : la substance active interagit biologiquement et présente une capacité à tuer, repousser ou contrôler l'organisme nuisible ciblé. Le nom de la substance active est une version abrégée du nom chimique complet car celui-ci est trop complexe à retenir en mémoire. Par exemple, le nom réel du « glyphosate » est le « N -(phosphonométhyl)glycine » (Boland & Koomen, s. d.; Chabou et al., 2013; Jacquet & Jouan, s. d.).
- **Adjuvants** : les adjuvants sont des additifs qui sont ajoutés à la substance active dans le but d'en améliorer les performances. Les adjuvants sont des substances neutres qui n'ont pas d'activité biologique sur les organismes nuisibles. Les adjuvants comprennent de nombreux produits tels que : solvants ; émulsifiants ; agents mouillants ; substances porteuses ; agents dispersants ; agents agglutinants ; agents colorants et synergistes (Boland & Koomen, s. d.; Chabou et al., 2013; Jacquet & Jouan, s. d.).

1.1.4. Classement des pesticides

Les pesticides peuvent être classés de deux manières, selon **l'organisme nuisible ciblé** ou selon la **composition chimique** du pesticide (Boland & Koomen, s. d.; Chabou et al., 2013).

Les pesticides classés selon leur **cible** sont divisés en plusieurs catégories distinctes (Tableau ci-dessous), les principales étant les **insecticides**, les **fongicides** et les **herbicides**. Bien que les pesticides ciblent les ravageurs, leurs actions peuvent entraîner des dommages à des organismes non ciblés (Boland & Koomen, s. d.; Calvet, 2005).

Tableau 1 : Classement des pesticides selon l'organisme nuisible ciblé

Catégorie du pesticide selon le nuisible ciblé	Activité
Fongicide	Elimine les moisissures et champignons
Herbicide	Tue ou inhibe la croissance des mauvaises herbes
Insecticide	Tue ou nuit aux insectes (par ex. aux pucerons)

Le classement selon la **composition chimique** du pesticide comprend trois catégories de pesticides : les composés **inorganiques**, les composés **organiques synthétisés** et les **biopesticides**. Des exemples de chacun de ces pesticides sont donnés ci-dessous (Boland & Koomen, s. d.) :

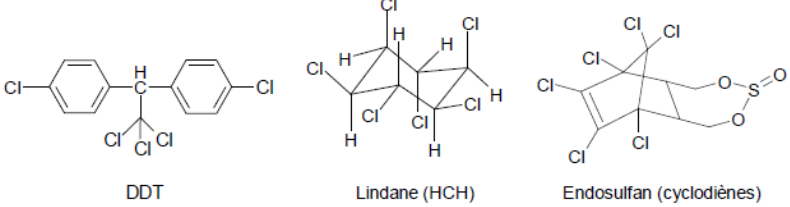
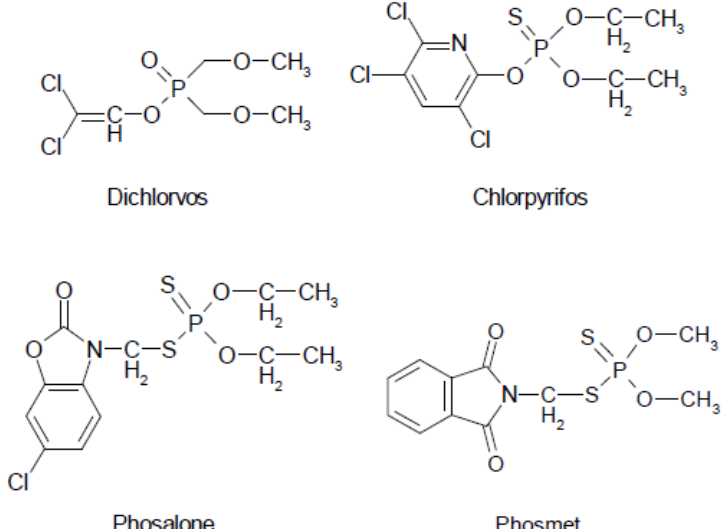
Tableau 2 : Classement des pesticides selon leur composition chimique

Catégorie du pesticide selon la composition chimique	Exemple
Les pesticides inorganiques	Le sulfure, l'arséniate de plomb, les mélanges de cuivre et de chaux, le borax et les chlorates, et les composés de mercure
Les pesticides organiques synthétisés (dérivés chimiques de produits pétroliers)	Les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes, les triazines, les urées substituées et les néonicotinoïdes
Les biopesticides	Les moisissures, les bactéries, les virus et les nématodes et les composés chimiques dérivés de plantes

Les **pesticides organiques synthétisés** sont les plus utilisés parmi ces trois catégories de pesticides. Les propriétés des principales familles chimiques ces pesticides organiques synthétisés sont brièvement décrites ci-dessous :

Tableau 3 : Pesticides organiques synthétisés

Famille chimique	Description
------------------	-------------

<p>Les organochlorés</p>	<p>Les organochlorés comprennent toutes les molécules contenant au moins une liaison carbone – chlore (C-Cl). Ces composés sont peu solubles dans l'eau et très solubles dans les solvants organiques.</p> <p>La plupart des organochlorés sont des insecticides.</p> <p>Les organochlorés comprennent : le DDT, le lindane, l'hexachlorocyclohexane (HCH) et les cyclodiènes (Chabou et al., 2013).</p> <div style="text-align: center;">  <p>DDT Lindane (HCH) Endosulfan (cyclodiènes)</p> </div> <p>Figure 1 : Exemple de composés organochlorés (Carrier, 2009)</p>
<p>Les organophosphorés</p>	<p>Les organophosphorés sont des molécules avec au moins un atome de phosphore lié à un carbone (Chabou et al., 2013). L'ensemble des produits de cette famille est issu de dérivés de l'acide phosphorique (Carrier, 2009).</p> <p>Les organophosphorés sont en majorité des insecticides et se distinguent en trois groupes :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Les dérivés aliphatiques avec le malathion et le dichlorvos. • Les dérivés phénylés avec le parathion et le chlorpyrifos qui ont un noyau phényl dans leur squelette chimique. • Les dérivés hétérocycliques comme l'endosulfan, la phosalone ou le phosmet qui ont des cycles avec des atomes d'oxygène, d'azote ou de soufre dans leur structure chimique (Carrier, 2009). <div style="text-align: center;">  <p>Dichlorvos Chlorpyrifos</p> <p>Phosalone Phosmet</p> </div> <p>Figure 2 : Exemple de composés organophosphorés (Carrier, 2009)</p>
<p>Les carbamates</p>	<p>Les carbamates sont des dérivés de l'acide carbamique. Ce sont des esters de l'acide méthylcarbamique. Parmi ces composés se trouve des molécules connues tels que : propoxur, carbaryl, bendiocarb et carbosulfan (Chabou et al., 2013). Les carbamates sont principalement utilisés comme insecticide.</p>

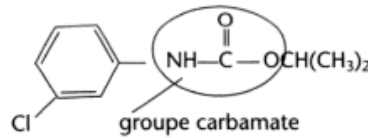


Figure 3 : Exemple de composé carbamate (Calvet, 2005)

Les pyréthriinoïdes

Les pyréthriinoïdes sont dérivés du pyrètre. Ce sont des esters cyclopropane-carboxylique très lipophiles, neutres, très volatils et chimiquement instables (Chabou et al., 2013). La plupart des pyréthriinoïdes sont des insecticides.

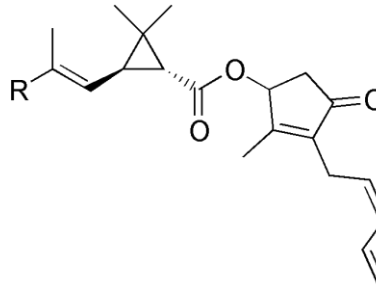


Figure 4 : Exemple de composé pyréthriinoïde

1.1.5. La formulation

Les pesticides présents sur le marché peuvent être différenciés en fonction de leur **formulation**. La formulation fait référence à la forme du pesticide mis sur le marché. Les pesticides peuvent changer de composition en fonction du processus de fabrication du produit, c'est-à-dire que des pesticides utilisant la même substance active ont une formulation différente parce que les adjuvants utilisés ne sont pas les mêmes (Boland & Koomen, s. d.).

Un autre critère permettant de différencier une formulation d'une autre est le type de forme de pesticide. Les formulations de pesticides peuvent être divisées en deux grandes catégories principales : les formulations **sèches/solides** et les formulations **mouillées/liquides**. Chacune de ces deux catégories comporte des sous-catégories qui précisent la forme solide ou liquide (Boland & Koomen, s. d.).

La teneur en matière active contenue dans la formulation est exprimée en « g/l » pour les formulations sèches/solides et en « % » pour les formulations mouillées/liquides. Les taux d'application sur les cultures sont exprimés en l/ha pour les formulations solides et en kg/ha pour les formulations liquides (Benzidane, 2018).

Le tableau 4 reprend des exemple de formulations **sèches/solides** (Boland & Koomen, s. d.) :

Tableau 4 : Exemples de formulations sèches/solides

Exemple	Principe	Avantage	Inconvénient
---------	----------	----------	--------------

Les poudres pour poudrage (DP)	La matière active est adsorbée sur un support poudreux.	L'utilisation d'eau n'est pas requise. Cela est utile pour les régions où l'eau n'est pas disponible facilement.	La poudre est sensible au vent. Cela entraîne l'utilisation d'une grande quantité de poudre pour que celle-ci soit efficace.
Les granulés (GR)	La matière active est contenue dans les granulés la libérant après leur application.	Utilisation simple et résistance au vent.	Cher et nécessite l'utilisation d'une grande quantité car les granulés contiennent un faible pourcentage de substance active

Les formulations **mouillées/liquides** sont plus fréquemment utilisées que les formulations solides. Elles consistent à mélanger la formulation à un volume d'eau et à pulvériser la solution sur la culture. La substance active reste sur la plante après le séchage de la pulvérisation. Le tableau 5 reprend des exemple de formulations mouillées/liquides (Boland & Koomen, s. d.) :

Tableau 5 : Exemple de formulations mouillées/liquides

Exemple	Principe	Avantage	Inconvénient
Les suspensions concentrées (SC)	Poudre qui, mélangée à de l'eau, reste en suspension grâce à des agents dispersant.	Faible quantité appliquée car ces poudres contiennent une forte dose de substance active.	Poudre sensible au vent lors de la préparation de la solution. Nécessite un mélange régulièrement pour éviter un dépôt de la poudre au fond du réservoir d'eau.
Les concentrations émulsionnables (EC)	Poudre formulée de manière qu'elle se dilue dans l'eau.	Pas d'apparition de dépôt au fond du réservoir.	Ces solutions sont dangereuses en raison de la quantité élevée de substance active contenue dedans.
Ultra Low Volume Liquids (ULV)	Pesticides sous forme liquide directement pulvérisable sans être dilués.	Ne nécessite pas de diluants (eau ou huile).	Potentiellement très toxique car forte concentration en matière active.

1.2. L'histoire des pesticides après 1945

La période 1945 désigne la période de l'essor des pesticides synthétiques organiques. La course à l'armement chimique durant les deux guerres mondiales a favorisé le développement rapide des pesticides. Les avancées technologiques ont permis de répondre à l'urgence de la crise alimentaire (Benzidane, 2018; Tudi et al., 2021).

- Les **insecticides** après 1945 :

Le développement de la chimie organique de synthèse a entraîné une utilisation accrue d'**insecticides** organiques synthétiques tels que les organochlorés, les organophosphorés, les

carbamates et les pyréthriinoïdes (Encyclopédie de l'Agora, s. d.). Les organochlorés ont été très utilisés entre 1940 et 1970 et ont fini par être interdit. Ils présentaient une faible toxicité aiguë pour l'homme mais persistaient longtemps dans l'environnement, les graisses et les végétaux. Après l'interdiction des organochlorés en raison de leur persistance environnementale, les organophosphorés ont pris leur place, bien que présentant une toxicité élevée pour l'homme. Les carbamates, puis les pyréthriinoïdes, ont ensuite émergé, ces derniers se montrant moins toxiques pour l'homme et moins persistants dans l'environnement (ALIGON, s. d.; Chabou et al., 2013).

- Les **herbicides** après 1945 :

Entre 1950 et 1955, divers herbicides tels que les urées substituées, les ammoniums quaternaires et les triazines ont été commercialisés aux États-Unis (Benzidane, 2018).

- Les **fongicides** après 1945 :

Les premiers fongicides issus de la chimie de synthèse organique ont été développés en 1966 avec les benzimidazoles et les pyrimides, suivis des fongicides encore populaires aujourd'hui, tels que les imidazoliques et les triazoliques (Benzidane, 2018).

En 1950, certains scientifiques ont commencé à prendre conscience des effets néfastes des pesticides. Ce n'est qu'en 1962 que Rachel Carson a dénoncé les impacts des pesticides sur la santé et l'environnement dans son livre "Le printemps silencieux". Les autorités et les industries ont ensuite reconnu la dangerosité de ces produits et ont commencé à mettre en place des mesures de restriction. Durant les années 1990, les gouvernements ont introduit des directives pour réduire l'utilisation des pesticides (Boland & Koomen, s. d.).

1.3. Utilisation de pesticides

1.3.1. Dans le monde

Des rapports concernant la consommation de pesticides ont été publiés par des organismes privés (European Crop Protection Association (ECPA)) ou publiques (Food and Agriculture Organization (FAO)). Ces rapports utilisent les chiffres de vente pour estimer la consommation annuelle de pesticides. Selon l'ECPA, les sept principales firmes (Aventis Crop Science, BASF, Syngenta, Bayer, Dupont de Nemours, Dow AgroSciences et Monsanto) qui vendent des pesticides représentent 90 % du marché européen des produits phytopharmaceutiques (Batsch, 2011).

Les données suivantes proviennent du rapport de la FAO. Ces données ont été recueillies par le biais de questionnaires, de publications nationales et internationales, de rapports et de contrôles des firmes phytosanitaires (Batsch, 2011).

La Figure 5 montre les quantités de pesticides utilisées par région. En 2020, l'Amérique reste le plus gros consommateur suivi de l'Asie et de l'Europe. L'Afrique et l'Océanie sont de très faibles consommateurs de pesticides (FAO, 2022).

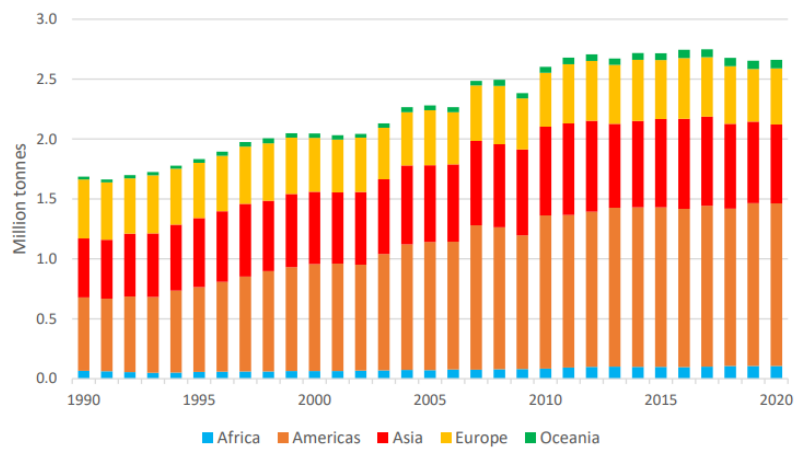


Figure 5 : Utilisation de pesticide par région du monde (FAO, 2022)

Cependant, l'utilisation de pesticides par surface agricole offre une vision plus « précise » de la consommation de produit phytopharmaceutiques par région (Figure 6). L'utilisation moyenne de pesticides en kg/ha/an entre 1990 et 2020 pour chaque région est la suivante, par ordre décroissant : 2,83 kg/ha/an pour l'Amérique ; 1,58 kg/ha/an pour l'Océanie ; 1,57 kg/ha/an pour l'Europe ; 1,17 kg/ha/an pour l'Asie ; 0,41 kg/ha/an pour l'Afrique (FAO, 2022).

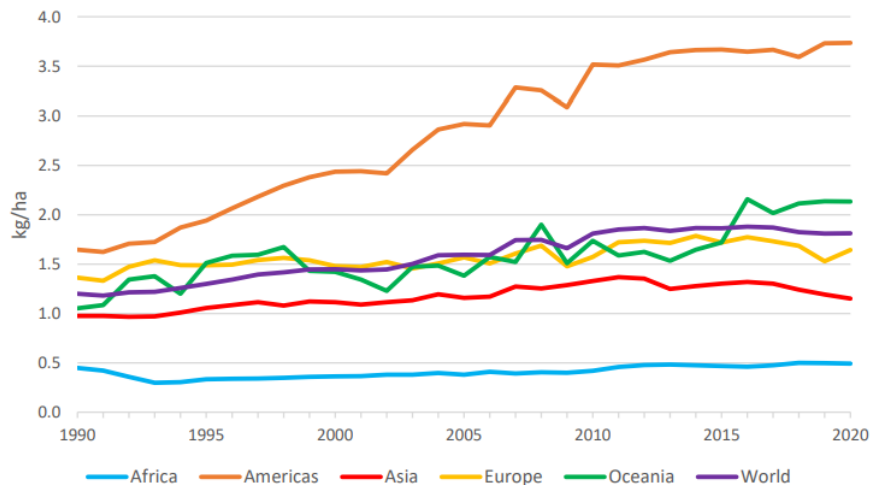


Figure 6 : Utilisation de pesticides par superficie de terres cultivées et par région du monde (FAO, 2022)

1.3.2. En Belgique

En 2020, la quantité totale de substances actives (s.a.) de PPP vendues en Belgique s'élevait à 5 518 t. Les parts liées aux utilisateurs professionnels et non professionnels (particuliers) représentaient respectivement 97,4 % (5 374 t) et 2,6 % (144 t) (SPW, s. d.).

Le groupe des fongicides et des bactéricides correspondait en 2020 aux ventes les plus élevées chez les utilisateurs professionnels (40,8 %, soit 2 193 t). Le mancozèbe, destiné principalement à lutter contre le mildiou en culture de pommes de terre, était le fongicide le plus vendu (901 t), suivi par le soufre (289 t) et le captane (203 t). Le groupe des herbicides, défanants et agents antimousse représentait quant à lui 33,4 % des ventes attribuables aux utilisateurs professionnels (soit 1 794 t), les herbicides les plus vendus étant le glyphosate (415 t) et le prosulfocarbe (236 t) (SPW, s. d.).

En Wallonie, parmi les principales grandes cultures, les pommes de terre de conservation présentaient en 2020 la dose d'utilisation la plus élevée (15,3 kg de s.a./ha). Elles étaient suivies des betteraves sucrières (5,4 kg/ha) et du froment d'hiver (2,3 kg/ha). Les prairies permanentes se caractérisaient par la dose d'utilisation la plus faible (0,03 kg/ha). Entre 2004 et 2020, à l'exception des pommes de terre, les doses utilisées présentaient une tendance relativement stable. Les pics observés en cultures de pommes de terre peuvent être reliés aux conditions climatiques favorables au développement du mildiou (SPW, s. d.).

1.4. Problématique des pesticides

L'utilisation des pesticides a évolué avec la croissance démographique pour répondre à la demande alimentaire grandissante. Les pesticides ont considérablement permis d'augmenter le rendement des cultures et de réduire la charge de travail des agriculteurs. Sans leur utilisation, les pertes de rendements atteindraient 78 % pour les fruits, 54 % pour les légumes et 32 % pour les céréales dans le monde (Tudi et al., 2021). Cependant, leur utilisation abusive est à l'origine de problèmes de santé humaine et environnementaux. Les effets secondaires des pesticides sont de mieux en mieux compris dans le domaine scientifique concernant leur impact sur la santé humaine et sur l'environnement (Bureau-Point et al., 2021).

1.4.1. L'impact des pesticides sur l'environnement

La contamination de l'environnement par les pesticides se produit à travers des microgouttelettes de produits qui peuvent tomber sur le sol, dans l'eau ou sur des organismes non ciblés. Lorsqu'un pesticide est appliqué sur une culture, une partie de celui-ci passe au travers et s'écoule jusqu'au sol. Une grande partie des pesticides utilisés est relâchée dans l'environnement. Il a été estimé que 2,5 millions tonnes de pesticides sont appliqués mondialement chaque année sur les cultures avec seulement 0,3 % atteignant les organismes ciblés. Les 99,7 % restants sont dispersés dans l'environnement entraînant des effets

indésirables aux organismes non-ciblés (Pimentel & Levitan, 1986; Tudi et al., 2021; van Der Werf, 1997).

Une fois que le pesticide est appliqué, il peut exister et migrer dans l'environnement par plusieurs voies :

- Les phénomènes de « **sorption** » : Des liaisons se forment entre le pesticide et les particules du sol en raison de leurs affinités physico-chimiques, influencées par divers facteurs tels que la teneur en matière organique, le pH ou les amendements du sol (Tudi et al., 2021).
- **Lixiviation** : Les pesticides peuvent être s'infiltrer profondément dans le sol et contaminer des eaux souterraines. La lixiviation varie en fonction de plusieurs facteurs tels que la solubilité du pesticides, la perméabilité du sol, le coefficient d'adsorption du sol, le niveau persistance du produit, le taux de précipitation, la température et l'écosystème microbiologique du sol (Tudi et al., 2021).
- La **dérive de la pulvérisation** : Les pesticides qui sont appliqués par pulvérisation peuvent être emporté par le vent (Tudi et al., 2021).
- La **volatilisation** : Certains pesticides se volatilisent, se transformant en gaz et pouvant être emportés par les courants d'air. La volatilisation est influencée par la teneur en pesticides, la température, l'humidité, les mouvements de l'air et les propriétés de la surface de volatilisation (Tudi et al., 2021).
- **Ruissellement** de surface : Les pesticides peuvent être entraînés par l'eau ruisselant le long de la surface traitée. Ce phénomène apparaît lorsque le sol n'a pas le temps d'absorber toute la solution pulvérisée sur la culture et qu'une partie s'écoule vers des cours d'eau, des lacs, ou la mer (Tudi et al., 2021).

La libération de pesticides affecte la vie terrestre et aquatique car ils peuvent contenir des substances toxique (mercure, arsenic ou plomb) pour les microorganismes, les insectes et les animaux. Une réduction de tous les être vivant composant un écosystème sera causée par les effets indésirables des pesticides. Cela peut entraîner un déséquilibre de l'écosystème compromettant sa stabilité car de nouvelles espèces peuvent se développer dû à la diminution de leurs ennemis naturels (Pimentel & Levitan, 1986).

Les effets secondaires des pesticides peuvent avoir un impact négatif sur la productivité et la stabilité des cultures. Certains de ces produits peuvent influencer la concentration de nutriments (C, N, H, P, K, Ca et Mg) présents dans le sol nécessaire pour la croissance des plantes en affectant des processus microbiologiques des microorganismes du sol (Pimentel & Levitan, 1986).

1.4.2. L'impact des pesticides sur la santé

D'après un rapport de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et du Programme des Nations unies pour l'environnement (PNUE) datant de 2002, le nombre d'empoisonnements

par les pesticides s'élève à plus de 26 millions par an, entraînant 220 000 décès dans le monde (Zhang et al., 2011). Ces chiffres mettent en lumière l'impact indéniable des pesticides sur la santé, représentant un danger réel pour les populations exposées.

Il existe une grande variabilité de toxicité parmi les différents pesticides. Certains sont hautement toxiques à court terme mais sont rapidement éliminés par l'organisme, tandis que d'autres présentent une toxicité plus faible mais ont tendance à s'accumuler dans le corps, entraînant ainsi des effets indésirables à long terme (Belarbi, 2021).

D'après des études, certains résidus de pesticides peuvent provoquer des troubles de la reproduction et du développement du système nerveux (Ghasemnejad-Berenji et al., 2021; Hoskote, 2020). De plus, l'exposition à ces substances peut être associée au développement de certains cancers (Costa et al., 2020; Sabarwal et al., 2018), ainsi qu'à des maux de tête (Chetty-Mhlanga et al., 2021). Par ailleurs, des zones où l'utilisation de pesticides est élevée présentent un taux d'incidence plus élevé de maladies telles que la maladie d'Alzheimer et de Parkinson (Parrón et al., 2011). L'exposition à certaines substances peut également perturber le système immunitaire (Lee & Choi, 2020). En outre, des cas de malformations congénitales et de développement anormal du fœtus en raison de la présence de ces substances dans le lait maternel ont été signalés (Acosta-Maldonado et al., 2009).

1.5. Les résidus de pesticides dans l'alimentation

Un **résidu de pesticide** désigne à toute substance qui demeure sur un aliment après l'application de pesticides. Lorsque le pesticide est appliqué sur la culture, une partie peut être éliminée mécaniquement par le vent ou la pluie, mais ce qui reste sur la culture constitue les résidus de pesticides. Ces résidus sont généralement mesurés en mg/kg ou en ppm (parties par million) (Benzine, 2006). Les résidus de pesticides suscitent des préoccupations majeures en matière de santé publique en raison de leur potentiel toxicité pour la santé humaine. En effet, la principale source de toxicité des pesticides réside dans leur substance active, pouvant entraîner un empoisonnement aigu ou chronique (Benzidane, 2018; Tudi et al., 2021).

À l'échelle de l'Union Européenne, un ensemble de règles a été mis en place pour standardiser la mise sur le marché et la surveillance a posteriori des produits phytopharmaceutiques ainsi que des résidus de pesticides dans les aliments. Ce cadre réglementaire vise à garantir que les teneurs résiduelles en substances actives (SA) mesurées dans les aliments ne présentent aucun risque pour les consommateurs. Le règlement CE 396/2005 concernant **les limites maximales de résidus (LMR)** de pesticides dans les denrées d'origine végétale et animale (Nougadère & Merlo, s. d.).

La LMR est définie comme la concentration maximale d'un résidu de pesticide résultant de l'utilisation de ce pesticide conformément aux bonnes pratiques agricoles, reconnue par la Commission du Codex Alimentarius comme légalement autorisée ou acceptable dans ou sur

un produit alimentaire, un produit agricole, ou un produit destiné à l'alimentation animale non lavé ni épluché. Elle est exprimée en milligrammes de résidus par kilogramme de produit (UNEP et al., 1989).

La LMR est une valeur, tenant compte des bonnes pratiques agronomiques (BPA) et du respect de la dose journalière acceptable pour garantir la sécurité des consommateurs (Académie Agriculture de France, s. d.). Le dépassement de cette limite ne signifie pas que la dose de résidus de pesticides est nocive pour l'homme, car les LMR sont établies largement en deçà du seuil toxicologique (Nougadère & Merlo, s. d.).

2. Méthodes de détection des pesticides

Les pesticides et leurs résidus représentent des enjeux majeurs dans les domaines de la santé et de l'environnement. Pour contrôler l'utilisation des pesticides et la contamination des denrées alimentaires, de nombreuses méthodes de détection des pesticides ont été développées.

À ce jour, plusieurs techniques ont été développées pour l'extraction et la détection des pesticides dont des techniques traditionnelles se reposant sur des principes chimiques tel que la **chromatographie en phase liquide ou gazeuse couplée à la spectrométrie de masse** qui l'une des plus populaires (Benzidane, 2018; Sharma et al., 2010).

De nouvelles méthodes d'analyse plus simples, moins coûteuse et non destructrices sont actuellement à l'étude pour proposer une alternative ou un complément aux méthodes chimiques existantes. Parmi ces nouvelles approches figure la **spectroscopie dans le proche infrarouge (NIR)**. Des études se sont penchées sur la faisabilité d'utilisation de la spectroscopie NIR dans la détection de résidus de pesticides sur des concombres (Jamshidi et al., 2015), des feuilles de laitues (J. Sun et al., 2018), des pelures de fruits (Xiao et al., 2015) ou des poivrons (Sánchez et al., 2010).

2.1. Méthode de détection conventionnelle

De nombreuses revues ont été publiés au cours de la dernière décennie concernant la détection et la quantification de pesticides sur des fruits et légumes avec diverses techniques traditionnelles (Sharma et al., 2010). Voici une série d'exemple de produits analysés d'après la littérature scientifique. Selon Gonzalez-Rodriguez et al, des résidus de méthamidophos ont été détectés sur des échantillons de tomates et de haricots verts par chromatographie gazeuse (Egea González et al., 1998). Patel et al. ont étudié un ensemble de fruits et légumes (pêche, raisin, laitue et poivron) en mettant au point une méthode de chromatographie gazeuse à chauffage résistif (RH-GC) pour le dépistage des organophosphorés (Patel et al., 2006). Parveen et al. ont contrôlé un certain nombre de résidus de pesticides appartenant à

différentes classes de pesticides comme les organophosphorés, les organochlorés, les carbamates et les pyréthroïdes dans 206 échantillons de légumes comme la carotte, l'ail, le gingembre, l'oignon, la pomme de terre, le radis, la betterave à sucre, les feuilles de brassicacées, le concombre, la menthe, le piment, les haricots verts, la tomate, la citrouille, le chou et le chou-fleur, provenant de Karachi, au Pakistan. 63 % des échantillons étaient contaminés par l'un ou l'autre pesticide et 46% des échantillons contaminés présentaient des résidus de pesticides supérieurs aux LMR fixées par la FAO/OMS (Parveen et al., 2005). Wang et al. ont analysé 8 résidus d'organophosphorés dans des légumes frais (chou vert de Shanghai, chou chinois, carotte et épinard) vendus sur les marchés de produits agricoles de Nanjing, en Chine montrant la présence de plusieurs pesticides sur les échantillons de légumes collecté (Wang et al., 2008). Bhanti et Taneja ont évalué les niveaux de résidus de certains organophosphorés (méthylparathion, malathion et chlorpyrifos) dans différents légumes saisonniers, à savoir les épinards, les concombres, les gourdes, les courges, les choux-fleurs et les choux, collectés dans les champs du district d'Agra, en Inde. Ils ont également constaté que parmi les légumes des trois saisons, les légumes d'hiver étaient fortement contaminés (Bhanti & Taneja, 2007).

Parmi les nombreuses méthodes de détection de résidus de pesticide, la **chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS)** présente une sensibilité élevée ce qui fait d'elle une des méthodes la mieux adaptée pour l'analyse de très faibles doses telles que les résidus de pesticides. Cette méthode associe deux techniques, la chromatographie liquide qui vise à séparer et à isoler les composés d'intérêt présents dans un échantillon et la spectrométrie de masse qui est une technique capable de quantifier des substances comme les pesticides en se basant sur le rapport masse sur charge (m/z) de la molécule (Benzidane, 2018; Benzine, 2006).

Bien que ces méthodes conventionnelles de détection soient très précises, elles présentent d'importants inconvénients comme une préparation complexe de l'échantillon, l'utilisation de méthodes et d'appareils complexes qui allongent le temps d'analyse, la nécessité d'un personnel qualifié, des coûts d'analyse élevés, une non-reproductibilité due à la destruction de l'échantillon, ainsi qu'une consommation importante de réactifs (Dhakal et al., 2014; Pareja et al., 2011; Weng et al., 2019; Xu et al., 2012).

2.2. Méthodes de détection alternatives

Le développement de futures technologies présentant des caractéristiques telles qu'une limite de détection faible, une sensibilité et une spécificité élevées, ainsi qu'une miniaturisation des appareils portables constitue un défi majeur. Ces avancées permettront d'offrir une alternative ou être complémentaires aux méthodes de détection conventionnelle (Craig et al., 2013).

Face à la demande croissante en matière de surveillance alimentaire, de nombreuses technologies de détection ont émergé (Thorat et al., 2023). Parmi ces technologies de détection, la spectroscopie vibrationnelle dont **la spectroscopie infrarouge** a été utilisée dans de nombreux domaines tels que les secteurs alimentaires (Brenna & Berardo, 2004), pétrochimique (Macho & Larrechi, 2002), pharmaceutique (Blanco et al., 2004), clinique et biomédical (Lo et al., 2015) et environnemental (Malley & Williams, 1997). La spectroscopie infrarouge présente des avantages comme la rapidité d'analyse, la capacité à réaliser des analyses non destructrices des échantillons, la simplicité d'utilisation et une préparation simple des échantillons (Craig et al., 2013; Fu & Ying, 2016). Des recherches ont montré que la spectroscopie infrarouge présente des performances de détection et d'identification similaires aux méthodes chromatographiques existantes dans l'analyse de composé pétrolier (Kovalenko et al., 2020) et d'huile de graine de figue (Hssaini et al., 2021).

Le principe de base de la spectroscopie infrarouge repose sur la mesure de vibration moléculaire lorsqu'un **rayonnement infrarouge (IR)** rencontre la matière. Elle permet d'obtenir des informations sur la structure chimique des molécules composant la matière à partir de son interaction avec le rayonnement incident.

Dans le cadre de ce mémoire, nous nous concentrons sur une méthode spectroscopique vibrationnelle particulière, la **spectroscopie Raman**.

2.2.1. Interactions entre la lumière et la matière

La lumière est une **onde électromagnétique**. La lumière visible (400 – 800 nm) tel que nous la connaissons ne représente qu'une petite portion de toutes les ondes électromagnétiques qui constituent le spectre électromagnétique (figure 7). Le domaine infrarouge s'étend de 0,8 μm à 1000 μm . La fenêtre spectrale de l'IR, se décompose habituellement en 3 parties : le proche, le moyen et le lointain IR. Nous nous intéresserons plus particulièrement à la région du moyen infrarouge (MIR), qui s'étendent respectivement de 4000 à 400 cm^{-1} (2,5 μm à 25 μm) (Truche, 2010).

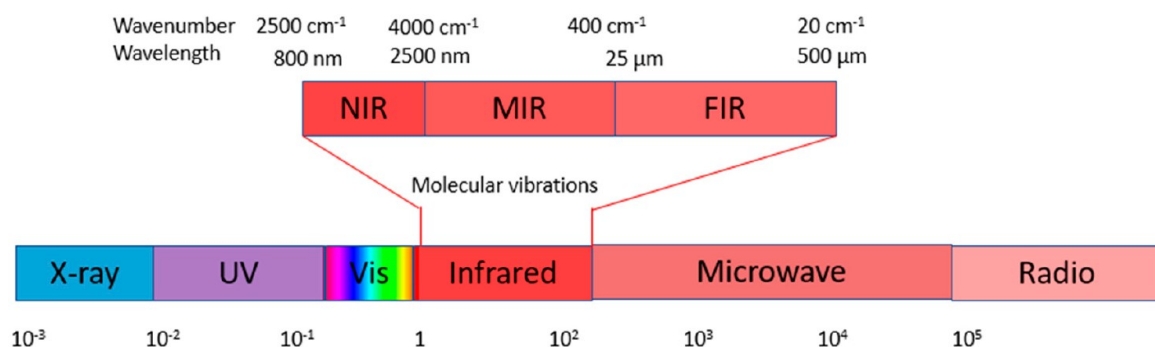


Figure 7 : Spectre électromagnétique (Fox, 2020)

L'énergie contenue dans une onde dépend de sa longueur d'onde. Une courte longueur d'onde représente une lumière énergétique, comme les rayons ultraviolets. À l'inverse, une longueur d'onde plus longue signifie que la lumière possède une énergie plus faible, comme les rayons infrarouges.

La lumière est donc un vecteur d'énergie qui interagit avec la matière. Lorsqu'elle rencontre la surface d'un échantillon, différents phénomènes se produisent : (a) **réflexion**, (b) **absorption**, (c) **transmission** (d) **émission** (fluorescence) et (e) **diffusion** (Daher, 2012; Séjourné, 2012).

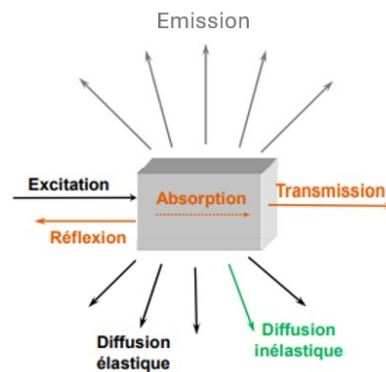


Figure 8 : Les différentes interactions entre la lumière et la matière (Daher, 2012)

a) Réflexion

Lorsque la lumière rencontre une surface, elle peut subir une réflexion diffuse ou spéculaire, en fonction de la rugosité de la surface. Une réflexion diffuse se produit sur des surfaces irrégulières (ou non polies) et se caractérise par une réflexion de la lumière dans plusieurs directions. En revanche, la réflexion spéculaire est une réflexion régulière de la lumière qui se produit uniquement lorsqu'elle rencontre une surface polie.

b) Absorption

L'absorption de la lumière incidente par les molécules constituant la matière excite ses électrons les amenant d'un état fondamental à un certain niveau d'excitation (Séjourné, 2012).

La figure 9 représente les différents niveaux d'énergie que peuvent atteindre les électrons excités : les **niveaux électroniques**, **vibrationnels** et **rotationnels**. Chaque niveau électronique est composé de plusieurs sous-niveaux vibrationnels et rotationnels. Initialement, les molécules présentes dans l'environnement se trouvent dans un état électronique fondamental (E0). Lorsqu'elles sont excitées, leurs électrons montent à des niveaux d'énergie supérieurs. Le niveau d'énergie atteint par les électrons dépend de la source d'excitation. Si la source d'excitation est puissante, comme un rayonnement visible ou UV, alors les électrons

atteindront des niveaux d'énergies élevés comme des niveaux électroniques supérieurs (E_2). En revanche, si la source d'excitation est plus faible, telle qu'un rayonnement infrarouge ou des hyperfréquences, alors les électrons atteindront des niveaux d'énergie moins élevés, tels que des niveaux vibrationnels ou rotationnels du 1^{er} niveau électronique (E_1).

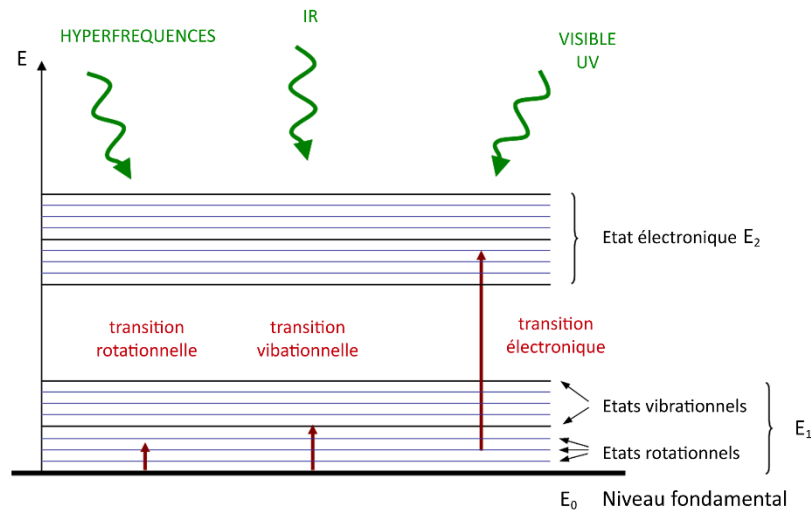


Figure 9 : Les différentes transitions d'énergie selon la longueur d'onde du rayonnement absorbée (*Absorption et transmission atmosphériques, s. d.*)

Le changement du niveau d'énergie vibrationnel d'une molécule modifie le comportement vibrationnel de ses liaisons moléculaires (Servant et al., 2011; Younes, s. d.). A leur état fondamental, une liaison entre deux atomes agit comme un ressort et subit des déformations naturelles causées par des forces qui composent la liaison, telles que l'attraction des électrons partagés et la répulsion des charges similaires (Younes, s. d.). Ces déformations de la liaison sont à la base des différents modes de vibrations moléculaires. Lorsque la molécule absorbe de l'énergie et passe au niveau d'énergie vibrationnels supérieur, cela entraîne la modification du mode de vibration de la molécule.

Il y a deux principaux modes de vibration des liaisons moléculaires se distinguant parmi tous différents modes vibrationnels (figure 10) :

- Vibration **d'élongation** : le nuage électronique s'étire ou se rétracte. Il existe deux types d'élongation :
 - Symétrique : ce mode de vibration conserve la symétrie moléculaire.
 - Asymétrique : ce mode de vibration entraîne une asymétrie moléculaire.
- Vibration par **déformation angulaire** : l'angle formé par deux liaisons est déformé par les vibrations (Younes, s. d.). Il existe 4 types de déformation angulaire : symétrique dans le plan (cisaillement), asymétrique dans le plan (rotation plane), symétrique hors du plan (torsion) et asymétrique hors du plan (balancement).

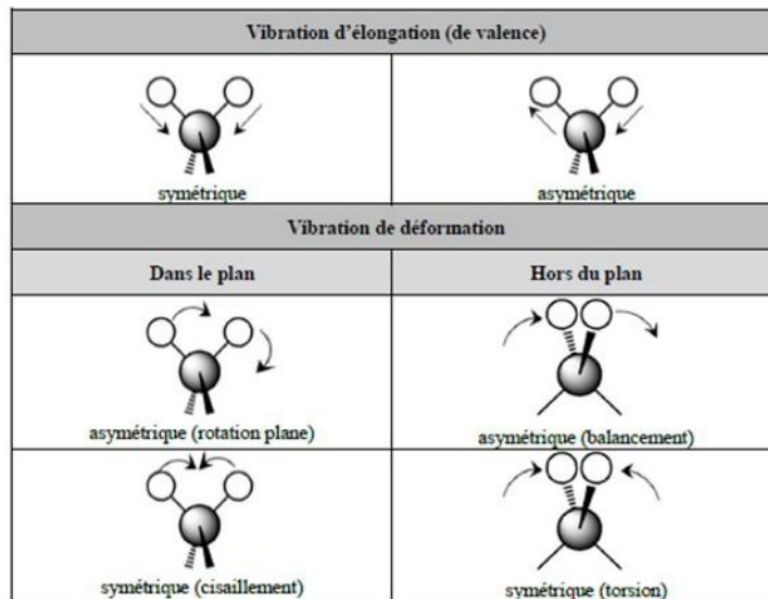


Figure 10 : Les modes de vibration d'élongation et de déformation angulaire (Emmanuelle, s. d.)

c) Transmission

La transmission désigne la lumière qui traverse la matière après qu'une partie de celle-ci a été absorbée.

d) Fluorescence

Lorsqu'une molécule absorbe de l'énergie provenant d'une source excitatrice puissante, telle que la lumière visible, ses électrons peuvent atteindre un niveau électronique supérieur. Lorsque ces électrons retournent d'un niveau électronique supérieur à leur état fondamental, ils émettent plusieurs photons, dont l'énergie est proportionnelle à celle absorbée (figure 11). Ce phénomène se nomme la fluorescence (Séjourné, 2012).

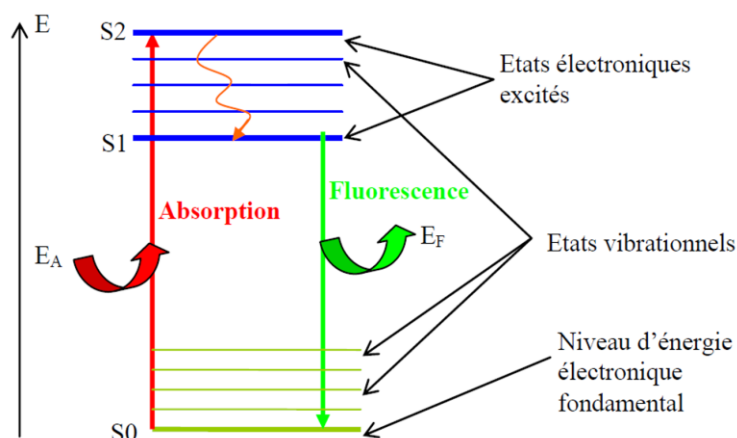


Figure 11 : Diagramme de phénomène de fluorescence (S : Niveau d'énergie électronique, E_A : Energie absorbé, E_F : Energie émit par fluorescence) (Ali, 2018)

e) Diffusion

La diffusion correspond à l'émission d'énergie absorbée dans toutes les directions par des électrons retournant d'un **niveau d'énergie virtuel** à leur **état fondamental**. Il existe deux types de diffusion : La diffusion élastique, également connue sous le nom de « diffusion de **Rayleigh** » et la diffusion inélastique, également appelée « diffusion **Raman** » (figure 12).

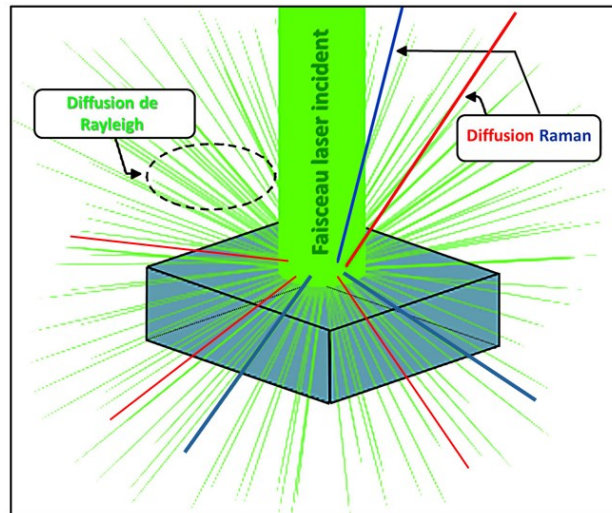


Figure 12 : Phénomène de diffusion (Planet-Terre, s. d.)

L'énergie de la lumière est définie par l'énergie d'un photon « $h\nu$ » la composant où h est la constante de Planck et ν représente la fréquence de la lumière. Lorsqu'une molécule est irradiée par une lumière incidente d'énergie $h\nu$, elle est amenée vers un état virtuel situé entre les deux états électroniques. La plupart des molécules excitées retombent dans l'état électronique initial en émettant une lumière diffusée de même énergie que la lumière incidente : c'est le processus de la diffusion élastique, la « **diffusion de Rayleigh** » (figure 13a).

Il peut arriver que la lumière diffusée ait une énergie différente de celle de la lumière incidente : c'est le processus de la diffusion inélastique, la « **diffusion Raman** ». Ce phénomène est relativement rare et se produit environ 100 000 fois moins souvent que la diffusion élastique. La diffusion Raman peut diffuser une lumière avec une longueur d'onde plus grande et d'énergie plus faible (**effet Stokes**) ou avec une longueur d'onde plus petite et d'énergie plus élevée (**effet anti-Stokes**) que la lumière incidente.

L'effet Stokes résulte du fait qu'une plus petite partie de molécules excitées retombe à un état vibrationnel situé au-dessus de l'état initial, en émettant une lumière diffusée dont l'énergie est $h\nu - \nu$, c'est-à-dire une lumière avec une énergie plus faible que celle de la lumière incidente. La différence des énergies de la lumière diffusée et de la lumière incidente est égale à l'énergie nécessaire pour faire vibrer la liaison moléculaire à un certain mode de vibration (figure 13b).

Certaines molécules peuvent se trouver initialement dans un état vibrationnel. Lorsqu'elles sont excitées par une lumière incidente à un état virtuel et puis retombent à leur état fondamental, une lumière diffusée d'énergie $h\nu + u$ est émise, c'est-à-dire la diffusion d'une lumière plus énergétique. Cette émission correspond aux raies anti-Stokes (figure 13c) (Bourget et al., 2012; Craig et al., 2013; Daher, 2012; Nguyen, 2008; Séjourné, 2012).

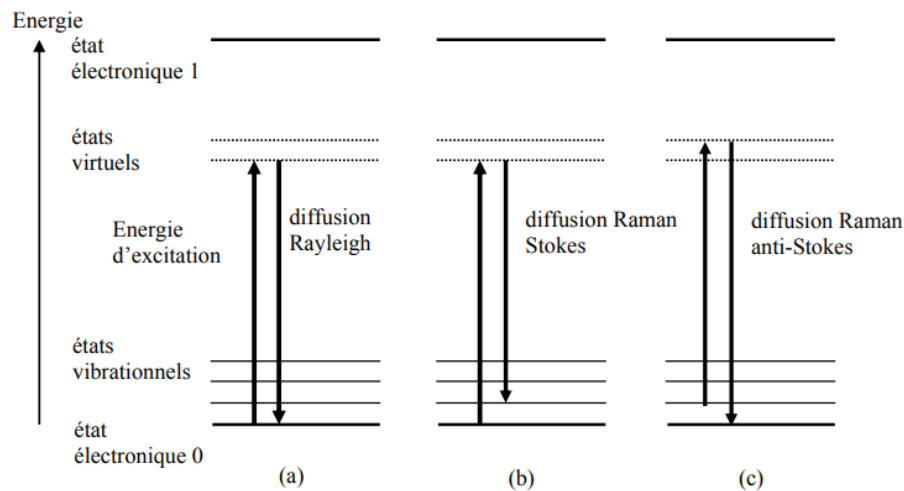


Figure 13 : Phénomène de diffusion (Nguyen, 2008)

2.2.2. Spectroscopie vibrationnelle : la spectroscopie Raman

La **spectroscopie Raman** est une technique parmi l'ensemble des méthodes d'analyse basées sur les interactions entre la lumière et la matière. Cette partie aborde la découverte du phénomène Raman, le fonctionnement des spectromètres Raman, les spectres Raman, ainsi que les avantages et les inconvénients de cette technologie.

a) Découverte de l'effet Raman

L'effet Raman a été découvert en 1928 par le savant indien Sir Venkata Raman, qui s'est intéressé au phénomène de diffusion inélastique. Il a constaté que le rayonnement émis par des molécules bombardées de photons contenait de la lumière possédant une fréquence différente de celle de la lumière incidente.

Des avancées technologiques telles que le développement de capteurs très sensibles à l'infrarouge et l'invention des lasers ont permis l'évolution de la spectroscopie infrarouge. En revanche, la spectroscopie Raman a longtemps été handicapée par le phénomène de **fluorescence**, qui noyait le faible signal Raman émis. Ce n'est qu'à partir des années 1986 qu'un interféromètre commercial infrarouge/transformée de Fourier et une source d'excitation proche de l'infrarouge ont été combinés pour obtenir un spectre Raman (Bourget et al., 2012; Collin & Couture, s. d.).

b) Fonctionnement du spectromètre Raman

Les spectromètres Raman exploitent les rayons issus de la diffusion Raman pour obtenir des informations sur la structure chimique des molécules analysées. Ces appareils utilisent une source d'excitation qui est dirigée vers l'échantillon. Deux paramètres sont essentiels pour obtenir de bons spectres Raman : la **longueur d'onde** et la **puissance** de cette source d'excitation. Le choix de la largeur de la bande de longueurs d'ondes est crucial pour limiter le phénomène de fluorescence, qui masque le signal Raman. La fluorescence apparaît principalement dans les régions de longueurs d'onde UV ou visible, d'où l'intérêt d'utiliser des lasers infrarouges monochromatiques. La puissance du laser joue également un rôle important, car une puissance élevée garantit la stabilité et une intensité suffisante du signal Raman, mais cela peut endommager l'échantillon. Ainsi, il existe un compromis entre la puissance du laser et l'état de l'échantillon (Z. Li et al., 2014).

La lumière du laser est absorbée par les molécules de l'échantillon, puis diffusée de manière élastique et inélastique dans toutes les directions. Cette lumière diffusée est collectée et traitée. Le traitement de cette lumière implique l'extraction de l'information pertinente en analysant les différentes longueurs d'onde de la lumière diffusée. Il existe différents mécanismes de sélection de longueur d'onde, tels que le mécanisme **dispersif** et **non-dispersif** (Z. Li et al., 2014).

Spectromètre à mécanisme dispersif :

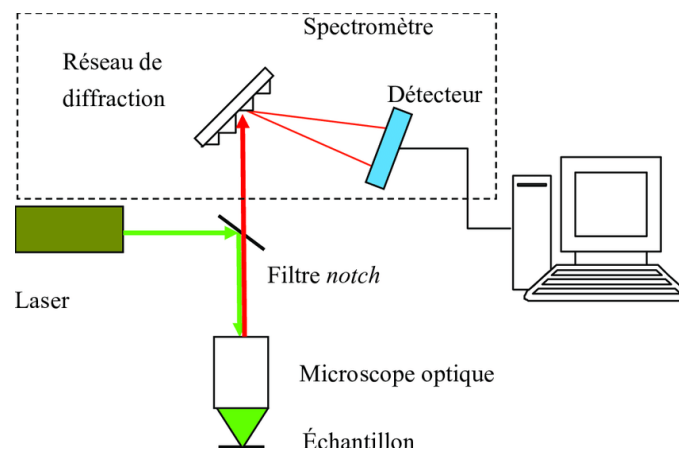


Figure 14 : Spectromètre à mécanisme dispersif (Nguyen, 2008)

Un spectromètre **dispersif** utilise des composants dispersifs pour séparer la lumière dans l'espace en fonction de la longueur d'onde, tels que le réseau de diffraction et le prisme (Z. Li et al., 2014).

La figure 14 montre un exemple de spectromètre à mécanisme dispersif travaillant en rétrodiffusion. Dans son fonctionnement, la lumière diffusée provenant de l'échantillon passe à travers un filtre "notch" conçu pour bloquer les rayons ayant la même fréquence que le laser incident, éliminant ainsi le signal de diffusion de Rayleigh. Les rayons issus de la diffusion Raman traversent le filtre "notch" et sont dispersés par un réseau de diffraction, puis capturés par un détecteur CCD (dispositif à transfert de charge), avant d'être affichés sur un écran (Nguyen, 2008).

Spectromètre à mécanisme non-dispersif :

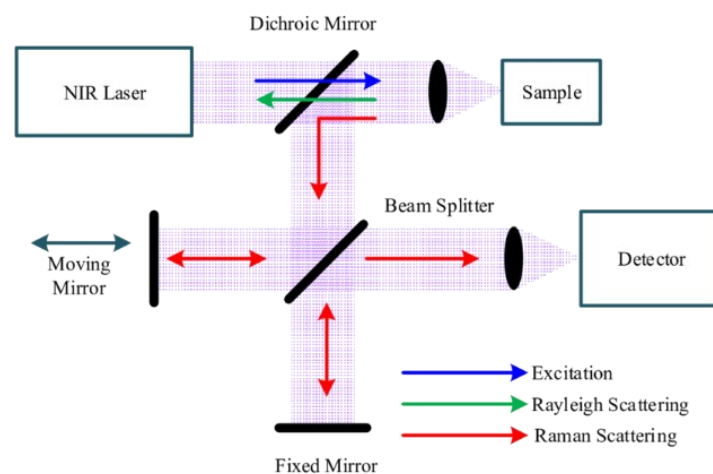


Figure 15 : Interféromètre de Michelson (Z. Li et al., 2014)

Le spectromètre **non dispersif** utilise des dispositifs pour sélectionner les longueurs d'onde issues de la diffusion comme l'interféromètre de Michelson (Z. Li et al., 2014).

Dans le dispositif FT-Raman (Fourier transform Raman Spectroscopy), la source d'excitation d'un laser proche infrarouge est dirigée vers l'échantillon à travers un miroir optique et une lentille, qui collectent également les signaux diffusés (Rayleigh et Raman) de l'échantillon. Le miroir dichroïque transmet le signal de diffusion Rayleigh de courte longueur d'onde et réfléchit le signal de diffusion Raman de grande longueur d'onde vers un séparateur de faisceau. À travers le séparateur de faisceau, la moitié du signal Raman est transmise à un miroir fixe et l'autre moitié est réfléchi vers un miroir mobile.

En raison de la différence de trajet optique causée par le miroir mobile, les deux faisceaux réfléchis par les deux miroirs subissent des interférences constructives et destructives, déterminées par la distance de déplacement du miroir mobile. L'ensemble de ces interférences positives et négatives, transmises à travers un signal complexe, produit un interférogramme calculé par une transformation de Fourier (Z. Li et al., 2014). La

transformation de Fourier est un processus mathématique permettant d'extraire la fréquence de chaque longueur d'onde d'un signal complexe qui est constitué d'une somme de fréquence de plusieurs longueurs d'onde.

c) Spectre Raman

Les longueurs d'onde issues des diffusions Raman sont collectées et analysées par un détecteur approprié pour obtenir un spectre (Morton & Jensen, 2009).

Le spectre Raman (figure 16) se compose de raies issues de la diffusion Raman, distribuées symétriquement de part et d'autre de la raie de la diffusion de Rayleigh, correspondant à la raie d'émission du laser. L'intensité des raies de diffusion Raman Stokes est généralement plus élevée que celle des raies de diffusion Raman anti-Stokes. En pratique, les raies de diffusion Raman Stokes sont conservées pour représenter les spectres Raman, tandis que les raies de diffusion anti-Stokes sont éliminées (Lepot, 2011).

Les spectres Raman sont exprimés en nombre d'onde avec pour unité le cm^{-1} , plutôt qu'en longueur d'onde. Le nombre d'onde est l'inverse de la longueur d'onde.

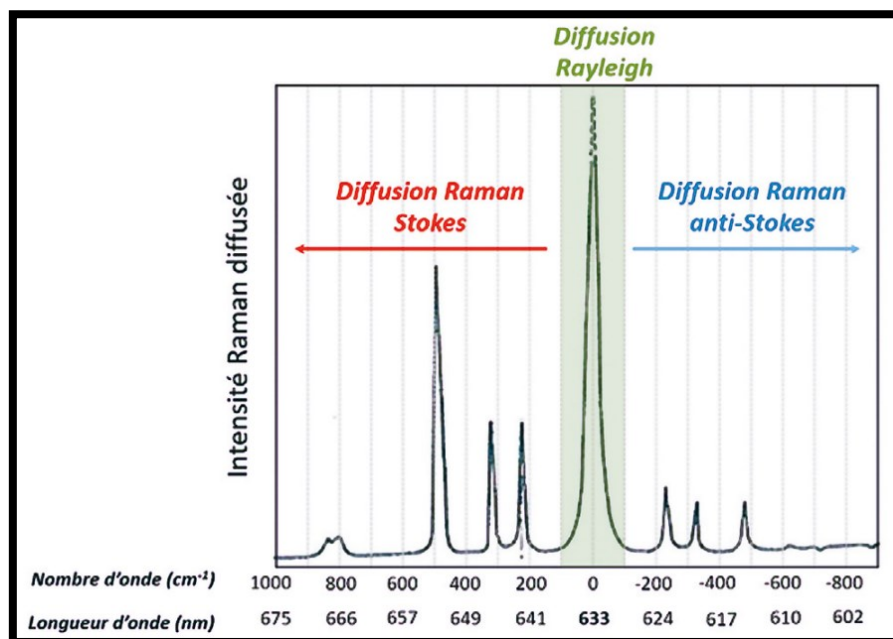


Figure 16 : Spectre Raman du tétrachlorure de carbone (CCl_4), excité par un laser 632,8 nm (Alexandre et al., s. d.)

Les spectres Raman présentent des « pics » à certain nombre d'onde que l'on nommera des « **bandes** » pour le reste de cette étude.

La spectroscopie Raman permet d'obtenir différents types d'informations :

- La **position des raies** nous renseigne sur la structure des vibrations des liaisons composant une molécule, et par extension, la structure chimique peut également être déduite (Séjourné, 2012).
- L'**intensité des bandes** peut être liée à la concentration de l'espèce dans l'échantillon, mais de manière générale, l'intensité des bandes est plus forte pour les liaisons chimiques covalentes que pour les liaisons ioniques, car plus le nombre d'électrons mis en jeu est élevé, plus le signal Raman est intense (Séjourné, 2012).
- La **largeur d'une bande** fournit des informations sur le désordre structural de l'échantillon. Ce paramètre est sensible à la nature des liaisons et à leur arrangement autour de la liaison sondée (Séjourné, 2012).
- Le **décalage des bandes** peut être lié à l'état de contrainte (déformation) du matériau analysé ou à sa température (Séjourné, 2012).

d) Interprétation des spectres

La spectroscopie Raman est une technique qui permet de recueillir les profils de vibration moléculaire de l'échantillon analysé. Les modes de vibrations qui sont les mieux observable par spectroscopie Raman sont des **vibrations d'étirement** (stretching) et des **vibrations de déformation angulaire** (bending). Par exemple, il a été observé que les vibrations d'élongation de la liaison O-H de l'eau s'exprime à des nombres d'onde entre 3014 et 3636 cm^{-1} (Q. Sun, 2009). Ou encore que les vibrations d'élongation de la liaison C-H de chaînes d'hydrocarbures de molécule lipidique ont été localisées à des nombres d'onde de 2850 et 2885 cm^{-1} (Larsson & Rand, 1973). L'interprétation des spectres spécifiques aux pesticides est expliquée dans la section « 7. Résultat et discussions » au point « 7.2.2. ».

La figure 17 représente une synthèse des localisations des bandes de vibration des liaison moléculaires pour le IR et le Raman dans une région de 4000 à 500 cm^{-1} .

Frequency, cm ⁻¹					Group Vibration	Intensity [#]		Description	Mainly observed in
4000	3000	2000	1500	1000		500	IR		
						vs	vw	Hydroxyl	Liquid phase
						s-m	m	Unsaturated	Lipids
						s-m	m	Saturated	Lipids
						m	s	Nitrile	
						s	m-w	Ester	Lipids, Amino Acid
						s	w-m	Carboxylic acid	Lipids, Amino Acid
						s	m-s	Amide I	Proteins
						m-w	s	Not conjugated	Lipids
						m	s	<i>Trans</i>	Lipids
						m	s	<i>Cis</i>	Lipids
						s	w	Amide II	Proteins
						m	m-w	Aliphatic -CH ₂	Lipids
						s		Carboxylates	Amino Acids, Lipids
						w-m	var	Amide III	Proteins
						vs	m-w	Phosphate ester	Lipids, Nucleic Acids
Fingerprint from skeleton									
						s	m-w	Ether	Carbohydrates
							m	α -(1→4) linkage	Starch
						m-w	m-w	β -configuration	Glucose, galactose, mannose
						m-w	m	α -configuration	
						w-m	vw	Aliphatic -CH ₂	Lipids
							vs		Starch

Figure 17 : Table des combinaisons entre les régions du spectre Raman et les structures chimiques (Naumann et al. 1991, Pistorius 1995, Piot et al. 2000)

e) Avantage et inconvénient de la spectroscopie Raman

La **spectroscopie Raman** présente de nombreux avantages en tant que méthode d'analyse par rapport aux **méthodes d'analyse chimique** (Merad, 2010; Séjourné, 2012) :

- Méthode non-destructrice et non intrusive.
- Technique rapide
- Peu coûteuse
- Elle est facile à mettre en œuvre. Le temps de préparation est très faible. Utilisation que d'une faible quantité de l'échantillon.
- Elle peut s'appliquer sur de nombreux types d'échantillon (matériaux hétérogènes, échantillons déformés).
- Elle peut être directement utilisé sur le terrain grâce à des versions portables de spectromètres Raman.

Mais la **spectroscopie Raman** présente aussi des inconvénients car elle est très influencée par certains phénomènes qui peuvent dégrader la réponse Raman (Merad, 2010) :

- La **fluorescence**. Ce phénomène peut être limité par le changement de longueur d'onde du laser mais lorsque celui survient, sa réponse est beaucoup plus intense que l'effet Raman.
- La **dégradation de l'échantillon** par échauffement si la puissance du laser est trop élevée.

- Difficulté à analyser des échantillons foncés car ceux-ci absorbent une grande fraction de l'énergie du rayonnement incident.

f) Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS)

Comme mentionné précédemment, la diffusion Raman est un processus de très faible probabilité d'interaction : seulement 1 photon diffusé sur 10^7 environ fait partie de la diffusion Raman. Il nous faut donc absolument tirer profit de tous les mécanismes permettant d'amplifier le signal Raman (Nguyen, 2008).

Le « Surface-enhanced Raman spectroscopy » (SERS) est une technique Raman avancée qui améliore les supports de présentation de l'échantillon pour amplifier l'absorption de l'énergie lumineuse par les molécules (Craig et al., 2013). L'effet SERS découvert en 1974 par Fleischmann, a montré une amplification de l'ordre de 10^5 à 10^6 de la diffusion Raman sur des molécules de pyridine adsorbées sur une surface d'argent rugueux. En 1977, Van Duyne et Creighton ont démontré qu'une simple augmentation du nombre de centres de diffusion due à la rugosité de la surface ne suffit pas pour expliquer une telle augmentation du signal et ont supposé l'existence d'une exaltation intrinsèque de la section d'efficace des molécules. La recherche sur l'effet SERS s'est accélérée rapidement dans les années qui ont suivi. Vers 1985, l'origine du phénomène d'exaltation a été quasiment complètement identifiée avec les deux mécanismes suivants : l'amplification électromagnétique et l'amplification chimique (Nguyen, 2008).

Des études qui utilisent le SERS exploite principalement le mécanisme électromagnétique (EM) via la disposition de nanostructure métallique sur la surface du support pour augmenter l'effet Raman. La mise en place de ces nanoparticules a pour objectif de créer des dipôles artificiels par la résonance des électrons contenus dans les nanoparticules (Craig et al., 2013).

3. Traitements des données spectrales

La spectroscopie vibrationnelle permet l'acquisition d'un grand nombre de spectres. Les spectres bruts peuvent communiquer des informations concernant la structure chimique pour chaque échantillon analysé. Cependant, la comparaison d'un grand nombre de spectres bruts différents, où chacune de leur longueur d'onde représente une variable différente, n'est pas une tâche simple et nécessite des méthodes d'exploration de données multivariées. Les jeux de données multivariés (ou multidimensionnels) sont des jeux de données contenant plus de 2 variables (généralement en colonnes) mesurées sur plus de deux unités statistiques (individus, patients, sites...), généralement en lignes.

La **chimométrie** est une discipline regroupant un ensemble d'outils mathématiques et statistiques utilisée pour extraire des informations pertinentes et utiles de données chimiques afin d'en tirer des résultats comme classer les échantillons et les variables en fonction de leurs caractéristiques, pour comprendre les causes d'un phénomène, pour développer un modèle permettant de prédire des événements futurs (Giacomino et al., 2011; Otto, 2007; Wold, 1995). La chimométrie est très souvent associée à la spectroscopie vibrationnelle en raison de la complexité des données spectrales (Mark & Workman, 2018).

3.1. Prétraitement

En général, l'analyse des données multivariées commence par la soumission de l'ensemble des données spectrales brutes à des transformations mathématiques avant qu'elles ne soient finalement traitées pour produire des modèles analytiques qualitatifs ou quantitatifs. Ces transformations mathématiques comprennent l'application de différentes combinaisons de prétraitements spectraux qui ont pour objectifs : la réduction du bruit, la correction de la ligne de base, la normalisation et pour finir, l'amélioration de la résolution (Katsumoto et al., 2001; Pasquini, 2018).

Dans ce mémoire, les prétraitements qui sont appliqués sur les données spectrales sont, dans un premier temps, l'algorithme de Savitzky-Golay pour la réduction du bruit et l'amélioration de la résolution et, dans un second temps, la « Standard Normal Variate » (SNV) pour la normalisation des données.

3.1.1. Algorithme de Savitzky-Golay

Parmi les nombreuses approches de dérivation, l'algorithme de Savitzky-Golay permet le lissage ainsi que les dérivées de premier et de second ordre des données spectrales, des prétraitements couramment utilisés pour les données spectrales (Gallagher, s. d.). Cet algorithme est appliqué aux données spectrales pour améliorer les caractéristiques spectrales, éliminer le bruit et éliminer les effets de la ligne de base.

Le principe du lissage par l'algorithme de Savitzky-Golay est représenté sur la figure 18 où est calculé un ajustement polynomial d'ordre o (courbe en rouge) qui est déplacé au fur et à mesure dans chaque fenêtre de filtre de largeur w (rectangle en pointillé rouge) pour un spectre donné mesuré en N point (spectre bleu) (Gallagher, s. d.). L'utilisation de fenêtres de grande taille permet de réduire le bruit et les légères variations dans les données spectrales, mais cela peut également supprimer de petits pics apportant des informations essentielles pour permettre la discrimination de différents spectres.

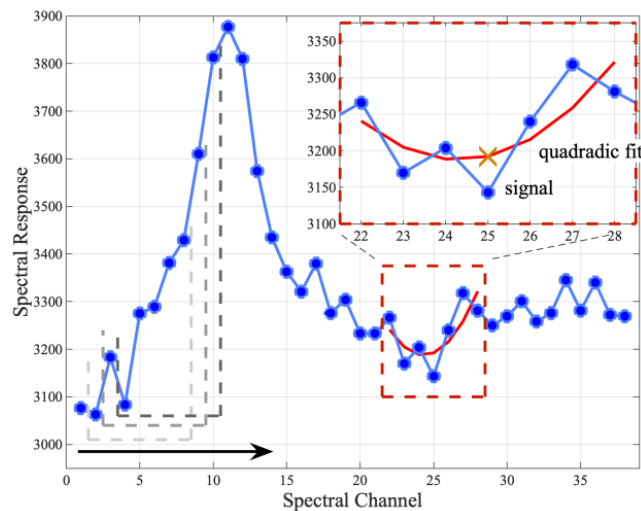


Figure 18 : Principe du lissage par l'algorithme de Savitzky-Golay (Gallagher, s. d.)

L'algorithme de Savitzky-Golay peut également estimer la dérivée d'ordre d dans chaque fenêtre de filtre. La figure 19 montre un exemple de signal Raman (en haut) et des estimations de la dérivée première (en bas). La courbe bleue dans le graphique de la dérivée première ne présente pas de bandes qui se distinguent du bruit. L'application du lissage sur cette dérivée première (courbe en rouge) a permis de visualiser plus clairement une bande mineure située en 1008 cm^{-1} (Gallagher, s. d.). La combinaison de la dérivée première et du lissage permet donc d'éliminer le décalage de la ligne de base et de mettre en évidence des bandes enfouies dans le bruit. L'application de la dérivée seconde sur le résultat de la combinaison de la dérivée première et du lissage (courbe en rouge) permet de « repositionner » la bande du spectre à son nombre d'onde initial.

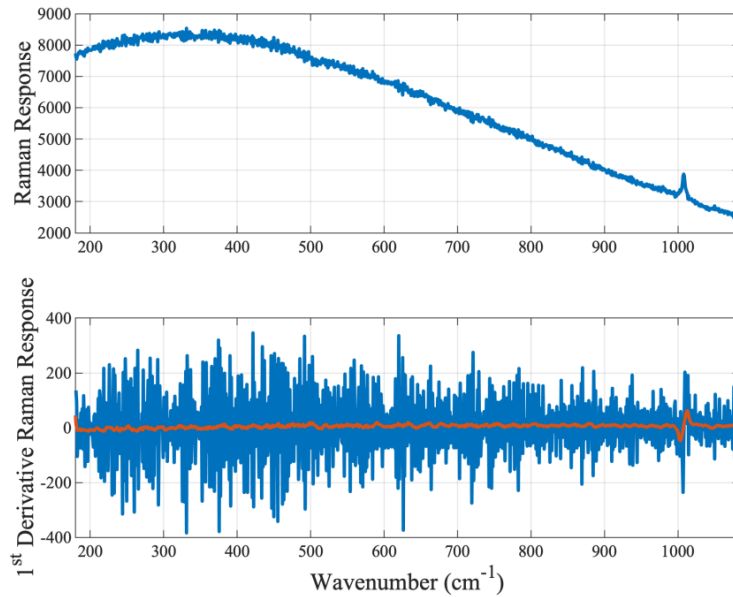


Figure 19 : Dérivée première et lissage par l'algorithme de Savitzky-Golay (Gallagher, s. d.)

3.1.2. Standard Normal Variate (SNV)

L'objectif de la SNV est de rendre tous les spectres comparables en termes d'intensités (ou de niveau d'absorbance) en éliminant efficacement les effets de la variation globale de l'intensité. Cette approche de normalisation consiste à considérer les valeurs qui s'écartent de la moyenne de l'échantillon individuel plus fortement que les valeurs proches de la moyenne (Eigenvector Research Documentation Wiki, s. d.).

La SNV effectue donc une normalisation des spectres en soustrayant la propre moyenne de chaque spectre et à diviser ce résultat par son propre écart-type. Après SNV, chaque spectre aura une moyenne de 0 et un écart-type de 1.

La SNV fonctionne selon la formule suivante :

$$x_{corr} = \frac{x_{org} - a_0}{a_1}$$

Où x_{org} est le spectre de l'échantillon original, x_{corr} est le spectre corrigé, a_0 est la moyenne des intensités du spectre et a_1 est l'écart-type des intensités du spectre.

3.2. Analyse multivariée : Analyse en composantes principales (PCA)

L'Analyse en Composantes Principales (PCA) est une méthode utilisée pour simplifier la visualisation et l'interprétation d'un grand ensemble de données, comprenant plusieurs individus (n individus) mesurés par rapport à un grand nombre de variables. Cette méthode génère de nouvelles variables non corrélées, appelées "**composantes principales**" (PC), qui

regroupent plusieurs variables du jeu de données dans le but de résumer au mieux les données. La première composante principale contient la majeure partie de l'information expliquant le jeu de données, suivie par la deuxième composante principale qui contient le maximum d'informations restantes, et ainsi de suite (T. Jolliffe & Cadima, 2016).

Les composantes principales sont calculées en fonction d'une **matrice de corrélations** (figure 20) entre toutes les variables. Cette matrice permet de comprendre comment les variables de l'ensemble des données varient les unes par rapport aux autres et de déterminer s'il existe une relation entre elles. La matrice de covariance est une matrice symétrique de taille $p \times p$ (où p est le nombre de dimensions), dont les entrées représentent les covariances associées à toutes les paires possibles de variables initiales (Jaadi, s. d.).

$$\begin{bmatrix} Cov(x, x) & Cov(x, y) & Cov(x, z) \\ Cov(y, x) & Cov(y, y) & Cov(y, z) \\ Cov(z, x) & Cov(z, y) & Cov(z, z) \end{bmatrix}$$

Figure 20 : Matrice de corrélation à 3 dimensions (Jaadi, s. d.)

La matrice de corrélation est utilisée pour calculer les **vecteurs propres** et les **valeurs propres** qui déterminent les PC. Les valeurs propres définissent l'importance de chaque PC dans la représentation des variables. Elles sont exprimées en pourcentage, indiquant la proportion de variance des variables expliquée par chaque PC par rapport à l'ensemble des variables. La première PC aura la valeur propre la plus élevée car elle capture le plus grand nombre de variables. Les vecteurs propres représentent les directions dans lesquelles les PC capturent le maximum de variance dans les données, c'est-à-dire le plus d'informations possibles (Caron, s. d.).

Les vecteurs propres avec les valeurs propres permettent de calculer les **loadings**, qui représentent le lien entre chaque axe et les variables. En d'autres termes, les loadings mesurent dans quelle mesure une variable est corrélée avec une PC. Par exemple, les variables fortement associées à une certaine PC auront des loadings très élevés avec cette PC, mais des loadings beaucoup plus faibles avec les PC auxquelles elles sont moins associées (Caron, s. d.).

Enfin, la projection de la matrice du jeu de données sur les composantes principales est possible après le calcul des **scores**. Les scores représentent les nouvelles coordonnées de chaque individu du jeu de données sur chaque composante principale. La matrice des scores (Y) est obtenue en multipliant la matrice du jeu de données normalisées (Z) par la matrice des vecteurs propres de toutes les composantes principales (V) (CSBQ, s. d.) :

$$Y = Z.V$$

3.3. Analyses statistiques

3.3.1. Statistiques sur la répétabilité

La **répétabilité** est la fidélité dans les conditions de mesures suivantes : « conditions qui comprennent la même procédure de mesure, 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 » (Desquilbet, 2019).

Dans le cas de données spectrales, il est plus intéressant de calculer la **moyenne quadratique** (RMS) que la moyenne arithmétique car cette moyenne quadratique permet de prendre en compte les variations d'intensité du spectre. Le calcul de la moyenne quadratique va permettre de refléter les variations d'intensité du spectre en une valeur unique qui va être utilisée pour comparer les différences entre les spectres d'un même échantillon. Cette moyenne représente la racine carrée de la somme des carrés de chaque intensité spectrale du spectre j à un nombre d'onde i (x_i^2) sur la gamme totale des nombres d'ondes (n).

$$RMS_j = \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{n}}$$

Le **coefficient de variation** (CV) permet d'évaluer la répétabilité d'une méthode d'analyse en déterminant la dispersion des mesures répétées par rapport à la moyenne. Ce coefficient est le rapport entre l'écart-type des mesures répétées (σ) et la moyenne des mesures répétées (\bar{X}), multiplié par 100 pour obtenir une réponse exprimée en pourcentage.

$$CV = \frac{\sigma}{\bar{X}} \cdot 100$$

3.3.2. Statistiques sur la reproductibilité

La **reproductibilité** est la fidélité dans les conditions de mesures suivantes : « conditions qui comprennent des lieux, des opérateurs et des systèmes de mesure différents, ainsi que des mesurages répétés sur le même objet ou des objets similaires » (Desquilbet, 2019). Elle permet de contrôler la stabilité des mesures dans le temps, entre différents expérimentateurs, à partir d'appareils différents, etc. Pour étudier la reproductibilité, nous utiliserons le test statistique de **l'analyse de la variance (ANOVA - Analysis Of Variance)** car il permet de comparer la répartition de plusieurs échantillons, selon un ou plusieurs facteurs qualitatifs, parmi une population. Ce test permettra d'évaluer la reproductibilité en comparant les données récoltées sur des échantillons préparés et mesurés à trois périodes distinctes.

Deux hypothèses sont nécessaires pour réaliser une ANOVA : l'hypothèse de normalité – tous les échantillons suivent une loi normale – et l'hypothèse d'indépendance – chaque échantillon est indépendant des autres. L'ANOVA va permettre de tester une hypothèse de départ,

appelée H_0 , qui considère que tous les échantillons ont la même moyenne. Cette hypothèse s'oppose à l'hypothèse alternative, nommée H_1 , qui expose qu'au moins un échantillon possède une moyenne différente des autres. La p-valeur, obtenue par le test ANOVA, est la valeur de référence qui permet de conclure sur le rejet ou le non-rejet de l'hypothèse H_0 . Pour cela, elle est comparée à un seuil de rejet (ou seuil de risque) appelé α . Lorsque la p-valeur est inférieure à α , l'hypothèse de départ est rejetée ; tandis que lorsqu'elle est supérieure à α , H_0 est considéré comme non rejetée et donc les groupes ont des moyennes semblables.

Chapitre 2 : Présentation de l'étude

4. Description de l'étude

L'épinard est l'un des légumes les plus couramment plantés dans le monde. Les consommateurs sont de plus en plus nombreux à prêter attention aux bienfaits des épinards en raison de leur haute valeur nutritionnelle. Il s'agit d'un légume important, riche en vitamines, minéraux et fibres alimentaires (Abdulra'uf et al., 2012; Kim et al., 2012). Le processus de sélection à long terme imposé pour améliorer la productivité et la qualité des épinards a rendu les cultures d'épinards moins résistantes aux maladies, aux parasites et aux conditions environnementales défavorables (Bonnechère et al., 2012; Shuying et al., 2015; Yu et al., 2015). Pour maintenir un rendement élevé de la production d'épinards, l'utilisation de pesticides est considérée comme une pratique agricole économique. Selon « Group Environmental Working », les épinards sont l'un des produits les plus contaminés par les pesticides (Group Environmental Working, s. d.).

Ce mémoire constitue une **étude de faisabilité** visant à évaluer la **capacité de détection** de la **spectroscopie Raman de résidus de pesticides présent à la surface de feuilles d'épinard**. Ce mémoire tentera de répondre aux questions suivantes : la spectroscopie Raman permet-elle d'identifier différents pesticides ? Permet-elle de détecter de faibles doses de pesticides ? Comment prélever des pesticides appliqués sur des feuilles d'épinard ?

Durant l'expérience de ce travail, différentes concentrations de pesticides ainsi que des pesticides pulvérisés et prélevés sur des feuilles d'épinard en laboratoire ont été analysés par des spectromètres Raman lors de l'expérience de ce mémoire. Deux spectromètres Raman ont été utilisés et comparés : le spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny) et le microscope Raman Senterra II de chez Bruker. Les spectres acquis ont été traités par des méthodes chimiométriques afin de déterminer si les instruments spectroscopiques Raman étaient capables, dans un premier temps, d'identifier des pesticides purs et, dans un second temps, de détecter des pesticides présents à la surface de feuilles d'épinard.

5. Matériel

5.1. Échantillons de pesticides

L'Unité Produits de Protection, de Contrôle et Résidus du CRA-W (U10) a fourni cinq pesticides **liquides** différents pour cette étude, comprenant trois fongicides et deux insecticides. Ci-dessous, vous trouverez la liste de ces pesticides avec leurs substances actives correspondantes. Chaque pesticide est identifié par son numéro CRA-W, qui est le nom d'encodage utilisé dans la base de données du CRA-W. Ces désignations seront utilisées tout

au long de l'étude pour référencer les différents pesticides. De plus, l'expression « échantillons de pesticide » sera raccourci en « échantillons ».

Tableau 6 : Les cinq pesticides du CRA-W

Type de pesticides	Numérotation CRA-W	Substance active	Type de formulation
Fongicide	7844	62,5 g/l Fluxapyroxad 45 g/l Metconazole	Concentrations émulsionnables (EC)
	7749	400 g/l Propamocarb-HCl 50 g/l Cymoxanil	Suspensions concentrées (SC)
	7851	450 g/l Propamocarb HCl 67,5 g/l Zoxamide	Solution liquide soluble (SL)
Insecticide	7130	100 g/l Lambda-cyhalothrine	Suspensions concentrées (SC)
	7997	200 g/l Chlorantraniliprole	Suspensions concentrées (SC)

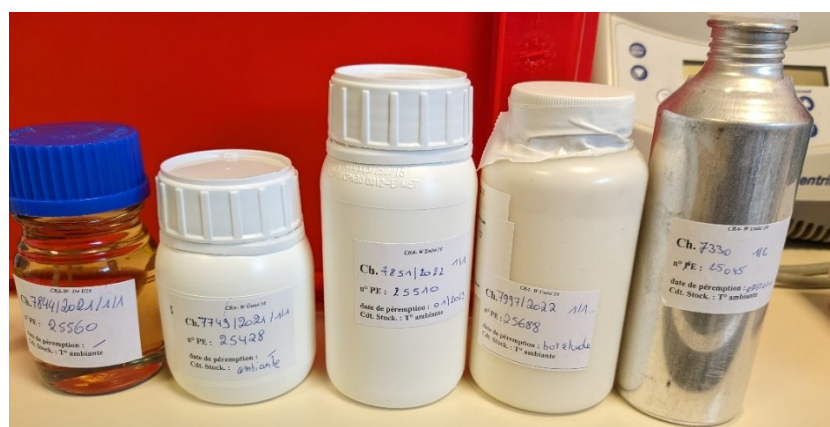


Figure 21 : Les échantillons de pesticide

Les pesticides fournis sont utilisables sur une variété de cultures telles que le blé, l'orge, la pomme de terre, les épinards, le chou, la salade, etc., comme indiqué sur "Phytoweb.be". Deux pesticides parmi ceux utilisés dans cette étude s'appliquent spécifiquement aux feuilles d'épinard : le produit 7130 et 7997.

5.2. Présentation des spectromètres Raman

5.2.1. Spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny)

Le spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny) est équipé d'un laser d'excitation de 1064 nm et offre une plage de détection spectrale allant de 200 à 2500 cm^{-1} . Ce dispositif permet des temps d'exposition de l'échantillon variant de 5 à 30 000 ms, avec une puissance réglable allant de 10 à 490 mW. Il intègre un système de traitement du bruit de fond et de correction de la ligne de base, ce qui permet d'obtenir rapidement des spectres exploitables (Akpolat et al., 2020).



Figure 22 : Spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny)

Le paramètre "moyenne" joue un rôle crucial dans l'atténuation du bruit de fond et l'amplification des intensités des bandes. En moyennant les spectres de plusieurs analyses réalisées sur la même zone pointée par le laser, le bruit aléatoire est réduit, tandis que les bandes caractéristiques sont renforcées. Cette moyenne est effectuée sur la zone analysée par le laser, permettant ainsi d'obtenir un spectre avec un signal de bruit minimal et des bandes distinctes et intenses.

La "focale" est un paramètre qui détermine la profondeur d'analyse dans un échantillon placé dans un contenant permettant au laser de le traverser. Cette profondeur est définie par la distance entre le point focal du cône laser (figure 23) et la surface de l'échantillon. Une petite focale signifie que le point focal du laser se trouve à faible profondeur dans l'échantillon. À l'inverse, une valeur de focale élevée indique que le laser pénètre plus profondément dans l'échantillon.

Lors de l'expérience décrite dans ce mémoire, certains échantillons ont été placés sur des plaques en aluminium, des supports qui ne laissent pas passer le laser. Dans ce contexte, la focale n'est plus utilisée pour modifier la profondeur d'analyse, mais plutôt pour ajuster la surface d'analyse sur la plaque d'aluminium. La figure 23 illustre que lorsque le point focal se situe derrière la surface de l'échantillon, la zone d'analyse s'élargit. Une focale plus élevée entraîne une plus grande surface analysée. Cependant, une surface d'analyse plus large réduit

l'intensité du laser, car l'énergie du laser est distribuée sur une surface plus grande, diminuant ainsi le phénomène Raman.

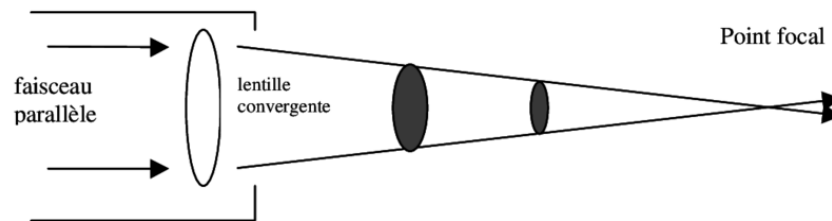


Figure 23 : Schéma de la convergence du laser

La puissance du laser et le temps d'exposition sont des paramètres influençant le signal Raman mesuré. Une puissance laser élevée accroît les probabilités d'occurrence des phénomènes Raman, augmentant ainsi l'intensité du signal détecté. Le temps d'exposition correspond à la durée pendant laquelle l'échantillon est exposé au laser. Plus ce temps d'exposition est long, plus les phénomènes Raman ont l'occasion de se produire, ce qui renforce l'intensité du signal mesuré. Cependant, une puissance du laser élevée peut entraîner la brûlure de l'échantillon et un trop long temps d'exposition peut engendrer une saturation du signal Raman mesuré.

5.2.2. Microscope Raman Senterra II

Le microscope Raman Senterra II est un spectromètre de type dispersif. Il est équipé d'un système permettant l'émission de lasers générés par des diodes à des longueurs d'onde différentes : 532 et 785 nm, avec des puissances variant de 0 à 100 mW. Le dispositif de détection du signal Raman est géré par un système de transfert de charge (CCD) refroidi à -60 °C. De plus, un microscope BX53M Olympus est installé sur l'appareil, avec plusieurs objectifs disponibles : x10, x40, x50 et x100. Le Senterra II permet l'acquisition de spectres dans une plage de nombre d'onde allant de 3650 à 50 cm^{-1} , avec une résolution spectrale de 4 cm^{-1} ou de $1,5$ cm^{-1} . L'acquisition et le traitement des spectres se font via le logiciel "OPUS 7.8" fourni par Bruker, le fabricant de ce spectromètre (Bittel, 2017; Lieutaud, 2019).

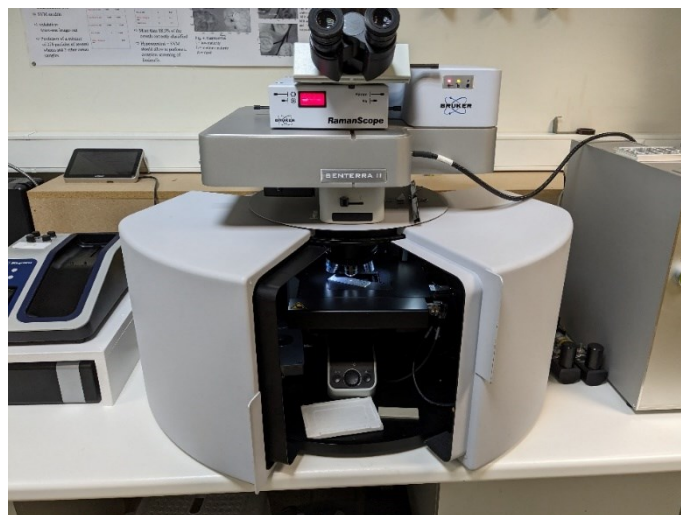


Figure 24 : Microscope Raman Senterra II

Le traitement du bruit est effectué à l'aide d'un paramètre appelé "coaddition". Ce traitement permet d'améliorer le rapport signal sur bruit. La coaddition consiste à additionner plusieurs mesures successives du même point mesuré de l'échantillon. Cette somme de bruit de plusieurs spectres permet de réduire le bruit global, tandis que la somme des bandes renforce leur intensité, de manière similaire à l'atténuation du bruit par la moyenne du spectromètre Raman portable précédemment présenté.

La puissance du laser et le temps d'intégration sont des paramètres influençant le signal Raman mesuré pour les mêmes raisons que celles citées pour le spectromètre Raman portable. Une puissance de laser élevée augmente les probabilités de réalisation des phénomènes Raman, augmentant ainsi l'intensité du signal mesuré. De même, un temps d'intégration plus long permet une plus grande occurrence du phénomène Raman, améliorant la mesure du signal.

5.2.3. Présentation des paramètres d'analyse utilisés

Les paramètres des spectromètres Raman ont été optimisés afin de produire des spectres présentant des bandes d'intensité maximale tout en réduisant au minimum les interférences dues à la fluorescence. Des paramètres d'analyse spécifiques ont ainsi été sélectionnés pour chacun des deux spectromètres.

- Spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny)

Les paramètres pouvant être optimisés sur le spectromètre Raman portable sont la puissance du laser, le temps d'exposition, la focale et la moyenne. Pour les échantillons de pesticides présentés sous forme **liquide** et **sèche**, des paramètres optimaux spécifiques ont été

déterminés. La préparation des échantillons liquides et secs est expliquée dans la section « 6.1.2 : Etape 2 ».

Trois sets de paramètres ont ainsi été définis pour cet appareil :

- Pour l'analyse rapide d'échantillons **liquides** : Une puissance de 490 mW, un temps d'exposition de 1000 ms, une focale de 1,5 et une moyenne de 5.
- Pour l'analyse rapide d'échantillons **secs** : une puissance de 200 mW, un temps d'exposition de 1000 ms, une focale de 2 et une moyenne de 5.
- Pour l'analyse optimale d'échantillons **liquides** : une puissance de 490 mW, un temps d'exposition de 20 000 ms, une focale de 1 et une moyenne de 5.
- Pour l'analyse optimale d'échantillons **secs** : une puissance de 200 mW, un temps d'exposition de 20 000 ms, une focale de 2 et une moyenne de 5.

- Microscope Raman Senterra II

Les échantillons soumis au microscope Raman Senterra II sont des échantillons **secs**. Le processus de séchage des échantillons secs est réalisé sous une hotte à température ambiante durant 24 heures sur des plaques d'aluminium. Ce procédé de séchage facilite l'analyse des particules de pesticide, celles-ci étant fixées à la plaque d'aluminium et moins susceptibles de se déplacer par rapport à des échantillons liquides.

Les paramètres d'analyse des échantillons secs sont les suivants : une puissance de 100 mW, un temps d'exposition de 10 000 ms, objectif 40x et 5 coaddition. Ces paramètres sont maintenus constants pour toutes les analyses.

5.3. Présentation du support d'échantillonnage

Pendant cette étude, les échantillons de pesticides seront appliqués sur deux types de supports distincts : un support standard et un support végétal.

5.3.1. Support standard

Les plaques en aluminium ont été sélectionnées comme supports standard les plus adaptés pour l'analyse des substances liquides telles que les pesticides. Des tests réalisés par le CRA-W ont démontré que les plaques d'aluminium offrent la meilleure réponse Raman pour les pesticides analysés. Leur faible réponse Raman limite les interférences avec la réponse du pesticide, ce qui en fait un choix optimal pour ces analyses.

5.3.2. Support végétal

Les feuilles d'épinard ont été choisies comme support végétal d'analyse car ce sont des éléments pertinents à analyser pour détecter la présence de pesticides. Lorsqu'un pesticide est

pulvérisé sur une culture, il se répand sur l'ensemble des éléments de la plante, en particulier sur les feuilles qui représentent une surface importante et sont plus susceptibles de contenir des résidus de pesticides. De plus, certains pesticides ciblent spécifiquement les pathogènes qui affectent les feuilles des plantes, ce qui renforce l'intérêt de les analyser. Ce sont également des support pratique à analyser en raison de leur grande surface. Les feuilles présentent aussi des nervures où peuvent se loger de pesticides simplifiant la recherche pour les détecter.

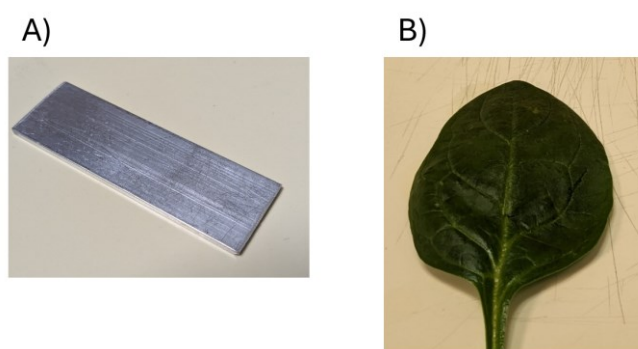


Figure 25 : Support (A) standard et (B) végétal

6. Méthode

6.1. Mode opératoire de l'expérience

Le mode opératoire de l'expérience de cette étude se déroule en plusieurs étapes :

- **Étape 1 :** Mesure de la réponse Raman du matériel expérimental
- **Étape 2 :** Détection de pesticides purs par spectroscopie Raman
- **Étape 3 :** Détection de pesticides dilués par spectroscopie Raman
- **Étape 4 :** Mise en place d'une méthode de prélèvement de pesticides sur des feuilles d'épinard et analyse des pesticides prélevés

6.1.1. Etape 1 : Réponse Raman du matériel expérimental

Cette première étape de l'expérience a consisté à analyser tout le matériel utilisé, indiqué dans le tableau ci-dessous, afin d'obtenir leur réponse Raman. L'objectif était de déterminer si les spectres obtenus lors des étapes suivantes présentaient la réponse Raman du pesticide ou du matériau lui-même.

L'ensemble du matériel utilisé lors des analyses est présenté dans le tableau suivant :

Tableau 7 : Matériel expérimental

Type de matériel	Matériel
Solvant de dilution	Eau distillée MilliQ

Matériel de prélèvement	Coton-tige
	Solution de prélèvement composé de 20% acétone et 80 % d'eau distillée
Support de présentation	Plaque en aluminium
	Feuille d'épinard (Colruyt)

Les deux spectromètres ont été utilisés pour analyser le matériel nécessaire aux mesures expérimentales :

- Spectromètre Raman portable

Le spectromètre Raman portable a été utilisé pour analyser le solvant ainsi que les deux types de supports. Le solvant (**eau distillée**) et le mélange d'**acétone-eau distillée** a été placé dans une fiole de 4 ml d'une hauteur de 3,5 cm et d'une circonférence de 1,2 cm. La fiole a été insérée dans le dispositif à fiole du spectromètre Raman portable pour analyse. La **plaque d'aluminium**, la **feuille d'épinard** et le **coton** ont été présentés directement au point de sortie du laser du spectromètre Raman portable à l'aide d'un dispositif permettant la présentation d'échantillons solides. Les paramètres d'analyse du spectromètre Raman portable ont été réglés sur le set d'analyse optimal pour les échantillons liquides pour l'analyse de l'eau distillée et du mélange d'acétone-eau distillée. Pour l'analyse de la plaque d'aluminium, du coton et de la feuille d'épinard, les paramètres d'analyse le set d'analyse optimal pour les échantillons secs.

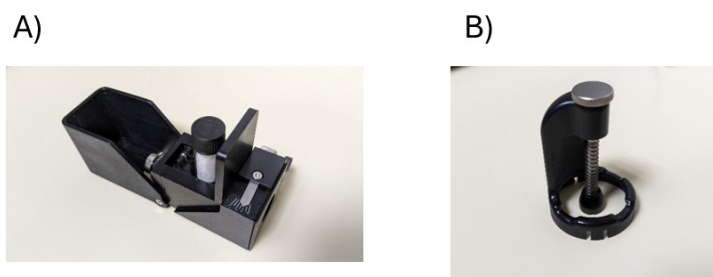
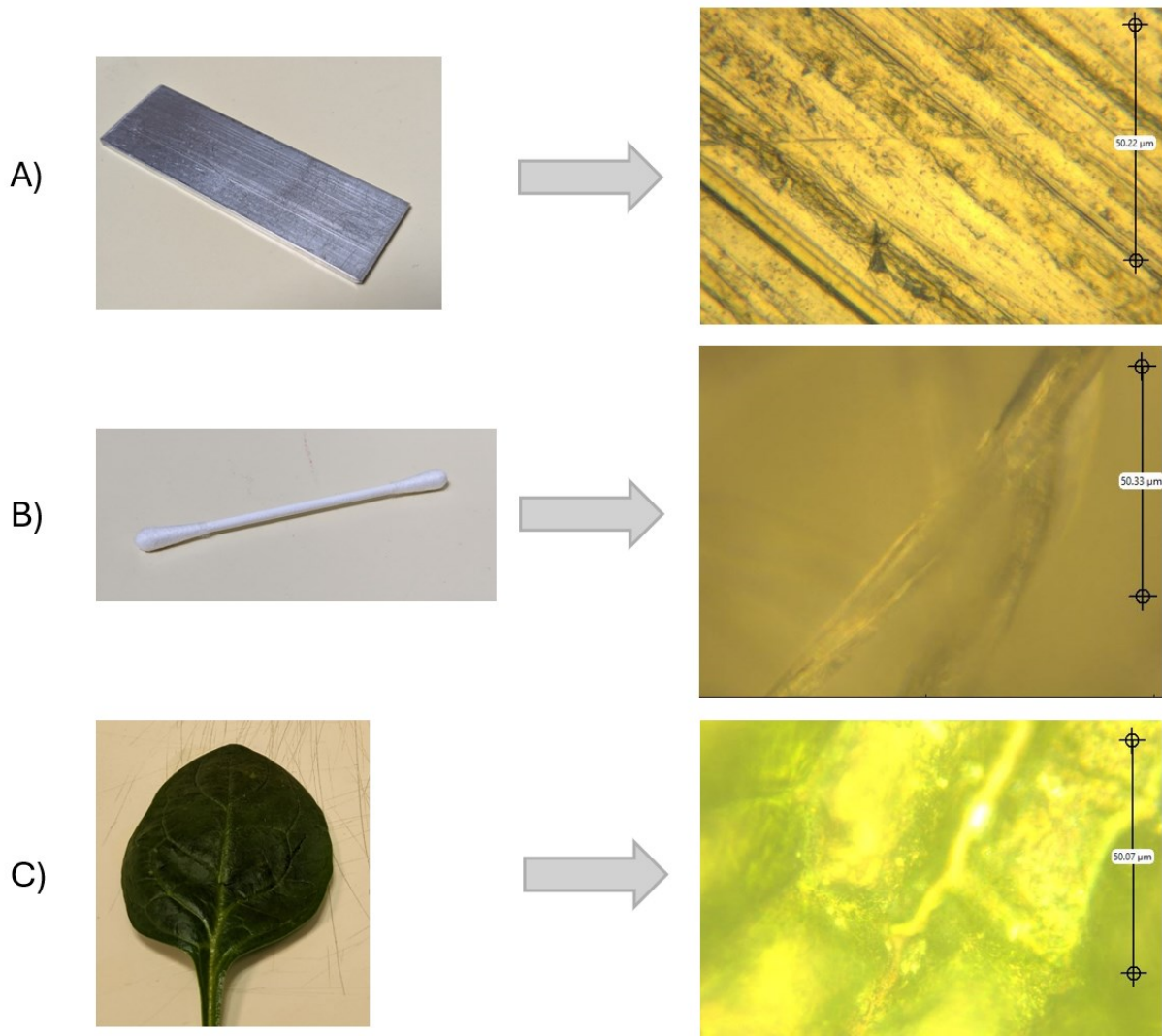


Figure 26 : (A) Dispositif pour fiole ; (B) Dispositif pour des échantillons solides

- Microscope Raman Senterra II

Le microscope Raman Senterra II a été utilisé pour analyser la **plaque d'aluminium**, le **coton** et la **feuille d'épinard**. L'eau distillée n'a pas été analysée car les échantillons présentés au microscope Raman Senterra II étaient séchés, car il aurait été difficile d'analyser et cibler des particules de pesticides dans un milieu liquide en raison du mouvement des particules qui bougent dans la goutte d'eau distillée déposée. Les plaques d'aluminium, le coton et les feuilles d'épinard ont été analysées avec les paramètres optimisés. Pour chaque matériel analysé, des zones d'analyse ont été sélectionnées à l'aide du microscope associé. Pour la

plaque d'aluminium et le coton, les zones d'analyse ont été réparties aléatoirement sur toute sa surface. Pour la feuille d'épinard, les zones d'analyse ont été réparties aléatoirement le long des nervures de la feuille.



6.1.2. Etape 2 : Détection de pesticides purs par spectroscopie Raman

Pour répondre à cette question, les cinq pesticides fournis par le CRA-W ont été analysés à des concentrations pures par les deux spectromètres. Voici la préparation des échantillons présentés pour chaque spectromètre :

- Spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny)

Pour le spectromètre Raman portable, des échantillons de pesticides à concentration pure ont été analysés sous forme **liquide** et **sèche** afin d'évaluer l'impact du séchage sur la réponse

Raman des pesticides. L'intérêt d'analyser des échantillons secs lors de cette étape 2 réside dans le fait que les échantillons analysés lors des étapes suivantes sont obligatoirement sous forme séchée.

Des échantillons de pesticides purs **liquides** ont été préparés en prélevant un volume de 4 ml, puis en les aliquotants dans une fiole en verre de même volume. Ensuite, la fiole a été présentée au spectromètre Raman portable en utilisant le dispositif spécifique pour les fioles. Les paramètres utilisés pour cette analyse correspondaient au réglage pour l'analyse rapide d'échantillons liquides.

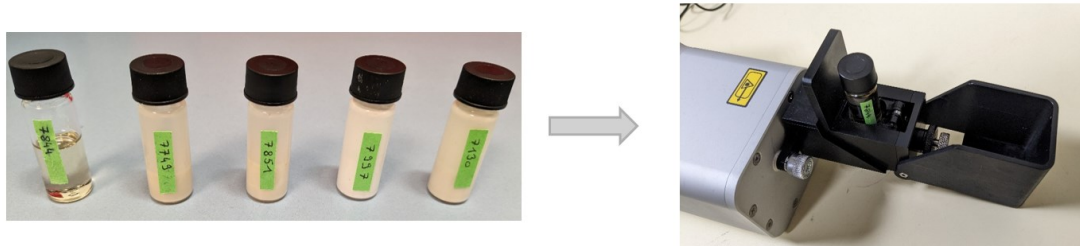


Figure 28 : Echantillons liquides des cinq pesticides purs en fiole analysés par le spectromètre Raman portable

Des échantillons de pesticides purs **secs** ont été préparé en étalant le produit sur une plaque d'aluminium à l'aide d'un coton-tige, puis en les laissant sécher pendant 24 heures sous hotte à température ambiante. Ensuite, la plaque a été présentée au spectromètre Raman portable en utilisant le dispositif spécifique pour les échantillons solides. Les paramètres utilisés pour cette analyse correspondaient au réglage pour l'analyse rapide d'échantillons secs.

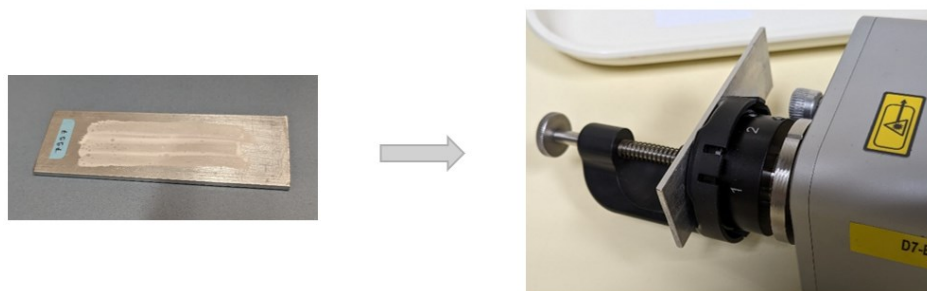


Figure 29 : Echantillons secs des cinq pesticides purs sec analysés par le spectromètre Raman portable

- Microscope Raman Senterra II

Pour le microscope Raman Senterra II, des échantillons **secs** des pesticides à concentration pure ont été préparés en étalant le produit sur une plaque d'aluminium à l'aide d'un coton-tige, puis en les laissant sécher pendant 24 heures. Ces échantillons ont ensuite été présentés

au microscope Raman Senterra II, où plusieurs zones d'analyse ont été sélectionnées aléatoirement à l'aide du microscope et analysées.

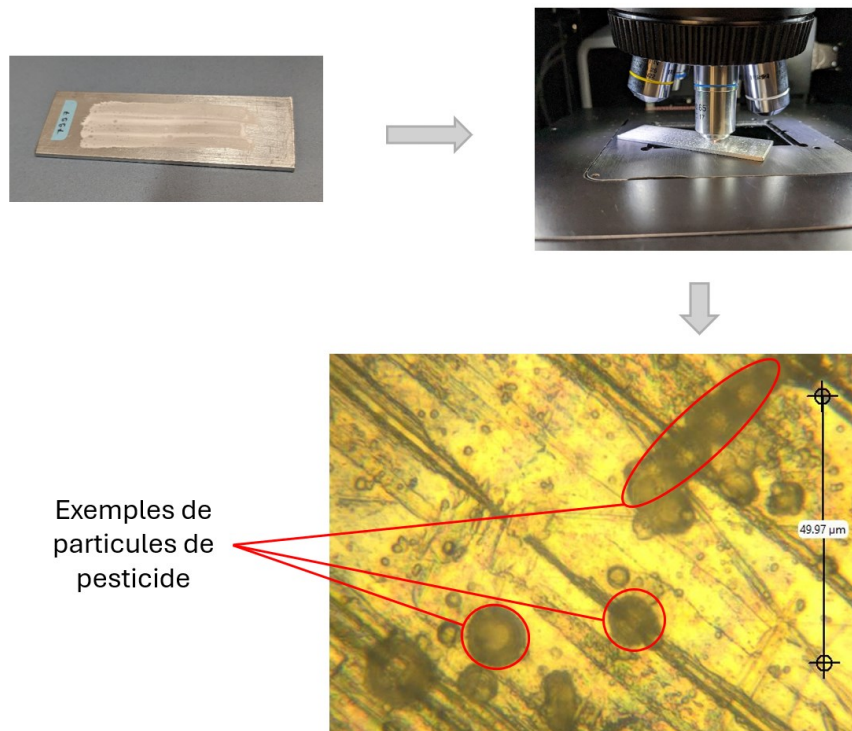


Figure 30 : Echantillon sec de pesticide pur analysé par le microscope Raman Senterra II

6.1.3. Etape 3 : Détection de pesticides dilués par spectroscopie Raman

L'étape 3 vise à analyser des solutions de pesticide à des concentrations de plus en plus faibles pour déterminer le seuil de détection de pesticides pour chaque spectromètre. Tout d'abord, nous détaillerons la préparation des solutions à différentes concentrations. Ensuite, nous expliquerons la méthodologie d'analyse pour chaque spectromètre.

Pour la prochaine étape de l'expérience, nous avons sélectionné deux pesticides parmi les cinq proposés : le 7130 et le 7997. Cette sélection s'est basée sur le type de pesticides et les substances actives qu'ils contiennent. Les deux pesticides choisis sont des insecticides contenant une seule substance active, tandis que les trois autres pesticides sont des fongicides comprenant un mélange de plusieurs substances actives. De plus, les résultats de l'étape 1 ont montré que les spectres des trois autres pesticides (7749, 7844 et 7851) ne fournissent pas beaucoup d'informations spectrales, contrairement aux deux pesticides (7130 et 7997).

a) Préparation des solutions

La préparation de six solutions à différentes concentrations de pesticide a été effectuée. Les **concentrations** des solutions sont exprimées en **pourcentage de pesticide contenu dans la**

solution. Ces concentrations en pourcentage sont les suivantes : 100 %, 50 %, 25 %, 10 %, 1 % et 0.1 %.

Le tableau ci-dessous indique les concentrations des substances actives en grammes par litre pour chaque pourcentage de la solution des pesticides 7130 et 7997 :

Tableau 8 : Concentration en substance active des solutions diluées

Pesticide		7130	7997
Substance active		Lambda-cyhalothrin	Chlorantraniliprole
Concentration de la solution	100 %	100 g/l Lambda-cyhalothrin	200 g/l Chlorantraniliprole
	50 %	50 g/l Lambda-cyhalothrin	100 g/l Chlorantraniliprole
	25 %	25 g/l Lambda-cyhalothrin	50 g/l Chlorantraniliprole
	10 %	10 g/l Lambda-cyhalothrin	20 g/l Chlorantraniliprole
	1 %	1 g/l Lambda-cyhalothrin	2 g/l Chlorantraniliprole
	0,1 %	0,1 g/l Lambda-cyhalothrin	0,2 g/l Chlorantraniliprole

La préparation des solutions s'est déroulée par **dilution**. Les solutions concentrées à 100 %, 50 % et 25 % ont été préparées dans des récipients de 4 ml de volume. Pour la préparation d'une solution à 50 %, par exemple, 2 ml du pesticide ont été versés dans le récipient, auxquels ont été ajoutés 2 ml d'eau distillée pour obtenir la solution désirée. L'utilisation de récipients de petit volume visait à limiter l'utilisation de grandes quantités de pesticides pour les solutions les plus concentrées.

Les solutions de 10 %, 1 % et 0.1 % ont été préparées dans un ballon jaugé de 50 ml. Tout d'abord, une solution à 10 % a été obtenue en versant 5 ml du pesticide dans le ballon jaugé, puis en complétant avec de l'eau distillée jusqu'au trait, avant d'homogénéiser le mélange. Ensuite, la solution à 1 % a été préparée en prélevant 5 ml de la solution à 10 % et en les ajoutant au ballon jaugé, complété ensuite avec de l'eau distillée jusqu'au trait. Enfin, la solution à 0.1 % a été préparée de la même manière à partir de la solution à 1 %.

b) Méthodologie d'analyse

La préparation d'échantillons secs de chaque solution de pesticide a été réalisé en étalant ces solutions sur des plaques en aluminium à l'aide d'un coton-tige, puis laissée sécher pendant 24 heures sous hotte à température ambiante. Ces échantillons secs ont été ensuite analysés par les deux spectromètres :

- Spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny)

Les échantillons secs ont été présentée au spectromètre Raman portable à l'aide du dispositif pour échantillons solides. Les paramètres utilisés pour cette analyse correspondaient au réglage pour l'analyse optimale d'échantillons secs.

- Microscope Raman Senterra II

Les échantillons sont présentés au microscope Raman Senterra II, où différentes zones d'analyse sur la surface de l'échantillon sont sélectionnées aléatoirement à l'aide du microscope pour l'analyse de celui-ci.

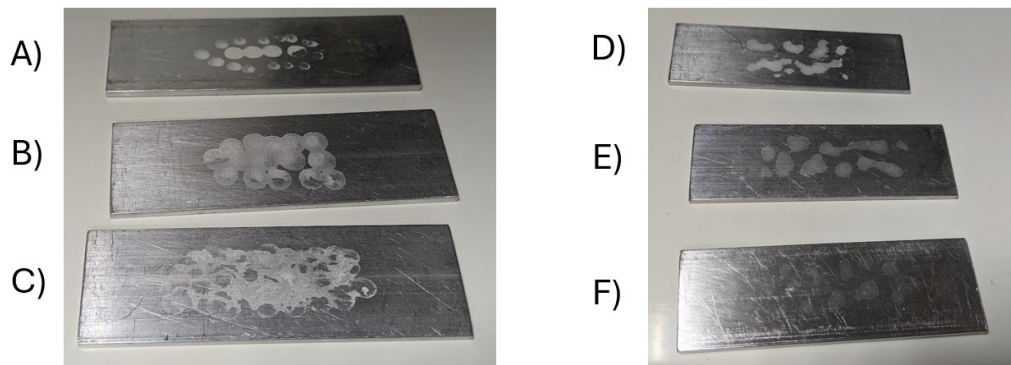


Figure 31 : Echantillons secs de pesticide à différentes concentrations : (A) 100 % ; (B) 50 % ; (C) 25 % ; (D) 10 % ; (E) 1% ; (F) 0,1 %

6.1.4. Etape 4 : Mise en place d'une méthode de prélèvement de pesticides sur des feuilles d'épinard

L'objectif de cette étape est de comparer différentes méthodes de prélèvement de résidus de pesticides et de déterminer la plus efficace. Pour ce faire, plusieurs méthodes ont été mises en place pour prélever les pesticides pulvérisés sur un support végétal, à savoir des feuilles d'épinard.

a) Préparation des solutions

Au total, quatre solutions de pesticides ont été préparées pour être pulvérisées sur des feuilles d'épinard : une solution à concentration élevée (10 %) pour chacun des deux pesticides (7130 et 7997) et une solution à concentration faible (0,1 %) pour chacun des deux pesticides.

La solution concentrée à 10 % a été sélectionnée comme solution à forte concentration pour chaque pesticide. L'utilisation de cette solution concentrée vise à garantir une présence suffisante de particules de pesticides sur les feuilles d'épinard. Cela permet de vérifier l'efficacité des différentes méthodes de prélèvement en s'assurant que des particules de pesticides sont effectivement présentes sur les feuilles.

La solution concentrée à 0,1 % a été choisie comme solution à faible concentration pour chaque pesticide. Cette faible concentration est proche des concentrations des solutions de pesticides utilisées en champ.

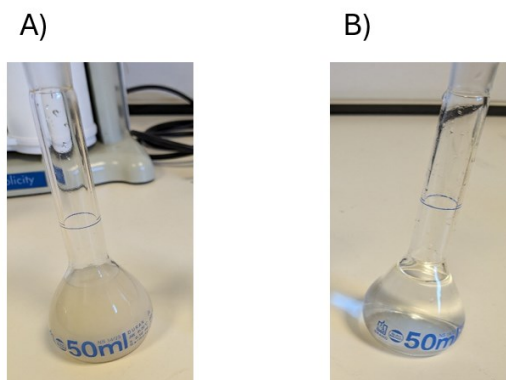


Figure 32 : (A) Solution du pesticide concentrée à 10 % ; (B) Solution de pesticide concentrée à 0,1 %

b) Système de pulvérisation

Quatre plateaux ont été préparés, chacun contenant six feuilles d'épinard et une plaque en aluminium (témoin). Sur chaque plateau, une solution de pesticide différente a été pulvérisée avec un spray (figure 33) de manière à recouvrir complètement les feuilles d'épinard et la plaque d'aluminium (témoin). Ensuite, les plateaux ont été laissés à sécher pendant 24 heures.

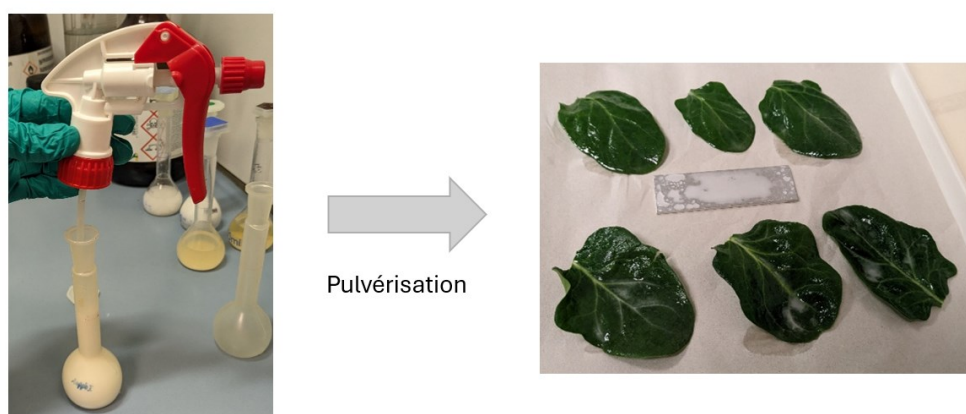


Figure 33 : Pulvérisation des feuilles d'épinard avec une solution de pesticide

c) Méthode de prélèvement

Trois méthodes de prélèvement ont été appliquées sur les feuilles d'épinard de chaque plateau :

- Méthode 1 : Grattage

Cette méthode a impliqué de gratter la surface de deux feuilles d'épinard à l'aide d'un coton-tige préalablement trempé dans un mélange d'acétone et d'eau distillée (20 % acétone / 80 % eau distillée). Étant donné que les deux pesticides sont solubles dans l'acétone (MacLachlan, s. d.; Sieke, s. d.), l'utilisation de ce mélange a facilité la solubilisation des pesticides, ce qui a

permis de récupérer plus efficacement les particules de pesticides présentes sur la surface des feuilles d'épinard. Une étude préliminaire a été réalisée au CRA-W sur la détection de pesticides à la surface des pommes, utilisant un mélange d'acétone et d'eau distillée (20 % acétone / 80 % eau distillée). Cette étude a conduit à l'utilisation du même ratio acétone-eau distillée pour le mélange dans cette recherche.

Une fois le pesticide récupéré sur le coton-tige, celui-ci a été ensuite tamponné sur une plaque en aluminium pour y déposer les particules de pesticides contenues dans le coton-tige. Ensuite, la plaque a été laissée sous hotte à température ambiante pendant 24 heures pour permettre le séchage.

- Méthode 2 : Lavage

Un volume de 4 ml d'eau distillée a été versé dans un récipient contenant deux feuilles d'épinard pulvérisées. Les feuilles ont été agitées pour détacher les particules de pesticides présentes sur leur surface, puis laissées dans le récipient pendant 10 minutes. Ensuite, un coton-tige sec a été plongé dans la solution et tamponné sur une plaque d'aluminium. Par la suite, la plaque d'aluminium a été laissée à sécher pendant 24 heures sous hotte à température ambiante.

La solution de lavage a été récupérée dans une fiole de 4 ml qui ensuite a été laissée de côté durant 24 heures afin qu'un dépôt du pesticide se forme au fond de la fiole.

- Méthode 3 : Analyse directe

Cette troisième méthode ne nécessite aucune manipulation ; deux feuilles d'épinard ont été directement présentées et analysées par les deux spectromètres Raman.

- Témoin

La plaque d'aluminium placée parmi les feuilles d'épinard lors de la pulvérisation sert de témoin. Ce témoin permet de vérifier si les particules de pesticide ont effectivement été projetées lors du processus de pulvérisation. La plaque d'aluminium pulvérisée n'a subi aucune manipulation et a été directement analysée par les deux spectromètres.

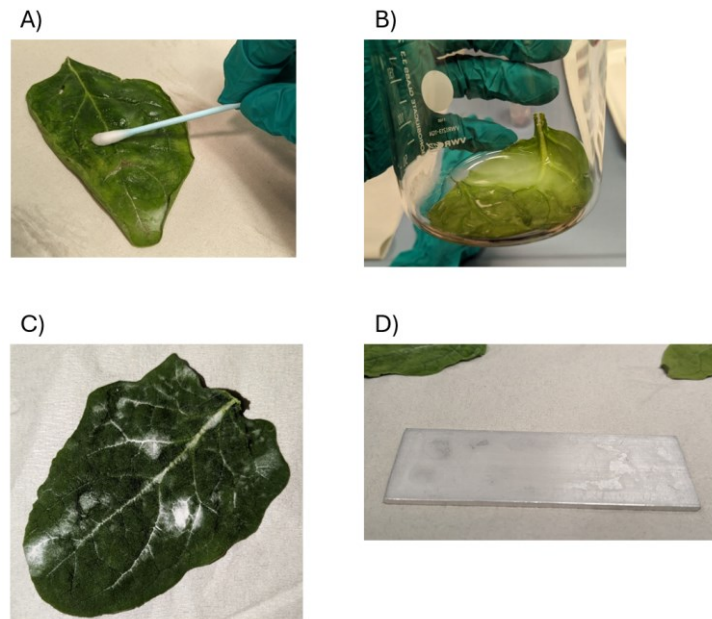


Figure 34 : (A) Méthode 1 : grattage ; (B) Méthode 2 : lavage ; (C) Méthode 3 : analyse directe ; (D) Témoin

d) Analyse

Après l'application des différentes méthodes de prélèvement, une plaque a été obtenue pour chaque méthode. Au total, quatre plaques ont été obtenues pour chaque solution de pesticide, puis analysées par les deux spectromètres.

- Spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny)

Pour l'analyse des particules de pesticides sur les plaques d'aluminium (méthodes 1, 2 et témoin), les plaques ont été positionnées devant le laser du spectromètre Raman portable à l'aide d'un dispositif d'échantillon sec. Afin d'obtenir un signal Raman précis du pesticide, les plaques ont été orientées de manière à présenter une partie du contour d'une tache formée par les gouttelettes lors du tamponnage. Les particules de pesticides ont tendance à se concentrer et à sécher sur le pourtour de la tâche. Cette manipulation de positionnement des échantillons a été réalisée manuellement et a nécessité une grande précision. Les paramètres utilisés pour ces analyses étaient ceux définis pour l'analyse optimale des échantillons secs.

Le dépôt de la solution de lavage (méthode 2) a été analysé. Pour ce faire, le spectromètre Raman portable a été placé verticalement de sorte à pouvoir présenter de dépôt de pesticide au fond de la fiole. Le mélange d'eau distillée et d'acétone aurait pu être utilisé comme solvant, mais l'acétone présente une forte réponse Raman sous forme liquide, ce qui pourrait masquer la réponse Raman des pesticides. Ainsi, l'eau distillée a été choisie comme solvant en raison de sa faible réponse Raman.

Pour ce qui est de l'analyse directe des feuilles d'épinard (méthode 3), celles-ci ont été présentées au spectromètre Raman portable de manière à exposer les nervures de la feuille

au laser. Après séchage des feuilles, il a été observé que les particules de pesticides ont tendance à se déposer dans les creux des feuilles, d'où le ciblage des nervures. Les analyses ont également été effectuées avec les paramètres optimaux pour les échantillons secs.

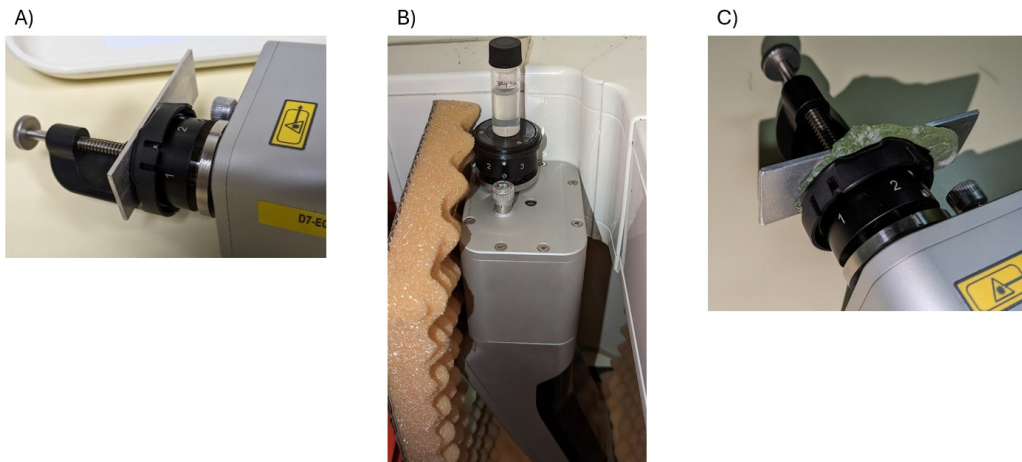


Figure 35 : (A) Analyse des échantillons secs de la méthode 1, 2 et témoin ; (B) Analyse du dépôt liquide de l'échantillon de la méthode 2 ; (C) Analyse directe de la feuille d'épinard de la méthode 3 avec le spectromètre Raman portable

- Microscope Raman Senterra II

Les plaques issues des méthodes de grattage (méthode 1) et de lavage (méthode 2) ont été analysées par le microscope Raman Senterra II. Les zones analysées ont été ciblées sur les bords formés par les taches de pesticide provenant du tamponnage des plaques.

Pour ce qui est de l'analyse des feuilles d'épinard (méthode 3), les zones analysées ont été focalisées sur les nervures des feuilles, comme décrit précédemment pour l'analyse des feuilles d'épinard réalisée avec le spectromètre Raman portable. Le ciblage de ces zones a été facilité grâce au mécanisme du microscope intégré au microscope Raman Senterra II.



Figure 36 : Analyse directe de la feuille d'épinard de la méthode 3 avec le microscope Raman Senterra II

6.2. Reproductibilité et répétabilité de la méthode d'analyse

Les analyses des échantillons ont été répétées un certain nombre de fois afin de vérifier si les réponses Raman obtenues sont constantes et ne sont pas issues d'une impureté ou d'une contamination. L'annexe 3 présente un récapitulatif du nombre de spectres obtenus pour chaque étape.

6.2.1. Répétabilité

Pour l'étude de répétabilité, chaque échantillon a été mesuré plusieurs fois pour chacun des spectromètres :

- Spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny)

Pour le **spectromètre Raman portable**, quatre zones distinctes de l'échantillon ont été mesurées afin de vérifier la répétabilité de la technique de mesure. Ainsi, un total de quatre spectres a été obtenu par échantillon.

- Microscope Raman Senterra II

Pour chaque analyse d'un échantillon réalisée avec le **microscope Raman Senterra II**, deux endroits différents de l'échantillon ont été mesurés successivement. Chaque endroit est mesuré par une grille de point de mesure 4x4 qui recouvre la surface observée par le microscope. Ainsi, 32 spectres sont obtenus par échantillon.

6.2.2. Reproductibilité

Pour l'étude de reproductibilité, chaque étape a été reproduite trois fois au total pour chaque spectromètre Raman avec au moins 24 heures de décalage entre chaque reproduction.

7. Résultats et discussions

Avant de débiter la présentation des résultats, il est important de préciser que tous les spectres ont été coupés de 500 à 2000 cm^{-1} car l'essentiel de l'information Raman des pesticides se situe dans cette région que l'on nomme la « fingerprint ». De plus, les spectres affichés sur les graphiques présentés dans cette partie ont été volontairement agencés les uns au-dessus des autres afin de faciliter leur comparaison. Cette démarche était nécessaire car les graphes des spectres originaux étaient peu clairs en raison de la superposition de spectres avec des intensités Raman relativement différentes (figure 37).

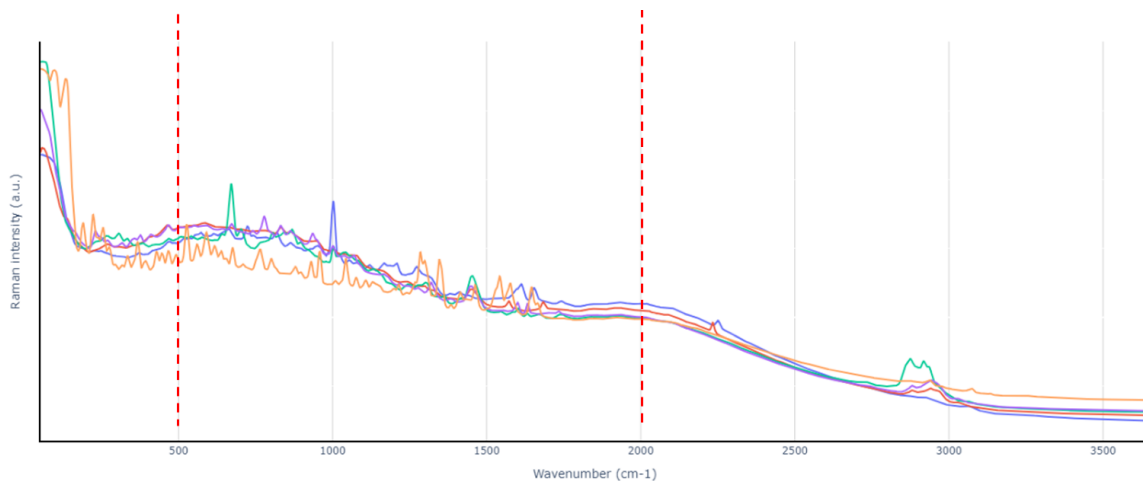


Figure 37 : Spectres Raman des cinq pesticides de 0 à 3700 cm^{-1} obtenu avec le microscope Raman Senterra II

Il est également important de mentionner que l'interprétation des spectres présentés dans les résultats se repose sur la 3^{ème} édition du livre de référence "Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies" de George Socrates (Socrates, 2001), ainsi que sur des études antérieures en spectroscopie Raman.

7.1. Répétabilité et reproductibilité de la méthode d'analyse

Afin de valider la méthode d'analyse des échantillons, une étude de répétabilité et de reproductibilité a été réalisée sur les spectres bruts des pesticides purs obtenus à l'étape 2 avec les deux spectromètres.

Pour rappel, les mesures effectuées avec le **spectromètre Raman portable** incluent quatre spectres par échantillon pour évaluer la répétabilité. Cette série de quatre spectres a été reproduite trois fois pour évaluer la reproductibilité. Les mesures réalisées avec le **microscope Raman Senterra II** comprennent 32 spectres par échantillon pour la répétabilité. La série de 32 spectres a également été reproduite trois fois pour évaluer la reproductibilité.

7.1.1. Répétabilité

L'évaluation de la répétabilité de la méthode d'analyse a été réalisée en mesurant la variation entre les quatre spectres successivement obtenus pour un même pesticide. Pour résumer les informations spectrales contenues dans chaque spectre en une seule variable, la **moyenne quadratique** (RMS) a été calculée pour chacun d'eux. Ensuite, la variation entre ces moyennes quadratiques a été déterminée en calculant le **coefficient de variation**, qui indique dans quelle mesure les spectres mesurés successivement d'un même échantillon varient.

La figure 38 présente les **coefficients de variation** des trois reproductions des mesures effectuées avec le **spectromètre Raman portable**. Chaque coefficient a été calculé à partir des moyennes quadratiques des quatre spectres mesurés pour chaque échantillon **liquide** de pesticide. Le coefficient de variation de l'eau a également été inclus et choisi comme valeur de référence pour évaluer la répétabilité de la technique, car les spectres de l'eau présentent une stabilité satisfaisante en spectroscopie Raman. On remarque que dans la troisième reproduction des quatre spectres mesurés successivement pour l'échantillon liquide de pesticide 7844, le coefficient de variation est de 23 %, ce qui indique une grande variation entre les quatre spectres mesurés. Cette variation importante est principalement due à de grandes différences d'intensité entre les spectres mesurés. Les autres coefficients des autres échantillons présentent des valeurs assez faibles et presque similaires à celui de l'eau, ce qui suggère que la répétabilité de la méthode d'analyse est correcte pour la majorité des analyses d'échantillons liquides.

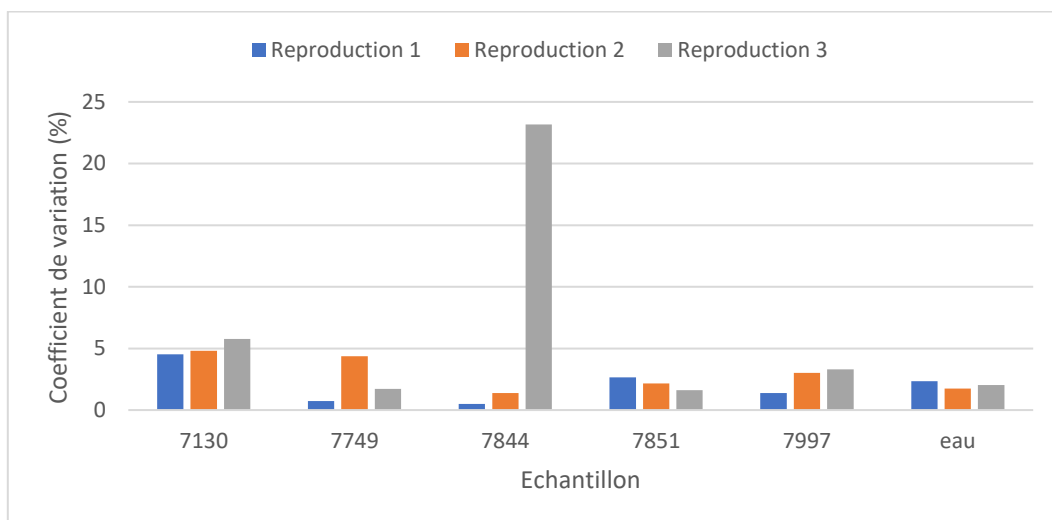


Figure 38 : Coefficient de variation des RMS des échantillons liquides mesurés avec le spectromètre Raman portable

La figure 39 présente les **coefficients de variation** pour les trois reproductions des mesures effectuées avec le **spectromètre Raman portable** pour les échantillons **secs** de chaque pesticide. Il est difficile de déterminer si la répétabilité de la méthode d'analyse pour les échantillons secs est satisfaisante, car la plupart des coefficients de variation sont plus élevés que ceux de l'eau. Cette grande variation des spectres pour les échantillons secs peut être attribuée au séchage hétérogène du pesticide étalé sur la plaque d'aluminium, ce qui influence l'intensité de la réponse Raman du pesticide détecté en fonction de la zone analysée.

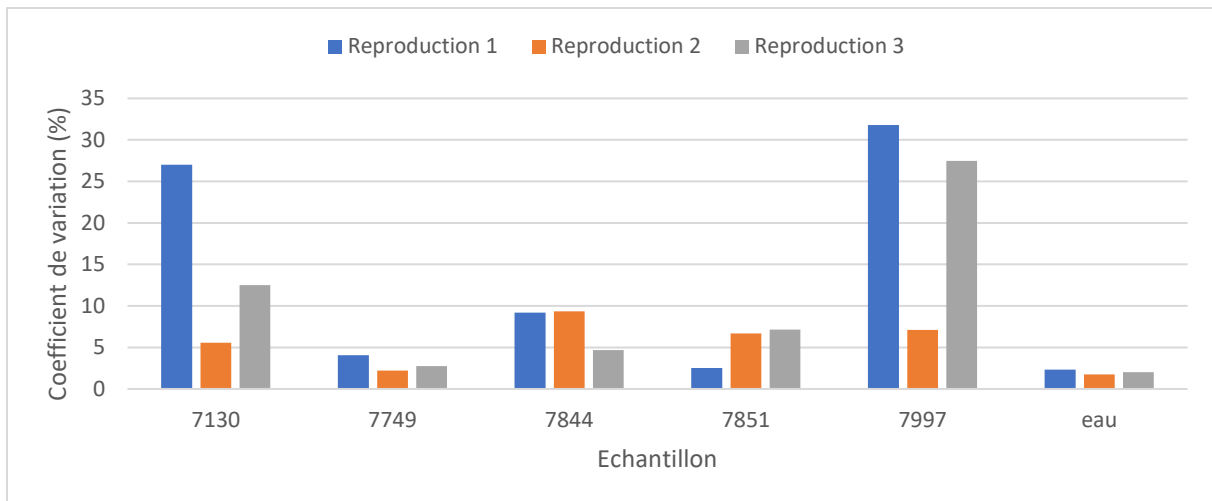


Figure 39 : Coefficient de variation des RMS des échantillons secs mesurés avec le spectromètre Raman portable

Ces résultats soulignent que l'analyse d'échantillons **liquides** avec le **spectromètre Raman portable** est plus robuste, offrant une meilleure répétabilité et reproductibilité. Cependant, la méthode d'analyse des échantillons **secs** présente un avantage significatif, à savoir la fixation des particules de pesticide sur la plaque d'aluminium. Cette méthode se révèle efficace pour analyser de plus faibles quantités de pesticide, car la fixation des particules facilite leur ciblage par le spectromètre Raman portable. C'est pourquoi la méthode d'analyse des échantillons secs a été choisie pour être utilisée avec le spectromètre Raman portable.

Pour l'étude de la répétabilité du **microscope Raman Senterra II**, 32 spectres ont été mesurés pour chaque échantillon **sec** de pesticide pur. Il faut savoir que parmi tous les spectres mesurés (**lot entier**) avec le microscope Raman Senterra II, différents types de spectres sont observés : ceux qui présentent une réponse Raman, indiquant que le laser du spectromètre a touché une particule de pesticide et a produit un signal Raman, ceux qui sont saturés en signal Raman en raison de la fluorescence, et enfin ceux qui ne contiennent aucune information car le laser n'a pas atteint de particule de pesticide.

Un **triage des spectres** a donc été réalisé pour ne conserver que les spectres contenant de l'information Raman du pesticide et éliminer les spectres sans information ou saturé pour obtenir un **lot trié** de spectres. Le critère de triage des spectres repose sur l'**amplitude** des bandes caractéristiques de chaque pesticide. Si un spectre présente au moins une bande d'amplitude suffisante pour se distinguer du bruit à un nombre d'onde caractéristique du pesticide, il est conservé. Sinon, il est éliminé du lot entier de spectres. Il est à noter que le triage des spectres n'a été réalisé que pour le microscope Raman Senterra II car celui-ci présentait beaucoup de spectres saturés ou sans information. **De plus, tous les spectres**

moyens présentés dans cette étude, obtenus avec le microscope Raman Senterra II, proviennent d'un **lot trié** de spectres sauf s'il est spécifié qu'ils proviennent d'un **lot entier**.

La figure 40 présente les **coefficients de variation** pour les trois reproductions des mesures effectuées avec le **microscope Raman Senterra II** sur les échantillons **secs** de chaque pesticide. Dans cette analyse, le coefficient de variation de la plaque d'aluminium a été sélectionné comme référence en raison de sa bonne stabilité. Les spectres de la première reproduction des mesures pour l'échantillon du pesticide 7844 et de la troisième reproduction des mesures pour l'échantillon du pesticide 7997 ne sont pas représentés sur le graphique, car ils étaient tous saturés en raison de la fluorescence de l'échantillon et ont été exclus du lot entier de spectres par triage. Les coefficients de variation des échantillons affichent des valeurs relativement faibles par rapport à ceux de la plaque d'aluminium, ce qui suggère que la répétabilité de la méthode d'analyse des échantillons secs avec le microscope Raman Senterra II semble être satisfaisante.

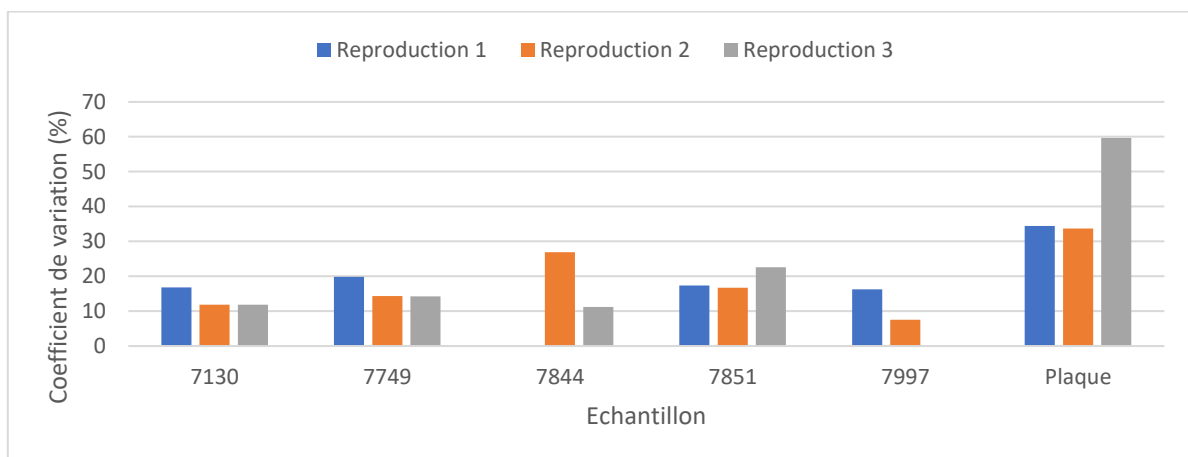


Figure 40 : Coefficient de variation des RMS des échantillons secs mesurés avec le microscope Raman Senterra II

7.1.2. Reproductibilité

L'étude de la reproductibilité de la méthode repose sur une analyse statistique de type ANOVA à un facteur, permettant de vérifier la similitude des moyennes des valeurs quadratiques moyennes (RMS) de chaque spectre entre les trois reproductions. L'ANOVA est appliqué aux RMS de chaque spectre pour chaque répétition. Pour une meilleure visualisation des moyennes quadratiques calculées, l'annexe 4 présente des graphiques de type "boîte à moustaches" des moyennes quadratiques de chaque spectre pour chaque répétition.

L'analyse ANOVA (tableau 9) appliquée aux RMS des spectres mesurés avec le **spectromètre Raman portable** affiche des p-values supérieures à 5 % (seuil d'acceptabilité) pour l'ensemble

des RMS des échantillons liquides. Cette observation conduit à ne pas rejeter l'hypothèse nulle, suggérant ainsi que les moyennes des RMS des trois reproductions de mesures peuvent être similaires. En ce qui concerne les échantillons secs, seule la p-value du pesticide 7844 est inférieure à 5 %. Ces résultats suggèrent une reproductibilité adéquate de la méthode d'analyse avec ce spectromètre. Cependant, il convient de considérer ces résultats avec prudence car la quantité de données utilisées pour l'ANOVA est trop limitée pour garantir des conclusions robustes.

Tableau 9 : p-value des RMS des échantillons liquides et secs mesurés avec le spectromètre Raman portable

Pesticide pur	p-value (RMS échantillon liquide)	p-value (RMS échantillon sec)
7130	0,386	0,29
7749	0,189	0,008
7844	0,423	0,858
7851	0,582	0,183
7997	0,844	0,056

L'application de l'ANOVA aux RMS des spectres des échantillons secs mesurés avec le **microscope Raman Senterra II** révèle des p-values inférieures à 5 % (tableau 10). Ce résultat suggère une reproductibilité non-satisfaisante de la méthode d'analyse avec le microscope Raman Senterra II, car le rejet de l'hypothèse nulle indique que les moyennes des RMS des spectres des trois reproductions d'un même pesticide ne sont pas similaires.

Tableau 10 : p-value des RMS des échantillons secs mesurés avec le microscope Raman Senterra II

Pesticide purs	p-value (RMS échantillon sec)
7130	0,0016
7749	$7,56 \cdot 10^{-08}$
7844	0,0359
7851	$5,58 \cdot 10^{-06}$
7997	$1,064 \cdot 10^{-26}$

En résumé, les résultats de l'étude de répétabilité et de reproductibilité mettent en lumière certaines lacunes de la méthode d'analyse, notamment en ce qui concerne la répétabilité des échantillons **secs** avec le **spectromètre Raman portable** et la reproductibilité des échantillons **secs** mesurés avec le **microscope Raman Senterra II**. Ces lacunes sont principalement attribuables aux variations d'intensité Raman entre les spectres, résultant de l'hétérogénéité des échantillons analysés.

Il est donc justifié d'envisager l'utilisation de prétraitements des données spectrales afin de résoudre ces problèmes de répétabilité et de reproductibilité en réduisant significativement les différences d'intensité entre les spectres des échantillons analysés.

7.2. Résultats de l'étape 1 : Réponse Raman du matériel expérimental

L'objectif de l'étape 1 était de mesurer la réponse Raman du matériel pouvant potentiellement interférer avec les réponses Raman des pesticides analysés. Pour ce faire, différents solvants, supports et ustensiles ont été analysés à l'aide des deux spectromètres Raman.

Les spectres moyens du matériel utilisé lors des analyses des échantillons sont illustrés dans la figure 41. Ces mesures ont été effectuées pour obtenir la réponse Raman du matériel et confirmer que les spectres contiennent des informations spectrales du pesticide plutôt que du matériel. La figure 41A montre cinq spectres du matériel utilisé avec le **spectromètre Raman portable** : mélange acétone-eau distillée, coton, eau, épinard et plaque d'aluminium. La figure 41B présente trois spectres du matériel utilisé avec le **microscope Raman Senterra II** : coton, épinard et plaque d'aluminium.

L'acétone présente une réponse Raman très intense, caractérisée par des bandes bien marquées à différents nombres d'ondes. Parmi elles, on note des bandes fortes à 789 cm^{-1} (étirement symétrique C-C), 1225 cm^{-1} (étirement asymétrique C-C) et 1691 cm^{-1} (bande d'étirement C=O). La signature Raman la plus significative se situe à 789 cm^{-1} (Dellepiane & Overend, 1966; L. Ramirez-Cede, 2011). Cependant, il est peu probable de détecter ces réponses dans les échantillons prélevés avec le mélange acétone-eau distillée, car les analyses utilisant de l'acétone ont été effectuées sur des échantillons secs où le mélange s'est évaporé.

Le coton est principalement composé de cellulose, une longue chaîne de molécules de D-glucose. Les caractéristiques de la cellulose sont identifiables dans les spectres Raman, notamment à des nombres d'ondes spécifiques : à 1478 cm^{-1} pour les vibrations de déformation des liaisons H-C-H et H-O-C, à 1337 cm^{-1} pour les vibrations de déformation des liaisons H-C-C, H-C-O, et H-O-C, à 1096 cm^{-1} pour les vibrations d'étirement C-C et C-O, et à 910 cm^{-1} pour les vibrations de déformation symétrique C-O-C (Cho, 2007).

Le spectre de la feuille d'épinard révèle trois bandes distinctes à 1002 , 1157 et 1525 cm^{-1} , correspondant respectivement à la vibration de bascule dans le plan CH₃ à 1002 cm^{-1} , la vibration d'étirement C-C à 1157 cm^{-1} et la vibration d'étirement C=C à 1525 cm^{-1} . Ces bandes sont caractéristiques des pigments photosynthétiques (Zeng et al., 2021).

L'eau présente une bande relativement faible dans la région $2000-200\text{ cm}^{-1}$, à proximité de 1640 cm^{-1} . Le spectre de l'eau présente une bande en 1655 cm^{-1} qui peut être associé au mode de vibration d'étirement O-H des molécules d'eau et qui contribuent toujours de manière significative aux spectres Raman des échantillons de solutions aqueuses diluées.

Le spectre de la plaque d'aluminium ne présente pas de bandes significatives.

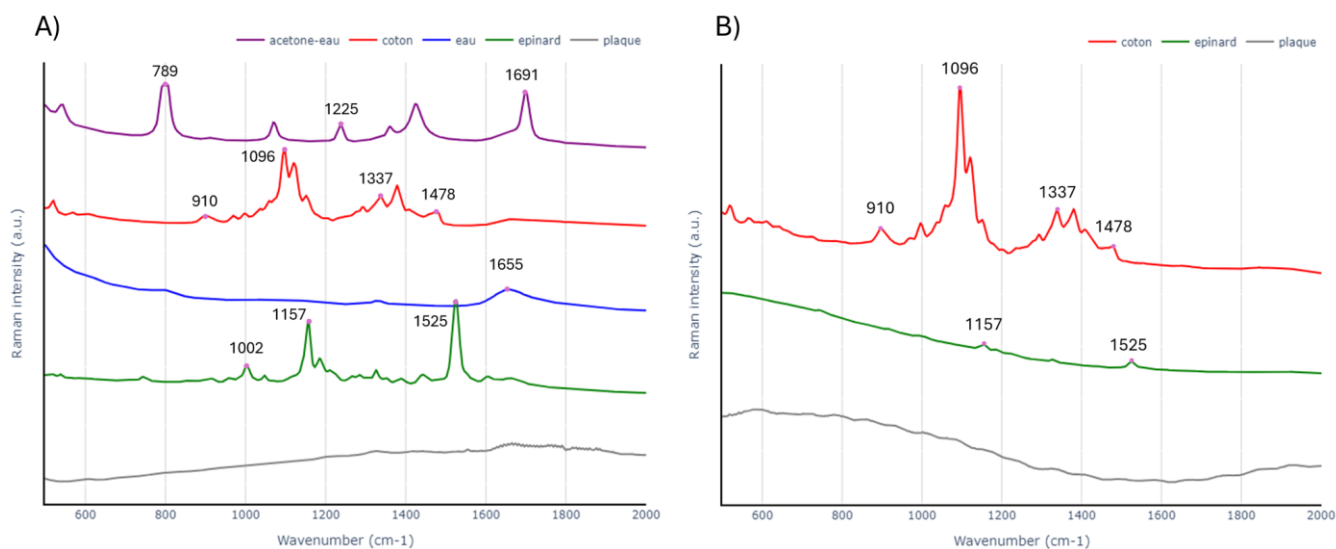


Figure 41 : Spectres moyens du matériel utilisé obtenus avec (A) le spectromètre Raman portable ou (B) le microscope Raman Senterra II

7.3. Résultats de l'étape 2 : Détection de pesticides purs par spectroscopie Raman

7.3.1. Les spectres des cinq pesticides analysés

L'étape 2 a permis d'obtenir les spectres pour les cinq pesticides à des concentration pure pour les deux spectromètres Raman.

On peut remarquer que les spectres obtenus avec les deux spectromètres (figure 42 et 43) affichent des réponses Raman globalement similaires.

La figure 42 présente les spectres moyens des cinq pesticides à concentration pure sous forme **liquide** (A) ou **sèche** (B), obtenus avec le **spectromètre Raman portable**. Dans la figure 42A, les pesticides 7130, 7844 et 7997 présentent des bandes beaucoup plus intenses que les pesticides 7749 et 7851. En ce qui concerne les spectres des pesticides sous forme sèche (figure 42B), l'intensité des bandes spectrales semble avoir été conservée pour les pesticides 7130 et 7997 par rapport à la forme liquide des pesticides. Le processus de séchage des échantillons a eu un impact sur le produit 7844, qui ne présente plus de bandes aussi intenses que dans sa forme liquide.

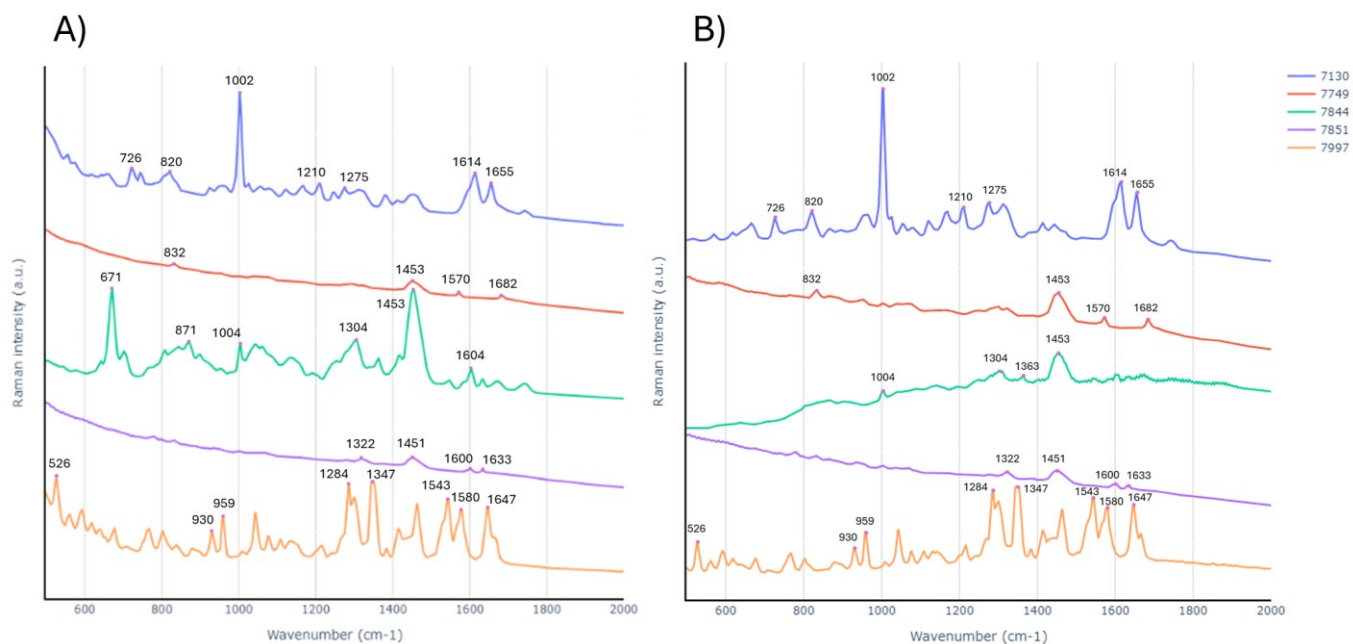


Figure 42 : Spectres moyens des échantillons des cinq pesticides obtenus le spectromètre Raman portable sous forme (A) liquide et (B) sec

Dans la figure 43, les spectres des échantillons **secs** des cinq pesticides obtenus avec le **microscope Raman Senterra II** sont présentés. Dans l'ensemble, tous les pesticides montrent des bandes relativement intenses. Les pesticides 7749 et 7851 fournissent plus d'informations Raman par rapport aux spectres obtenus avec le spectromètre Raman portable. En revanche, les pesticides 7130, 7844 et 7997 présentent des bandes à des nombres d'onde similaires à celles des spectres de ces produits obtenus avec le spectromètre Raman portable.

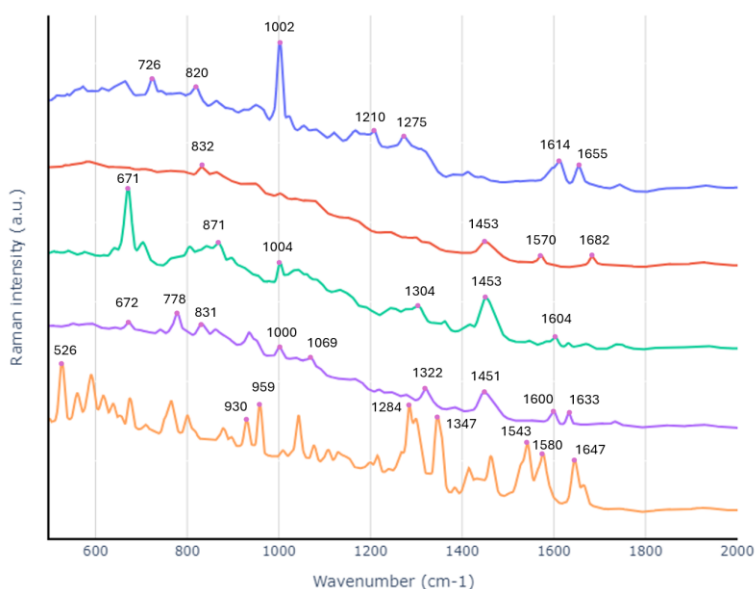


Figure 43 : Spectres des échantillons secs des cinq pesticides obtenus le microscope Raman Senterra II

7.3.2. Interprétation des spectres des différents pesticides

Le pesticide 7130 est composé de **lambda-cyhalothrin** (figure 44) appartenant à la famille des pyréthriinoïdes.

Le spectre du pesticide 7130 (figure 42 et 43) révèle des bandes intenses à 726, 820, 1002, 1210, 1275, 1614 et 1655 cm^{-1} . Les bandes à 726, 820 et 1275 cm^{-1} peuvent être associées aux vibrations de déformation dans le plan du groupement cyclopropyle, tandis que celle à 1414 cm^{-1} est attribué aux vibrations de cisaillement C-H du même groupement (Atanasov et al., 2021; W. Li et al., 2010). La bande à 1002 cm^{-1} est généralement attribuée au mode vibrationnel du « breathing » du benzène, considéré comme une vibration normale intrinsèque à un cycle benzénique (Atanasov et al., 2021; W. Li et al., 2010; Pham et al., 2019; Sakamoto & Tasumi, 2021). Quant à la bande à 1210 cm^{-1} , elle peut être associée aux vibrations d'étirement de la liaison C-O (Atanasov et al., 2021; W. Li et al., 2010). Les bandes à 1614 et 1655 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'étirement des liaisons C=C du cycle benzénique, généralement observées dans la région de 1462 à 1643 cm^{-1} (Graily Moradi et al., 2019; W. Li et al., 2010). Par ailleurs, les bandes Raman en dessous de 600 cm^{-1} peuvent être attribuées aux vibrations contenant des atomes d'halogène dans la molécule de lambda-cyhalothrine, tandis que certaines des bandes dans la plage entre 600 et 1600 cm^{-1} peuvent être caractéristiques des hydrocarbures (Atanasov et al., 2021).

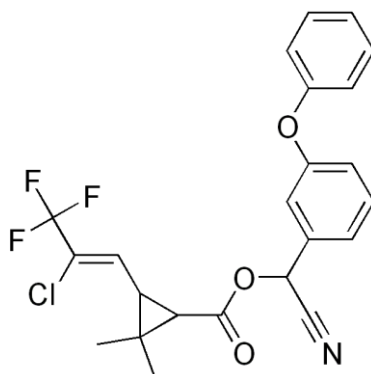


Figure 44 : Molécule de lambda-cyhalothrine

Le pesticide 7749 est un mélange de deux molécules actives : le **probamocarbe hydrochloride** (figure 45A) appartenant à la famille des carbamates (figure 45B) et le **cymoxanil** (figure 46) appartenant à la famille des cyanoacétamide-oximes (acétamides).

Le spectre du pesticide 7749 (figure 42 et 43) révèle principalement de faibles bandes localisées en 832, 1453, 1570 et 1682 cm^{-1} . La bande à 832 cm^{-1} peut être associée au cymoxanil, induisant des vibrations d'étirement des liaisons C-C (Abdelmoulahi et al., 2015). Quant à la bande à 1453 cm^{-1} , elle peut provenir à la fois du probamocarbe hydrochloride, engendrant des vibrations de déformation des liaisons CH₃, CH₂, CH et O-CH₂ (Quintás et al., 2008; Yang et al., 2013), et du cymoxanil, avec des vibrations de déformation des liaisons CH₃

et CH ainsi que des vibrations d'étirement des liaisons C-C (Abdelmoulaoui et al., 2015). Les bandes à 1570 et 1682 cm^{-1} sont principalement attribuées au cymoxanil. Celle à 1570 cm^{-1} , située dans la plage entre 1500 et 1600 cm^{-1} , peut être associée aux groupements amides du cymoxanil, entraînant des vibrations d'étirement de la liaison C=N, N-H et C-N. La bande à 1682 cm^{-1} peut également provenir des groupements amides, par les vibrations d'étirement de la liaison C=O, exprimées dans la plage entre 1650 et 1804 cm^{-1} (Abdelmoulaoui et al., 2015; Mi et al., 2021).

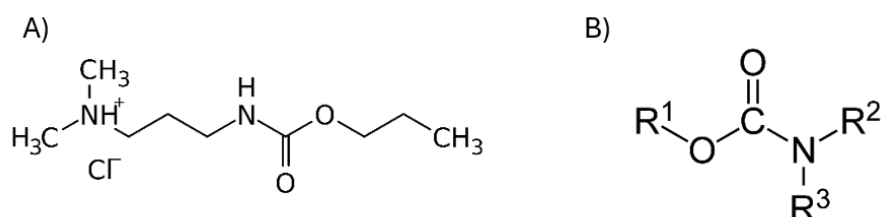


Figure 45 : (A) Molécule de propamocarbe hydrochloride ; (B) Structure de carbamate

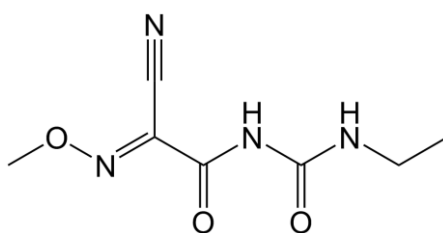


Figure 46 : Molécule de cymoxanil

Le pesticide **7844** est un composé contenant deux molécules actives : le **fluxapyroxad** (figure 47A), appartenant à la famille chimique des pyrazole-carboxamides, et le **metconazole** (figure 48A), faisant partie de la famille chimique des triazoles (figure 48B). Le fluxapyroxad se caractérise par deux structures chimiques : la structure pyrazole substituée en 4 (figure 47C) et la structure amide secondaire (figure 47B) (Liu et al., 2024). Quant au metconazole, il est défini par un composé organique cyclique comportant 5 atomes, dont 3 atomes d'azote.

Le spectre du pesticide 7844 (figure 42 et 43) présente des bandes intenses en 671, 871, 1004, 1304, 1453 et 1604 cm^{-1} . Les bandes en 671 et 1453 cm^{-1} peuvent être associées respectivement au metconazole, avec des vibrations de torsion et des vibrations d'étirement de la structure du triazole (Muniz-Miranda et al., 2014; Thomas et al., 2005). Les bandes en 871 et 1004 cm^{-1} peuvent être attribuées aux vibrations du mode « breathing » des cycles benzéniques composant le fluxapyroxad et le metconazole (Abdelmoulaoui et al., 2015; Atanasov et al., 2021; Mary et al., 2017; Sakamoto & Tasumi, 2021; Yang et al., 2013). La bande en 1304 cm^{-1} peut provenir de la structure pyrazole du fluxapyroxad, entraînant des vibrations de déformation N-H et C-H, ainsi que des vibrations d'étirement C-N (Krishnakumar

et al., 2011). Enfin, la bande en 1604 cm^{-1} peut être associée à l'amide secondaire composant le fluoxapyroxad, induisant des vibrations de déformation N-H et d'étirement C-N dans la plage entre 1500 et 1600 cm^{-1} .

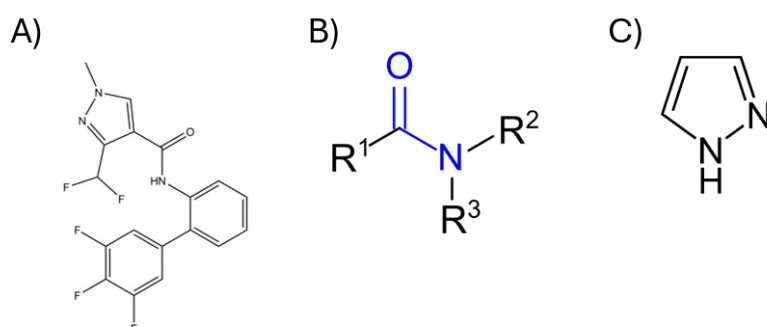


Figure 47 : (A) Molécule de fluoxapyroxad ; (B) Structure amide ; (C) Pyrazole

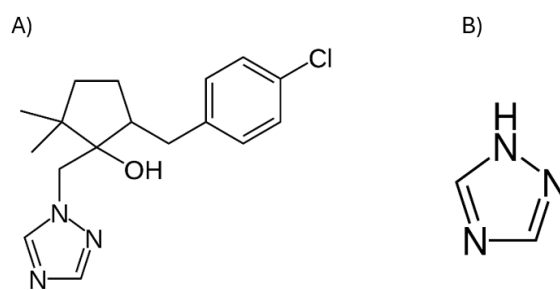


Figure 48 : (A) Molécule de metconazole ; (B) Structure triazole

Le pesticide **7851** est un mélange de molécules actives : le **probamocarbe hydrochloride** (figure 45A) appartenant à la famille des carbamates et le **zoxamide** (figure 49A) appartenant à la famille chimique des benzamides (figure 49B).

Le spectre du pesticide 7851 (figure 42 et 43) révèle des bandes à 672 , 778 , 831 , 1000 , 1069 , 1322 , 1451 , 1600 et 1633 cm^{-1} . La bande en 672 cm^{-1} est attribuée à la présence de la molécule de probamocarbe hydrochloride, avec des vibrations de déformation moyennes du groupe carbonyle (Yang et al., 2013). La bande en 778 cm^{-1} correspondent aux vibrations de bascule du groupe amine NH_2 de la structure benzamide du zoxamide, tandis que celles en 831 cm^{-1} sont associées aux déformations dans le plan de la liaison $\text{C}=\text{N}$ de cette même structure. La bande en 1000 cm^{-1} est liée aux déformations des liaisons $\text{C}-\text{C}$ du cycle phényl de la structure benzamide du zoxamide, tandis que celui en 1069 cm^{-1} , résultant des vibrations de déformation $\text{C}-\text{H}$, peut être expliquée par la présence de cette structure (Arjunan et al., 2011; Brittain, 2009). Les vibrations en 1322 cm^{-1} sont attribuées aux déformations de la liaison $\text{C}-\text{N}-\text{H}$ de la structure carbamate du probamocarbe hydrochloride (Yang et al., 2013), tandis que les bandes en 1451 et 1600 cm^{-1} , correspondant aux vibrations d'étirement $\text{C}-\text{C}$ du cycle phényl de la structure benzamide du zoxamide, sont également observées (Arjunan et al.,

2011; Brittain, 2009). Enfin, la bande en 1633 cm^{-1} est associée aux vibrations de déformation dans le plan du groupement NH_2 de la structure carbamate du probamocarbe hydrochloride (Yang et al., 2013).

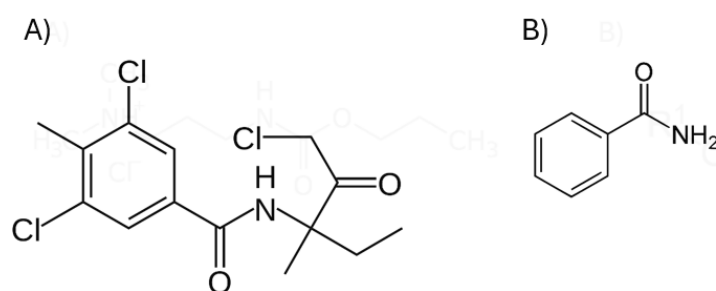


Figure 49 : (A) Molécule de zoxamide ; (B) Structure de benzamide

La molécule active du pesticide 7997 est le **chlorantraniliprole** (figure 50), appartenant à la famille des diamides anthraniliques.

Le spectre du pesticide 7997 (figure 42 et 43) révèle des bandes à 930 , 959 , 1284 , 1347 , 1543 , 1580 et 1647 cm^{-1} . Les bandes en 930 et 959 cm^{-1} sont associées aux vibrations d'étirement du cycle pyridine présent dans le chlorantraniliprole. Les bandes en 1284 et 1347 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'étirement C-N des groupes amides composant également le chlorantraniliprole. Quant aux bandes en 1543 , 1580 et 1647 cm^{-1} , elles sont attribuées aux vibrations de déformation N-H des groupes amides constitutifs du chlorantraniliprole (Du et al., 2018).

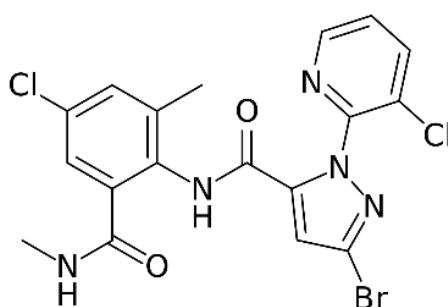


Figure 50 : Molécule de chlorantraniliprole

Le tableau 11 récapitule l'ensemble des nombres d'onde associés aux vibrations moléculaires des différents pesticides étudiés :

Tableau 11 : Récapitulatif des nombres d'onde associés à leur vibration moléculaire correspondante

Nombre d'onde (cm^{-1})	Type de vibration	Molécule assignée	Référence
------------------------------------	-------------------	-------------------	-----------

671	Torsion du triazole	Metconazole	(Muniz-Miranda et al., 2014; Thomas et al., 2005)
672	Déformation du carbonyle	Probamocarbe hydrochloride	(Yang et al., 2013)
726	Déformation du cyclopropyle	Lambda-cyhalothrin	(Atanasov et al., 2021; W. Li et al., 2010)
778	$\omega(\text{NH}_2)$	Zoxamide	(Arjunan et al., 2011)
820	Déformation du cyclopropyle	Lambda-cyhalothrin	(Atanasov et al., 2021; W. Li et al., 2010)
831	$\gamma(\text{C}=\text{N})$	Zoxamide	(Arjunan et al., 2011)
832	$\nu(\text{C}-\text{C})$	Cymoxanil	(Abdelmoulahi et al., 2015)
871	Benzène « breathing »	Fluoxapyroxad	(Abdelmoulahi et al., 2015; Atanasov et al., 2021; Sakamoto & Tasumi, 2021; Yang et al., 2013)
	Benzène « breathing »	Metconazole	(Mary et al., 2017)
930	Etirement du cycle pyridine	Chlorantraniliprole	(Du et al., 2018)
959	Etirement du cycle pyridine	Chlorantraniliprole	(Du et al., 2018)
1000	$\gamma(\text{C}-\text{C})^{\text{phényl}}$	Zoxamide	(Arjunan et al., 2011; Brittain, 2009)
1002	Benzène « breathing »	Lambda-cyhalothrin	(Atanasov et al., 2021; W. Li et al., 2010; Pham et al., 2019; Sakamoto & Tasumi, 2021)
1004	Benzène « breathing »	Fluoxapyroxad	(Abdelmoulahi et al., 2015; Atanasov et al., 2021; Sakamoto & Tasumi, 2021; Yang et al., 2013)
	Benzène « breathing »	Metconazole	(Mary et al., 2017)
1069	$\gamma(\text{C}-\text{H})$	Zoxamide	(Arjunan et al., 2011; Brittain, 2009)
1210	$\nu(\text{C}-\text{O})$	Lambda-cyhalothrin	(W. Li et al., 2010)
1275	Déformation du cyclopropyle	Lambda-cyhalothrin	(Atanasov et al., 2021; W. Li et al., 2010)
1284	$\nu(\text{C}-\text{N})$	Chlorantraniliprole	(Du et al., 2018)
1304	$\gamma(\text{N}-\text{H})$, $\gamma(\text{C}-\text{H})$ et $\nu(\text{C}-\text{N})$	Fluoxapyroxad	(Krishnakumar et al., 2011)
1322	$\gamma(\text{C}-\text{N}-\text{H})$	Probamocarbe hydrochloride	(Yang et al., 2013)
1347	$\nu(\text{C}-\text{N})$	Chlorantraniliprole	(Du et al., 2018)
1414	$\delta(\text{C}-\text{H})_{\text{cyclopropyle}}$	Lambda-cyhalothrin	(Atanasov et al., 2021; W. Li et al., 2010)
1451	$\nu(\text{C}-\text{C})^{\text{phényl}}$	Zoxamide	(Brittain, 2009)
1453	Étirement du triazole	Metconazole	(Muniz-Miranda et al., 2014; Thomas et al., 2005)
1453	$\gamma(\text{CH}_3)$, $\gamma(\text{CH}_2)$, $\gamma(\text{CH})$ et $\gamma(\text{O}-\text{CH}_2)$	Probamocarbe hydrochloride	(Quintás et al., 2008; Yang et al., 2013)

	$\gamma(\text{CH}_3)$, $\gamma(\text{CH})$ et $\nu(\text{C-C})$	Cymoxanil	(Abdelmoulaoui et al., 2015)
1543	$\gamma(\text{N-H})$	Chlorantraniliprole	(Du et al., 2018)
1570	$\nu(\text{C=N})$, $\nu(\text{N-H})$ et $\nu(\text{C-N})$	Cymoxanil	(Abdelmoulaoui et al., 2015)
1580	$\gamma(\text{N-H})$	Chlorantraniliprole	(Du et al., 2018)
1600	$\nu(\text{C-C})_{\text{phényl}}$	Zoxamide	(Brittain, 2009)
1604	$\gamma(\text{N-H})$ et $\nu(\text{C-N})$	Fluoxapyroxad	George Socrates
1614	$\nu(\text{C=C})_{\text{benzène}}$	Lambda-cyhalothrin	(Graily Moradi et al., 2019; W. Li et al., 2010)
1633	$\gamma(\text{NH}_2)$	Probamocarbe hydrochloride	(Yang et al., 2013)
1647	$\gamma(\text{N-H})$	Chlorantraniliprole	(Du et al., 2018)
1655	$\nu(\text{C=C})_{\text{benzène}}$	Lambda-cyhalothrin	(Graily Moradi et al., 2019; W. Li et al., 2010)
1682	$\nu(\text{C=O})$	Cymoxanil	(Abdelmoulaoui et al., 2015)

ω : wagging, ν : stretching, γ : bending, δ : scissoring

7.3.3. Analyse exploratoire des spectres des différents pesticides

Des analyses en composantes principales (PCA) ont été effectuées pour visualiser l'ensemble des spectres et identifier les variables pouvant expliquer les différences entre les différents pesticides. Avant de procéder à la PCA, des prétraitements ont été appliqués aux données spectrales brutes. Les prétraitements utilisés sur les données spectrales pour faire les PCA sont une **dérivée seconde de Savitzky-Golay** avec un paramètre $w = 7$ et $\sigma = 2$, suivie d'une **normalisation par la variance standard (SNV)**.

La figure 51 présente une PCA pour tous les spectres des cinq pesticides provenant des échantillons **liquides** mesurés avec le **spectromètre Raman portable**. Quatre groupes distincts ont été identifiés : les spectres du produit 7130, les spectres du produit 7844, les spectres du produit 7997, et les spectres des produits 7749 et 7851 réunis.

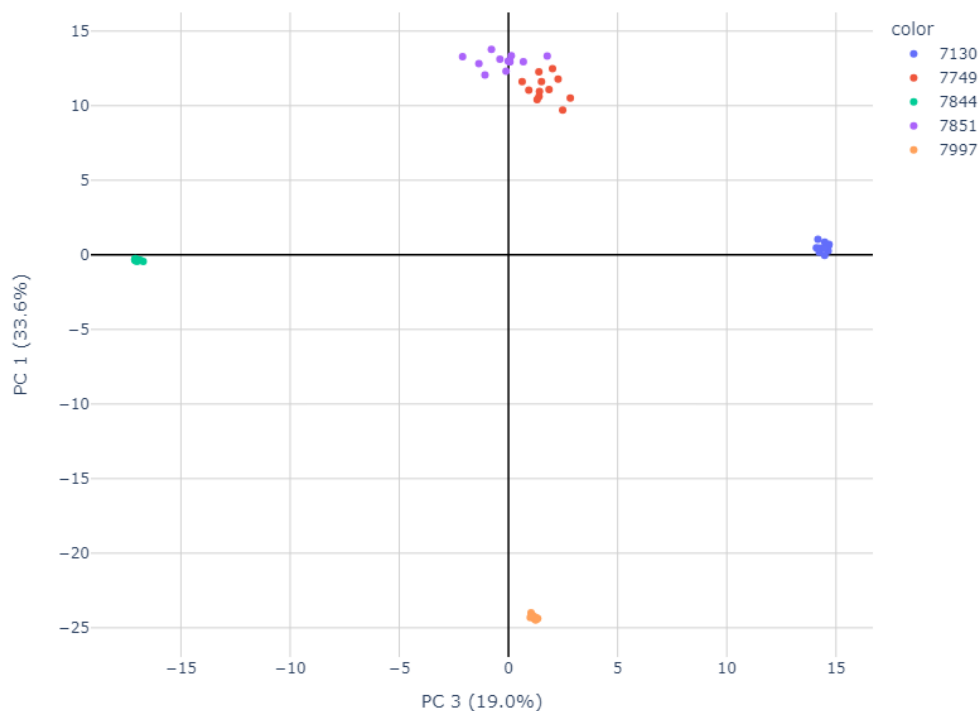


Figure 51 : Graphique des scores de la PCA (PC1 vs PC3) appliqué sur les spectres des échantillons liquides des cinq pesticides avec le spectromètre Raman portable

Les figures 52A et 52B affichent les loadings des PC1 et PC3 de la PCA. La **PC1** a permis d'expliquer les différences entre les spectres des pesticides 7997, 7749 et 7844. Le graphique des loadings pour la PC1 révèle que le pesticide 7997 se distingue des deux autres produits par l'expression de réponses Raman à des nombres d'onde caractéristiques, notamment à 526, 930, 959, 1043, 1284 et 1580 cm^{-1} , qui correspondent aux vibrations spécifiques du chlorantraniliprole, la molécule active du pesticide 7997. Les bandes en 930 et 959 cm^{-1} sont associées aux vibrations d'étirement du cycle pyridine, tandis que celles en 1284 et 1580 cm^{-1} sont liées respectivement aux vibrations de déformation de la liaison C-N et de la liaison N-H de l'amide de la molécule. Les pesticides 7749 et 7844 sont regroupés car ils partagent des nombres d'onde communs correspondant à leur molécule partagée, le probamocarbe hydrochloride, notamment en 1453 et 1633 cm^{-1} . La bande en 1453 cm^{-1} est associée aux vibrations de déformation des liaisons CH₃, CH₂, CH et O-CH₂, tandis que celle en 1633 cm^{-1} est attribuée aux vibrations de déformation du NH₂ de cette molécule.

La **PC3** a été utilisée pour expliquer les différences entre les spectres des pesticides 7130 et 7844. Les bandes qui ont permis de distinguer ces deux pesticides se situent respectivement en 671 cm^{-1} pour le pesticide 7844, exprimant les vibrations de torsion du triazole constituant le metconazole (la molécule active), et en 1002 cm^{-1} pour le pesticide 7130, associée au mode

de vibration "breathing" du benzène constituant le lambda-cyhalothrin, la molécule active du pesticide 7130.

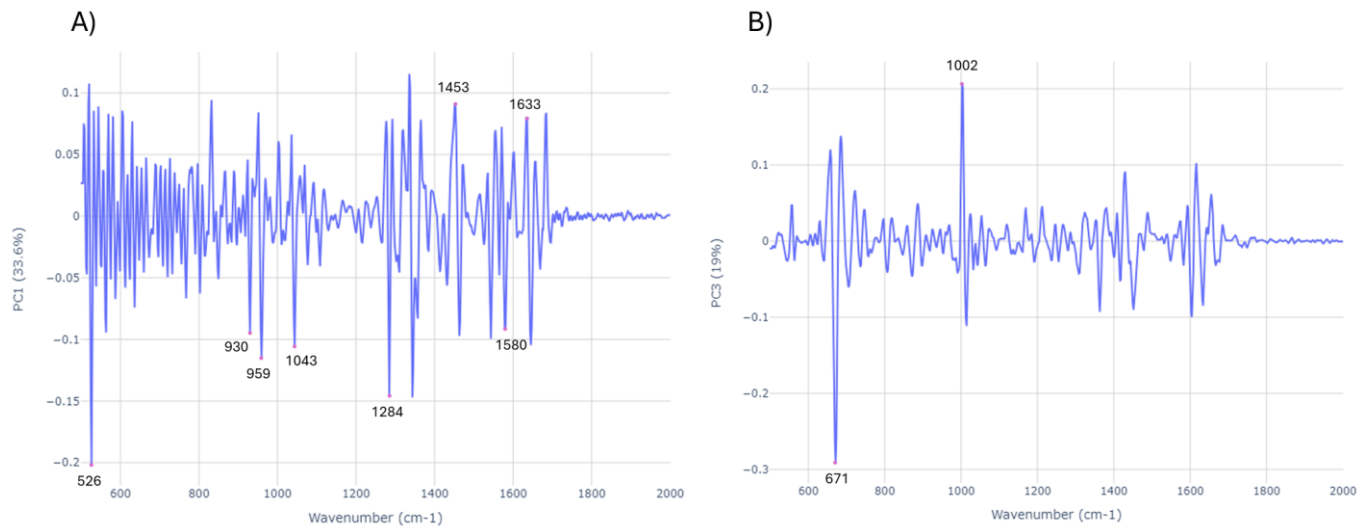


Figure 52 : (A) Loadings de la PC1 ; (B) Loadings de la PC3 des résultats de la PCA (PC1 et PC3) appliqué sur les spectres des échantillons liquides des cinq pesticides avec le spectromètre Raman portable

La figure 53 représente une PCA pour tous les spectres des cinq pesticides provenant des échantillons mesurés avec le **microscope Raman Senterra II**. Cinq groupes ont pu être détecter correspondant aux cinq pesticides. Une distinction est clairement visible entre le pesticide 7749 et 7851 qui n'était pas aussi bien marqué sur la PCA avec les spectres obtenus avec le spectromètre Raman portable. Cela est peut-être dû à l'acquisition de plus d'informations spectrales par le microscope Raman Senterra II pour ces deux pesticides permettant de les différencier plus précisément.

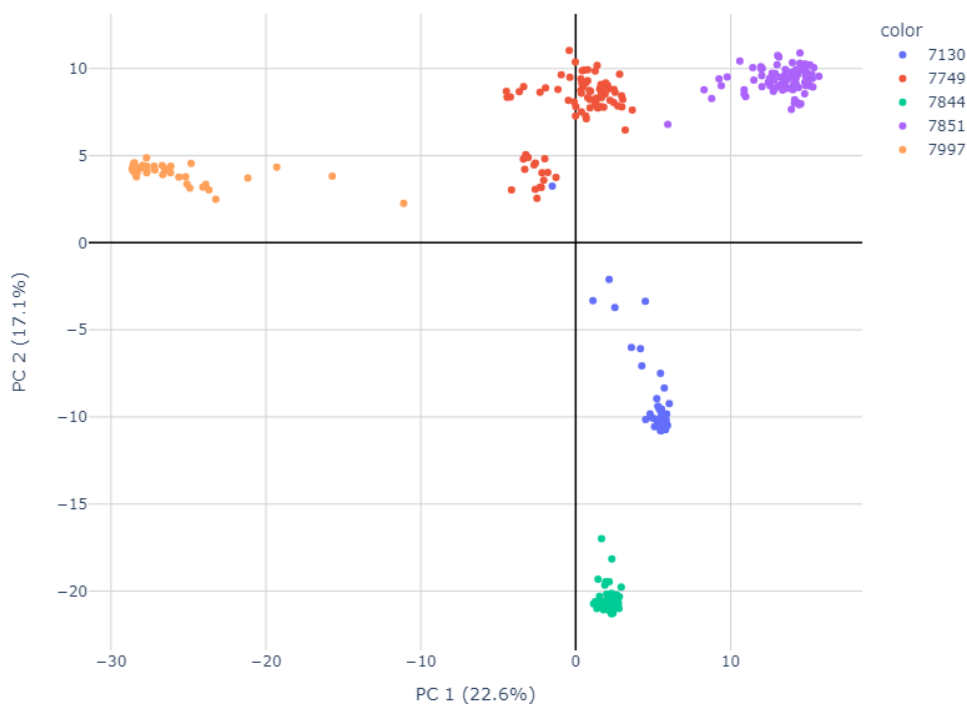


Figure 53 : Graphique des scores de la PCA (PC1 vs PC2) appliqué sur les spectres des échantillons secs des cinq pesticides avec le microscope Raman Senterra II

Les figures 54A et 54B présentent les loadings des PC1 et PC2 de la PCA. La PC1 met en évidence les différences entre les spectres des pesticides 7997 et 7851. Pour le pesticide 7997, la PC1 se base sur les nombres d'onde en 526, 930, 959, 1284, 1347, 1543, 1570 et 1647 cm^{-1} pour le différencier. Ces nombres d'ondes correspondent ou se rapprochent fortement des bandes caractéristiques du chlorantraniliprole, la molécule active du pesticide 7997. Pour le pesticide 7851, la PC1 montre que celui-ci se distingue des autres pesticides par les bandes observées à 778, 831, 1000, 1069, 1322, 1453, 1600 et 1633 cm^{-1} . La différenciation du pesticide 7851 est principalement due à l'une de ses molécules actives, la zoxamide, qui est responsable des bandes en 778, 831, 1000, 1069, 1453 et 1600 cm^{-1} . Les bandes en 1322 et 1633 cm^{-1} sont attribuées à la seconde molécule active du pesticide, le probamocarbe hydrochloride.

La PC2 de la PCA révèle les différences entre les spectres des cinq pesticides étudiés. Le pesticide 7844 se distingue des autres par les nombres d'ondes en 671, 1002, 1304 et 1604 cm^{-1} , associés aux molécules le composant, soit le metconazole exprimé en 671 et 1002 cm^{-1} , et le fluxapyroxad exprimé en 1304 et 1604 cm^{-1} . Le pesticide 7130 montre une similarité avec le pesticide 7844, partageant la même vibration de "breathing" du benzène exprimée en 1002 cm^{-1} , due à la présence de la molécule active le composant, le lambda-cyhalothrin. Les pesticides 7749 et 7851 présentent des nombres d'onde communs en 1322 et 1633 cm^{-1} ,

associés à leur molécule commune, le probamocarbe hydrochloride. En plus de ces fréquences communes, les pesticides 7749 et 7851 expriment également des nombres d'onde propres à leurs molécules actives respectives, soit en 1570, 831 et 1682 cm^{-1} pour le cymoxanil du pesticide 7749, et en 778, 831, 1069 et 1600 cm^{-1} pour la zoxamide du pesticide 7851. Finalement, le pesticide 7997 présente une faible similarité avec les pesticides 7749 et 7851, exprimant des nombres d'onde spécifiques à sa molécule active, le chlorantranilprole, en 930 et 959 cm^{-1} .

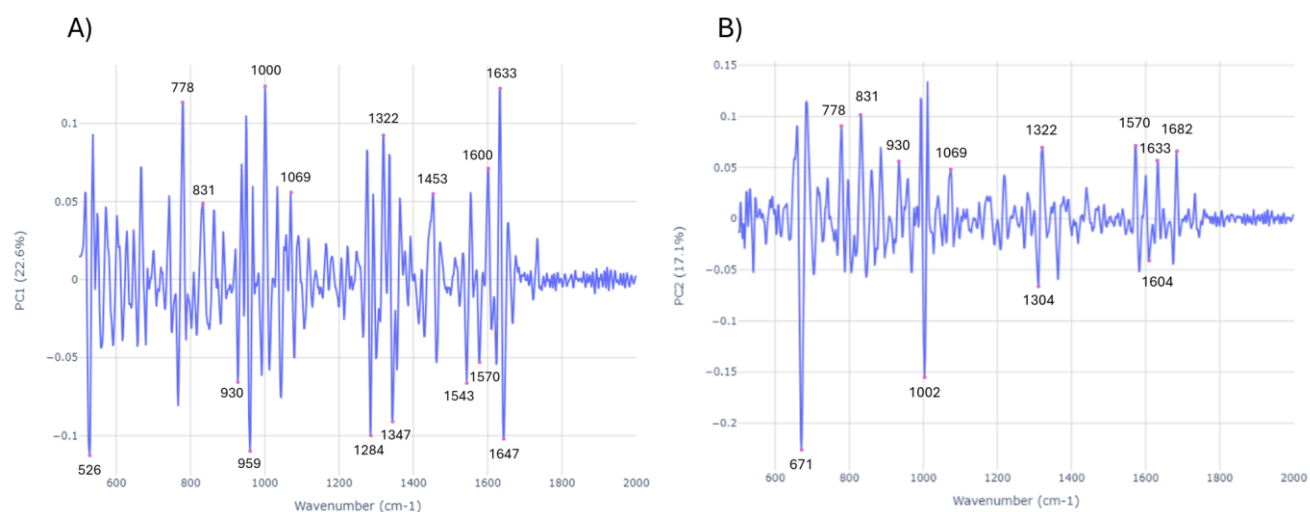


Figure 54 : (A) Loadings de la PC1 ; (B) Loadings de la PC2 des résultats de la PCA (PC1 et PC2) appliqué sur les spectres des échantillons secs des cinq pesticides avec le spectromètre Raman Senterra II

Après avoir examiné les PCA et les spectres des pesticides purs, il est clair que les pesticides appartenant à une même famille, qu'ils soient classés comme fongicides (7749, 7844 et 7851) ou insecticides (7130 et 7997), présentent des différences significatives dans leurs caractéristiques spectrales. Chaque pesticide exprime des bandes propres à la structure chimique de leurs molécules les composant. Des similitudes spectrales peuvent apparaître lorsque deux pesticides partagent la même molécule, comme c'est le cas pour les pesticides 7749 et 7851, mais aussi lorsque des structures chimiques communes sont présentes au sein de différentes molécules actives, induisant ainsi des modes de vibration similaires, comme observé pour le cycle benzène retrouvé dans les pesticides 7130 et 7844.

7.4. Résultats de l'étape 3 : Détection de pesticides dilués par spectroscopie Raman

L'étape 3 a permis d'obtenir les spectres des pesticides 7130 et 7997 dans des solutions à différentes concentrations, allant d'une concentration pure (100 %) à une concentration

applicable en champ (0,1 %). Cette étape a pour objectif de déterminer le seuil de détection pour les deux spectromètres Raman.

Dans la figure 55, les spectres des solutions du pesticide **7130** à différentes concentrations sont présentés, mesurés avec le **spectromètre Raman portable**. Les bandes caractéristiques du pesticide 7130 sont clairement identifiables jusqu'à une concentration de 10 %. Cependant, il devient difficile de distinguer le bruit par rapport aux bandes caractéristiques du pesticide 7130 pour des solutions concentrées à 1 %, à l'exception d'une bande située à 1002 cm^{-1} . En dessous d'une concentration de 1 %, il est impossible de détecter des informations Raman concernant le pesticide 7130, et il est difficile de différencier le spectre du pesticide à une concentration de 0,1 % par rapport au spectre de la plaque d'aluminium. Ainsi, le seuil de détection du pesticide 7130 par le spectromètre Raman portable peut être fixé à une concentration de 1 %.

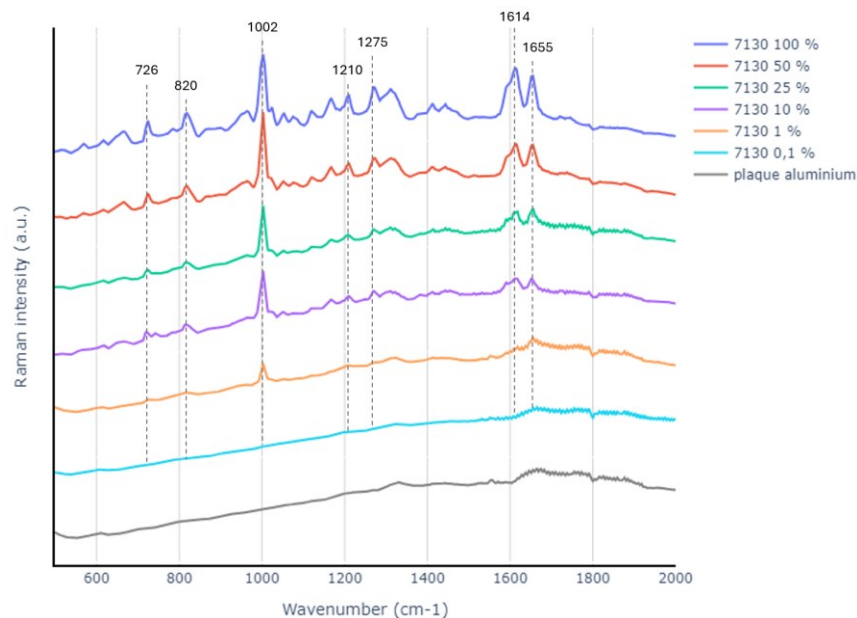


Figure 55 : Spectres obtenus avec le spectromètre Raman portable du produit 7130 dilué à différentes concentrations

La figure 56 présente les spectres moyens des solutions du pesticide **7130** à différentes concentrations, mesurés avec le **microscope Raman Senterra II**. On peut déterminer que le microscope Raman Senterra II est capable de détecter des solutions concentrées à 0,1 % en pesticide 7130, car le spectre obtenu à cette concentration montre des bandes aussi intenses que ceux du produit pur. Cependant, le seuil de détection de cet appareil n'a pas été atteint lors de cette expérience.

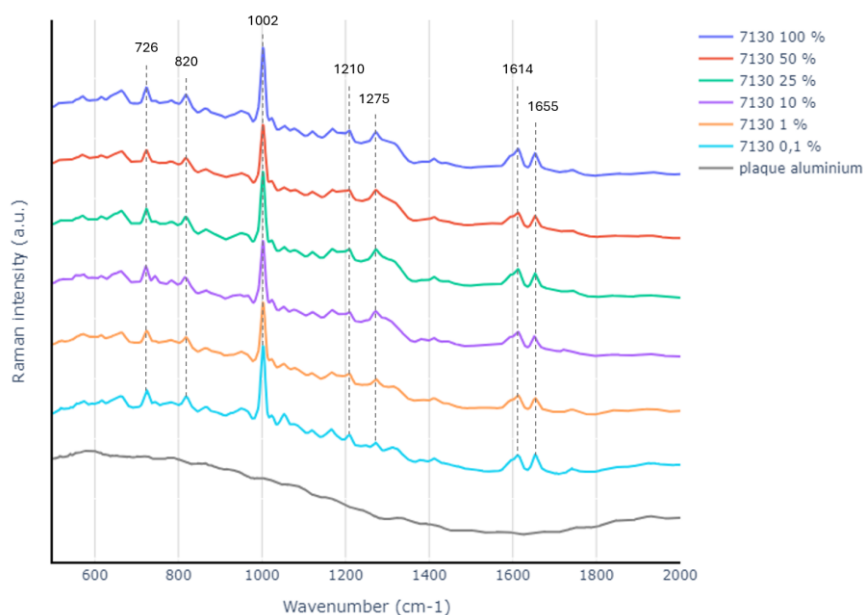


Figure 56 : Spectres moyens des lot triés de spectres obtenus avec le microscope Raman Senterra II du produit 7130 dilué à différentes concentrations.

La figure 57 montre les spectres des solutions du pesticide **7997** à différentes concentrations, mesurées avec le **spectromètre Raman portable**. Les bandes caractéristiques du pesticide 7997 sont identifiables jusqu'à une concentration de 25 %. Pour les concentrations en-dessous de 25 %, il devient compliqué de distinguer le spectre de la plaque d'aluminium des spectres à ces concentrations. Cette observation fixe le seuil de détection du spectromètre Raman portable pour ce pesticide à une concentration de 25 %.

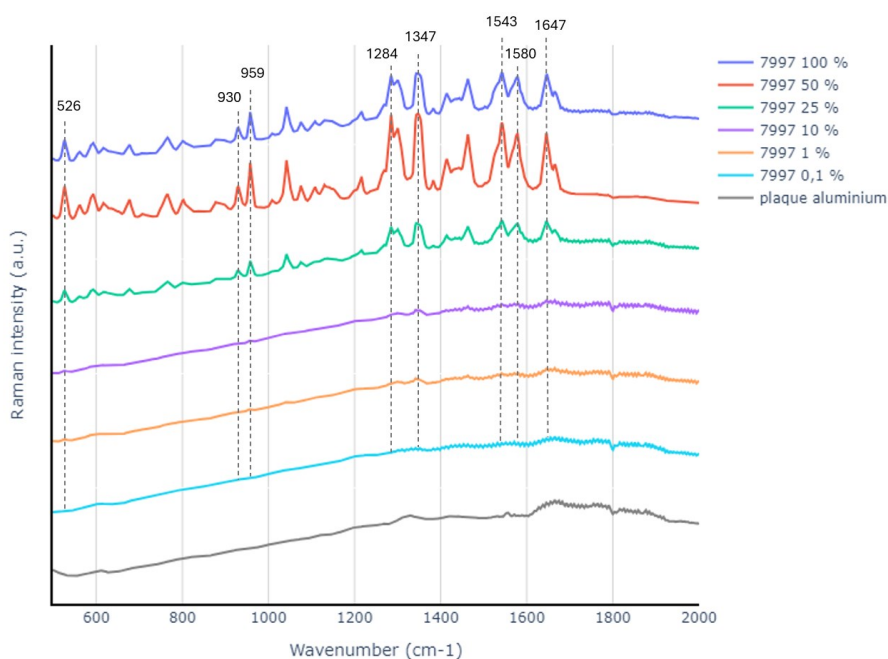


Figure 57 : Spectres obtenus avec le spectromètre Raman portable du produit 7997 dilué à différentes concentrations

La figure 58 présente les spectres moyens des solutions du pesticide **7997** à différentes concentrations, mesurées avec le **microscope Raman Senterra II** et indique qu'il est possible de détecter le pesticide 7997 à une concentration de 0,1 %.

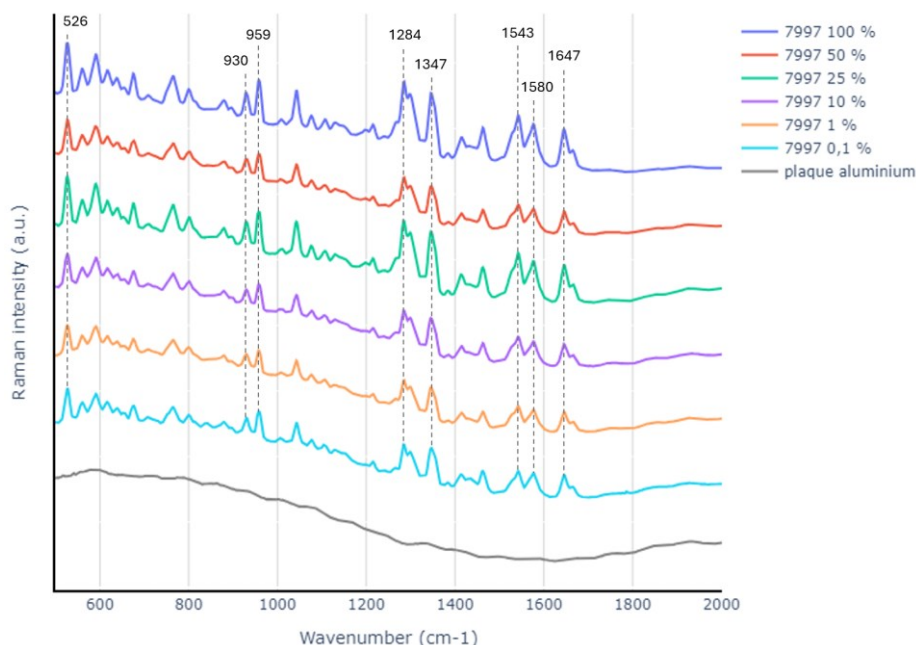


Figure 58 : Spectres moyens des lot triés de spectres obtenus avec le microscope Raman Senterra II du produit 7997 dilué à différentes concentrations.

7.5. Résultats de l'étape 4 : Mise en place d'une méthode de prélèvement de pesticides sur des feuilles d'épinard

L'étape 4 a été consacrée à l'acquisition de spectres des pesticides 7130 et 7997, mesurés avec les deux spectromètres Raman, et obtenus de différentes manières (grattage, lavage et analyse directe de l'épinard) à partir de feuilles d'épinard préalablement pulvérisées avec des solutions diluées du pesticide (10 % ou 0,1 %).

La figure 59 montre les spectres obtenus avec le **spectromètre Raman portable** du pesticide **7130** prélevé sur des feuilles d'épinard préalablement pulvérisées par des solutions diluées. Les spectres d'une pulvérisation d'une solution concentrée à 10 % du pesticide 7130 (figure 59A) révèlent que certains des bandes caractéristiques du pesticide 7130 sont identifiables (1002, 1614 et 1655 cm^{-1}) dans les spectres de chaque méthode de prélèvement (grattage, lavage et analyse directe de l'épinard). Cette observation suggère que les méthodes de prélèvement utilisées sont efficaces pour une solution concentrée à 10 % et sont capables de récupérer les résidus de pesticides à la surface des feuilles d'épinard. En revanche, la figure 59B montre les spectres issus d'une pulvérisation d'une solution concentrée à 0,1 % en

pesticide. Aucune bande caractéristique n'est identifiable, permet de conclure que les méthodes de prélèvement de pesticide ne fonctionnent pas pour une solution concentrée à 0,1 % en ce qui concerne les analyses avec le spectromètre Raman portable.

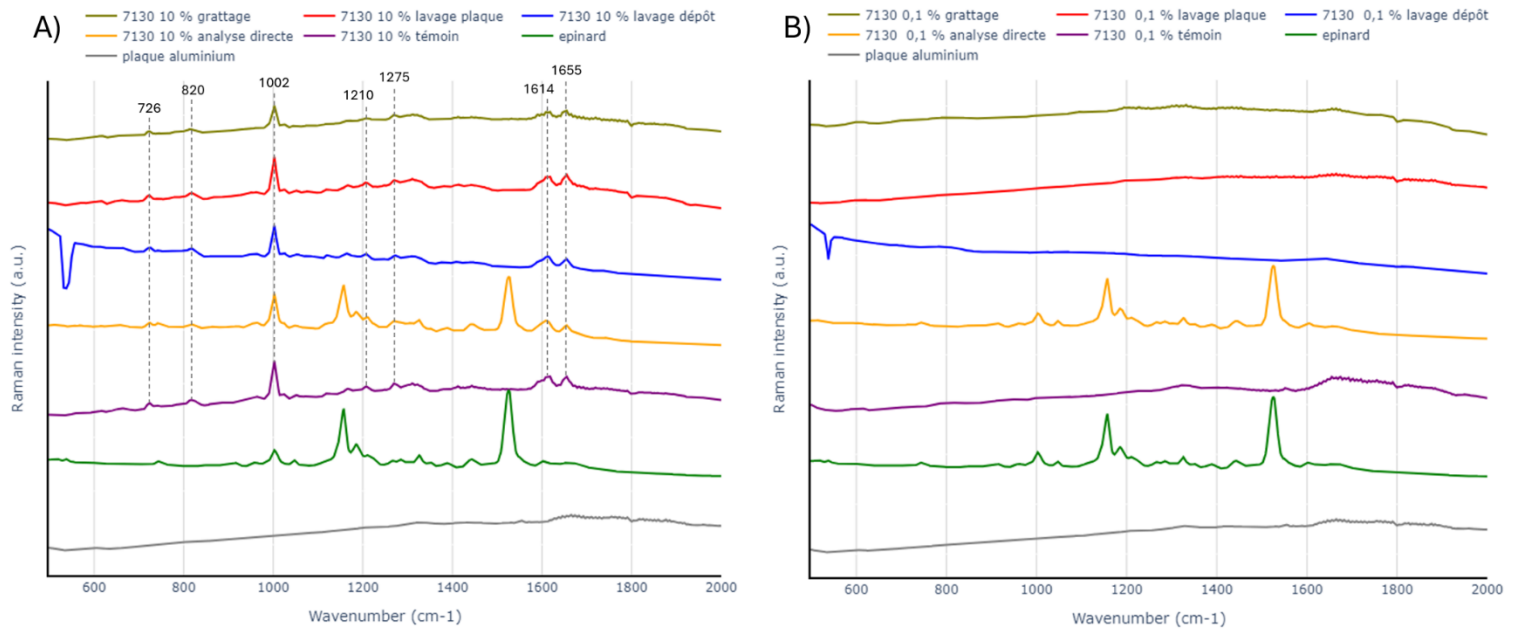


Figure 59 : Spectres obtenus avec le spectromètre Raman portable du pesticide 7130 prélevé sur des feuilles d'épinard préalablement pulvérisé par des solutions dilués à (A) 10 % ou (B) 0,1 %.

La figure 60 montre les spectres obtenus avec le **microscope Raman Senterra II** du pesticide **7130** prélevé sur des feuilles d'épinard préalablement pulvérisées par des solutions diluées à 10 % (figure 60A) ou 0,1 % (figure 60B).

Dans la figure 60A, les bandes caractéristiques du pesticide sont identifiables sur tous les spectres des méthodes de prélèvement, indiquant que les méthodes ont permis la récupération efficace de particules de pesticide.

Dans la figure 60B, les bandes caractéristiques du pesticide 7130 sont identifiables à 726 cm^{-1} pour les trois méthodes, ainsi qu'à 1002 , 1614 et 1655 cm^{-1} pour les méthodes de grattage et d'analyse directe. Des bandes d'origine inconnue apparaissent à 1087 cm^{-1} pour le spectre du pesticide prélevé par grattage et à 1053 cm^{-1} pour le spectre de l'analyse directe de la feuille d'épinard. Ces bandes ne correspondent ni à des bandes caractéristiques du pesticide ni à des bandes caractéristiques du matériel (coton, épinard et plaque). Il est possible que ces réponses Raman proviennent d'une impureté déposée et séchée sur les plaques pendant la période de séchage.

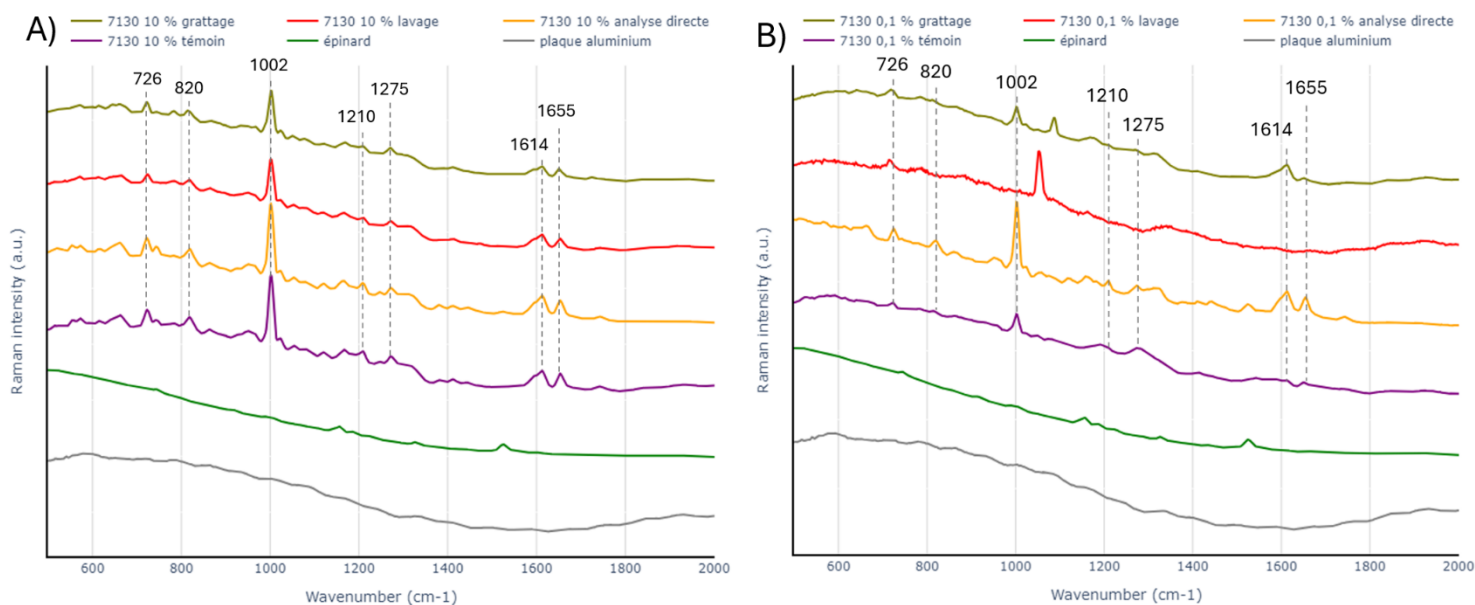


Figure 60 : Spectres obtenus avec le microscope Raman Senterra II du pesticide 7130 prélevé sur des feuilles d'épinard préalablement pulvérisé par des solutions diluées à (A) 10 % ou (B) 0,1 %.

La figure 61 présente les spectres obtenus avec le **spectromètre Raman portable** du pesticide **7997** prélevé sur des feuilles d'épinard préalablement pulvérisées par des solutions diluées. La figure 61A, concernant les spectres des feuilles d'épinard pulvérisées par une solution concentrée à 10 % en pesticide, montre la présence des bandes caractéristiques du pesticide 7997 en 959, 1284, 1347, 1543 et 1580 cm^{-1} sur les spectres pour toutes les méthodes à l'exception du spectre de la plaque obtenu par méthode de lavage. Pour la figure 61B, la conclusion est similaire à celle de la figure 61B : aucun des spectres de chaque méthode ne présente de réponse Raman du pesticide 7997.

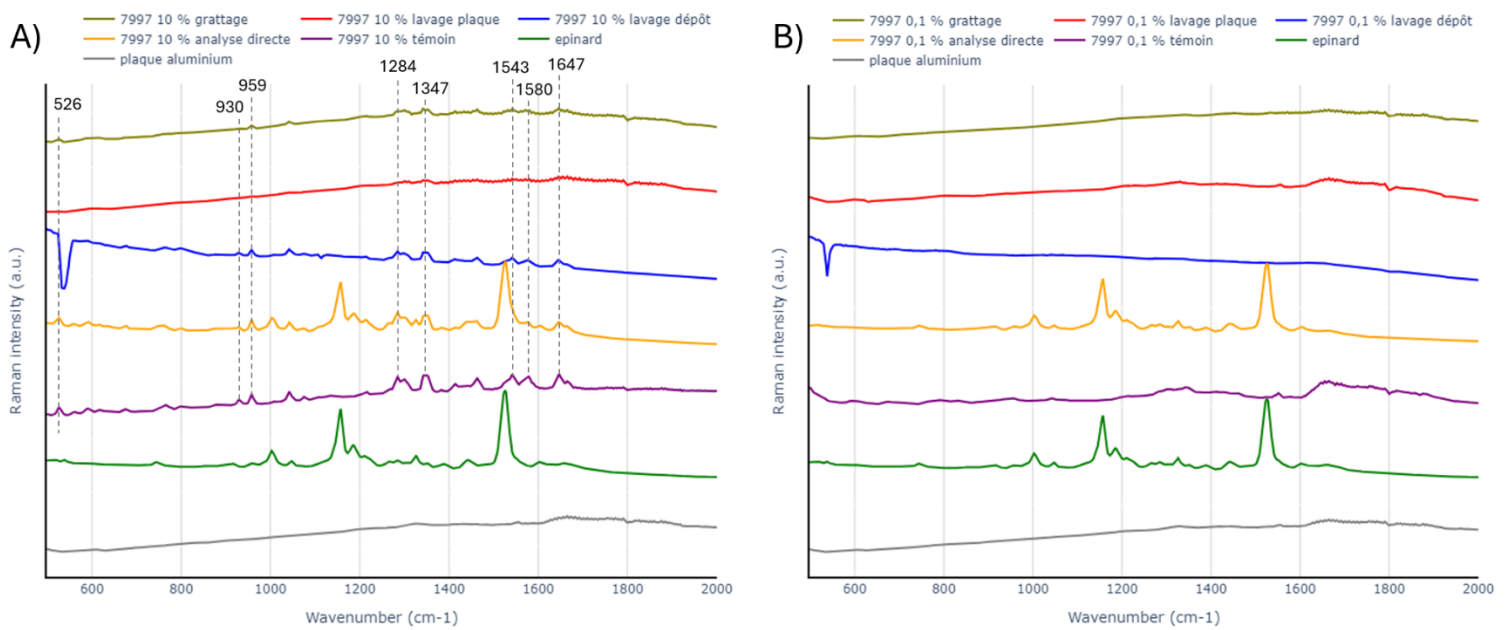


Figure 61 : Spectres obtenus avec le spectromètre Raman portable du pesticide 7997 prélevé sur des feuilles d'épinard préalablement pulvérisé par des solutions diluées à (A) 10 % ou (B) 0,1 %.

La figure 62 montre les spectres obtenus avec le **microscope Raman Senterra II** du pesticide **7997** prélevé sur des feuilles d'épinard préalablement pulvérisées par des solutions diluées à 10 % (figure 62A) ou 0,1 % (figure 62B).

Dans la figure 62A, les spectres des trois méthodes de prélèvement révèlent des bandes caractéristiques du pesticide 7997.

Cependant, dans la figure 62B, seul le spectre de la méthode de grattage présentent des bandes spécifiques au pesticide 7997 parmi toutes les méthodes examinées. Des bandes inconnues apparaissent également à 730 et 1054 cm^{-1} dans le spectre du pesticide prélevé par lavage et à 730 et 1089 cm^{-1} dans le spectre de l'analyse directe de la feuille d'épinard. Ces bandes peuvent être le résultat d'une impureté déposée lors du séchage des plaques.

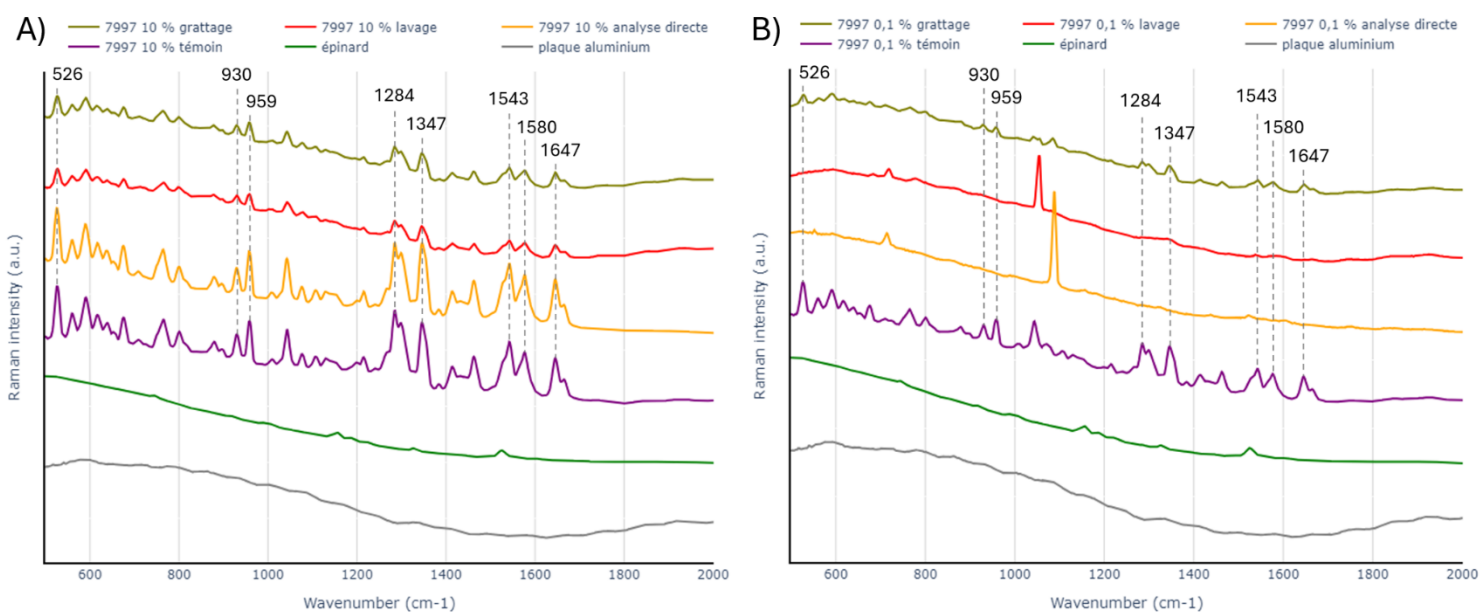


Figure 62 : Spectres obtenus avec le microscope Raman Senterra II du pesticide 7997 prélevé sur des feuilles d'épinard préalablement pulvérisé par des solutions dilués à (A) 10 % ou (B) 0,1 %.

Le processus de tri des spectres effectué sur l'ensemble des données recueillies avec le microscope Raman Senterra II lors de cette quatrième étape a conduit à l'élimination d'un grand nombre de spectres correspondant à de faibles concentrations. Le tableau 12 récapitule le nombre de spectres conservés par rapport au nombre total de spectres pour chaque méthode utilisant le microscope Raman Senterra II :

Tableau 12 : Nombre de spectres conservés dans le lot trié de spectres en fonction de la méthode de prélèvement pour plusieurs solutions à concentration différentes en pesticides 7130 et 7997

Pesticide	Concentration (%)	Méthode	Nombre de spectres conservés / Nombre total de spectre
7130	10 %	Grattage	65 / 96
		Lavage	47 / 96
		Analyse directe	56 / 96
		Témoin	73 / 96
	0,1 %	Grattage	22 / 96
		Lavage	5 / 96
		Analyse directe	2 / 96
		Témoin	22 / 96
7997	10 %	Grattage	63 / 96
		Lavage	49 / 96
		Analyse directe	88 / 96
		Témoin	96 / 96
	0,1 %	Grattage	4 / 96
		Lavage	9 / 96

	Analyse directe	1 / 96
	Témoin	66 / 96

Les résultats de l'étape 4 révèlent que les trois méthodes de prélèvement des pesticide (grattage, lavage et analyse directe) sur des feuilles d'épinards fonctionnent bien pour des solutions pulvérisées avec une forte concentration de pesticides (10 %) pour les deux spectromètres Raman. Cependant, l'application de ces trois méthodes de prélèvement sur des feuilles d'épinard pulvérisées avec une solution à faible concentration de pesticide (0,1 %) ne semble pas prélever suffisamment de particules de pesticide pour que le **spectromètre Raman portable** fournisse une réponse Raman du pesticide. Cela était en partie prévisible, comme le démontrent les résultats de l'étape 3, qui ont montré que le spectromètre Raman portable ne pouvait pas détecter les pesticides présents dans une solution à une concentration de 0,1 %. Ainsi, le spectromètre Raman portable démontre une bonne capacité à identifier les pesticides à condition qu'ils soient suffisamment concentrés, atteignant ainsi ses limites de détection pour les pesticides présents à de faibles concentrations.

En ce qui concerne le **microscope Raman Senterra II**, celui-ci a montré des résultats pour la détection des deux pesticides (7130 et 7997) pulvérisés à de faible concentration et prélevés avec la méthode de **grattage** (méthode 1), et uniquement pour la détection du pesticide 7130, avec la méthode d'**analyse directe** de la feuille (méthode 3). Il convient de noter que le lot trié de spectres des pesticides obtenus avec la méthode de grattage (figures 60B et 62B) compte 22 spectres sur les 96 spectres obtenus pour le pesticide 7130 et 4 spectres sur les 96 spectres obtenus pour le pesticide 7997. Pour la méthode de l'analyse directe de la feuille d'épinard, seuls 2 des 96 spectres mesurés contiennent des informations Raman pour le pesticide 7130.

On remarque qu'il y a une part de "aléatoire" dans l'analyse de pesticides présents en faible quantité. La principale difficulté dans la détection de pesticides avec le **microscope Raman Senterra II** réside dans la recherche et le ciblage de particules de pesticide présentes en faible nombre et réparties sur une surface relativement grande par rapport à la taille des particules. La méthode d'analyse utilisée dans ce mémoire pour augmenter les chances de détection a consisté à se concentrer les bords des gouttelettes, où les particules de pesticides ont tendance à se déposer, ce qui a donné des résultats encourageants pour la méthode de grattage.

8. Conclusion et perspectives

Dans ce travail, nous avons testé le potentiel de deux spectromètres Raman : le spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny) et le microscope Raman Senterra II pour l'identification et la détection de pesticides appliqués sur des épinards. Nous avons également mis en place une méthode de prélèvement afin de déterminer la technique la plus efficace pour récupérer les pesticides pulvérisés sur les feuilles d'épinard.

Pour l'identification des pesticides, il s'est avéré que le microscope Raman Senterra II a été le spectromètre le plus efficace pour obtenir des spectres riches en informations Raman pour les cinq pesticides analysés, tandis que le spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny) a rencontré des difficultés pour fournir des spectres contenant suffisamment d'informations Raman pour les pesticides contenant du propamocarb-HCl, du zoxamide et du cymoxanil. Malgré cela, les profils spectraux de chaque pesticide ont pu être interprétés en fonction de leur structure chimique correspondante. De plus, les analyses exploratoires des données spectrales ont montré qu'il était possible de distinguer différents pesticides à des concentrations pures grâce aux bandes spectrales caractéristiques obtenues avec les deux spectromètres Raman.

Concernant les performances de détection, le microscope Raman Senterra II a affiché des performances supérieures pour détecter des concentrations très faibles (0,1 %) de pesticides par rapport au spectromètre Raman portable dont le seuil de détection a été fixé à une concentration de 1 % car celui-ci a tout de même réussi à détecter une faible réponse Raman du pesticide composé de lambda-cyhalothrine à cette concentration. Il convient de noter que le microscope Raman Senterra II est équipé d'un microscope permettant de cibler précisément les particules de pesticides. En revanche, il est extrêmement difficile de cibler les particules de pesticide sur une plaque d'aluminium avec le spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny) car celles-ci qui sont très peu visibles à l'œil nu. Ainsi, une optimisation de la présentation de l'échantillon en faible concentration de pesticide pour ce spectromètre est nécessaire pour améliorer le signal Raman de ces particules de pesticides.

La méthode de prélèvement de pesticides sur des feuilles d'épinard qui a donné les meilleurs résultats a été le « grattage ». Cependant, ces résultats n'ont pu être observés qu'avec le microscope Raman Senterra II. En effet, aucune réponse Raman n'a été obtenue avec le spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny) lorsque cette méthode a été utilisée pour la pulvérisation d'une faible concentration (0,1 %) de pesticides sur les feuilles d'épinard.

Les perspectives d'amélioration pour ce travail de détection des pesticides peuvent être abordées sous trois angles : la présentation des échantillons, les instruments de mesure utilisés, et l'application de la spectroscopie Raman pour la détection de pesticides sur le terrain.

La présentation des échantillons a été un obstacle majeur pour l'analyse de pesticides à faible concentration. Pour optimiser l'analyse des échantillons secs, il serait bénéfique de réduire la surface d'analyse en concentrant la gouttelette en un seul point. Cela éviterait l'étalement des particules de pesticide et réduirait ainsi la variabilité dans la détection. L'utilisation d'un support hydrophobe est envisagée pour minimiser le contact de la solution avec le support, permettant à la goutte de se concentrer en un seul point et facilitant l'analyse des particules.

Ce travail s'est concentré sur des instruments basés sur la spectroscopie Raman. La modification de certains paramètres, comme l'utilisation de lasers moins énergétiques pour limiter la fluorescence ou l'emploi d'un objectif de microscope plus puissant pour mieux cibler les particules de pesticides, peut améliorer la détection du signal Raman. D'autres techniques de spectroscopie vibrationnelle, comme la spectroscopie infrarouge, pourraient également offrir des résultats intéressants pour la détection de pesticides.

La spectroscopie Raman pourrait être utilisée comme méthode préliminaire de contrôle pour identifier les pesticides pulvérisés dans le cadre de la lutte contre la fraude ou pour détecter la présence de résidus de pesticides. Les deux spectromètres utilisés montrent un potentiel pour l'analyse qualitative et quantitative des pesticides. Un approfondissement de la relation entre la concentration des solutions en pesticides et l'intensité de certaines bandes spectrales pourrait conduire à des analyses quantitatives.

Enfin, l'analyse de solutions de pesticides à des concentrations encore plus faibles constitue une autre voie d'amélioration. La concentration la plus faible étudiée dans cette expérience correspond à la dose appliquée sur les cultures, ce qui ne reflète pas les résidus présents en quantités encore plus faibles. Pour mieux représenter ces résidus, il serait utile de pulvériser une véritable plante d'épinard, de la laisser à l'extérieur pour qu'elle subisse un lavage mécanique par le vent et la pluie, puis de collecter les particules de pesticides restantes.

9. Annexes

9.1. Annexe 1 : Table des figures

Figure 1 : Exemple de composés organochlorés (Carrier, 2009)	7
Figure 2 : Exemple de composés organophosphorés (Carrier, 2009).....	7
Figure 3 : Exemple de composé carbamate (Calvet, 2005).....	8
Figure 4 : Exemple de composé pyréthriinoïde	8
Figure 5 : Utilisation de pesticide par région du monde (FAO, 2022).....	11
Figure 6 : Utilisation de pesticides par superficie de terres cultivées et par région du monde (FAO, 2022).....	11
Figure 7 : Spectre électromagnétique (Fox, 2020).....	17
Figure 8 : Les différentes interactions entre la lumière et la matière (Daher, 2012)	18
Figure 9 : Les différentes transitions d'énergie selon la longueur d'onde du rayonnement absorbée (<i>Absorption et transmission atmosphériques</i> , s. d.).....	19
Figure 10 : Les modes de vibration d'élongation et de déformation angulaire (Emmanuelle, s. d.)	20
Figure 11 : Diagramme de phénomène de fluorescence (S : Niveau d'énergie électronique, E_A : Energie absorbé, E_F : Energie émit par fluorescence) (Ali, 2018)	20
Figure 12 : Phénomène de diffusion (Planet-Terre, s. d.)	21
Figure 13 : Phénomène de diffusion (Nguyen, 2008)	22
Figure 14 : Spectromètre à mécanisme dispersif (Nguyen, 2008).....	23
Figure 15 : Interféromètre de Michelson (Z. Li et al., 2014)	24
Figure 16 : Spectre Raman du tétrachlorure de carbone (CCl_4), excité par un laser 632,8 nm (Alexandre et al., s. d.).....	25
Figure 17 : Table des combinaisons entre les régions du spectre Raman et les structures chimiques (Naumann et al. 1991, Pistorius 1995, Piot et al. 2000)	27
Figure 18 : Principe du lissage par l'algorithm de Savitzky-Golay (Gallagher, s. d.)	30
Figure 19 : Dérivée première et lissage par l'algorithm de Savitzky-Golay (Gallagher, s. d.)	31
Figure 20 : Matrice de corrélation à 3 dimensions (Jaadi, s. d.)	32
Figure 21 : Les échantillons de pesticide.....	36
Figure 22 : Spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny)	37
Figure 23 : Schéma de la convergence du laser	38
Figure 24 : Microscope Raman Senterra II	39
Figure 25 : Support (A) standard et (B) végétal	41
Figure 26 : (A) Dispositif pour fiole ; (B) Dispositif pour des échantillons solides	42
Figure 27 : Matériel au microscope : (A) Plaque d'aluminium, (B) coton-tige, (C) feuille d'épinard	43
Figure 28 : Echantillons liquides des cinq pesticides purs en fiole analysés par le spectromètre Raman portable.....	44

Figure 29 : Echantillons secs des cinq pesticides purs sec analysés par le spectromètre Raman portable	44
Figure 30 : Echantillon sec de pesticide pur analysé par le microscope Raman Senterra II....	45
Figure 31 : Echantillons secs de pesticide à différentes concentrations : (A) 100 % ; (B) 50 % ; (C) 25 % ; (D) 10 % ; (E) 1% ; (F) 0,1 %	47
Figure 32 : (A) Solution du pesticide concentrée à 10 % ; (B) Solution de pesticide concentrée à 0,1 %	48
Figure 33 : Pulvérisation des feuilles d'épinard avec une solution de pesticide	48
Figure 34 : (A) Méthode 1 : grattage ; (B) Méthode 2 : lavage ; (C) Méthode 3 : analyse directe ; (D) Témoin.....	50
Figure 35 : (A) Analyse des échantillons secs de la méthode 1, 2 et témoin ; (B) Analyse du dépôt liquide de l'échantillon de la méthode 2 ; (C) Analyse directe de la feuille d'épinard de la méthode 3 avec le spectromètre Raman portable	51
Figure 36 : Analyse directe de la feuille d'épinard de la méthode 3 avec le microscope Raman Senterra II.....	51
Figure 37 : Spectres Raman des cinq pesticides de 0 à 3700 cm^{-1} obtenu avec le microscope Raman Senterra II.....	53
Figure 38 : Coefficient de variation des RMS des échantillons liquides mesurés avec le spectromètre Raman portable.....	54
Figure 39 : Coefficient de variation des RMS des échantillons secs mesurés avec le spectromètre Raman portable.....	55
Figure 40 : Coefficient de variation des RMS des échantillons secs mesurés avec le microscope Raman Senterra II	56
Figure 41 : Spectres moyens du matériel utilisé obtenus avec (A) le spectromètre Raman portable ou (B) le microscope Raman Senterra II	59
Figure 42 : Spectres moyens des échantillons des cinq pesticides obtenus le spectromètre Raman portable sous forme (A) liquide et (B) sec	60
Figure 43 : Spectres des échantillons secs des cinq pesticides obtenus le microscope Raman Senterra II.....	60
Figure 44 : Molécule de lambda-cyhalothrine	61
Figure 45 : (A) Molécule de propamocarbe hydrochloride ; (B) Structure de carbamate.....	62
Figure 46 : Molécule de cymoxanil.....	62
Figure 47 : (A) Molécule de fluoxapyroxad ; (B) Structure amide ; (C) Pyrazole	63
Figure 48 : (A) Molécule de metconazole ; (B) Structure triazole.....	63
Figure 49 : (A) Molécule de zoxamide ; (B) Structure de benzamide	64
Figure 50 : Molécule de chlorantraniliprole.....	64
Figure 51 : Graphique des scores de la PCA (PC1 vs PC3) appliqué sur les spectres des échantillons liquides des cinq pesticides avec le spectromètre Raman portable	67

Figure 52 : (A) Loadings de la PC1 ; (B) Loadings de la PC3 des résultats de la PCA (PC1 et PC3) appliqué sur les spectres des échantillons liquides des cinq pesticides avec le spectromètre Raman portable.....	68
Figure 53 : Graphique des scores de la PCA (PC1 vs PC2) appliqué sur les spectres des échantillons secs des cinq pesticides avec le microscope Raman Senterra II	69
Figure 54 : (A) Loadings de la PC1 ; (B) Loadings de la PC2 des résultats de la PCA (PC1 et PC2) appliqué sur les spectres des échantillons secs des cinq pesticides avec le spectromètre Raman Senterra II.....	70
Figure 55 : Spectres obtenus avec le spectromètre Raman portable du produit 7130 dilué à différentes concentrations.....	71
Figure 56 : Spectres moyens des lot triés de spectres obtenus avec le microscope Raman Senterra II du produit 7130 dilué à différentes concentrations.	72
Figure 57 : Spectres obtenus avec le spectromètre Raman portable du produit 7997 dilué à différentes concentrations.....	72
Figure 58 : Spectres moyens des lot triés de spectres obtenus avec le microscope Raman Senterra II du produit 7997 dilué à différentes concentrations.	73
Figure 59 : Spectres obtenus avec le spectromètre Raman portable du pesticide 7130 prélevé sur des feuilles d'épinard préalablement pulvérisé par des solutions dilués à (A) 10 % ou (B) 0,1 %.....	74
Figure 60 : Spectres obtenus avec le microscope Raman Senterra II du pesticide 7130 prélevé sur des feuilles d'épinard préalablement pulvérisé par des solutions dilués à (A) 10 % ou (B) 0,1 %.....	75
Figure 61 : Spectres obtenus avec le spectromètre Raman portable du pesticide 7997 prélevé sur des feuilles d'épinard préalablement pulvérisé par des solutions dilués à (A) 10 % ou (B) 0,1 %.....	76
Figure 62 : Spectres obtenus avec le microscope Raman Senterra II du pesticide 7997 prélevé sur des feuilles d'épinard préalablement pulvérisé par des solutions dilués à (A) 10 % ou (B) 0,1 %.....	77
Figure 63 : Boxplot des RMS des échantillons liquides et secs des pesticides purs mesurés avec le spectromètre Raman portable.....	87
Figure 64 : Boxplot des RMS des échantillons secs des pesticides purs mesurés avec le microscope Raman Senterra II	87
Figure 65 : Spectres moyens des lot entiers de spectres obtenus avec le microscope Raman Senterra II du produit (A) 7130 et (B) 7997 dilué à différentes concentrations.....	88
Figure 66 : Modèles de régression linéaire simple de la concentration des solutions en pesticide 7130 en fonction de l'intensité Raman en 726, 1002, 1614 et 1655 cm ⁻¹	89
Figure 67 : Modèles de régression linéaire simple de la concentration des solutions en pesticide 7997 en fonction de l'intensité Raman en 959, 1284, 1347 et 1543 cm ⁻¹	89

9.2. Annexe 2 : Table des tableaux

Tableau 1 : Classement des pesticides selon l'organisme nuisible ciblé	6
Tableau 2 : Classement des pesticides selon leur composition chimique	6
Tableau 3 : Pesticides organiques synthétisés	6
Tableau 4 : Exemples de formulations sèches/solides	8
Tableau 5 : Exemple de formulations mouillées/liquides	9
Tableau 6 : Les cinq pesticides du CRA-W	36
Tableau 7 : Matériel expérimental	41
Tableau 8 : Concentration en substance active des solutions diluées	46
Tableau 9 : p-value des RMS des échantillons liquides et secs mesurés avec le spectromètre Raman portable	57
Tableau 10 : p-value des RMS des échantillons secs mesurés avec le microscope Raman Senterra II	57
Tableau 11 : Récapitulatif des nombres d'onde associés à leur vibration moléculaire correspondante	64
Tableau 12 : Nombre de spectres conservés dans le lot trié de spectres en fonction de la méthode de prélèvement pour plusieurs solutions à concentration différentes en pesticides 7130 et 7997	77
Tableau 13 : Nombres de spectres conservés dans le lot trié de spectres en fonction de la concentration de la solution	88

9.3. Annexe 3 : Récapitulatif des mesures de l'expérience

Voici un tableau récapitulatif du nombre de mesure faite par échantillon pour chaque étape.

9.3.1. Etape 1

Spectromètre	Echantillon	1 ^{ère} réplication	2 ^{ème} réplication	3 ^{ème} réplication
Rigaku	Plaque aluminium	4 spectres	4 spectres	4 spectres
	Eau distillé	4 spectres	4 spectres	4 spectres
	Feuille d'épinard	4 spectres	4 spectres	4 spectres
Senterra II	Plaque aluminium	32 spectres	32 spectres	32 spectres
	Feuille d'épinard	32 spectres	32 spectres	32 spectres

9.3.2. Etape 2

Spectromètre	Echantillon	Concentration (%)	1 ^{ère} réplication	2 ^{ème} réplication	3 ^{ème} réplication
Rigaku	7844 (liq)	100 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres
	7749 (liq)	100 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres
	7851 (liq)	100 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres
	7130 (liq)	100 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres
	7997 (liq)	100 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres
Senterra II	7844 (sec)	100 %	32 spectres	32 spectres	32 spectres

	7749 (sec)	100 %	32 spectres	32 spectres	32 spectres
	7851 (sec)	100 %	32 spectres	32 spectres	32 spectres
	7130 (sec)	100 %	32 spectres	32 spectres	32 spectres
	7997 (sec)	100 %	32 spectres	32 spectres	32 spectres

9.3.3. Etape 3

Spectromètre	Echantillon	Concentration (%)	1 ^{ère} réplication	2 ^{ème} réplication	3 ^{ème} réplication	
Rigaku	7130 (sec)	100 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres	
		50 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres	
		25 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres	
		10 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres	
		1 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres	
		0,1 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres	
	7997 (sec)	100 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres	
		50 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres	
		25 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres	
		10 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres	
		1 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres	
		0,1 %	4 spectres	4 spectres	4 spectres	
	Senterra II	7130 (sec)	100 %	32 spectres	32 spectres	32 spectres
			50 %	32 spectres	32 spectres	32 spectres
25 %			32 spectres	32 spectres	32 spectres	
10 %			32 spectres	32 spectres	32 spectres	
1 %			32 spectres	32 spectres	32 spectres	
0,1 %			32 spectres	32 spectres	32 spectres	
7997 (sec)		100 %	32 spectres	32 spectres	32 spectres	
		50 %	32 spectres	32 spectres	32 spectres	
		25 %	32 spectres	32 spectres	32 spectres	
		10 %	32 spectres	32 spectres	32 spectres	
		1 %	32 spectres	32 spectres	32 spectres	
		0,1 %	32 spectres	32 spectres	32 spectres	

9.3.4. Etape 4

Spectromètre	Échantillon	Concentration (%)	Prélèvement	1 ^{ère} réplication	2 ^{ème} réplication	3 ^{ème} réplication
Rigaku	7130	10 %	Grattage	4 spectres	4 spectres	4 spectres
		10 %	Lavage	4 spectres	4 spectres	4 spectres
		10 %	Analyse directe	4 spectres	4 spectres	4 spectres
		10 %	Témoin	4 spectres	4 spectres	4 spectres
	7130	0,1 %	Grattage	4 spectres	4 spectres	4 spectres
		0,1 %	Lavage	4 spectres	4 spectres	4 spectres
		0,1 %	Analyse directe	4 spectres	4 spectres	4 spectres

		0,1 %	Témoin	4 spectres	4 spectres	4 spectres
	7997	10 %	Grattage	4 spectres	4 spectres	4 spectres
		10 %	Lavage	4 spectres	4 spectres	4 spectres
		10 %	Analyse directe	4 spectres	4 spectres	4 spectres
		10 %	Témoin	4 spectres	4 spectres	4 spectres
	7997	0,1 %	Grattage	4 spectres	4 spectres	4 spectres
		0,1 %	Lavage	4 spectres	4 spectres	4 spectres
		0,1 %	Analyse directe	4 spectres	4 spectres	4 spectres
		0,1 %	Témoin	4 spectres	4 spectres	4 spectres
Senterra II	7130	10 %	Grattage	32 spectres	32 spectres	32 spectres
		10 %	Lavage	32 spectres	32 spectres	32 spectres
		10 %	Analyse directe	32 spectres	32 spectres	32 spectres
		10 %	Témoin	32 spectres	32 spectres	32 spectres
	7130	0,1 %	Grattage	32 spectres	32 spectres	32 spectres
		0,1 %	Lavage	32 spectres	32 spectres	32 spectres
		0,1 %	Analyse directe	32 spectres	32 spectres	32 spectres
		0,1 %	Témoin	32 spectres	32 spectres	32 spectres
	7997	10 %	Grattage	32 spectres	32 spectres	32 spectres
		10 %	Lavage	32 spectres	32 spectres	32 spectres
		10 %	Analyse directe	32 spectres	32 spectres	32 spectres
		10 %	Témoin	32 spectres	32 spectres	32 spectres
	7997	0,1 %	Grattage	32 spectres	32 spectres	32 spectres
		0,1 %	Lavage	32 spectres	32 spectres	32 spectres
		0,1 %	Analyse directe	32 spectres	32 spectres	32 spectres
		0,1 %	Témoin	32 spectres	32 spectres	32 spectres

9.4. Annexe 4 : Boxplot répétabilité et reproductibilité

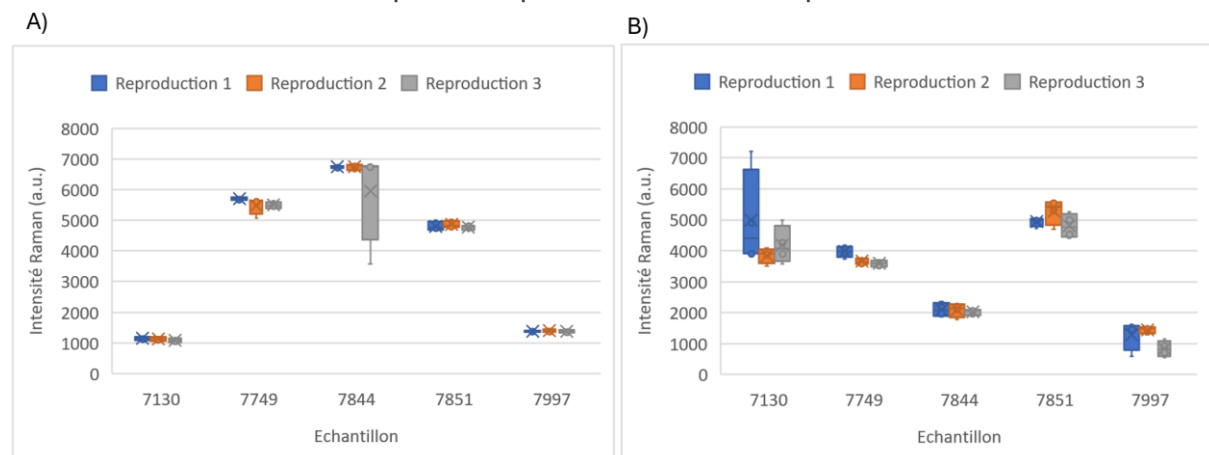


Figure 63 : Boxplot des RMS des échantillons liquides et secs des pesticides purs mesurés avec le spectromètre Raman portable

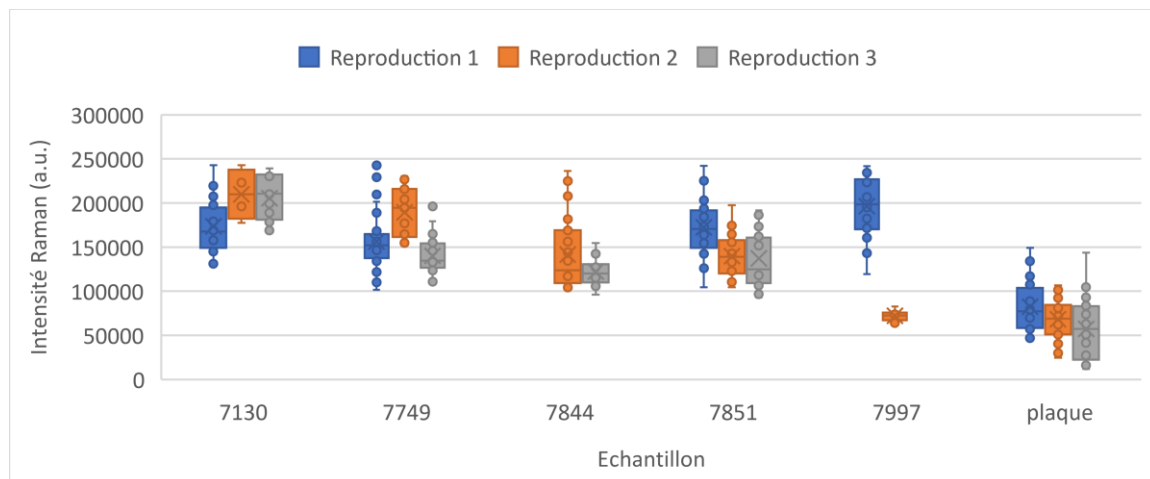


Figure 64 : Boxplot des RMS des échantillons secs des pesticides purs mesurés avec le microscope Raman Senterra II

9.5. Annexe 5 : Impact de la dilution sur les spectres mesurés avec le microscope Raman Senterra II à l'étape 3

L'impact de la dilution sur l'intensité des bandes des spectres obtenus avec le microscope Raman Senterra n'est pas visible à cause du **triage** des spectres qui a éliminé tous les spectres sans information. La part de spectre contenant de l'information Raman est présentée dans le tableau 10 pour les deux pesticides. On peut observer une diminution du nombre de spectre conservés en fonction de la concentration. Cette observation est peut-être expliquée par le fait qu'à mesure que la solution est diluée, le nombre de particules de pesticides diminue, réduisant ainsi les chances que le laser interagisse avec celles-ci afin d'obtenir une réponse Raman du pesticide.

Tableau 13 : Nombres de spectres conservés dans le lot trié de spectres en fonction de la concentration de la solution

Pesticide	Concentration (%)	Nombre de spectres conservés / nombre total de spectres
7130	100 %	80 / 96
	50 %	77 / 96
	25 %	79 / 96
	10 %	80 / 96
	1 %	58 / 96
	0,1 %	45 / 96
7997	100 %	84 / 96
	50 %	93 / 96
	25 %	74 / 96
	10 %	68 / 96
	1 %	60 / 96
	0,1 %	6 / 96

La figure 65 présente les spectres moyens des lots entiers de spectres issus des solutions des pesticides **7130** (gauche) et **7997** (droite) à différentes concentrations, mesurées avec le **spectromètre Raman Senterra II**. L'impact de la dilution est clairement visible sur les spectres des solutions diluées à 1 % et 0,1 % pour les deux pesticides qui présentent des bandes clairement moins intenses que ceux provenant des lots triés.

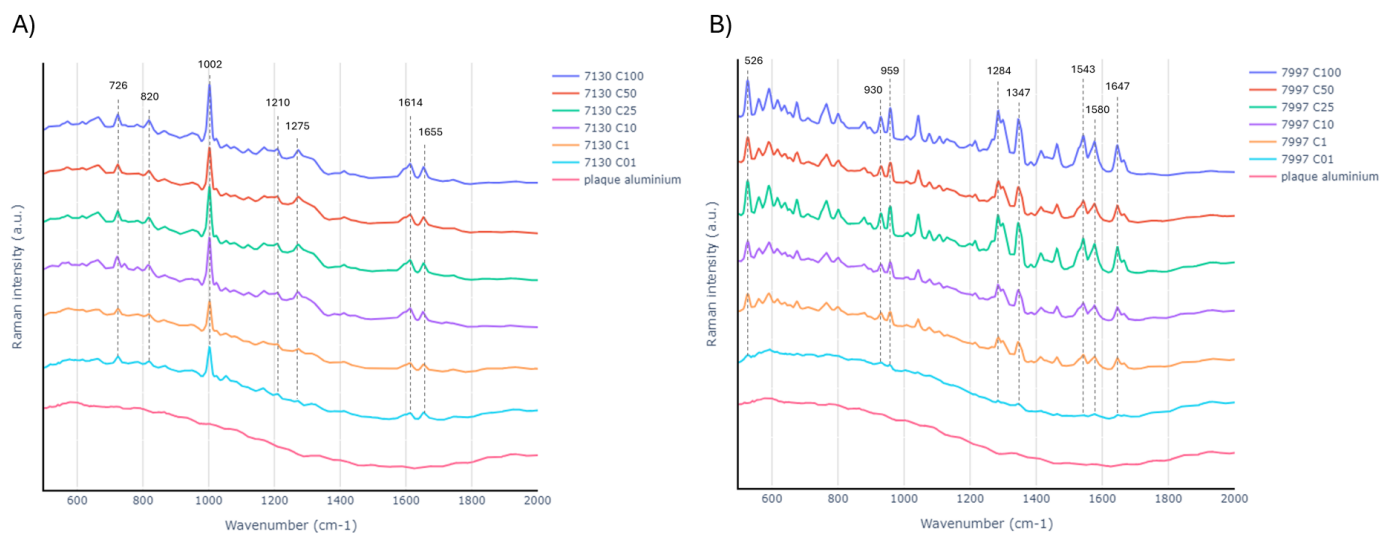


Figure 65 : Spectres moyens des lot entiers de spectres obtenus avec le microscope Raman Senterra II du produit (A) 7130 et (B) 7997 dilué à différentes concentrations.

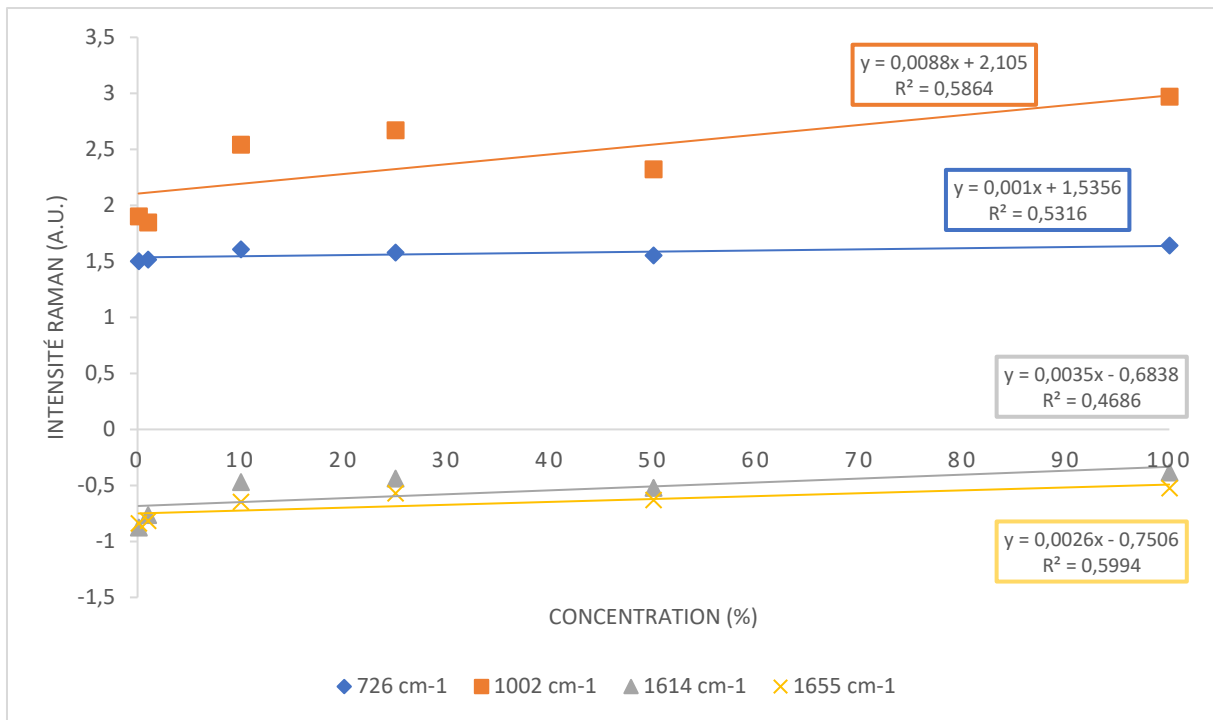


Figure 66 : Modèles de régression linéaire simple de la concentration des solutions en pesticide 7130 en fonction de l'intensité Raman en 726, 1002, 1614 et 1655 cm-1

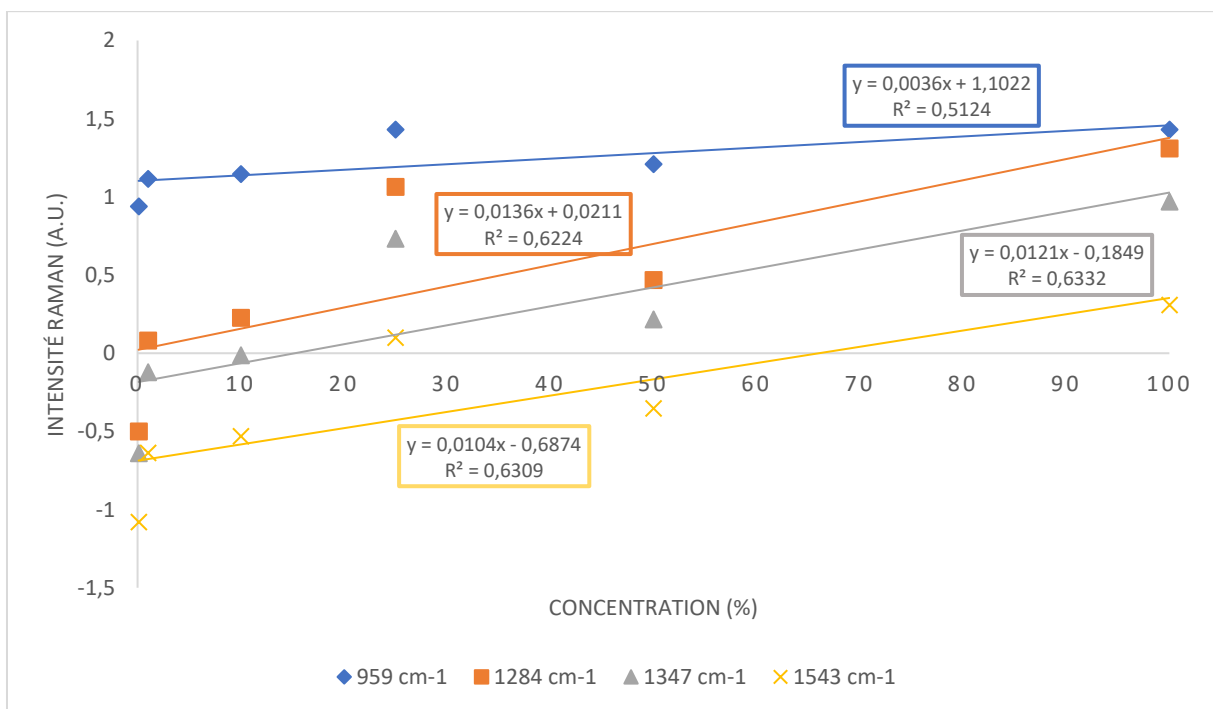


Figure 67 : Modèles de régression linéaire simple de la concentration des solutions en pesticide 7997 en fonction de l'intensité Raman en 959, 1284, 1347 et 1543 cm-1

10. Bibliographie

- Abdelmoulaoui, H., Ghalla, H., Brandán, S., & Nasr, S. (2015). *Structural study and vibrational analyses of the monomeric, dimeric, trimeric and tetrameric species of acetamide by using the FTIR and Raman spectra, DFT calculations and SQM methodology*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Structural-study-and-vibrational-analyses-of-the-%2C-Abdelmoulaoui-Ghalla/389f0e2c58b3253bdf6bbf07c808afdf8d7bc3bc>
- Abdulra'uf, L. B., Sirhan, A. Y., & Huat Tan, G. (2012). Recent developments and applications of liquid phase microextraction in fruits and vegetables analysis. *Journal of Separation Science*, 35(24), 3540-3553. <https://doi.org/10.1002/jssc.201200427>
- Absorption et transmission atmosphériques*. (s. d.). Consulté 13 mai 2024, à l'adresse <https://e-cours.univ-paris1.fr/modules/uved/envcal/html/rayonnement/3-rayonnement-atmosphere/3-1-absorption-transmission-atmospherique.html>
- Académie Agriculture de France. (s. d.). *09.01.Q04 : Qu'est-ce qu'une LMR? | Académie d'Agriculture de France*. Consulté 25 avril 2024, à l'adresse <https://www.academie-agriculture.fr/publications/encyclopedie/questions-sur/0901q04-quest-ce-quune-lmr>
- Acosta-Maldonado, B., Sánchez-Ramírez, B., Reza-López, S., & Levario-Carrillo, M. (2009). Effects of exposure to pesticides during pregnancy on placental maturity and weight of newborns : A cross-sectional pilot study in women from the Chihuahua State, Mexico. *Human & Experimental Toxicology*, 28(8), 451-459. <https://doi.org/10.1177/0960327109107045>
- Akpolat, H., Barineau, M., Jackson, K. A., Akpolat, M. Z., Francis, D. M., Chen, Y.-J., & Rodriguez-Saona, L. E. (2020). High-Throughput Phenotyping Approach for Screening Major Carotenoids of Tomato by Handheld Raman Spectroscopy Using Chemometric Methods. *Sensors*, 20(13), Article 13. <https://doi.org/10.3390/s20133723>
- Alexandre, C.-B., Stéphanie, L.-T., Leïla, B.-L., & Nordin, F. (s. d.). *Acheter. Un spectromètre Raman*.
- Ali, O. O. (2018). *Impact des décharges à ciel ouvert sur la qualité environnementale de l'Oued Cheliff (Algérie)* [Phdthesis, Université de Perpignan ; Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem (Mostaganem, Algérie)]. <https://theses.hal.science/tel-01954899>
- ALIGON, D. (s. d.). *Abhatoo : Projet d'Estimation des Risques SANitaires : Estimation des expositions de la population générale aux insecticides : Les Organochlorés, les Organophosphorés et les Pyréthrinoides*. Consulté 25 avril 2024, à l'adresse <http://www.abhatoo.net.ma/maalama-textuelle/developpement-durable/economie-durable/agriculture/produits-agrochimiques/pesticides/projet-d-estimation-des-risques-sanitaires-estimation-des-expositions-de-la-population-generale-aux-insecticides-les-organochlores-les-organophosphores-et-les-pyrethrinoides>
- Arjunan, V., Mythili, C. V., Mageswari, K., & Mohan, S. (2011). Experimental and theoretical investigations of benzamide oxime. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79(1), 245-253. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.02.050>

- Atanasov, P. A., Nedyalkov, N. N., Fukata, N., & Jevasuwan, W. (2021). Advanced silver and gold substrates for surface-enhanced Raman spectroscopy of pesticides. *Spectroscopy Letters*.
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00387010.2021.1950190>
- Batsch, D. (2011). *L'impact des pesticides sur la santé humaine* (p. non renseigné) [Other, UHP - Université Henri Poincaré]. <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01739150>
- Belarbi, S. (2021). *Développement de nouvelles stratégies de préparation de l'échantillon et d'analyse pour la recherche de traces de pesticides et de contaminants dans diverses matrices agroalimentaires*. [Phdthesis, Normandie Université].
<https://theses.hal.science/tel-03738129>
- Benzidane, C. (2018, juin 12). *Effet toxique des résidus des pesticides utilisés sur la flore de la région de Sétif*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Effet-toxique-des-r%C3%A9sidus-des-pesticides-utilis%C3%A9s-Benzidane/4f8cfc595b2ff42b1bf6542ef9542270f385268c>
- Benzine, M. (2006). Les pesticides : Toxicité, résidus et analyse. *Les technologies de laboratoire*, 1. <https://doi.org/10.34874/PRSM.teclab-vol1iss0.315>
- Bhanti, M., & Taneja, A. (2007). Contamination of vegetables of different seasons with organophosphorous pesticides and related health risk assessment in northern India. *Chemosphere*, 69(1), 63-68. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.04.071>
- Bittel, M. (2017). *Détection de polluants chimiques par biocapteurs bactériens couplés à la spectroscopie Raman* [These de doctorat, Nantes]. <https://theses.fr/2017NANT4113>
- Blanco, M., Valdés, D., Bayod, M. S., Fernández-Marí, F., & Llorente, I. (2004). Characterization and analysis of polymorphs by near-infrared spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 502(2), 221-227. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.10.016>
- Boland, J., & Koomen, I. (s. d.). *Les pesticides : Composition, utilisation et risques*.
- Bonnechère, A., Hanot, V., Jolie, R., Hendrickx, M., Bragard, C., Bedoret, T., & Van Loco, J. (2012). Effect of household and industrial processing on levels of five pesticide residues and two degradation products in spinach. *Food Control*, 25(1), 397-406. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.11.010>
- Bourget, P., Amin, A., Moriceau, A., Cassard, B., Vidal, F., & Clement, R. (2012). La Spectroscopie Raman (SR) : Un nouvel outil adapté au contrôle de qualité analytique des préparations injectables en milieu de soins. Comparaison de la SR aux techniques CLHP et UV/visible-IRTF appliquée à la classe des anthracyclines en cancérologie. *Pathologie Biologie*, 60(6), 369-379. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2011.10.010>
- Brenna, O. V., & Berardo, N. (2004). Application of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to the evaluation of carotenoids content in maize. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(18), 5577-5582. <https://doi.org/10.1021/jf0495082>
- Brittain, H. G. (2009). Vibrational Spectroscopic Studies of Cocrystals and Salts. 1. The Benzamide–Benzoic Acid System. *Crystal Growth & Design*, 9(5), 2492-2499. <https://doi.org/10.1021/cg801397t>

- Bureau-Point, E., Barthélémy, C., Demeulenaere, E., Doudou, D. T., & Thivet, D. (2021). Les mondes agricoles face au problème des pesticides. Compromis, ajustements et négociations. Introduction au dossier. *Vertigo - la revue électronique en sciences de l'environnement*, Volume 21 Numéro 3, Article Volume 21 Numéro 3. <https://doi.org/10.4000/vertigo.34625>
- Calvet, R. (2005). *Les pesticides dans le sol : Conséquences agronomiques et environnementales*. France Agricole Editions.
- Caron, P.-O. (s. d.). *18 Décomposer | Méthodes quantitatives avec R*. Consulté 13 mai 2024, à l'adresse <https://mqr.telug.ca/mqr.telug.ca/decomposer.html>
- Carrier, H. (2009). *L'emploi des produits phytosanitaires par les agriculteurs, le subtil dosage : Efficacité, protection, environnement* (p. non renseigné) [Other, UHP - Université Henri Poincaré]. <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01733930>
- Chabou, S., Boutallis, A., & Roula, M. (Encadreur). (2013). *Recherche des résidus de pesticides dans la Pomme locale et importée* [Thesis, université de jijel]. <http://dspace.univ-jijel.dz:8080/xmlui/handle/123456789/2930>
- Chetty-Mhlanga, S., Fuhrimann, S., Basera, W., Eeftens, M., Rössli, M., & Dalvie, M. A. (2021). Association of activities related to pesticide exposure on headache severity and neurodevelopment of school-children in the rural agricultural farmlands of the Western Cape of South Africa. *Environment International*, 146, 106237. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106237>
- Cho, L. (2007, juillet 1). *Identification of Textile Fiber by Raman Microspectroscopy*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Identification-of-Textile-Fiber-by-Raman-Cho/ea42663227178b78cf56bbd08f9aa0815c4b1d78>
- Collin, G., & Couture, M. (s. d.). *Chimie physique—Modules multimédias—Présentation—*----- . Consulté 25 avril 2024, à l'adresse <http://profmcouture.ca/Fodar99/presentation.htm>
- Costa, C., Teodoro, M., Rugolo, C. A., Alibrando, C., Giambò, F., Briguglio, G., & Fenga, C. (2020). MicroRNAs alteration as early biomarkers for cancer and neurodegenerative diseases : New challenges in pesticides exposure. *Toxicology Reports*, 7, 759-767. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.05.003>
- Craig, A. P., Franca, A. S., & Irudayaraj, J. (2013). Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Applied to Food Safety. *Annual Review of Food Science and Technology*, 4(Volume 4, 2013), 369-380. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101227>
- CSBQ, D. et entretenu par les contributeurs et les contributrices de la S. d'ateliers R. du. (s. d.). *Chapitre 13 Analyse en composantes principales | Atelier 9 : Analyses multivariées en R*. Consulté 13 mai 2024, à l'adresse <https://r.qcbs.ca/workshop09/book-fr/analyse-en-composantes-principales.html>
- Daher, C. (2012). *Analyse par spectroscopies Raman et infrarouge de matériaux naturels organiques issus d'objets du patrimoine : Méthodologies et applications* [Phdthesis, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI]. <https://theses.hal.science/tel-00742851>

- Dellepiane, G., & Overend, J. (1966). Vibrational spectra and assignment of acetone, $\alpha\alpha$ acetone- d_3 and acetone- d_6 . *Spectrochimica Acta*, 22(4), 593-614.
[https://doi.org/10.1016/0371-1951\(66\)80091-7](https://doi.org/10.1016/0371-1951(66)80091-7)
- Desquilbet, L. (2019). *Guide pratique de validation statistique de méthodes de mesure : Répétabilité, reproductibilité, et concordance*. <https://hal.science/hal-02103716>
- Dhakal, S., Li, Y., Peng, Y., Chao, K., Qin, J., & Guo, L. (2014). Prototype instrument development for non-destructive detection of pesticide residue in apple surface using Raman technology. *Journal of Food Engineering*, 123, 94-103.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.09.025>
- Du, D., Liu, P.-J., Shi, Z.-P., Ren, G.-B., Qi, M.-H., Li, Z., & Xu, X.-Y. (2018). Three solid forms of chlorantraniliprole : Structure, characterization, and phase transformation. *Journal of Molecular Structure*, 1171, 323-332. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.06.028>
- Egea González, F. J., Martínez Vidal, J. L., Castro Cano, M. L., & Martínez Galera, M. (1998). Levels of metamidophos in air and vegetables after greenhouse applications by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 829(1), 251-258.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00779-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00779-1)
- Eigenvector Research Documentation Wiki. (s. d.). *Advanced Preprocessing : Sample Normalization—Eigenvector Research Documentation Wiki*. Consulté 13 mai 2024, à l'adresse
[https://www.wiki.eigenvector.com/index.php?title=Advanced_Preprocessing:_Sample_Normalization#SNV_\(Standard_Normal_Variate\)](https://www.wiki.eigenvector.com/index.php?title=Advanced_Preprocessing:_Sample_Normalization#SNV_(Standard_Normal_Variate))
- Emmanuelle, J. (s. d.). *La spectroscopie infrarouge—Ppt video online télécharger*. Consulté 10 juin 2024, à l'adresse <https://slideplayer.fr/slide/3705072/>
- Encyclopédie de l'Agora. (s. d.). *Brève histoire de l'utilisation des pesticides : Du soufre au glyphosate en passant par le DDT*. Consulté 25 avril 2024, à l'adresse
https://agora.qc.ca/documents/breve_histoire_de_lutilisation_des_pesticides_du_soufre_au_glyphosate_en_passant_par_le_ddt
- FAO. (2022). *Pesticides use, pesticides trade and pesticides indicators*. FAO.
<https://doi.org/10.4060/cc0918en>
- Fox, G. (2020). The Brewing Industry and the Opportunities for Real-Time Quality Analysis Using Infrared Spectroscopy. *Applied Sciences*, 10(2), Article 2.
<https://doi.org/10.3390/app10020616>
- Fu, X., & Ying, Y. (2016). Food Safety Evaluation Based on Near Infrared Spectroscopy and Imaging : A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(11), 1913-1924.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2013.807418>
- Gallagher, N. B. (s. d.). *Savitzky-Golay Smoothing and Differentiation Filter*.
- Ghasemnejad-Berenji, M., Nemati, M., Pourheydar, B., Gholizadeh, S., Karimipour, M., Mohebbi, I., & Jafari, A. (2021). Neurological effects of long-term exposure to low doses of pesticides mixtures in male rats : Biochemical, histological, and neurobehavioral evaluations. *Chemosphere*, 264(Pt 2), 128464.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128464>

- Giacomino, A., Abollino, O., Malandrino, M., & Mentasti, E. (2011). The role of chemometrics in single and sequential extraction assays : A Review. Part II. Cluster analysis, multiple linear regression, mixture resolution, experimental design and other techniques. *Analytica Chimica Acta*, *688*(2), 122-139. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.12.028>
- Graily Moradi, F., Hejazi, M. J., Hamishehkar, H., & Enayati, A. A. (2019). Co-encapsulation of imidacloprid and lambda-cyhalothrin using biocompatible nanocarriers : Characterization and application. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *175*, 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.092>
- Group Environmental Working. (s. d.). *EWG's 2024 Shopper's Guide to Pesticides in Produce™*. Consulté 13 mai 2024, à l'adresse <https://www.ewg.org/foodnews/summary.php>
- Hoskote, R. (2020). Residual molecular and behavioral effects of the phenylpyrazole pesticide fipronil in larval zebrafish (*Danio rerio*) following a pulse embryonic exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*. https://www.academia.edu/105596149/Residual_molecular_and_behavioral_effects_of_the_phenylpyrazole_pesticide_fipronil_in_larval_zebrafish_Danio_rerio_following_a_pulse_embryonic_exposure
- Hssaini, L., Razouk, R., Charafi, J., Houmanat, K., & Hanine, H. (2021). Fig seeds : Combined approach of lipochemical assessment using gas chromatography and FTIR-ATR spectroscopy using chemometrics. *Vibrational Spectroscopy*, *114*, 103251. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2021.103251>
- Jaadi, Z. (s. d.). *Principal Component Analysis (PCA) Explained | Built In*. Consulté 13 mai 2024, à l'adresse <https://builtin.com/data-science/step-step-explanation-principal-component-analysis>
- Jacquet, F., & Jouan, J. (s. d.). *Etat des lieux de l'utilisation des pesticides*.
- Jamshidi, B., Mohajerani, E., Jamshidi, J., Minaei, S., & Sharifi, A. (2015). Non-destructive detection of pesticide residues in cucumber using visible/near-infrared spectroscopy. *Food Additives & Contaminants: Part A*, *32*(6), 857-863. <https://doi.org/10.1080/19440049.2015.1031192>
- Katsumoto, Y., R, J. H. J., Berry, J., & Ozaki, Y. (2001). Modern Pretreatment methods in NIR Spectroscopy. *Near Infrared Analysis*, *2*(1), 29-36.
- Kim, G., Kwak, J., Choi, J., & Park, K. (2012). Detection of nutrient elements and contamination by pesticides in spinach and rice samples using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(3), 718-724. <https://doi.org/10.1021/jf203518f>
- Kovalenko, V. V., Loginov, V. S., Lyzlova, M. V., Melnik, G. I., Trunkin, D. S., & Shuvarikova, T. P. (2020). Multivariate models for monitoring the environmental performance of gasoline. *E3S Web of Conferences*, *224*, 01001. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202022401001>

- Krishnakumar, V., Jayamani, N., & Mathammal, R. (2011). Molecular structure, vibrational spectral studies of pyrazole and 3,5-dimethyl pyrazole based on density functional calculations. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 79(5), 1959-1968. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.05.100>
- L. Ramirez-Cede, M. (2011). *Fiber Optic Coupled Raman Based Detection of Hazardous Liquids Concealed in Commercial Products*. <https://www.hindawi.com/journals/ijcs/2012/463731/>
- Larsson, K., & Rand, R. P. (1973). Detection of changes in the environment of hydrocarbon chains by raman spectroscopy and its application to lipid-protein systems. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism*, 326(2), 245-255. [https://doi.org/10.1016/0005-2760\(73\)90250-6](https://doi.org/10.1016/0005-2760(73)90250-6)
- Lee, G.-H., & Choi, K.-C. (2020). Adverse effects of pesticides on the functions of immune system. *Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology & Pharmacology: CBP*, 235, 108789. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108789>
- Lepot, L. (2011). *Application de la spectroscopie Raman à l'analyse de colorants sur fibres de coton dans le contexte de la criminalistique*. <https://orbi.uliege.be/handle/2268/96368>
- Leroux, P. (2003). Modes d'action des produits phytosanitaires sur les organismes pathogènes des plantes. *Comptes Rendus Biologies*, 326(1), 9-21. [https://doi.org/10.1016/S1631-0691\(03\)00005-2](https://doi.org/10.1016/S1631-0691(03)00005-2)
- Li, W., Lu, B., Sheng, A., Yang, F., & Wang, Z. (2010). Spectroscopic and theoretical study on inclusion complexation of beta-cyclodextrin with permethrin. *Journal of Molecular Structure*, 981(1), 194-203. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2010.08.008>
- Li, Z., Deen, M. J., & Selvaganapathy, P. (2014). Raman Spectroscopy for In-Line Water Quality Monitoring—Instrumentation and Potential. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 14, 17275-17303. <https://doi.org/10.3390/s140917275>
- Lieutaud, C. (2019). *Mesure en ligne par spectroscopie Raman appliquée à un photobioréacteur de microalgues* [These de doctorat, Nantes]. <https://theses.fr/2019NANT4031>
- Liu, Y., Du, S., Xu, X., Qiu, L., Hong, S., Fu, B., Xiao, Y., & Qin, Z. (2024). Synthesis and Biological Activities of Novel Pyrazole Carboxamides Containing an Aryloxy pyridyl Ethylamine Module. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(7), 3342-3353. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c06753>
- Lo, M.-Y., Ong, M. W., Chen, W.-Y., Sun, W.-Z., & Lin, J.-G. (2015). The Effects of Acupuncture on Cerebral and Muscular Microcirculation : A Systematic Review of Near-Infrared Spectroscopy Studies. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 2015, 839470. <https://doi.org/10.1155/2015/839470>
- Macho, S., & Larrechi, M. S. (2002). Near-infrared spectroscopy and multivariate calibration for the quantitative determination of certain properties in the petrochemical industry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 21(12), 799-806. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)01202-5](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)01202-5)

- MacLachlan, D. (s. d.). *CHLORANTRANILIPROLE*.
https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation08/Chlorantraniliprole.pdf
- Malley, D. F., & Williams, P. C. (1997). Use of Near-Infrared Reflectance Spectroscopy in Prediction of Heavy Metals in Freshwater Sediment by Their Association with Organic Matter. *Environmental Science & Technology*, 31(12), 3461-3467.
<https://doi.org/10.1021/es970214p>
- Mark, H., & Workman, J. (2018). A New Beginning ... ☆. In H. Mark & J. Workman (Éds.), *Chemometrics in Spectroscopy (Second Edition)* (p. 1-8). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805309-6.00001-5>
- Mary, Y. S., Al-Omary, F. A. M., Mostafa, G. A. E., El-Emam, A. A., Manjula, P. S., Sarojini, B. K., Narayana, B., Armaković, S., Armaković, S. J., & Van Alsenoy, C. (2017). Insight into the reactive properties of newly synthesized 1,2,4-triazole derivative by combined experimental (FT-IR and FR-Raman) and theoretical (DFT and MD) study. *Journal of Molecular Structure*, 1141, 542-550. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.04.001>
- Merad, L. (2010). *Etude par spectroscopie Raman et modélisation d'une résine composite RTM* [Phdthesis, Université Paul Verlaine - Metz]. <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01752673>
- Mi, S., Ji, L., Yu, H., Guo, Y., Cheng, Y., Yang, F., Yao, W., & Xie, Y. (2021). Zero-Background Surface-Enhanced Raman Scattering Detection of Cymoxanil Based on the Change of the Cyano Group after Ultraviolet Irradiation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(1), 520-527. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c06231>
- Morton, S. M., & Jensen, L. (2009). Understanding the molecule-surface chemical coupling in SERS. *Journal of the American Chemical Society*, 131(11), 4090-4098.
<https://doi.org/10.1021/ja809143c>
- Muniz-Miranda, M., Muniz-Miranda, F., & Caporali, S. (2014). SERS and DFT study of copper surfaces coated with corrosion inhibitor. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 5, 2489-2497. <https://doi.org/10.3762/bjnano.5.258>
- Nguyen, Q. (2008). *Mise au point d'un spectromètre à l'échelle nanoscopique et son application*.
- Nougadère, A., & Merlo, M. (s. d.). *Surveillance des expositions alimentaires aux résidus de pesticides : Des indicateurs de risque pour le suivi et l'orientation des programmes nationaux de surveillance et du plan Ecophyto*.
- Otto, M. (2007). *Chemometrics : Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons.
- Pareja, L., Martínez-Bueno, M. J., Cesio, V., Heinzen, H., & Fernández-Alba, A. R. (2011). Trace analysis of pesticides in paddy field water by direct injection using liquid chromatography-quadrupole-linear ion trap-mass spectrometry. *Journal of Chromatography. A*, 1218(30), 4790-4798.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.044>

- Parrón, T., Requena, M., Hernández, A. F., & Alarcón, R. (2011). Association between environmental exposure to pesticides and neurodegenerative diseases. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 256(3), 379-385. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2011.05.006>
- Parveen, Z., Khuhro, M. I., & Rafiq, N. (2005). Monitoring of pesticide residues in vegetables (2000—2003) in Karachi, Pakistan. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 74(1), 170-176. <https://doi.org/10.1007/s00128-004-0564-0>
- Pasquini, C. (2018). Near infrared spectroscopy : A mature analytical technique with new perspectives - A review. *Analytica Chimica Acta*, 1026, 8-36. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.04.004>
- Patel, K., Fussell, R. J., Goodall, D. M., & Keely, B. J. (2006). Application of programmable temperature vaporisation injection with resistive heating-gas chromatography flame photometric detection for the determination of organophosphorus pesticides. *Journal of Separation Science*, 29(1), 90-95. <https://doi.org/10.1002/jssc.200401872>
- Pham, T. B., Hoang, T. H. C., Pham, V. H., Nguyen, V. C., Nguyen, T. V., Vu, D. C., Pham, V. H., & Bui, H. (2019). Detection of Permethrin pesticide using silver nano-dendrites SERS on optical fibre fabricated by laser-assisted photochemical method. *Scientific Reports*, 9(1), 12590. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49077-1>
- Pimentel, D., & Levitan, L. (1986). Pesticides : Amounts Applied and Amounts Reaching Pests. *BioScience*, 36(2), 86-91. <https://doi.org/10.2307/1310108>
- Planet-Terre. (s. d.). *La spectroscopie Raman, une méthode d'analyse minéralogique non destructive pouvant être mise en œuvre in situ—Planet-Terre—Stores.onlinesale2024best.com*. Consulté 10 juin 2024, à l'adresse <https://stores.onlinesale2024best.com/content?c=spectroscopie+raman+principe+pdf&id=4>
- Quintás, G., Armenta, S., Garrigues, S., & de la Guardia, M. (2008). Towards minimization of chlorinated solvents consume in Fourier transform infrared spectroscopy determination of Propamocarb in pesticide formulations. *Talanta*, 75(2), 339-343. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.11.017>
- Sabarwal, A., Kumar, K., & Singh, R. P. (2018). Hazardous effects of chemical pesticides on human health-Cancer and other associated disorders. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 63, 103-114. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.08.018>
- Sakamoto, A., & Tasumi, M. (2021). *Symmetry of the benzene ring and its normal vibrations : The "breathing" mode is not always a normal vibration of a benzene ring—Sakamoto—2021—Journal of Raman Spectroscopy—Wiley Online Library*. <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jrs.6131>
- Sánchez, M.-T., Flores-Rojas, K., Guerrero, J. E., Garrido-Varo, A., & Pérez-Marín, D. (2010). Measurement of pesticide residues in peppers by near-infrared reflectance spectroscopy. *Pest Management Science*, 66(6), 580-586. <https://doi.org/10.1002/ps.1910>

- Séjourné, L. (2012). *Mise au point d'un système d'analyse par spectroscopie raman en cellule blindée application au graphisme nucléaire* (p. 181) [Other, Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives (CEA), 18 route du Panorama, 92265 Fontenay-aux-Roses Cedex]. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01102142>
- Servant, L., Le Bourdon, G., & Buffeteau, T. (2011). Comprendre la spectroscopie infrarouge : Principes et mise en oeuvre. *Photoniques*, 53, 68-73. <https://doi.org/10.1051/photon/20115368>
- Sharma, D., Nagpal, A., Pakade, Y. B., & Katnoria, J. K. (2010). Analytical methods for estimation of organophosphorus pesticide residues in fruits and vegetables : A review. *Talanta*, 82(4), 1077-1089. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.06.043>
- Shuying, L., Yihu, W., Qianqian, S., Wenjun, G., & Guonian, Z. (2015). Residue determination of plant activator benzo-1,2,3-thiadiazole-7-carboxylic acid 2-benzoyloxyethyl ester in water, soil, and vegetable by gas chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 38(11), 1900-1906. <https://doi.org/10.1002/jssc.201500006>
- Sieke, C. (s. d.). *LAMBDA-CYHALOTHRIN (146) First draft prepared by Mr. Christian Sieke, Federal Institute for Risk Assessment, Berlin, Germany—PDF Free Download*. Consulté 13 mai 2024, à l'adresse <https://docplayer.net/21196071-Lambda-cyhalothrin-146-first-draft-prepared-by-mr-christian-sieke-federal-institute-for-risk-assessment-berlin-germany.html>
- Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J.-M., Chagnon, M., Downs, C., Furlan, L., Gibbons, D. W., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreutzweiser, D. P., Krupke, C. H., Liess, M., Long, E., Mcfield, M., Mineau, P., Mitchell, E. A. D., Morrissey, C. A., ... Wiemers, M. (2014). *Pesticides néonicotinoïdes. Tendances, usages et modes d'action des métabolites*. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3470-y>
- Socrates, G. (2001). *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies : Tables and Charts, 3rd Edition | John Wiley & Sons*. <https://www.wiley.com/en-us/Infrared+and+Raman+Characteristic+Group+Frequencies%3A+Tables+and+Charts%2C+3rd+Edition-p-9780470093078>
- SPW. (s. d.). *Utilisation de produits phytopharmaceutiques—État de l'environnement wallon*. Etat de l'environnement wallon. Consulté 13 mai 2024, à l'adresse http://etat.environnement.wallonie.be/cms/render/live/fr_BE/sites/eew/contents/indicatorsheets/AGRI_6.html
- Sun, J., Ge, X., Wu, X., Dai, C., & Yang, N. (2018). Identification of pesticide residues in lettuce leaves based on near infrared transmission spectroscopy. *Journal of Food Process Engineering*, 41(6), e12816. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12816>
- Sun, Q. (2009). The Raman OH stretching bands of liquid water. *Vibrational Spectroscopy*, 51(2), 213-217. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2009.05.002>
- T. Jolliffe, I., & Cadima, J. (2016). *Principal component analysis : A review and recent developments | Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical,*

Physical and Engineering Sciences.

<https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsta.2015.0202>

- Thomas, S., Biswas, N., Venkateswaran, S., Kapoor, S., D’Cunha, R., & Mukherjee, T. (2005). Raman, infrared, SERS and DFT calculations of a triazole derivative (akacid). *Chemical Physics Letters*, *402*(4), 361-366. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2004.12.064>
- Thorat, T., Patle, B. K., Wakchaure, M., & Parihar, L. (2023). Advancements in techniques used for identification of pesticide residue on crops. *Journal of Natural Pesticide Research*, *4*, 100031. <https://doi.org/10.1016/j.napere.2023.100031>
- Truche, C. (2010). *Caractérisation et quantification des minéraux argileux dans les sols expansifs par spectroscopie infrarouge aux échelles du laboratoire et du terrain*. [Phdthesis, Université Paul Sabatier - Toulouse III]. <https://theses.hal.science/tel-00594021>
- Tudi, M., Daniel Ruan, H., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., Chu, C., & Phung, D. T. (2021). Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/ijerph18031112>
- UNEP, FAO, & Weltgesundheitsorganisation (Éds.). (1989). *Guide pour le calcul prévisionnel des quantités de résidus de pesticides apportées par l'alimentation*. Organisation Mondiale de la Santé.
- van Der Werf, H. M. G. (1997). Evaluer l’impact des pesticides sur l’environnement. *Le Courrier de l’environnement de l’INRA*, *31*(31), 5-22.
- Wang, L., Liang, Y., & Jiang, X. (2008). Analysis of eight organophosphorus pesticide residues in fresh vegetables retailed in agricultural product markets of Nanjing, China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *81*(4), 377-382. <https://doi.org/10.1007/s00128-008-9498-2>
- Weng, S., Zhu, W., Dong, R., Zheng, L., & Wang, F. (2019). Rapid Detection of Pesticide Residues in Paddy Water Using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Sensors*, *19*(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/s19030506>
- Wold, S. (1995). Chemometrics; what do we mean with it, and what do we want from it? *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, *30*(1), 109-115. [https://doi.org/10.1016/0169-7439\(95\)00042-9](https://doi.org/10.1016/0169-7439(95)00042-9)
- Xiao, G., Dong, D., Liao, T., Li, Y., Zheng, L., Zhang, D., & Zhao, C. (2015). Detection of Pesticide (Chlorpyrifos) Residues on Fruit Peels Through Spectra of Volatiles by FTIR. *Food Analytical Methods*, *8*(5), 1341-1346. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-0015-4>
- Xu, J., Dong, F., Liu, X., Li, J., Li, Y., Shan, W., & Zheng, Y. (2012). Determination of sulfoxafloresidues in vegetables, fruits and soil using ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Analytical Methods*, *4*(12), 4019-4024. <https://doi.org/10.1039/C2AY25782C>
- Yang, D., Mircescu, N. E., Zhou, H., Leopold, N., Chiş, V., Oltean, M., Ying, Y., & Haisch, C. (2013). DFT study and quantitative detection by surface-enhanced Raman scattering

- (SERS) of ethyl carbamate. *Journal of Raman Spectroscopy*, 44(11), 1491-1496.
<https://doi.org/10.1002/jrs.4375>
- Younes, B. (s. d.). *Principes Generaux de la spectroscopie—Um5a -FSR / Licence*. Consulté 25 avril 2024, à l'adresse https://www.academia.edu/16244260/Um5a_FSR_Licence
- Yu, F., Chen, L., Pan, L., Hu, B., & Liu, H. (2015). Determination of multi-pesticide residue in tobacco using multi-walled carbon nanotubes as a reversed-dispersive solid-phase extraction sorbent. *Journal of Separation Science*, 38(11), 1894-1899.
<https://doi.org/10.1002/jssc.201500148>
- Zeng, J., Ping, W., Sanaeifar, A., Xu, X., Luo, W., Sha, J., Huang, Z., Huang, Y., Liu, X., Zhan, B., Zhang, H., & Li, X. (2021). Quantitative visualization of photosynthetic pigments in tea leaves based on Raman spectroscopy and calibration model transfer. *Plant Methods*, 17(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s13007-020-00704-3>
- Zhang, W., Jiang, F., & Ou, J. (2011). *Global pesticide consumption and pollution : With China as a focus*.

Détection de pesticides par spectroscopie Raman et mise en place d'une méthode de prélèvement de pesticides pulvérisés sur des feuilles d'épinard

L'utilisation des pesticides entraîne de nombreux problèmes environnementaux, tels que la dégradation des écosystèmes et la baisse de la fertilité des terres agricoles. De plus, des résidus de pesticides peuvent se retrouver sur les denrées alimentaires sur le marché, entraînant des effets néfastes à long terme sur la santé, tels que des cancers, des troubles du développement du système nerveux et reproductif, ainsi que des maladies comme Alzheimer et Parkinson. La quantité de résidus de pesticides sur les aliments est contrôlée par des méthodes de détection chimique précises, mais celles-ci présentent des inconvénients, notamment des délais d'analyse prolongés, une préparation complexe des échantillons et des coûts élevés.

De nouvelles technologies de détection sont en développement pour offrir des alternatives ou être complémentaires aux méthodes de détection conventionnelle. Parmi celles-ci, la spectroscopie vibrationnelle apparaît comme une méthode prometteuse pour l'analyse des pesticides. Cette technique englobe un ensemble de méthodes exploitant les interactions entre la lumière et la matière pour analyser et identifier la structure des molécules d'intérêt.

L'objectif de ce mémoire est d'évaluer la capacité de la spectroscopie Raman, une technologie vibrationnelle qui se repose sur le phénomène de diffusion Raman, à identifier différents pesticides, à détecter des pesticides à faible concentration et à détecter des pesticides prélevés sur des feuilles d'épinard pulvérisés en laboratoire.

Les deux spectromètres Raman, à savoir le spectromètre Raman portable (Rigaku Progeny) et le microscope Raman Senterra II, ont permis l'identification des profils spectraux des cinq pesticides étudiés. Le microscope Raman Senterra II s'est avéré être l'appareil le plus efficace pour détecter des pesticides issus de solutions faiblement concentrées. Il s'est également montré performant pour détecter des particules de pesticides prélevées sur des feuilles d'épinard. Ces résultats soutiennent l'utilisation de la spectroscopie Raman pour les analyses futures d'échantillons de pesticides.

Minh Phi VO