



HAL
open science

Photochimie et devenir des pesticides utilisés dans les serres agricoles au Liban : effets de mélange, de photosensibilisation et de support

Samar Hamdache

► To cite this version:

Samar Hamdache. Photochimie et devenir des pesticides utilisés dans les serres agricoles au Liban : effets de mélange, de photosensibilisation et de support. Chimie analytique. Université Clermont Auvergne [2017-2020]; Université Libanaise, 2018. Français. NNT : 2018CLFAC071 . tel-02130452

HAL Id: tel-02130452

<https://theses.hal.science/tel-02130452>

Submitted on 15 May 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE CLERMONT AUVERGNE

**ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES
FONDAMENTALES**

THESE EN COTUTELLE

présentée pour obtenir le grade de

**DOCTEUR D'UNIVERSITE CLERMONT AUVERGNE (FRANCE) ET DE
L'UNIVERSITE LIBANAISE, ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES ET
DE LA TECHNOLOGIE (LIBAN)**

Spécialité : Chimie théorique, physique, analytique

Par « **HAMDACHE Samar** »

Master en Instrumentation et Stratégie d'Analyses

**Photochimie et devenir des pesticides utilisés dans les serres agricoles
au Liban : Effets de mélange, de photosensibilisation et de support**

Soutenue publiquement le « *13 décembre 2018* », devant la commission d'examen

| | |
|------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Stéphane Bouchonnet (Ingénieur de recherche CNRS, Ecole polytechnique) | Rapporteur |
| Emmanuelle Vulliet (Chargée de recherche CNRS, ISA, Université Lyon 1) | Rapporteur |
| Jean-Marc Chovelon (Professeur, Université Lyon 1) | Examineur |
| Claire Richard (Directrice de recherche CNRS, ICCF, UCA) | Directrice de thèse |
| Farouk Jaber (Professeur, CLEA, Université Libanaise) | Co-directeur de thèse |
| Mohamad Sleiman (Maitre de Conférences, ICCF, Sigma Clermont) | Co-directeur de thèse |

Remerciements

Et voilà! les remerciements, la partie que j'étais impatiente à écrire dès la première minute. Mais maintenant, après une longue période de rédaction, je me sens incapable de structurer même une phrase de plus en français ! Oui, le français, qui est imparfait pour certains, plus que parfait pour d'autres mais certainement qui ne sera jamais un passé simple pour moi !

Pourtant, il me sera très difficile de remercier tout le monde car c'est grâce à l'aide de nombreuses personnes que j'ai pu mener cette thèse à son terme.

Je voudrai tout d'abord remercier mon Dieu **ALLAH** pour toute la force et la volonté qu'il m'a donné pour finir ce parcours.

J'aimerai en premier lieu remercier mon directeur de thèse, Dr. Claire Richard, pour toute son aide, sa disponibilité et ses qualités personnelles. Je suis ravie d'avoir travaillé en sa compagnie car outre son appui scientifique, elle a toujours été là pour me soutenir et me conseiller au cours de l'élaboration de cette thèse. Soyez assurée de mon attachement et de ma profonde gratitude.

Les mots ne seront jamais suffisants pour remercier mon encadrant Dr. Mohamad Sleiman pour tous qu'il a fait durant mes 3 années de thèse. Ses encouragements, son soutien, ses bonnes idées avaient énormément contribué à l'élaboration de cette thèse. Dr. Sleiman m'a donné l'espoir durant des moments très difficiles, il a toujours été une source d'énergie positive. J'ai vraiment eu la chance de travailler avec une telle personne, assez humble, gentil, qualifié et expérimenté.

Ma reconnaissance particulière est adressée au Pr. Farouk Jaber mon codirecteur de thèse au Liban. Il a été le premier à croire en moi et me faire confiance. C'est grâce à lui que j'ai mis les premiers pas dans le domaine de recherche. Je tiens à le remercier pour son soutien et ses encouragements

Un remerciement sincère est adressé à l'union des municipalités de Menyeh d'avoir financé cette thèse.

Je voudrai remercier aussi les membres de jury. Monsieur le Professeur Jean–Marc Chovelon, d’avoir présidé mon jury de thèse. Madame le Docteur. Emanuelle Vulliet et Monsieur le Docteur. Stéphane Bouchonnet qui ont accepté d’être rapporteurs. Je vous en suis reconnaissante.

J’adresse également mes remerciements à tous les membres de l’équipe photochimie : Marcello Brigante, Gilles Mailhot, Guillaume Voyard, Claire Poncet, David Bourgoigne, Mohamed Sarakha. Je suis spécifiquement reconnaissante à Dr. Agnès Rivaton qui m’a aidé dans des manipes concernant une partie de ma thèse.

Merci à mes chers collègues et amis que j’ai eu l’occasion de rencontrer à Clermont Ferrand : Amena, Soumaya, Davide, Rawan, Lei, Sali, Sara, Nicolas, Suzanna, Dana, Yufang, Dong et Yara. Un remerciement spécial s’adresse à Hoda Tabbal, une amie qui ne sera jamais oubliée. Merci pour tout Hoda.

Mes sincères remerciements à la famille Mohamed Habib, Amina, Mohamedou et leur petite Khadija. Merci pour tous les moments inoubliables qu’on a passé ensemble. Merci de m’avoir donné le sentiment d’être un membre de votre famille. Je vous aime.

Mes vifs remerciements sont adressés à l’équipe du laboratoire d’analyse des composés organiques (LACO) au Liban : Inas Abdelmalak, Zeina Mehyo et Noura Chlak.

Merci à mes meilleures amies, Dr Maya soufi, Dr Dima Shalabi et Janine Joundi. Je vous aime fort. Merci pour vos soutiens, vos encouragements et les bons moments que nous avons vécus ensemble durant plus que 10 ans. Merci Maya pour tous les conseils et de m’avoir soulagé durant mes plus durs moments. Merci Janine pour nos longues conversations sur le téléphone et ton sens d’humeur.

Enfin, je formulerai des remerciements tout particuliers à mes êtres chers qui comptent le plus au monde pour moi, et sans qui je n’aurais jamais parcouru tout ce chemin :

Mon père Mohamad, mon héros et mon premier et dernier amour. Je remercie Allah chaque jour pour toi papa. Merci pour ta tendresse, tes sacrifices, ton amour infini et ta confiance. Je suis fière que tu es mon père et je souhaite qu’un jour tu seras assez fière de moi. Merci de m’avoir fait la personne que je suis maintenant. La récompense a commencé papa. JE T’AIME.

Ma mère Jinane, même si tu n'as pas pu être debout physiquement à mes côtés, tous a toujours était avec tes encouragements, tes mots tendres et tes yeux qui brillaient de joie avec chaque succès. Je t'aime maman.

L'amour de ma vie, mon marie **Bahaa Eddine**, ton amour et ta présence dans ma vie m'avaient beaucoup donné. Sans toi tout me semblait impossible. Les mots ne seront jamais suffisants pour te remercier, merci d'être simplement **toi** mon amour.

Ma sœur Nada, mon amie éternel, malgré nos disputes continus je t'aime beaucoup et je te remercie pour ton grand cœur et tes magnifiques qualités personnelles. Je te souhaite tout le tout le succès du monde.

Mon frère Medhat, je t'aime Monsieur le lieutenant! et merci pour m'avoir aidée lorsque j'avais besoin.

Ma belle-mère, **Hala Khodr** qui a été toujours présente pour me soutenir, me donner des conseils et m'encourager. Tes mots ne seront jamais oubliés. Dans mes yeux, tu es une personne unique : la plus tendre des mères et une femme bien appréciée par tous ceux qui la connaissent. Merci pour toutes tes qualités personnelles.

Merci de tout mon cœur

Cette thèse est dédiée à l'âme de ma grande mère Ifdal.

Table des Matières

Y

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Introduction générale..... | 12 |
| CHAPITRE I..... | 15 |
| Etude bibliographique..... | 15 |
| I. Les pesticides..... | 17 |
| I.1. Généralités..... | 17 |
| I.1.1. Définitions..... | 17 |
| I.1.2. Classification..... | 19 |
| I.1.3. Usage des pesticides en France..... | 21 |
| I.1.4. Usage des pesticides au Moyen-Orient..... | 23 |
| a) Situation agricole et utilisation des pesticides au Liban..... | 24 |
| b) Cas des serres agricoles au Liban..... | 27 |
| I.2. Devenir des pesticides dans l'environnement..... | 30 |
| I.2.1. Présence des pesticides dans l'environnement..... | 30 |
| I.2.2. Processus de transfert..... | 31 |
| I.2.3. Processus de dégradation..... | 32 |
| I.2.4. Effets des additifs de formulation sur le comportement des pesticides dans l'environnement..... | 33 |
| a) Sur les plantes..... | 33 |
| b) Dans les sols..... | 33 |
| I.2.5. Devenir des pesticides dans les serres agricoles..... | 34 |
| II. La Photochimie..... | 35 |
| II.1. Introduction..... | 35 |
| II.2. Processus Photophysiques..... | 37 |
| II.3. Processus photochimiques..... | 41 |
| II.3.1. Principes..... | 41 |
| II.3.2. Photodégradation des pesticides..... | 42 |
| a) Photodégradation directe..... | 43 |
| b) Photodégradation indirecte..... | 46 |
| c) Procédés de traitement des pesticides par du rayonnement UV..... | 50 |
| III. Principaux pesticides étudiés..... | 52 |
| III.1. Imidaclopride..... | 52 |
| III.1.1. Définition et propriétés physico-chimiques..... | 52 |
| III.1.2. Photodégradation..... | 53 |
| III.2. Thiophanate Méthyle..... | 57 |
| III.3. Bifénazate..... | 59 |
| CHAPITRE II..... | 63 |
| Matériels et méthodes..... | 63 |
| I. Produits chimiques utilisés..... | 65 |
| II. Etudes en solution..... | 65 |
| II.1. Préparation des solutions..... | 65 |
| II.2. Dispositifs d'irradiations..... | 66 |
| II.2.1. Irradiations avec de la lumière monochromatique..... | 66 |
| a) A l'aide d'un monochromateur..... | 66 |
| b) En enceinte monochromatique 254 nm..... | 67 |
| II.2.2. Irradiations avec de la lumière polychromatique..... | 67 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| c) Irradiations en enceinte polychromatique..... | 67 |
| II.2.3. Photolyse Laser Flash..... | 68 |
| II.2.4. Actinométrie..... | 69 |
| II.2.5. Détection et quantification de H ₂ O ₂ | 69 |
| III. Dépôt et irradiations des pesticides sur solide..... | 70 |
| III.1. Dépôt des pesticides sur support solide..... | 70 |
| III.1.1. A la surface des poivrons verts..... | 70 |
| a) Préparation des morceaux de poivrons à irradier..... | 70 |
| b) Application des pesticides..... | 70 |
| III.1.2. A la surface des films de cire..... | 71 |
| a) Réalisation des films de cire..... | 71 |
| b) Application des pesticides..... | 71 |
| III.1.3. A la surface des cristallisoirs en verre..... | 72 |
| III.1.4. A la surface des films en plastique..... | 72 |
| a) Préparation des films en plastique..... | 72 |
| b) Application des pesticides..... | 73 |
| III.2. Irradiations des pesticides sur solide..... | 73 |
| III.2.1. Simulateur de la lumière solaire..... | 73 |
| III.2.2. Irradiation avec une lumière monochromatique à 254 nm..... | 74 |
| III.3. Rinçage des échantillons solides..... | 75 |
| III.3.1. Rinçage des films de cire et des cristallisoirs en verre..... | 75 |
| III.3.2. Rinçage des films de plastique et des poivrons verts..... | 75 |
| III.4. Volatilisation, diffusion et dégradation thermique..... | 76 |
| IV. Méthodes analytiques..... | 76 |
| IV.1. Spectroscopie UV-visible..... | 76 |
| IV.1.1. En solution..... | 76 |
| IV.1.2. En solide..... | 77 |
| IV.2. Spectroscopie de fluorescence..... | 77 |
| IV.3. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)..... | 77 |
| IV.4. Spectrométrie de masse..... | 78 |
| IV.5. GC-MS..... | 78 |
| IV.6. Spectroscopie Infrarouge..... | 79 |
| IV.6.1. Spectroscopie infrarouge en mode transmission..... | 79 |
| IV.6.2. Spectroscopie infrarouge en mode réflexion totale atténuée, ATR..... | 79 |
| V. Calcul des concentrations de pesticides dans les extraits des échantillons naturels..... | 79 |
| CHAPITRE III..... | 81 |
| Suivi des résidus de pesticides dans les serres agricoles à Menyeh..... | 81 |
| I. Introduction..... | 83 |
| II. Traitements phytosanitaires effectués par l'agriculteur..... | 85 |
| II.1. Méthode d'application des pesticides..... | 85 |
| II.2. Pesticides pulvérisés..... | 88 |
| III. Prélèvement des échantillons..... | 92 |
| III.1. Prélèvements des légumes..... | 93 |
| III.1.1. Choix des échantillons..... | 93 |
| III.1.2. Transport et stockage des légumes..... | 93 |
| III.2. Prélèvement de l'air..... | 94 |
| IV- Extraction et analyse des résidus de pesticides..... | 95 |
| IV.1. Extraction des légumes par la méthode QUECHERS..... | 95 |
| IV.2. Rinçage de la peau des légumes..... | 97 |
| IV.3. Analyse des molécules collectées..... | 97 |
| V. Expériences de photodégradation en laboratoire..... | 98 |
| V.1. Etude de la photodégradation de l'imidaclopride..... | 98 |
| V.1.1. En solution..... | 98 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| V.1.2. Sur les poivrons..... | 103 |
| a) Conditions d'analyses..... | 103 |
| b) Résultats..... | 103 |
| VI. Résidus de pesticides et identification des produits de photodégradation..... | 104 |
| VI.1. Analyse des extraits obtenus par la méthode QUECHERS..... | 104 |
| VI.1.1. Quantification et suivi des résidus de pesticides avec le temps..... | 105 |
| VI.1.2. Recherche des photoproduits..... | 108 |
| a) Dans les poivrons verts..... | 108 |
| b) Dans les concombres..... | 108 |
| VI.2. Analyse des échantillons obtenus par rinçage de la peau des légumes..... | 110 |
| VI.2.1. Identification des résidus de pesticides..... | 110 |
| VI.2.2. Identification des photoproduits..... | 110 |
| a) Dans les tomates et les concombres..... | 110 |
| b) Dans les poivrons..... | 114 |
| VI.3. Analyse des échantillons d'air..... | 116 |
| VI.3.1. Identification et suivi des composés volatils..... | 117 |
| VII. Comportement du plastique des serres..... | 124 |
| VII.1 Généralités sur les plastiques recouvrant les serres..... | 124 |
| VII.2. Analyse du film plastique des serres agricoles du Liban..... | 125 |
| VII.2.1. Constitution du polymère et caractéristiques spectrales..... | 125 |
| VII.3. Evolution du film des serres agricoles après quatre années d'utilisation..... | 129 |
| VII.3.1. Analyse visuelle des échantillons..... | 129 |
| VII.3.2. Analyses spectroscopiques..... | 129 |
| a) Analyse par spectroscopie UV-visible..... | 129 |
| b) Analyse par spectroscopie IR/ATR..... | 131 |
| VII.3. Photodégradation des pesticides sur les films du plastique des serres..... | 134 |
| VIII. Conclusion..... | 137 |
| CHAPITRE IV..... | 139 |
| Photodégradation du fongicide thiophanate méthyl dans l'eau: formation d'un photoproduit sensibilisant..... | 139 |
| I. Objectifs du travail..... | 141 |
| II. Méthodologie..... | 141 |
| III. Principaux résultats..... | 142 |
| III.1. Cinétique de photodégradation de TM dans l'eau..... | 142 |
| III.2. Formation des photoproduits..... | 142 |
| III.3. Preuves de l'effet photosensibilisateur de I..... | 143 |
| III.4. Mécanismes de formation de I et de II..... | 143 |
| IV. Conclusion..... | 143 |
| CHAPITRE V..... | 185 |
| Réactivité du bifénazate à l'obscurité et sous irradiation dans l'eau et sur les légumes | 185 |
| I. Objectifs du travail..... | 187 |
| II. Méthodologie..... | 187 |
| III. Principaux résultats..... | 188 |
| III.1. Effet du solvant et de l'oxygène sur la dégradation de BIF à l'obscurité..... | 188 |
| III.2. Photodégradation de BIF..... | 189 |
| III.2.1. En solution..... | 189 |
| III.2.2. Sur solide..... | 189 |
| III.3. Identification des photoproduits..... | 190 |
| III.3.1. Dans l'eau..... | 190 |
| III.3.2. Dans l'ACN..... | 190 |
| III.3.3. Sur solide..... | 190 |
| IV. Conclusion..... | 190 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| CHAPITRE VI..... | 219 |
| Traitement des pesticides par irradiation à 254 nm..... | 219 |
| I. Introduction..... | 221 |
| II- Irradiations en solution..... | 221 |
| II.1. Etude comparative..... | 221 |
| II.2. Cas particulier de TM..... | 223 |
| III- Irradiations sur solide..... | 225 |
| III.1. Cas de TM..... | 226 |
| III.1.1. Effet du support..... | 226 |
| a) Sur les cinétiques..... | 226 |
| b) Sur les photoproduits..... | 227 |
| III.1.2. Effet du solvant et des additifs de formulation..... | 229 |
| a) Sur les cinétiques..... | 229 |
| b) Sur les photoproduits..... | 229 |
| III.2. Application à la photodégradation sur poivron vert des pesticides pulvérisés au Liban..... | 230 |
| IV. Conclusion..... | 234 |
| Conclusion générale..... | 235 |
| Annexe..... | 255 |
| Formation et réactivité du photoproduit I de TM..... | 255 |

Liste des Figures

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1 : Structure chimique du diclorodiphényltrichloroéthane (DDT)..... | 21 |
| Figure 2 : Evolution des quantités de phytosanitaires vendus en France entre 2001 et 2015 ^{26,24} | 24 |
| Figure 3 : Quantités de pesticides utilisés à l'hectare dans différents pays (2000-2002) ³² | 27 |
| Figure 4 : Situation géographique du Liban..... | 27 |
| Figure 5 : Utilisation des terres agricoles au Liban (en % de la superficie agricole totale)..... | 28 |
| Figure 6 : Répartition des principales cultures sous serres au Liban ramenée à la superficie totale occupée par les serres agricoles..... | 30 |
| Figure 7 : Quelques serres agricoles à Menyeh..... | 31 |
| Figure 8 : Tomates cultivées à l'intérieur d'une serre agricoles à Menyeh..... | 31 |
| Figure 9 : Dispersion des pesticides dans l'environnement ²⁰ | 33 |
| Figure 10 : Diagramme de Jablonski représentant les processus photophysiques typiques dans les molécules. Les constantes de temps données sont des ordres de grandeur typiques. Des déviations par rapport à ces valeurs typiques d'un ou deux ordres de grandeur peuvent être trouvées dans des systèmes spécifiques ¹⁰⁹ | 40 |
| Figure 11 : Techniques photochimiques de traitement des pesticides ¹⁴² | 52 |
| Figure 12 : Structure chimique de l'imidaclopride..... | 54 |
| Figure 13 : Structure chimique de l'imidaclopride urée (1), l'imidaclopride oléfine (2) et l'acide 6-chloronicotinique (3)..... | 56 |
| Figure 14 : Structures chimiques des produits de phototransformation de l'imidaclopride décrits dans la littérature après irradiation dans l'eau..... | 58 |
| Figure 15 : Structure chimique de TM..... | 59 |
| Figure 16 : Structure chimique de MBC..... | 60 |
| Figure 17 : Structures chimiques des photoproduits de TM identifiés par HPLC/MS/MS dans l'eau ¹⁸³ | 61 |
| Figure 18 : Structure chimique du BIF..... | 61 |
| Figure 19 : Voies de photodégradation de BIF dans l'eau avec une lumière solaire simulée ¹⁹⁰ | 63 |
| Figure 20 : Schéma de l'enceinte d'irradiation à 254 nm..... | 70 |
| Figure 21 : Distribution spectrale de la lumière reçue à l'intérieur du réacteur Pyrex. A: tubes polychromatiques 280-380 nm; B: tubes polychromatiques 300-450 nm..... | 71 |
| Figure 22 : Six morceaux de poivron sur lesquels les pesticides sont déposés et irradiés..... | 72 |
| Figure 23 : Un morceau de poivron vert sur lequel sont déposées 7 gouttelettes de 5 µL chacune d'une solution de pesticide..... | 73 |
| Figure 24 : Film de paraffine de 1mm d'épaisseur après dépôt de 100 µl d'une solution de pesticide | 74 |
| Figure 25 : Dépôt d'une solution de pesticide dans un cristalliseur en verre..... | 74 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figure 26 : Films de plastique de 2 cm ² | 75 |
| Figure 27 : Photographie du suntest utilisé et distribution spectrale de sa lampe..... | 76 |
| Figure 28 : Dispositif d'irradiation des échantillons solides à 254 nm..... | 77 |
| Figure 29 : Rinçage des poivrons verts avec 2 mL d'ACN..... | 78 |
| Figure 30 : Montage utilisé pour la pulvérisation des pesticides à Menyeh..... | 88 |
| Figure 31 : Buse utilisée pour la pulvérisation..... | 88 |
| Figure 32 : L'agriculteur mélangeant la solution à pulvériser dans la cuve de 240 L..... | 89 |
| Figure 33 : Application des pesticides dans les serres agricoles à Menyeh par pulvérisation : A) des feuilles, B) feuilles + fruits..... | 90 |
| Figure 34 : Prélèvements de l'air à Menyeh A) à côté du nez et de la bouche de l'agriculteur lors de la pulvérisation, B) Dans la serre agricoles après pulvérisation..... | 96 |
| Figure 35 : Tube utilisé pour le prélèvement d'air dans les serres agricoles..... | 97 |
| Figure 36 : Spectres d'absorption UV des 5 pesticides : A) l'iprodione dans l'ACN, B) l'imidaclopride dans l'eau, C) BIF dans ACN, D) Acétamipride dans ACN et E) TM dans l'eau..... | 101 |
| Figure 37 : Cinétique de photodégradation de l'imidaclopride ($3,9 \times 10^{-4}$ mol.L ⁻¹) dans l'ACN..... | 102 |
| Figure 38 : Chromatogrammes A) HPLC DAD et B) HPLC-MS de l'imidaclopride irradié 8 heures dans l'ACN..... | 104 |
| Figure 39 : Spectre de fluorescence de P1 après 1 heure d'irradiation de l'imidaclopride..... | 104 |
| Figure 40 : Cinétique de formation de P1 mesurée par fluorescence..... | 105 |
| Figure 41 : Variation des quantités de résidus de l'acétamipride (bleu), l'imidaclopride (rouge), le TM (vert) et le BIF (violet), au cours des 6 jours suivants la pulvérisation : A) dans les poivrons verts et B) dans les concombres..... | 107 |
| Figure 42 : Chromatogrammes HPLC-MS des échantillons à J+3 : A, des poivrons ; B, des concombres et C, des tomates. Les numéros 1, 2, 3 et 4 désignent respectivement : l'imidaclopride, l'acétamipride, le TM et le BIF..... | 113 |
| Figure 43 : Chromatogrammes HPLC-MS de l'échantillon à J+ 3 résultant du rinçage des peaux des tomates (C) et pics caractéristiques pour chaque photoproduits trouvés (P ₁ , P ₂ , P ₃ et P ₄ et P ₅ | 116 |
| Figure 44 : Ouverture permanente des serres agricoles à Menyeh..... | 119 |
| Figure 45 : Variation des quantités de terpènes, d'alcane et d'aldéhydes dans les 6 jours suivants la pulvérisation de pesticides. Les inserts sont des zooms..... | 123 |
| Figure 46 : A) Spectres IR en transmittance du film utilisé pour la couverture des serres (Pt0) par comparaison avec celui de deux polymères de référence : un film de PE (100 µm) et un film d'EVA (100 µm). B) Spectres IR/ATR de Pt0 : face supérieure et face inférieure ainsi qu'après élimination d'environ 10 µm d'épaisseur. L'insert est un zoom..... | 129 |
| Figure 47 : Spectre d'absorption UV-visible du plastique des serres (Pt0) (bleu) et spectre d'absorption de BIF (vert)..... | 130 |
| Figure 48 : Film de plastique utilisé pendant quatre ans en tant que couverture d'une serre agricole au Liban Nord : A) Zones sélectionnées pour les analyses et B) différence de couleur des films analysés appartenant à chacune des zones précitées..... | 131 |
| Figure 49 : Spectre d'absorption de trois échantillons de couleur différente du plastique des serres après quatre années d'utilisation (Pt4 a, Pt4 b et Pt4 c)..... | 132 |
| Figure 50 : Spectre IR/ATR des deux faces de l'échantillon Pt4 b et de la face 1 après élimination de 10 µm d'épaisseur..... | 134 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figure 51: A) Spectres IR en transmittance d'un PE à t0 et un PE vieilli exposé à la lumière solaire pour 14 mois et B) spectres ATR d'un film de plastique de serre avant et après 4 ans d'utilisation. | 135 |
| Figure 52 : Variation de C/C ₀ au cours de temps par irradiation dans l'eau avec un rayonnement monochromatique à 254 nm des pesticides : TM (◆), acétamipride(■) et imidaclopride (▲)..... | 224 |
| Figure 53 : Structure chimique et spectre d'absorption UV-vis de I..... | 226 |
| Figure 54 : Evolution du spectre d'absorption UV-vis de la solution de TM..... | 226 |
| Figure 55: Spectres UV-vis d'une solution aqueuse de TM (3,5 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹) après 10 minutes d'irradiation à 254 nm (trait bleu) et d'une solution aqueuse de TM (5x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹) pendant 60 minutes avec une lumière polychromatique de 300 à 450 nm (trait jaune)..... | 227 |
| Figure 56 : Cinétiques de photodégradation de TM (3,3 x 10 ⁻⁴ M) sur cire(△), verre (■) et poivrons verts (○) par irradiation à 254 nm..... | 229 |
| Figure 57 : Cinétiques de photodégradation sur verre à 254 nm de TM 3,3 x 10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹ , pur dans l'ACN (■), formulé dans l'ACN (▲), pur dans l'eau (▽) et formulé dans l'eau (□)..... | 232 |
| Figure 58 : Cinétiques de phototransformation à 254 nm de TM (◆), de l'imidaclopride (▲), du BIF(●) et de l'acétamipride (■) à 2 x 10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹ à la surface des poivrons verts..... | 233 |

Liste des Tableaux

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tableau 1 : Exemples de surfactants..... | 20 |
| Tableau 2 : Quelques exemples de pesticides utilisés..... | 23 |
| Tableau 3 : Quelques exemples de groupes chromophores ¹⁰⁸ | 39 |
| Tableau 4 : Quelques structures chimiques capables d'absorber la lumière solaire ¹²³ | 46 |
| Tableau 5 : Exemples de molécules photosensibilisatrices ⁸⁴ | 48 |
| Tableau 6 : Propriétés physico-chimique de l'imidaclopride..... | 55 |
| Tableau 7 : Données bibliographiques sur la photodégradation de l'imidaclopride..... | 57 |
| Tableau 8 : Propriétés physico-chimiques de TM..... | 59 |
| Tableau 9 : Propriétés physico-chimiques du BIF ¹⁸⁹ | 62 |
| Tableau 10 : Intensités des flux photoniques lors des irradiations sur les bancs..... | 69 |
| Tableau 11 : Conditions HPLC pour les analyses effectuées..... | 79 |
| Tableau 12 : Pourcentage d'ACN en fonction du temps pour le gradient 1..... | 80 |
| Tableau 13 : Nombre approximatif de traitements appliqués sur les 3 types de légumes entre la mise en place des semences et la récolte..... | 89 |
| Tableau 14 : Pesticides pulvérisés et leurs propriétés..... | 91 |
| Tableau 15 : Comparaison entre les quantités de pesticides réellement pulvérisées à Menyeh et celles recommandées..... | 93 |
| Tableau 16 : Photoproduits issus de la photodégradation de l'imidaclopride dans l'ACN..... | 103 |
| Tableau 17 : Temps de rétention et m/z mesurés pour l'acétamipride, l'imidaclopride, TM et BIF de la solution étalon par analyse HPLC-MS..... | 106 |
| Tableau 18 : Comparaison entre les quantités de résidus de pesticides retrouvés dans les extraits de poivrons et de concombres et les MRLs permis..... | 108 |
| Tableau 19 : Photoproduits trouvés dans les extraits de concombres analysés par HPLC-MS..... | 111 |
| Tableau 20 : Photoproduits retrouvés après rinçage de la peau des tomates et des concombres par le méthanol..... | 114 |
| Tableau 21 : Photoproduits trouvés après rinçage de la peau des poivrons verts par le méthanol à J+1 et J+3..... | 117 |
| Tableau 22 : Principales molécules chimiques principales identifiées dans les volumes d'air analysés..... | 121 |
| Tableau 23 : Pourcentage de photodégradation de l'imidaclopride, de BIF et de TM sur les films neufs de plastique de serre après 22 H et 48 H..... | 136 |
| Tableau 24 : Photoproduits de l'imidaclopride, de TM et de BIF identifiés par LC-MS après 22 H d'irradiation sur un film neuf LDPE/EVA/LDPE..... | 137 |
| Tableau 25 : Photoproduits de TM formés sur verre et sur les poivrons verts après irradiation à 254 nm..... | 230 |
| Tableau 26 : Photoproduits identifiés après irradiation de l'imidaclopride, du BIF et du TM à la surface des poivrons verts à 254 nm..... | 234 |

Introduction générale

L'utilisation de grandes quantités de produits phytosanitaires pour protéger les cultures contre les bioagresseurs est devenue indispensable pour répondre aux besoins alimentaires d'une population croissante. Ces pesticides n'atteignent que partiellement leurs cibles et constituent une source importante de pollution chimique.

Pour s'affranchir des conditions climatiques, une grande partie des cultures sont effectuées dans des serres agricoles. Ces serres sont des structures fermées ayant les murs et les toits transparents ce qui amplifie certaines caractéristiques du climat extérieur. L'environnement protégé des serres stimule la croissance et la reproduction des ravageurs ce qui oblige les agriculteurs à traiter les plantes par les pesticides plus fréquemment que pour les cultures en plein champs. La pollution des sols, des cultures et de l'air par les phytosanitaires de ces espaces semi-clos sera donc plus importante que pour celle des atmosphères ouvertes. Les serres agricoles sont donc un endroit potentiellement dangereux pour les travailleurs agricoles.

Un grand nombre de pesticides sont capables d'absorber la lumière solaire. Par conséquent, la photochimie est une voie majeure de dégradation de ces molécules à la surface des plantes, des sols ou de l'air. De plus, de nombreuses études démontrent que l'exposition aux pesticides et/ou à leurs produits de dégradation pose un risque permanent pour la santé, en particulier dans le milieu agricole.

Cette problématique des pesticides est particulièrement importante au Liban pour trois raisons. C'est le premier consommateur de pesticide au Moyen Orient. Les serres agricoles y sont très répandues. Il y a un manque de contrôle sur les pratiques agricoles. Ce travail de thèse qui a été financé par l'Union des Municipalités du Menyeh (Liban Nord) a porté sur la présence et le devenir des pesticides dans les serres agricoles de cette région, en particulier leur réactivité photochimique. Nos principaux objectifs ont été :

- 1- D'étudier le comportement photochimique des pesticides pulvérisés dans les serres agricoles à Menyeh, à l'échelle du laboratoire mais dans des conditions les plus représentatives possibles des conditions naturelles, par exemple par irradiation sur des poivrons verts et des supports simulant la cuticule végétale et en tenant compte de l'effet de mélange.

- 2- De comprendre la réponse chimique du végétal au stress chimique et mieux évaluer les risques auxquels sont exposés les agriculteurs dans les serres agricoles par analyse de la phase gazeuse.
- 3- De suivre les quantités de résidus de pesticides et d'identifier les photoproduits éventuels dans des échantillons de tomates, concombres et poivrons verts collectés des serres agricoles.
- 4- D'évaluer l'évolution au cours du temps des propriétés spectrales des films de plastique couvrant les serres et leur l'influence sur la réactivité photochimique des pesticides.
- 5- De tester l'efficacité de la lumière UVC à dégrader certains pesticides.

Afin d'atteindre ces objectifs, le travail s'est divisé en 2 grandes parties. La première partie consiste en l'échantillonnage de légumes (tomate, concombre et poivron vert), de l'air et des plastiques des serres agricoles à Menyeh. L'extraction des échantillons de légumes a été réalisée au Liban dans le laboratoire d'analyse des composés organique (LACO) au sein de l'Université Libanaise à Beyrouth. La deuxième partie est l'étude des mécanismes de dégradation photochimiques à l'échelle du laboratoire des 3 principaux pesticides pulvérisés à Menyeh : thiophanate méthyle, bifénazate et imidaclopride. Cette partie a été réalisée au sein de l'équipe Photochimie à l'Institut de Chimie de Clermont Ferrand en France.

Ce manuscrit comporte 6 chapitres qui sont les suivants :

Le **Chapitre I**, consacré à l'étude bibliographique décrit des généralités sur les pesticides (utilisation, classification, etc...), les principes de base de la photochimie et l'état de l'art relatif à la photochimie des 3 principales molécules étudiées : imidaclopride, bifénazate et thiophanate méthyle.

Le **Chapitre II** est une partie expérimentale qui détaille l'ensemble des techniques utilisées et les différents protocoles expérimentaux mis en place.

Le **Chapitre III** est consacré à la caractérisation des pesticides dans les serres agricoles à Menyeh. Ceci est effectué par une étude des cas réels en analysant des extraits des échantillons de tomate, concombre, poivron vert récupérés des serres agricoles à Menyeh. Des extraits d'air et des films de plastiques prélevés ont été également analysés.

Dans le **Chapitre IV** nous avons étudié la photodégradation du thiophanate méthyle d'un point de vue mécanistique. La formation d'un photoproduit avec des propriétés photosensibilisatrices a été montrée.

Le **Chapitre V** concerne l'étude de la photodégradation du bifénazate, un pesticide très peu étudié. Le comportement photochimique de ce pesticide a été étudié dans différentes matrices et sur différents supports.

Le **Chapitre VI** présente des résultats préliminaires sur des irradiations par lumière UVC à 254 nm de quelques pesticides en solution et sur supports solides.

Enfin, une conclusion générale termine le manuscrit.

CHAPITRE I

Etude bibliographique

I. Les pesticides

I.1. Généralités

I.1.1. Définitions

Selon un rapport du FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations), la population mondiale atteindra 9 milliards d'individus en 2050. Pour répondre aux besoins alimentaires de cette population croissante, la production agricole doit augmenter de 70%, voire doubler, dans les pays en voie de développement¹. Il est donc nécessaire d'augmenter les rendements agricoles et de régulariser les productions. La protection des cultures contre les bioagresseurs s'avère donc indispensable. Dans ce contexte l'utilisation de produits qui peuvent lutter contre ces « ennemis » des cultures est un puissant levier.

Le terme pesticide est actuellement utilisé pour désigner toutes les substances naturelles ou synthétiques qui peuvent contrôler, attirer, repousser, tuer ou arrêter le développement des organismes vivants (microbes, animaux ou végétaux) considérés comme nuisibles au développement des productions agricoles, à l'hygiène ou à la santé publique (les cafards dans les habitations et les insectes parasites comme les poux) et à la santé vétérinaire². Les pesticides permettent d'améliorer le rendement et la qualité des produits.

Un pesticide est constitué de l'ingrédient actif ou matière active qui est la molécule ou l'organisme possédant la propriété recherchée et d'agents de formulation qui ont différents rôles. Plus précisément, une formulation de pesticide est composée de la matière active, d'un solvant, d'un surfactant, d'un adjuvant, d'un vecteur et parfois de colorants et marqueurs olfactifs³. Ces additifs sont destinés à améliorer l'activité, l'absorption, la livraison, la facilité d'utilisation ou la stabilité au stockage de la matière active⁴.

Le solvant sert à dissoudre la matière active afin de la rendre liquide. Le vecteur est défini comme un solide inerte utilisé pour diluer la matière active afin de faciliter son application³. Le terme surfactant désigne l'agent actif de surface qui peut être un collant, un humecteur ou un épandeur. Un surfactant a pour rôle de réduire la tension de surface, d'augmenter l'émulsion, la diffusion et les propriétés humectantes des formulations liquides afin de permettre au pesticide de mieux adhérer ou de s'étaler de manière plus uniforme sur les feuilles et les surfaces des plantes³. Un surfactant est amphiphilique constitué d'un groupement hydrophobe (dans la plupart des cas un hydrocarbure à longue chaîne) et d'un

autre hydrophile. Selon la nature du groupe hydrophile, les surfactants sont classifiés comme: anionique, cationique, non ionique et amphotère⁵. Quelques exemples de surfactants figurent dans le **Tableau 1**. En ce qui concerne l'adjuvant, il a généralement pour rôle d'augmenter l'efficacité du pesticide. Un adjuvant peut être préalablement existant dans la formulation ou ajouté avec le produit formulé dans la cuve de mélange⁵.

La majorité des ingrédients actifs sont des molécules synthétiques qui présentent une large gamme de solubilité. Certains se dissolvent facilement dans l'eau, d'autres, seulement dans les huiles et certains peuvent être relativement insolubles dans l'eau ou les huiles. Les caractéristiques de solubilité et l'utilisation prévue du pesticide définissent généralement les types de formulations ou plutôt des adjuvants qui conviennent le mieux à l'ingrédient actif. Un ingrédient actif peut être commercialisé sous plusieurs formulations⁶.

Tableau 1 : Exemples de surfactants

| Type de surfactant | Chaîne alkyle | Exemple de Tête polaire |
|--------------------|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Anionique | C ₈ -C ₂₀ linéaire ou branchée | -COOH |
| | C ₈ -C ₁₅ alkylbenzène | -SO ₃ Na |
| | C ₈ -C ₂₀ linéaire éthoxylé | -OSO ₃ Na |
| Cationique | C ₈ -C ₁₈ linéaire | -N(CH ₃) ₃ Cl |
| | | -N(CH ₃) ₂ Cl |
| Non-ionique | C ₈ -C ₉ alkylphénol | -(CH ₂ CH ₂ O) _n -OH n: 4-22 |
| | C ₈ -C ₂₀ linéaire ou branchée | -COO(CH ₂ CH ₂ O) _n -OH n: 4-22 |
| | | -(CH ₂ CH ₂ O) _n -OH n: 2-22 |
| | C ₈ -C ₂₀ linéaire ou branchée | -NH(CH ₂ CH ₂ O) _n -OH n: 2-22 |
| | | Glucose |
| Amphotère | C ₁₀ -C ₁₆ amidopropylamine | -N ⁺ (CH ₂) ₂ CH ₂ COO ⁻ |
| | C ₈ -C ₁₈ linéaire | -N ⁺ (CH ₂) ₂ CH ₂ CH(OH)CH ₂ SO ₃ ⁻ |

On trouve principalement 2 types de formulations : liquide ou solide⁷. Les formulations liquides sont généralement prévues pour être diluées dans l'eau. Ces formulations peuvent être trouvées sous formes de solutions, de suspensions et d'émulsions⁶. Les formulations solides se trouvent sous forme de poudre, de granulés applicables directement ou après dilution ou mise en suspension dans l'eau.

Les pesticides synthétiques ont émergé entre 1930 et 1940 à la suite de recherches visant à développer des armes chimiques. Un des premiers composés a été le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) (**Figure 1**) qui a été synthétisé en 1874 et commercialisé dans les États-Unis en 1945. Depuis cette époque, la production, le marketing et l'utilisation de divers pesticides a augmenté de façon considérable et continue d'augmenter. Cette utilisation intensive des pesticides a donc suscité de sérieuses inquiétudes concernant les risques pour la santé due à l'exposition des agriculteurs lors du mélange et de l'application sur les cultures et de la population en général aux résidus de ces molécules dans les aliments et dans l'eau potable. De nombreuses études ont été réalisées dans ce contexte⁸⁻¹⁶ qui démontrent que l'exposition aux pesticides pose un risque permanent pour la santé, en particulier dans le milieu agricole.

Par ailleurs, l'utilisation des pesticides a soulevé de sérieuses préoccupations non seulement vis-à-vis des effets potentiels néfastes sur la santé humaine mais aussi sur la faune et les écosystèmes sensibles. Parfois, les applications de pesticides se révèlent contreproductives car elles détruisent des espèces bénéfiques telles que les ennemis naturels des ravageurs et augmentent les risques de développement d'une résistance aux pesticides². Le cas le plus criant est celui des abeilles et des insectes pollinisateurs en général.

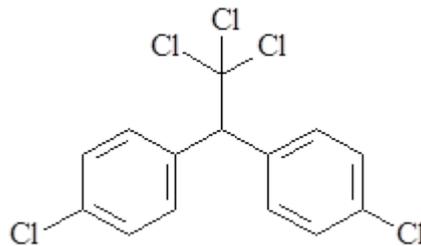


Figure 1 : Structure chimique du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT)

I.1.2. Classification

Les deux modes de classification des pesticides les plus courants sont selon le rôle fonctionnel et selon la famille chimique. Dans le premier cas, les pesticides sont répertoriés selon le type d'organisme à éliminer et sont alors répartis comme suit¹⁷ :

- Les herbicides : substances (ou mélange de substances) dont le rôle est de détruire ou d'empêcher la croissance des végétaux indésirables et des herbes qui peuvent entrer en concurrence avec les cultures agricoles. Les molécules actives des herbicides englobent diverses catégories de fonctions chimiques: acides carboxyliques,

aliphatiques, amides, chloroacétanilides, benzonitriles, dinitrophénylamines, phénols et autres¹⁸.

- Les insecticides : substances qui ont pour rôle d'éliminer les insectes considérés comme nuisibles ou indésirables pour les plantes et cela en exerçant sur ces dernières des actions neurotoxiques, régulatrices de croissance et inhibitrices de la respiration. Les insecticides sont en général très toxiques. Dans la plupart des cas leurs principes actifs sont des composés organochlorés qui ont été progressivement remplacés par des organophosphorés et des carbamates considérés moins toxiques pour les oiseaux et les mammifères mais plus dangereux en ce qui concerne la faune aquatique¹⁹.
- Les fongicides : substances qui ont pour rôle de lutter contre les parasites comme les champignons ou les moisissures.

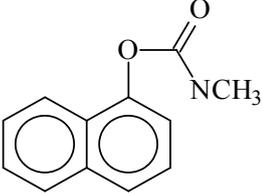
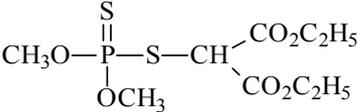
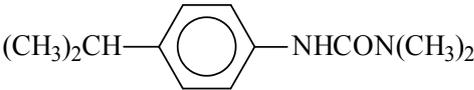
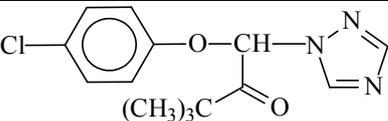
En plus de ces trois familles fonctionnelles principales de pesticides, on distingue aussi les familles suivantes : les rodenticides, les molluscicides, les corvicides, les nématocides et les acaricides qui agissent respectivement contre les rongeurs nuisibles; les limaces et escargots; les oiseaux ravageurs; les vers et les arachnides²⁰.

La 2^{ème} classification consiste à répartir les pesticides selon la nature chimique de la substance active majoritaire²¹ (**Tableau 2**) :

- Les organochlorés : issus de l'industrie du chlore tels que le dichlorodiphényltrichloroéthane, le lindane, le chlordane...
- Les organophosphorés : amides ou esters des acides phosphoriques, phosphonique, thiophos-phorique et thiophosphonique (diazinon, dichlorovos, malathion...),
- Les carbamates formés par des sels ou esters d'acide carbamique (carbaryl, propoxure...),
- Les triazines (atrazine, propazine, simazine ...),
- Les urées substituées incluant plusieurs groupes fonctionnels : phénylurées.

L'organisation mondiale de la santé (WHO) propose une classification basée sur le risque pour la santé ou plus spécifiquement le comportement toxique. Les pesticides sont alors classés de I à IV selon leur toxicité : extrêmement toxique, très toxique, modérément toxique et légèrement toxique. La toxicité est estimée selon la dose létale médiane (DL₅₀) qui représente la quantité de matière active qui, administrée en une seule fois, par ingestion, inhalation ou voie cutanée, entraîne la mort de 50% des animaux traités²².

Tableau 2: Quelques exemples de pesticides utilisés

| Pesticide | Structure Chimique | Famille | Action |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-------------|
| Carbaryl |  | Carbamates | Insecticide |
| Malathion |  | Organosphosphorés | Insecticide |
| Isoproturon |  | Urées | Herbicide |
| Triadéméfon |  | Triazoles | Fongicide |

I.1.3. Usage des pesticides en France

Sur le plan mondial, les systèmes actuels de gestion agricole et de production végétale reposent sur l'utilisation d'herbicides, de fongicides et d'insecticides à une quantité d'environ $3,3 \times 10^6$ tonnes/an, dont $0,42 \times 10^6$ tonnes/an pour l'Europe²³. Avec un chiffre d'affaires de 1,9 milliards d'euros, la France était considérée comme le premier marché européen des phytosanitaires en 2010. Cette valeur a augmenté de 5% en 2012 pour atteindre près de 2 milliards d'euros²⁴. L'estimation des quantités de pesticides utilisés se base généralement sur les chiffres de vente des principales sociétés phytopharmaceutiques. Ces chiffres traduisent une diversité d'utilisations des pesticides et ne représentent pas les consommations effectives, du fait des stockages et déstockages souvent effectués par les utilisateurs ainsi que des échanges entre pays²⁵.

Les quantités de pesticides vendues en France entre 2001 et 2015 sont présentées dans la **Figure 2**. On remarque que depuis 2009, les ventes stagnent. Les fongicides représentent la famille des pesticides la plus vendue par rapport aux insecticides et aux herbicides. Les quantités de fongicides vendus ont bien diminué entre 2001 et 2015, passant de 54000 tonnes à 27000 tonnes, mais ceci a été accompagné par une augmentation dans les quantités d'herbicides et insecticides vendus.



Figure 2 : Evolution des quantités de phytosanitaires vendus en France entre 2001 et 2015^{26,24}

Ces profils peuvent être expliqués par le fait que les conditions climatiques pendant cette période ont été particulièrement contrastées avec une pression parasitaire stable, mais une pression de certains insectes importante notamment en grandes cultures²⁴.

Bien que les produits actuellement utilisés soient considérés moins nocifs pour l'environnement que les pesticides organochlorés interdits²⁷, de nombreux pesticides encore utilisés dans le monde sont assez persistants et toxiques²⁸⁻³⁰. Ainsi, 150 des matières actives approuvées par l'Union Européenne présentent une toxicité aquatique aiguë (niveau 1), neuf affectent négativement la reproduction (niveaux 1A/1B) ou sont des perturbateurs endocriniens, six peuvent avoir des propriétés cancérigènes et environ 50 composés correspondent aux critères PBT (persistant, bioaccumulatif et toxique)²⁷. Par conséquent, un plan qui visait à réduire de 50 % l'usage des produits phytosanitaires en France à l'horizon 2018 a été mis en place en 2010 sous le nom de plan Ecophyto 2018. Six ans après son lancement, il y a toujours une tendance à la hausse pour le recours aux produits phytosanitaires malgré les actions mises en œuvre. L'objectif de réduction de 50 % de l'usage des produits phytosanitaires est donc conservé mais repoussé à 2025²⁴. Afin d'atteindre cet objectif, l'Assemblée nationale a adopté le 22 juillet 2015 une loi de transition énergétique pour la croissance verte qui instaure l'utilisation de zéro pesticide pour l'entretien de l'ensemble des espaces publics à compter du 1er janvier 2017. Sont directement concernés l'état, les collectivités locales et les établissements publics. L'étape suivante qui commencera

à partir du 1er janvier 2019 va concerner les jardiniers amateurs qui se verront interdire l'achat et l'utilisation des pesticides³¹.

I.1.4. Usage des pesticides au Moyen-Orient

La sécurité alimentaire est considérée comme un élément essentiel de santé publique dans la région du Moyen-Orient. De ce point de vue et en collaboration avec l'Organisation de la santé mondiale (WHO), la plupart des pays de cette région ont réactualisé leurs législations nationales. Néanmoins, dans de nombreux pays du Moyen-Orient, les normes sont souvent non compatibles avec les besoins nationaux³². Entre le moment de la plantation jusqu'à la consommation du produit cultivé, il y a beaucoup de possibilités de contamination par les micro-organismes nuisibles, les pesticides et autres substances toxiques. Dans ce contexte, une Commission a été créée en 1963 par la FAO et la WHO pour développer des normes alimentaires et édicter des recommandations afin de protéger la santé des consommateurs et d'assurer des pratiques loyales dans le commerce alimentaire. Cette collection de normes alimentaires, intitulée le Codex Alimentarius, ou le code des aliments est devenue le point de référence mondial pour les consommateurs, les producteurs d'aliments, les autorités nationales de l'alimentation et les participants au commerce alimentaire international³³. Presque tous les pays de la région Proche-Orient sont membres de la Commission Codex Alimentarius. Différents programmes de surveillance de la contamination alimentaire ont été établis dans les pays du Moyen-Orient durant plusieurs années³⁴⁻³⁸. Les résultats de ces programmes ont montré l'utilisation de différents pesticides de groupes chimiques divers. Par exemple en Egypte, des concentrations de pesticides organochlorés dépassant les limites maximales de résidus (MRLs) ont été trouvées dans des échantillons de concombre³⁴. A Ghaza de grandes quantités de résidus de pesticides ont été détectées dans des échantillons en particulier dans les fraises³⁹.

Des règlements pour l'enregistrement et l'importation des pesticides ont alors été établis dans ces pays et un grand nombre ont été interdits. Malgré cela, la vente et la manipulation de ces produits ne sont pas réglementées et il n'y a pas de contrôle sur leurs utilisations. De plus, les laboratoires d'analyse des résidus de pesticides accrédités ne sont pas disponibles dans de nombreux Pays arabes, et souvent l'exportation des productions végétales vers un autre pays est interdite en raison du dépassement MRLs (limite maximale de résidus). C'est le cas de l'Union Européenne qui a interdit l'importation de certains produits agricoles de plusieurs pays arabes⁴⁰. On peut alors conclure que la participation de ces pays aux travaux

du Codex n'est pas suffisante pour régler le problème de la contamination aux pesticides étant donné que ce dernier n'est pas seulement lié à l'utilisation non réglementée, mais aussi aux manipulations et mauvaises utilisations de ces composés à tous les niveaux³². Afin de réduire le problème de l'utilisation excessive des pesticides par les agriculteurs et les grandes quantités de résidus dans les légumes et les fruits, il est impératif que les gouvernements des pays arabes développent des programmes de formation pour enseigner aux agriculteurs les méthodes appropriées pour l'utilisation et la manipulation de produits agrochimiques et adoptent des lois modernes concernant l'utilisation des engrais et les pesticides. Plusieurs études récentes ont été menées dans ce contexte confirmant ainsi l'importance de l'éducation des agriculteurs pour le contrôle de l'usage des pesticides⁴¹⁻⁴³.

D'autre part, il y a une lacune dans l'acquisition de données sur l'utilisation de pesticides (herbicides, insecticides et fongicides) au Moyen-Orient. Les derniers chiffres détaillés datent des années 2000-2002 durant lesquels moins de la moitié des pays membres de l'ESCWA (Commission économique et sociale des nations unies) ont fourni des données³² (**Figure 3**). En se basant sur ces chiffres, on voit que le Liban est le plus gros consommateur de pesticides avec une consommation moyenne de 5,5 kg/ha entre 1993 et 2002. C'est donc le pays le plus intéressant à étudier dans la région du Moyen-Orient du point de vue de l'analyse des résidus de phytosanitaires dans les différentes cultures. Dans le cadre de cette thèse en cotutelle, une partie essentielle de notre étude portera sur l'analyse des résidus de pesticides dans les légumes cultivés au Liban, il est donc indispensable de décrire la situation et les pratiques agricoles dans ce pays.

a) Situation agricole et utilisation des pesticides au Liban

Le Liban est bordé à l'ouest par la partie orientale de la mer Méditerranée (**Figure 4**). Sa superficie est de 10 452 km². C'est une zone principalement montagneuse. La population du pays est estimée à 5 102 830 y compris les travailleurs étrangers et les réfugiés palestiniens. Le Liban a un climat de type méditerranéen avec des étés chauds et secs (de juin à septembre) et des hivers frais et pluvieux (de décembre à la mi-mars) et une température moyenne de 15° C. Les précipitations annuelles moyennes sur la côte varient entre 700 et 1000 mm⁴⁴.

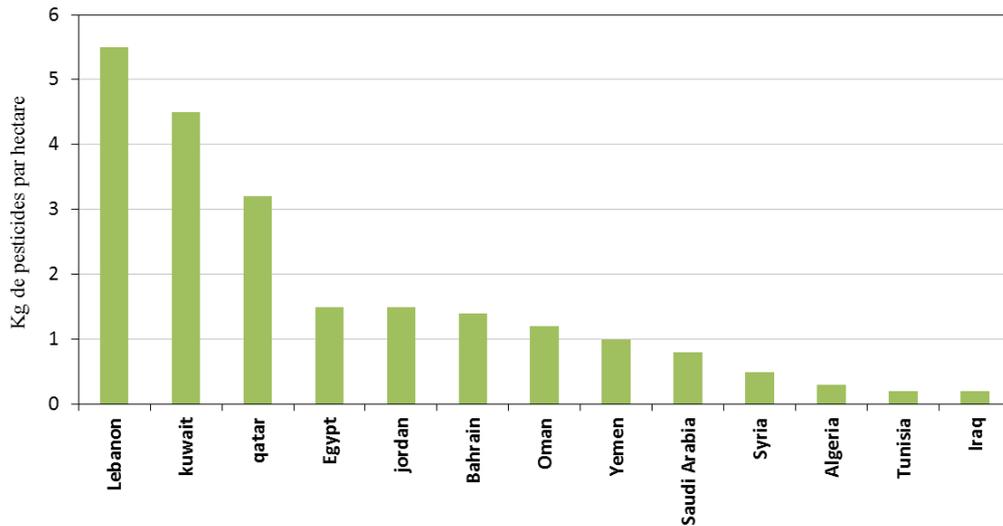


Figure 3 : Quantités de pesticides utilisés à l’hectare dans différents pays (2000-2002)³²

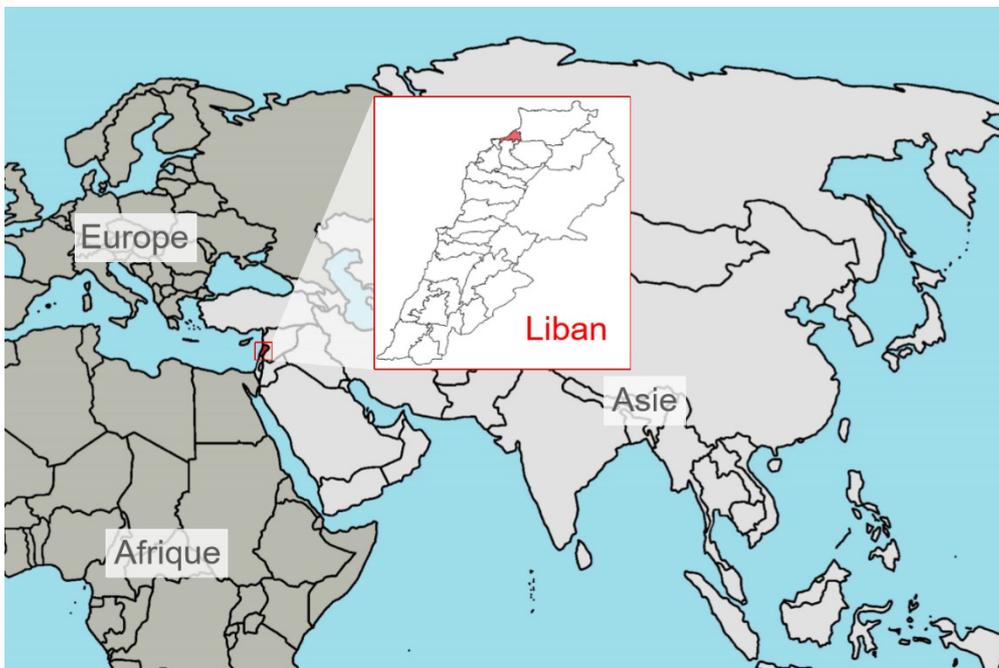


Figure 4 : Situation géographique du Liban

La superficie agricole libanaise est estimée à 638 000 ha (62% de la surface totale). Comme indiqué sur la figure 5, les pâturages et les prairies constituent environ 39% de la superficie agricole totale, les cultures permanentes 12%, les terres arables 11% et les forêts 14% de la surface totale région du Liban⁴⁵. Selon le recensement de 2010 du ministère de l’Agriculture (MoA), la superficie agricole utilisée est d’environ 231 000 ha ⁴⁶. Par rapport à ses voisins, le Liban a une production agricole plus intense et plus concentrée sur les fruits et

légumes de plus grande valeur⁴⁵ ce qui peut expliquer le besoin d'utiliser plus de pesticides que les autres pays du Moyen-Orient (**Figure 3**).

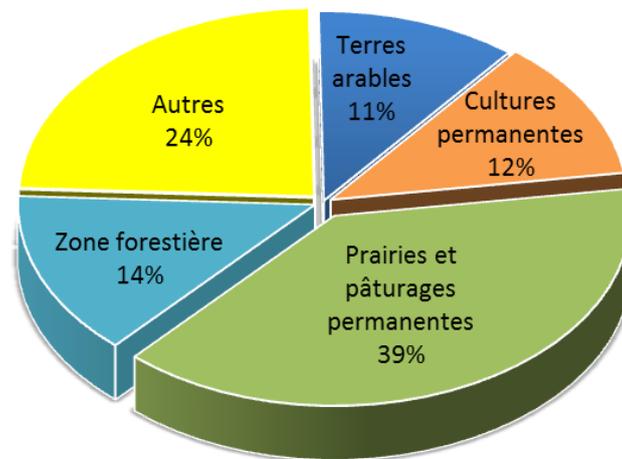


Figure 5 : Utilisation des terres agricoles au Liban (en % de la superficie agricole totale)

Au Liban, l'encadrement de l'utilisation des pesticides a commencé en 1982 quand le gouvernement a publié un décret concernant la création d'un comité scientifique pour ces produits; ce comité avait pour objectif de définir et d'étudier l'utilisation des pesticides au Liban et de fixer les conditions d'autorisation pour leur importation, leur vente, leur préparation, leur étiquetage et leur utilisation⁴⁷. En 1992, le ministère de l'Agriculture a établi une liste des pesticides officiellement interdits, cependant, peu de contrôles sont effectués et les interdictions ne sont pas respectées. Même les produits bannis sont disponibles par des moyens illégaux et utilisés par les publics non-formés, en plus de l'utilisation abusive de plusieurs molécules, indépendamment de tout risque de toxicité pour la santé et l'environnement^{48,49}.

En ce qui concerne les produits phytosanitaires interdits, on peut citer le malathion, un insecticide organophosphoré interdit par la commission européenne (CE) dans la décision 2007/389/CE mais encore utilisé au Liban. De plus, depuis 2012, les résidus de ce pesticide dans les aliments sont réglementés en Europe. Selon l'Agence française de Santé et sécurité alimentaire, environnementale et professionnelle (ANSES), ce pesticide n'est pas toxique par lui-même mais il peut se décomposer en donnant le malaaxon qui est connu pour provoquer la leucémie et inhiber l'acétylcholinestérase. Le zineb est un autre pesticide interdit par l'Union européenne (UE) mais vendu au Liban sous forme de soufre micronisé pour échapper à toute poursuite législative. Ce pesticide est un perturbateur endocrinien potentiel conduisant à l'inhibition de production d'hormones thyroïdiennes⁵⁰. L'autre problème au Liban est l'utilisation abusive et la pulvérisation en grandes quantités des pesticides sans tenir compte

des doses préconisées ce qui conduit à des dépassements par rapport aux limites maximales de résidus (MRLs) fixées pour les aliments. Les MRLs sont exigées par l'institution des normes libanaises (LIBNOR Lebanese Standards Institution 2003) mais les mesures de surveillance qui doivent assurer le respect des valeurs spécifiées sont presque inexistantes dans le pays¹⁰. Selon une étude menée par Boxter et al⁵¹, 5 contaminants organiques ont été retrouvés dans des échantillons de miel à des teneurs qui dépassent les MRLs permises. Dans une autre étude, le lait maternel des mères allaitantes au Liban était contaminé par le DDE (dichlorodiphényldichloroéthylène) qui est un métabolite du DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane), un insecticide organochloré ayant des effets cancérigènes et dont l'utilisation est interdite depuis 1973⁵².

Malheureusement, les mesures de la contamination des fruits et des légumes par les résidus de pesticides au Liban sont très limitées¹⁰. Il y a donc nécessité à mener plus de contrôles sur la qualité sanitaire des légumes et les fruits les plus consommés par les libanais et qui sont des constituants essentiels de leurs régimes alimentaires (tomates, concombres, agrumes, etc..) et à réaliser plus d'études sur ce sujet.

b) Cas des serres agricoles au Liban

La serre agricole est une structure qui peut assurer la production agricole en s'affranchissant du climat local. Elle rend possible la culture des plantes qui ne survivraient pas au climat naturel. La culture sous serres agricoles permet aussi d'améliorer le rendement des plantes. C'est une structure ayant les murs et les toits transparents ce qui amplifie certaines caractéristiques du climat extérieur. Le revêtement des serres conditionne le niveau de chaleur et d'ensoleillement dans la serre⁵³. Le verre et/ou le plastique sont utilisés pour couvrir les serres agricoles. Concernant le plastique, il s'agit de polymères renforcés de fibre FRP ou de polyester stratifié, de polyéthylène, de polyéthylène vinyle acétate, de chlorure de polyvinyle, de polyméthylméthacrylate ou de polycarbonate⁵⁴. Seulement environ 10% des serres agricoles dans la zone méditerranéenne sont recouvertes de verre alors qu'au Nord Ouest de l'Europe par exemple c'est le matériau qui est le plus utilisé comme couverture de ces structures. Cela peut être expliqué par la faible intensité lumineuse en Europe qui nécessite une transmission de la lumière maximale et par suite exige l'utilisation du verre et pas du plastique comme couverture⁵⁵. Les espèces cultivées dans les serres agricoles sont dans la plupart des cas des légumes ayant des exigences thermiques de moyennes à légèrement élevées (tomate, poivron, concombre, melon, pastèque, haricot vert, aubergine). La culture de

ces légumes sous les serres agricoles aide à l'extension de la saison de production au-delà de la saison de croissance conventionnelle⁵⁴.

D'après le ministère libanais de l'agriculture, les cultures sous serres agricoles au Liban couvrent 3800 hectares de la superficie agricole totale (presque 2%). La plupart des serres agricoles se situent sur la bande côtière géographique du Liban le long de la côte méditerranéenne du nord au sud du pays. Ces zones abritent donc une production intensive de légumes en serre en plus des agrumes et des bananes⁴⁵. Les superficies agricoles occupées par les principales cultures trouvées sous serre au Liban sont présentées **Figure 6**⁵⁶.

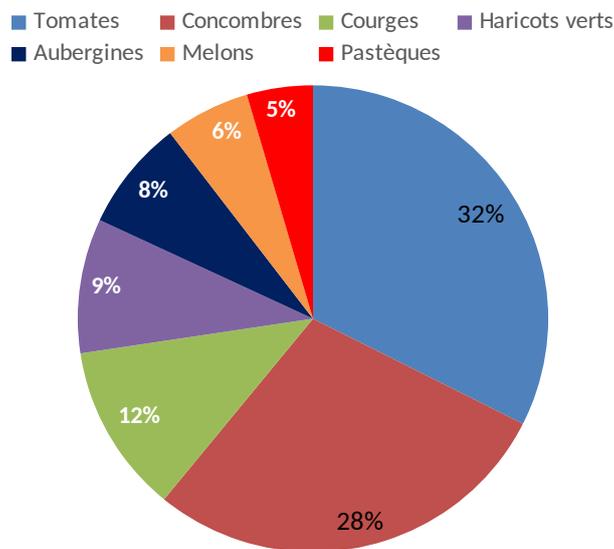


Figure 6 : Répartition des principales cultures sous serres au Liban ramenée à la superficie totale occupée par les serres agricoles

Puisque les plantes qui sont cultivées sous serres bénéficient d'une température et d'une humidité de l'air élevées, l'environnement de la serre va stimuler une croissance rapide mais en même temps encourager la croissance et la reproduction des ravageurs. Cela oblige les agriculteurs à traiter les plantes par les pesticides d'une façon plus fréquente que pour les cultures en plein champs. La possibilité de pollution des sols et cultures par les phytosanitaires dans l'atmosphère de serre fermée sera donc plus importante que pour celle dans les atmosphères ouvertes. Les légumes cultivés dans les serres tels que le concombre, la tomate et la courgette sont recueillis peu de temps après avoir été pulvérisés. De ce fait, ces légumes deviennent excessivement pollués par les molécules chimiques pulvérisées, et dans la plupart des cas, le lavage de ces légumes ne supprime pas le pesticide car certains d'entre eux sont absorbés par les tissus externes⁵⁷.

Disant cela, on peut comprendre l'augmentation des risques de contaminations alimentaires et environnementales posés par la pulvérisation des pesticides dans les serres agricoles. D'où l'importance et la nécessité de mener plus d'études sur le devenir de ces pesticides spécialement sous les serres agricoles au Liban où il n'y a aucun contrôle sur les pratiques agricoles comme mentionné dans le paragraphe 1.4 a). **Dans ce sens, on s'est intéressé dans notre étude aux serres agricoles qui sont au "Menyeh", une petite ville côtière au Liban Nord ou il y a 4000 hectares de cultures protégées sous serres agricoles⁵⁶ qui comme le montrent les Figures 7 et 8, sont des tunnels avec une couverture en plastique.**



Figure 7 : Serres agricoles à Menyeh constituées de tunnels à chapelle unique



Figure 8 : Tomates cultivées à l'intérieur d'une serre agricoles à Menyeh

I.2. Devenir des pesticides dans l'environnement

I.2.1. Présence des pesticides dans l'environnement

Entre 1 et 2,5 millions de tonnes de pesticides sont utilisés chaque année, principalement dans l'agriculture⁵⁸. 85 à 90% de ces pesticides n'atteignent pas leurs cibles²⁰ et comme les pesticides sont appliqués sur de grandes surfaces, leur utilisation représente donc une source importante de pollution chimique. En principe, les pesticides ne sont autorisés à l'usage que s'il a été démontré qu'ils ne persistent pas dans l'environnement, c'est-à-dire qu'ils ont des demi-vies dans le sol de quelques jours à quelques semaines. Néanmoins, les résidus de nombreux pesticides sont omniprésents dans l'environnement à des concentrations allant du ng/L au mg/L⁵⁹. Plusieurs études confirment la présence des pesticides et de leurs produits de transformation dans le sol^{60,61} et les eaux souterraines⁶²⁻⁶⁵. Par ailleurs, les enquêtes sur les eaux souterraines et l'eau potable brute dans les pays industrialisés montrent de façon récurrente la présence de 10 à 20 substances à des concentrations supérieures à 0,1 µg/L qui est la concentration maximale acceptée dans l'eau potable par pesticides dans de nombreux pays⁵⁹.

Une indication encore plus inquiétante de la persistance des pesticides est que la moitié des substances détectées sont celles dont l'utilisation a été arrêtée depuis longtemps. De plus, 10 à 20% des substances détectées sont des produits de transformation des molécules mères. Les eaux de surface sont contaminées par les pesticides du fait des rejets directs et du lessivage des sols et les eaux souterraines du fait de l'infiltration des molécules dans le sol, favorisée par l'eau intersticielle. Les transports entre eaux de surface et eaux souterraines sont également possibles⁶⁶⁻⁶⁸. Des pesticides à usage courant ont également été détectés dans l'air⁶⁹, les pluies⁷⁰ et les régions de haute altitude, démontrant une persistance suffisante pour un transport sur des centaines de kilomètres dans l'atmosphère⁷¹.

Pour protéger les ressources alimentaires naturelles et humaines telles que les plantes, la vie aquatique et l'eau potable, il est donc important de comprendre ce qui contrôle le devenir des pesticides dans l'environnement, et en particulier leur dégradation jusqu'à minéralisation, le seul phénomène qui élimine réellement ces molécules de l'environnement. Plusieurs processus biogéochimiques déterminent le devenir des pesticides dans l'environnement (**Figure 9**)²⁰ et ainsi leur répartition dans l'eau, l'air, le sol et même les aliments. Les processus de transformation subis par un pesticide donné sont conditionnés par sa structure qui détermine son aptitude à subir certaines réactions et par les conditions

environnementales auxquelles il est exposé⁵⁹. Outre les processus physiques de transfert (volatilisation, adsorption par le sol, lessivage), deux mécanismes principaux de transformation sont possibles⁷² :

- 1- Les réactions biotiques régies par l'absorption et la métabolisation par les différents microorganismes vivants dans le milieu.
- 2- Les réactions abiotiques qui comprennent la transformation chimique par hydrolyse, photochimie et oxydo-réduction, notamment.

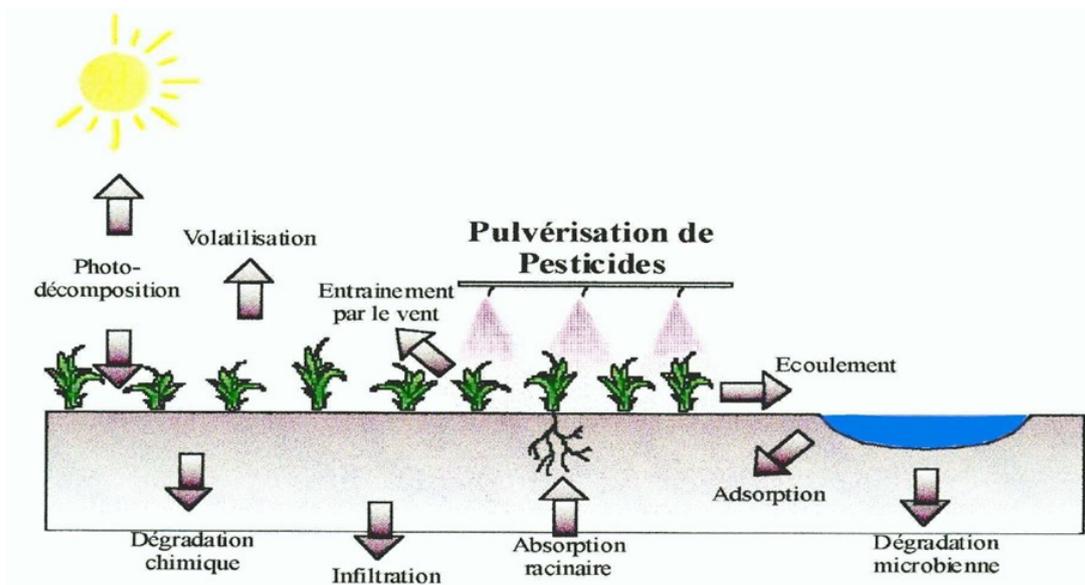


Figure 9 : Dispersion des pesticides dans l'environnement²⁰

I.2.2. Processus de transfert

Une fois déposés sur le sol, les pesticides peuvent s'adsorber ou s'infiltrer. L'adsorption sur le sol est le mécanisme de rétention le plus important, il dépend à la fois des propriétés physico-chimiques du sol (pH, texture... etc) et des propriétés de la substance active comme sa solubilité et son coefficient de partition eau-octanol (K_{ow}) qui est le rapport entre la concentration de la molécule à l'équilibre dans l'octanol et sa concentration dans l'eau. Un K_{ow} fort (> 1000) est caractéristique d'un pesticide à faible mobilité et ayant une forte capacité d'adsorption. D'un autre côté, une faible valeur de K_{ow} (< 100) caractérise un pesticide à forte mobilité et à faible capacité d'adsorption⁷³.

Comme mentionné avant, plusieurs pesticides ont été détectés dans l'atmosphère. Ces polluants peuvent arriver dans l'atmosphère par deux moyens principaux qui sont la dérive et la volatilisation.

La dérive s'effectue au moment des applications sous l'effet du vent et de la chaleur⁷⁴. Par ce processus, les composés sont immédiatement mis en suspension dans l'atmosphère par le vent⁷⁵. Généralement 30 à 50% des pesticides appliqués sont directement perdus dans l'air sous forme de gouttelettes ou de gaz par volatilisation immédiate⁷⁶. Les quantités dispersées par dérive dépendent directement de la méthode d'application des pesticides et des propriétés de la formulation⁷⁷. Ce phénomène est favorisé dans le cas des traitements par pulvérisation (liquide) et il est d'autant plus important que la hauteur de la pulvérisation est élevée. La dérive est favorisée par le vent et des températures élevées⁷⁶.

La contamination indirecte de l'atmosphère par les pesticides se fait par volatilisation post-récolte qui est définie par le transfert des pesticides de la surface des sols ou des couverts végétaux traités vers la phase gazeuse de l'atmosphère. Ce processus s'effectue sur de longues périodes comprises entre plusieurs jours et plusieurs mois et est influencé par plusieurs paramètres : la pression de vapeur saturante des pesticides, leur solubilité (et donc leur constante de Henry), leur coefficient d'absorption (partition eau/sol) et les conditions environnementales^{78,79}. Dans les 24 heures qui suivent l'application, les quantités de pesticides volatilisées depuis le couvert végétal traité sont presque 13 fois plus importantes que ceux émis depuis le sol, selon le pesticide considéré⁸⁰.

I.2.3. Processus de dégradation

La dégradation des pesticides implique à la fois des processus de transformation biotique - induits par des micro-organismes ou des plantes - et des processus abiotiques tels que les réactions chimiques (hydrolyse, oxydo-réduction) et photochimiques sur lesquels on va se concentrer dans ce qui suit.

L'hydrolyse d'une molécule correspond à la réaction de cette dernière avec l'eau. Ce phénomène peut avoir lieu dans les eaux usées, à l'interface sédiments/eau des lacs et des rivières et dans les eaux souterraines. L'hydrolyse est souvent très lente mais elle dépend de la température, du pH, de la salinité²⁰. Les réactions d'hydrolyse peuvent être directement prédites pour certains composés en fonction de la présence de groupes fonctionnels. Il y a soit addition d'une molécule d'eau ou substitution d'un groupement partant par OH. Par exemple, l'hydrolyse en solution aqueuse est bien établie pour les organophosphorés, les esters d'acide carboxylique, les carbamates, certains halogénures (bromure de méthyle, propargyle)⁸¹.

Dans l'eau, les sédiments et les sols, les pesticides peuvent subir des réactions d'oxydation ou de réduction en fonction de leur caractère oxydant ou réducteur⁸². Ces

réactions de transfert d'électron dépendent de l'aptitude des autres molécules présentes dans le milieu à accepter ou donner un électron. Par exemple, les quinones, Fe(III) ou O₂ sont des oxydants⁸².

Les réactions photochimiques nécessitent l'absorption de photons. Les transformations photochimiques sont limitées aux compartiments exposés à la lumière du soleil, par exemple les eaux de surfaces des lacs ou des rivières, les surfaces des plantes ou submillimétriques des couches de sol. Dans l'atmosphère, ces réactions peuvent également se produire⁵⁹. La photolyse est un phénomène bénéfique lorsqu'elle conduit à l'élimination des micropolluants. Ce bénéfice n'est cependant réel que si la réaction conduit à la minéralisation du produit de départ ou si elle conduit à des sous-produits moins toxiques que le composé de départ. La phototransformation des pesticides à la surface des plantes, juste après leur pulvérisation est en revanche un phénomène négatif. En effet, en réduisant la concentration des molécules actives, elle réduit aussi l'efficacité des traitements nécessitant soit une augmentation des doses soit un renouvellement des traitements plus fréquents⁸³ ce qui entraîne une exposition plus élevée et des risques potentiels pour la santé. La photochimie est une voie majeure de dégradation des pesticides à la surface des plantes⁸⁴. Ceci confirme bien l'importance de l'étude des réactions photochimiques que peuvent subir les molécules de pesticides comme il sera développé dans ce travail.

I.2.4. Effets des additifs de formulation sur le comportement des pesticides dans l'environnement

a) Sur les plantes

Les surfactants permettent d'augmenter la quantité de pesticide absorbée par la plante ou même retenue sur les feuilles. C'est par exemple le cas du chlorantraniliprole sur les feuilles de maïs et de blé⁸⁵. Par ailleurs, le comportement de chaque molécule de pesticide sur les plantes peut être influencé par la présence d'autres molécules actives lors de l'épandage ; c'est le cas de l'endosulfan et de la cyperméthrine dont les persistances sur les tomates sont respectivement 2 fois plus grandes et 1,5 fois plus petite dans le cas où ces 2 insecticides sont appliqués ensemble⁸⁶.

b) Dans les sols

Les adjuvants sont capables de modifier les propriétés physico-chimiques de la matière active et sa capacité à s'adsorber aux particules du sol. Cela peut alors influencer la mobilité

du pesticide comme pour le diazinon, l'acéphate et l'atrazine qui sont moins mobiles en présence de surfactants non ioniques⁸⁷. Le phénomène de lixiviation peut aussi être affecté comme dans le cas du bromacile qui devient moins apte à s'infiltrer en présence d'adjuvants⁸⁸. La cyperméthrine a été trouvée moins mobile dans le sol quand elle est pulvérisée sous forme de micro-granules comparé à la formulation concentrée émulsionnable. Le type de formulation a donc également une influence sur le devenir du pesticide⁸⁹. La persistance des pesticides peut aussi être influencée par la présence des adjuvants⁹⁰. En présence de surfactants non ioniques, le temps de demi-vie de l'atrazine augmente. Ceci est peut être expliqué par la capacité des surfactants non ioniques à piéger les molécules H₂O₂ et de s'oxyder par le biais de la peroxydase ce qui limite l'oxydation et la biodégradation de l'atrazine⁹¹. En ce qui concerne l'effet de mélange de pesticides, il a été montré que l'amétryne et le glysofate sont plus adsorbés sur les particules du sol quand ils sont appliqués simultanément⁸⁵. Les mélanges peuvent aussi modifier la persistance des molécules actives. Il reste que cet effet n'est pas généralisable et est fortement dépendant des molécules et de leur structure⁹².

I.2.5. Devenir des pesticides dans les serres agricoles

Les rendements des cultures sous serre sont généralement 10 fois plus grands que ceux des cultures en plein champ. Mais, les conditions qui règnent dans les serres agricoles génèrent beaucoup de maladies et d'invasions par des ravageurs arthropodes^{93,34}. Une utilisation importante des pesticides est donc nécessaire⁹⁴. Beaucoup d'études ont indiqué que le comportement des pesticides dans les serres agricoles est très différent de celui rencontré dans les champs traditionnels⁹⁵⁻⁹⁷. Par exemple, les concentrations à la surface du sol de 2 retardateurs de croissance de plantes : le paclobutrazol et l'uniconazol diminuent plus rapidement dans les cultures en plein champ que dans les serres agricoles. Ceci peut être expliqué par un phénomène de lixiviation ou de lessivage nécessairement plus important dans les cultures en plein air qu'à l'abri dans les serres^{95,97}. De plus il a été démontré que des résidus d'insecticides et de fongicides sont présents dans les tomates cultivées en milieu serricole en plus grandes quantités que dans les champs⁹⁶. Ceci s'explique par une utilisation plus intense de ces 2 types de pesticides dans le cas des cultures protégées. Ajoutons à cela que les pesticides sont généralement plus persistants dans les serres agricoles que dans les cultures ouvertes⁹⁸, à cela 3 raisons:

- 1- Une moindre exposition au rayonnement solaire qui limite les transformations photochimiques. La couverture par les films en plastique en est la raison.
- 2- L'absence de précipitations ce qui réduit le lavage chimique.
- 3- L'absence de mouvements éoliens ce qui réduit les taux de volatilisation de la surface des plantes.

Différentes études ont porté sur la mesure des concentrations en pesticides dans l'air des serres agricoles⁹⁹⁻¹⁰¹. Selon ces études, la volatilisation à partir des plantes est importante puisque les pesticides s'adsorbent moins aux plantes qu'au sol^{99,102}. Dans ces études, le jour de la pulvérisation, les concentrations de pesticides dans l'air des serres étaient très élevées. Du point de vue de la santé, cette volatilisation des pesticides peut avoir beaucoup d'effets nocifs sur l'être humain en cas d'inhalation. Les serres agricoles sont donc un endroit potentiellement dangereux pour les travailleurs. La ventilation dans les serres agricoles joue un rôle primordial dans la variation des concentrations de pesticides dans l'air intérieur.

Par ailleurs, sans que cela ne soit démontré il est tout à fait possible qu'une partie des pesticides qu'ils soient à la surface des plantes ou en phase gazeuse dans les serres agricoles subissent des dégradations photochimiques induites par le rayonnement solaire¹⁰³. **Dans ce travail, nous avons cherché à comprendre et à quantifier cette possible réactivité photochimique. Une partie de notre étude a aussi porté sur l'analyse de l'air des serres agricoles à Menyeh-Liban Nord pour mieux évaluer les risques auxquels sont exposés les agriculteurs dans les serres agricoles. Ceci inclut non seulement les pesticides mais aussi leurs produits de dégradation et les molécules émises par les plantes du fait du stress chimique.**

II. La Photochimie

II.1. Introduction

La photochimie est un phénomène qui peut avoir lieu lorsqu'un photon est absorbé par une molécule. Il est cependant tout à fait possible que des molécules soient exposées à un puissant faisceau de lumière possédant des photons de haute énergie sans pour autant en être affectée. Cette situation est rencontrée lorsque les molécules ne contiennent pas les

chromophores appropriés qui sont des arrangements spécifiques d'atomes conduisant à l'absorption de photons à des longueurs d'onde spécifiques du spectre d'émission de la source lumineuse¹⁰⁴(**Tableau 3**).

La photochimie traite des modifications chimiques subies par différents types d'espèces chimiques, suite à l'absorption d'un rayonnement électromagnétique dans la gamme de longueur d'onde 200-2000 nm. La gamme 200 à 400 nm est la région ultraviolette (UV), entre 400 et 750 nm, c'est la région visible (Vis) et le domaine de longueur d'onde de 750 à 2000 nm est le proche infrarouge (NIR). La plage allant de 100 à 200 nm est le domaine du vide ultraviolet (VUV), où l'oxygène, l'azote et la vapeur d'eau absorbent et au-dessus de 2000 nm c'est le moyen infrarouge. La région 315-400 nm est communément appelée UV-A, 280-315 nm UV-B et 200-280 nm UV-C. La limite inférieure de la région UV-A correspond à la coupure de la transmission par le verre, tandis que la plage UV-B est approximativement la limite du rayonnement solaire atteignant la surface de la terre par une journée claire.

Les changements chimiques sont ceux qui impliquent les électrons et les noyaux dans les structures chimiques. L'absorption de la lumière conduit au passage d'un électron depuis une orbitale de l'atome ou de la molécule dans son état fondamental vers une orbitale d'énergie supérieure pour produire un état électroniquement excité. La compréhension de la nature des états d'énergie des électrons et de leurs effets sur les structures des états excités est essentielle pour la photochimie. En conséquence de cette redistribution de la densité électronique, les longueurs de liaison, les ordres de liaison et les angles de liaison dans les états excités peuvent être significativement différents de ceux des états fondamentaux correspondants, de sorte que les états excités peuvent être considérés comme des espèces chimiquement distinctes.

De par leur nature même, les états excités sont très énergétiques et ils doivent perdre leur énergie excédentaire par divers processus intra et/ou intermoléculaires, qui fonctionnent sur des échelles de temps allant de la femtoseconde ($1 \text{ fs} = 10^{-15} \text{ s}$) à des heures. Par exemple, la perte d'énergie vibratoire en excès de grandes molécules polyatomiques en phase liquide peut se produire en des dizaines de femtosecondes. La durée de vie de l'état excité le plus bas de l'hélium (l'état 3S_1) est de plus de 2 H^{105} . Autre exemple, si la durée de vie radiative du plus faible état excité de l'oxygène moléculaire singulet dans la phase gazeuse à basse pression est supérieure à une heure¹⁰⁶, elle est réduite de 9 à 10 ordres de grandeur par les interactions avec le solvant en solution. Les processus de désactivation redonnant la molécule de départ sous forme inchangée constituent le domaine de la photophysique. En raison de leur énergie

excessive, les états excités sont très réactifs. Leur comportement chimique a de nombreuses applications exploitées dans différents domaines. Il existe un grand intérêt à l'étude de ces interactions en raison de leurs conséquences qui sont soit utiles ou nuisibles¹⁰⁷.

Tableau 3 : Quelques exemples de groupes chromophores¹⁰⁸

| Groupe chromophore | Longueur d'onde maximale d'absorption (nm) | Valeur approximative du coefficient d'extinction molaire (L. mol ⁻¹ . cm ⁻¹) |
|--------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| C=C | 180 | 1000 |
| C=N | < 220 | 2 |
| C=O | 280 | 2 |
| N=N | 350 | 0.5 |
| N=O | 300 | 10 |
| Benzène | 260 | 20 |
| Ar-NO ₂ | 280 | 700 |

II.2. Processus Photophysiques

Selon la mécanique quantique, l'énergie absorbée par une molécule peut contribuer à l'excitation vibrationnelle, rotationnelle et/ou électronique. Puisque les niveaux d'énergie pour l'excitation vibratoire et rotationnelle sont très proches, les molécules dans l'état fondamental sont une collection d'états avec différents niveaux de rotation et de vibration. L'excitation électronique peut se produire à partir de n'importe lequel de ces niveaux. Par conséquent, des molécules excitées (singulet ou triplet) peuvent également être créées à différents niveaux de rotation et de vibration¹⁰⁴. Il est habituel de décrire le devenir d'une molécule qui subit l'absorption de photons par le diagramme de Jablonski, qui est dessiné (pas à l'échelle) sur la base des niveaux d'énergie de la molécule (**Figure 10**).

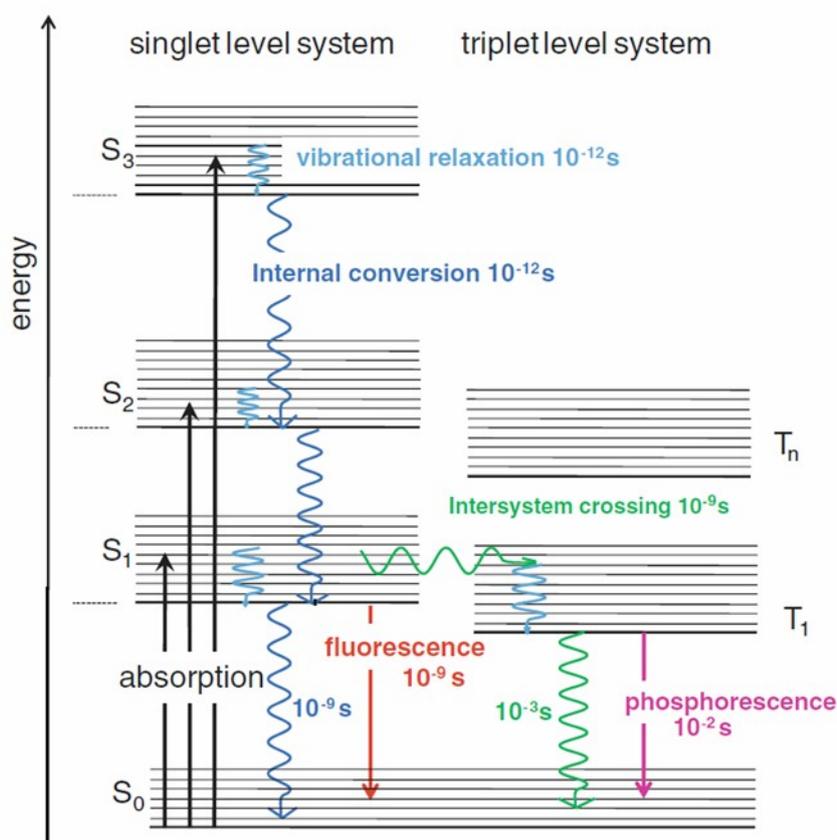


Figure 10 : Diagramme de Jablonski représentant les processus photophysiques typiques dans les molécules. Les constantes de temps données sont des ordres de grandeur typiques. Des déviations par rapport à ces valeurs typiques d'un ou deux ordres de grandeur peuvent être trouvées dans des systèmes spécifiques¹⁰⁹.

L'expression « diagramme de Jablonski » est communément utilisée pour désigner des diagrammes d'états du type de celui représenté dans la **Figure 10**. La communauté française préfère nommer de tels diagrammes d'après Perrin-Jabonski. Plusieurs auteurs ont utilisé des diagrammes d'états ou des termes similaires pour décrire l'émission de longue durée de vie observée à partir de solutions irradiées, mais aucun avant Lewis, Lipkin et Magel en 1941¹¹⁰ n'a attribué l'espèce métastable à l'état triplet des molécules organiques dissoutes. Des preuves fermes que les espèces émettrices étaient des molécules organiques normales dans un état triplet furent fournies par Terenin en 1943 et par Lewis et Kasha en 1944¹¹¹. Hutchison et Mangum¹¹² ont finalement obtenu en 1958 la preuve irréfutable de l'existence de l'état triplet d'une molécule organique.

Les états électroniques moléculaires sont représentés par des traits horizontaux en gras disposés verticalement pour indiquer les énergies relatives et ajoutés consécutivement en augmentant l'énergie, en commençant par l'état fondamental singulet S₀, suivi des états singulets excités S₁, S₂, etc. Les états vibrationnels représentés par des lignes fines ne sont

généralement pas affichés explicitement. Quand elles sont représentées comme sur la **Figure 10**, la ligne fine la plus basse de chaque état électronique représente le niveau d'énergie du point zéro ($v = 0$) de cet état. Les états d'une multiplicité donnée sont dessinés dans des colonnes séparées. Pour les molécules ayant un état fondamental singulet, la colonne de gauche représente les états des singulets et celle de droite les états du triplet. L'état du triplet le plus bas est noté T_1 , suivi de T_2 , T_3 , et ainsi de suite. La notation T_0 n'est pas utilisée ; elle représenterait une molécule à l'état triplet à l'état fondamental, or les molécules organiques à l'état fondamental sont des singulets¹¹³.

Dans l'état fondamental, en conséquence du principe de Pauli, les orbitales occupées contiennent 2 électrons de spins opposés et le spin total est nul. L'état est singulet et désigné par le symbole S_0 (à l'exception de l'oxygène moléculaire). Dans un état triplet, le moment angulaire de deux électrons non appariés est équivalent à un nombre quantique de spin égal à 1. En effet trois orientations spatiales différentes des spins peuvent être distinguées, la multiplicité de l'état est 3, d'où le terme état triplet. Lors de l'excitation, au moins deux électrons résideront dans des orbitales moléculaires différentes. Par conséquent, le principe de Pauli ne limite plus leur alignement mutuel de spin et les états singulets ainsi que les états triplets sont possibles¹⁰⁹.

Les processus photophysiques sont des transitions radiatives ou non radiatives par lesquelles les molécules passent d'un état électronique à un autre. Aucun changement structural ne se produit, bien que les longueurs et les angles des liaisons diffèrent généralement un peu dans les différents états électroniques. Les transitions radiatives sont associées à l'absorption ou à l'émission d'un photon et sont représentées par des flèches droites (\uparrow ou \downarrow), tandis que les transitions non radiatives ne sont associées à aucune émission et sont représentées par des flèches ondulées. Une transition vibronique est une transition entre deux états qui diffèrent à la fois par les nombres quantiques électroniques et vibratoires. Le terme vibronique est une fusion de vibration et d'électronique¹¹³. Dans ce qui suit sont décrits les différents phénomènes et transitions qui apparaissent dans la **Figure 10**.

- Absorption : L'absorption du rayonnement électromagnétique dans la plage UV-vis engendre toujours un état électroniquement excité, malgré la forte densité des états excités par vibration (et rotation) dans cette région. Les transitions vers les états vibrationnels à haute énergie par absorption de la lumière sont « interdites » (non observées); seules les transitions impliquant une excitation électronique présentent une probabilité appréciable, d'où le nom de spectre électronique. Après l'absorption

électronique, les états vibrationnels isoénergétiques sont impliqués dans les transitions non radiatives¹¹³.

- Transitions non radiatives : Suivons le sort d'une molécule après son excitation dans un état vibronique supérieur (c'est-à-dire excité électroniquement et vibrationnellement). L'excitation vibrationnelle signifie que la molécule est dans un état « chaud ». Dans un milieu condensé, il y a beaucoup de collisions entre la molécule et son environnement, et l'énergie vibratoire excédentaire est facilement transférée aux molécules « froides » du milieu. Ainsi, dans un ordre de grandeur typiquement de 10^{-12} s, la molécule a subi une *relaxation vibrationnelle* vers l'état électronique excité plus ou moins sans vibration. Une relaxation plus poussée nécessite la transformation intramoléculaire de l'énergie électronique en énergie vibratoire appelée *conversion interne*. La perte d'énergie électronique est accompagnée d'un changement important dans l'état de mouvement des noyaux et plus l'écart d'énergie électronique est grand plus cette transformation est difficile à réaliser (loi de l'écart énergétique). Les temps typiques pour les conversions internes entre les états excités supérieurs sont de l'ordre de 10^{-12} s. Puisque l'écart d'énergie entre S_1 et S_0 est généralement plus grand qu'entre les états supérieurs, la conversion interne $S_1 \rightarrow S_0$ est beaucoup plus lente, typiquement de l'ordre de 10^{-9} s. Une exception célèbre à ce comportement est le cas de l'azulène, où la conversion interne $S_2 \rightarrow S_1$ est beaucoup plus lente que celle de $S_1 \rightarrow S_0$. Ce cas reflète aussi la loi de l'écart énergétique, car l'écart énergétique $S_2 - S_1$ est exceptionnellement élevé dans ce cas. Il est à noter que ce phénomène ne peut avoir lieu qu'entre 2 états électroniques de même multiplicité¹⁰⁹. En plus de la relaxation vibrationnelle et la conversion interne, on peut définir : *Le croisement inter-système* qui est une transition isoénergétique sans radiation entre deux états électroniques de multiplicités différentes. Dans les molécules avec un état fondamental singulet, le croisement inter-système peut avoir lieu d'un état singulet vers un état triplet ou vice versa¹¹³.
- Transitions radiatives : Ces transitions se traduisent par le phénomène de photoluminescence. Ce phénomène est dû à une émission de lumière spontanée et non dirigée et ses caractéristiques spectrales sont spécifiques aux molécules émettrices, mais indépendantes de la longueur d'onde de la lumière absorbée. Si la molécule est excitée par une impulsion lumineuse très courte de moins d'une

nanoseconde, il est possible d'observer la décroissance de la photoluminescence dans le temps et de distinguer deux composantes de durée de vie très différente: une courte met en évidence *la fluorescence*, avec une durée de vie caractéristique de l'état S_1 et *la phosphorescence* qui a une longue durée de vie caractéristique de l'état T_1 ¹⁰⁹. Par conséquent, la lumière émise par phosphorescence a une longueur d'onde plus grande que la lumière incidente initiale et que celle de l'émission de fluorescence. La différence fondamentale entre la fluorescence et la phosphorescence réside dans la multiplicité des états électroniquement excités à partir desquels la luminescence a lieu: état singulet pour la fluorescence, état triplet pour la phosphorescence¹⁰⁴. D'un autre côté, une molécule excitée à l'état triplet, a le choix de revenir à l'état fondamental en subissant une réaction photochimique. Par conséquent, les processus photochimiques sont toujours en compétition avec les processus photophysiques qui finissent par restaurer le réactif dans l'état fondamental. Les photoréactions menant à de nouveaux produits ne peuvent être efficaces que si elles sont plus rapides que les processus photophysiques concurrents. Dans la partie suivante on développe les réactions photochimiques qui peuvent avoir lieu spécialement dans l'environnement¹⁰⁴.

II.3. Processus photochimiques

II.3.1. Principes

Sauf si l'énergie d'une molécule à l'état excité est perdue sous forme de chaleur ou d'émission de lumière, elle provoque divers types de réactions chimiques dans la molécule excitée considérées comme des processus photochimiques. Les processus photochimiques primaires sont des processus initiés à partir d'un état électroniquement excité afin de produire un photoproduit primaire chimiquement différent de la molécule mère¹¹³. La photodégradation est régie par 2 lois. La première est considérée comme qualitative et a été décrite par Grotthus-Draper. Cette loi établit qu'une molécule ne peut subir une réaction photochimique qu'après absorption de la lumière. La 2^{ème} loi est quantitative et connue sous le nom de Stark-Einstein. Celle-ci stipule qu'un processus photochimique est dû à l'absorption d'un seul photon¹¹⁴.

Les photo-réactions environnementales sont induites par la lumière du soleil, qui a un flux de photons significatif au-dessus de 295 nm dans le proche ultraviolet. Ces réactions se

produisent dans la partie superficielle des eaux de surface, à la surface du sol et dans l'atmosphère et sont souvent les principaux processus de transformation dans l'environnement. La photo-oxydation dans l'atmosphère, souvent initiée par le radical hydroxyle, contrôle la durée de vie de la plupart des composés organiques qui y sont présents¹¹⁵. La photodégradation dans l'environnement peut se produire par des mécanismes directs ou indirects. Dans la photodégradation directe, l'absorption d'un photon par le produit chimique entraîne le clivage ou le réarrangement de la liaison pour former de nouvelles espèces chimiques appelées photoproduits¹¹⁶. Seuls les produits chimiques ayant une absorbance UV supérieure à 290-295 nm peuvent subir une photodégradation directe en absorbant les rayons du soleil. La vitesse de phototransformation est conditionnée à la vitesse d'absorption des photons et au rendement quantique¹¹⁷.

Dans la photodégradation indirecte, la réaction se déroule entre une molécule à l'état fondamental et une autre excitée ou une espèce réactive produite photochimiquement. Il a été démontré que la photolyse, directe et indirecte, est un moyen significativement important de dégradation de nombreux micropolluants. La photodégradation de nombreux micropolluants, comme les pesticides ou les produits pharmaceutiques, été étudiée au cours des 3 dernières décennies soit dans les compartiments aquatiques¹¹⁸⁻¹²⁰, sur le sol et les plantes⁸⁴ ou dans l'air¹⁰³. On s'intéresse dans ce qui suit à mieux comprendre les différentes réactions photochimiques que les pesticides peuvent subir dans l'environnement et spécialement en solution (eau) et sur les surfaces des plantes.

II.3.2. Photodégradation des pesticides

Dans l'environnement, la photodégradation des molécules relève souvent de la somme de plusieurs réactions : la photodégradation directe due à l'absorption de lumière par la molécule elle-même et la photodégradation indirecte qui fait intervenir les autres molécules absorbantes présentes dans l'environnement immédiat de la molécule d'intérêt. La vitesse de photodégradation d'un polluant P est ainsi la somme de la vitesse de photolyse directe (v_d) et de la vitesse de phototransformation indirecte (v_i) :

$$\frac{-d[P]}{dt} = v_d + v_i Eq(1)$$

a) Photodégradation directe

L'importance de la photolyse par la lumière solaire dépend fortement des profils d'absorption UV du pesticide et du spectre d'émission de la lumière solaire. La capacité d'absorption de la lumière par une molécule dépend de l'existence de groupements chimiques appelés chromophores (**Tableau 3**). La plupart des pesticides possèdent ces groupements dans leurs structures (fonctions nitro, carbonyle, thiocarbonyl, noyaux aromatiques) (**Tableau 4**). Ceci facilite alors l'absorption d'un photon et rend la photodégradation directe possible¹²¹. L'énergie nécessaire pour dissocier les liaisons chimiques dans les molécules de pesticide varie habituellement entre 292 et 502 kJ.mol⁻¹⁸⁴. L'énergie de la lumière solaire varie entre 150-426 kJ.mol⁻¹ selon la longueur d'onde correspondante. En comparant alors cette énergie avec celle qui est nécessaire pour la dissociation d'une liaison moléculaire d'un pesticide, on trouve que la photolyse directe des pesticides par la lumière solaire est théoriquement possible et peut entraîner la dissociation de plusieurs liaisons chimiques. Cette dissociation peut se faire à l'état singulet ou après passage au triplet si ce dernier a une énergie suffisante. La photodégradation peut se faire par homolyse, hétérolyse ou photoionisation¹²² (**Schéma 1**).

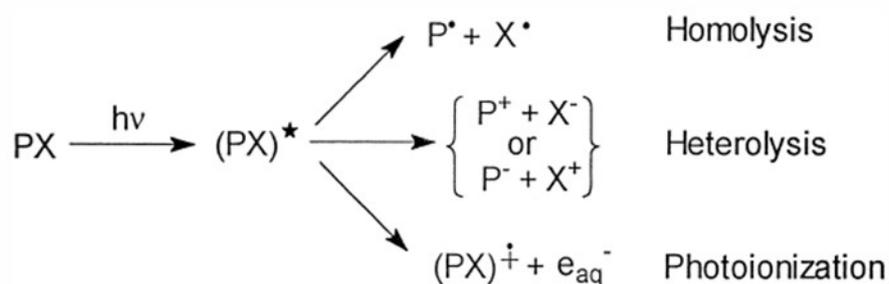
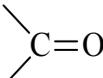
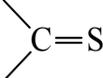
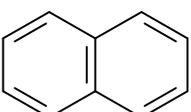
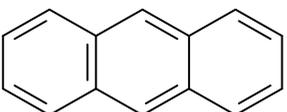


Schéma 1 : Evénements chimiques se produisant lors d'une photolyse directe¹²²

Noter que les processus chimiques indiqués dans le schéma 1 représentent les étapes primaires de la transformation photolytique d'un composé donné et que les produits de ces étapes primaires peuvent en outre réagir par des processus photochimiques, chimiques ou biologiques. Par conséquent, il peut être très difficile d'identifier et de quantifier tous les produits de transformation photochimique, en particulier dans les eaux naturelles ou dans les sols où une variété de réactifs possibles sont présents.

Tableau 4 : Quelques structures chimiques capables d'absorber la lumière solaire ¹²³

| Groupement absorbant | λ_{\max} (nm) | Coefficient d'absorption molaire (L. mol ⁻¹ .cm ⁻¹) |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------|
|  | 295 | 10 |
|  | 460 | faible |
| —N=N— | 347 | 15 |
| —NO ₂ | 278 | 10 |
|  | 311 270 | 250 5000 |
|  | 360 | 6000 |
|  | 440 300 | 20 1000 |

a1) Vitesse de phototransformation

La vitesse (R) d'un procédé de photolyse directe est le produit de la vitesse d'absorption de la lumière (photons) (I_a) par le composé P et du rendement quantique ϕ ou de l'efficacité de la réaction considérée :

$$R = \frac{-d[P]}{dt} = \Phi * I_a \text{ Eq (2)}$$

a2) Vitesse d'absorption de la lumière, I_a

La vitesse d'absorption de la lumière à la longueur d'onde λ est définie par la loi de Beer-Lambert qui relie l'intensité de la lumière transmise, I_T, aux capacités d'absorption du milieu (Eq 3) :

$$\log \frac{I_0}{I_T} = A_{\lambda} = \varepsilon(\lambda) * (P) * l \text{ Eq (3)}$$

$$I_a = I_0 (1 - 10^{-A_{\lambda}}) \text{ Eq (4)}$$

avec l : trajet optique dans la solution traversée en cm ; ϵ : coefficient d'absorption molaire du composé P à la longueur d'onde λ en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$, (P) la concentration du pesticide donnée en $mol \cdot L^{-1}$, I_0 intensité de lumière incidente, I_a l'intensité de lumière absorbée par la molécule est donnée par **Eq (4)**.

Deux cas limites peuvent se présenter alors :

- Si l'absorbance A_λ est très petite (< 0.05), $(1 - 10^{-A})$ est approximable à $2,3 \times A_\lambda$. De ce fait, I_a devient proportionnel à la concentration de P et R est du premier ordre par rapport à la concentration de P (**Eq 2**).
- Si l'absorbance A est très grande, on aura $I_a \sim I_0$ et R est d'ordre 0 par rapport à la concentration de P (**Eq 2**).

D'autre part, puisqu'on évoque ici le cas de la photodégradation directe des pesticides dans l'environnement, la lumière incidente est polychromatique. Dans ce cas l'intensité de la lumière absorbée I_a est la somme des I_a aux différentes longueurs d'ondes (**Eq 5**):

$$I_a = \sum_{\lambda_1}^{\lambda_n} I_a^\lambda = \sum_{\lambda_1}^{\lambda_n} [I_a^\lambda (1 - 10^{-A_\lambda})] \quad \text{Eq(5)}$$

Afin de quantifier au mieux la photodégradation directe d'un composé chimique, il faut connaître tous les paramètres figurant dans les équations ci-dessus. Le coefficient d'absorption molaire ϵ de la molécule de pesticide peut être mesuré expérimentalement en mesurant l'absorbance d'une solution contenant le composé P à une concentration connue en utilisant l'**Eq (3)**.

a3) Rendement quantique, Φ

Le rendement quantique de photodégradation renseigne sur l'efficacité des photons à induire ce processus. Il se calcule selon :

$$\Phi = \frac{\text{nombre de molécules de P photodégradées}}{\text{nombre total de photons absorbés par P}} = \frac{R}{I_a}$$

Cette notion de rendement quantique permet d'évaluer l'efficacité de la photolyse d'une molécule indépendamment des conditions du milieu d'étude (type du solvant, existence d'autres substances, pH etc..) et surtout du flux de photons¹²¹.

La plupart des pesticides présentent des bandes d'absorption de grande intensité dans le domaine UV-C. Leur absorption des rayons UV-B est souvent moins importante et l'absorption des rayons UV-A est considéré comme assez rare dans le cas des pesticides¹¹⁸.

Donc, la photodégradation directe des pesticides par le rayonnement solaire peut être d'importance limitée¹¹⁹, d'où la nécessité d'envisager et d'étudier les photodégradations indirectes ou sensibilisées.

b) Photodégradation indirecte

La photodégradation indirecte peut avoir lieu de 2 façons distinctes :

- Lorsque la molécule à l'origine de la phototransformation du pesticide est régénérée dans la réaction et ne disparaît donc pas, on parle de photosensibilisation ou de sensibilisation ;
- Lorsque la molécule à l'origine de la phototransformation du pesticide est consommée dans la réaction et donc disparaît, on parle de réaction photoinduite⁸⁴.

La photosensibilisation est l'un des moyens les plus courants et les plus pratiques pour générer des états excités, en particulier des états triplets, spécialement lorsque l'excitation à une longueur d'onde souhaitée ne peut pas être atteinte ou qu'elle ne conduit pas à l'état excité désiré¹²⁴. Les bons photosensibilisateurs doivent absorber fortement dans la région d'intérêt, peupler efficacement l'état excité triplet et avoir des états excités triplets de durées de vie suffisamment longues. Le **Tableau 5** énumère certains des photosensibilisateurs courants et leurs applications typiques.

Tableau 5: Exemples de molécules photosensibilisatrices⁸⁴

| Photosensibilisateur | λ_{\max} d'absorption (nm) | Utilisation |
|----------------------|------------------------------------|-------------------------------------------|
| Acétone | 300 | Synthèse |
| Anthraquinone | 390 | Synthèse |
| Rose de bengale | 550 | Production de ¹ O ₂ |
| Riboflavin | 440,470 | Photosensibilisateur naturel |
| Chlorophylle a | 460 | Photosynthèse |
| Substances humiques | 300-500 | Photosensibilisateur naturel |

Les sensibilisateurs sont souvent supposés être non réactifs et fonctionner de manière catalytique, mais cela n'est pas toujours vrai; de nombreux sensibilisants se décomposent ou subissent une transformation lorsque les mélanges réactionnels subissent une irradiation. Les composés carbonylés tels que l'acétone, l'acétophénone et la benzophénone ont souvent un état excité triplet à haute énergie et sont fréquemment utilisés comme sensibilisant. Dans ce

qui suit on s'intéresse aux réactions photosensibilisées par transfert d'énergie, par oxydo-réduction et par l'intermédiaire de l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$).

b1) Photosensibilisation par transfert d'énergie

Après l'absorption de la lumière, le photosensibilisateur (Sens) peut transférer l'énergie de son état excité au polluant qui peut alors subir différentes réactions¹²²(Schéma 2). Pour un transfert d'énergie efficace, le processus doit être exergonique. Le niveau d'énergie de l'état excité de l'accepteur doit être inférieur au niveau d'énergie de l'état excité du donneur¹²⁴. Plus une molécule reste longtemps dans un état excité, plus grande est la probabilité qu'elle transfère de l'énergie à une molécule voisine appropriée. Par conséquent, le transfert d'énergie à partir d'un triplet est le type le plus commun et le plus important de transfert d'énergie impliqué dans la photolyse des pesticides⁸⁴. Une réaction typique pour un sensibilisateur à partir de son état excité triplet et transférant de l'énergie à une molécule de pesticide P à l'état fondamental singulet peut être écrite comme suit :



Une exception à ce cas général est la formation d'oxygène singulet qui va être développée ultérieurement. Une fois créé, l'état triplet de P peut subir des réactions qui auraient eu lieu si P avait accepté un photon directement et subi une transition intersystème. Le sensibilisateur est régénéré après que l'étape de transfert d'énergie soit terminée et peut donc être réutilisé (Schéma 2). L'oxygène est un excellent capteur de triplet et il entre donc en compétition avec le transfert d'énergie. Par conséquent ce type de réaction est souvent réalisé en déoxygenant le milieu¹²².

b2) Photosensibilisation par oxydo-réduction

Dans le cas des réactions photosensibilisées par oxydo-réduction, le sensibilisateur est capable soit d'arracher un atome d'hydrogène au polluant en l'oxydant (1) soit de lui transférer un atome d'hydrogène en le réduisant (2).



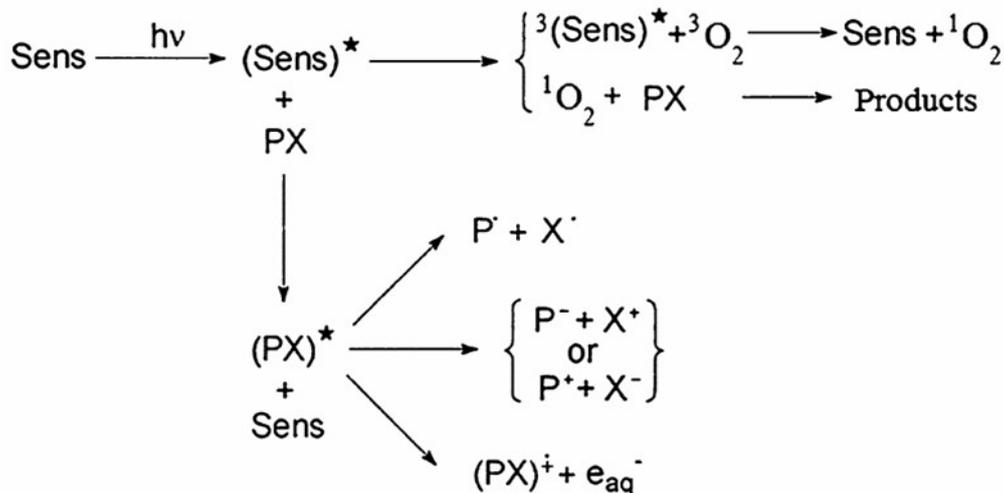
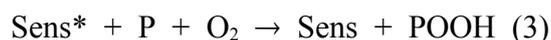


Schéma 2 : Événements chimiques se produisant lors d'une photolyse photosensibilisée impliquant un transfert d'énergie ¹²²

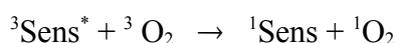
La photosensibilisation par oxydation peut se faire selon deux types de réactions I et II. Dans les réactions de type I, le sensibilisateur arrache au polluant un atome H selon la réaction (1) ou un électron, puis, il transfère l'atome H ou l'électron à l'oxygène pour produire l'anion superoxyde ou le radical hydroperoxyde qui donnera ultérieurement du peroxyde d'hydrogène ou se combinera avec le radical issu de P (3). Le sensibilisateur est régénéré et le bilan de la réaction s'écrit :



Les réactions de type II font intervenir l'oxygène singulet ¹O₂. Ce cas va être développé dans la partie suivante¹²⁵.

b3) Via l'oxygène singulet

Une exception importante à la règle selon laquelle la sensibilisation fait passer les capteurs de leur état fondamental singulet à leur état excité triplet est le cas de l'oxygène, qui est triplet dans l'état fondamental (³O₂). Le sensibilisateur dans son état triplet réagit avec l'oxygène moléculaire pour produire une molécule d'oxygène singulet (¹O₂), une forme d'oxygène électroniquement excité¹⁰⁴:



L'oxygène moléculaire est un capteur d'énergie très efficace. Les constantes de vitesse de réaction atteignent souvent 10⁹ M⁻¹.s⁻¹ dans l'eau. Comme toutes les espèces excitées,

l'oxygène se désactive pour redonner sa forme à l'état fondamental. La durée de vie de l'oxygène singulet est fortement dépendante du milieu réactionnel, elle peut être alors mille fois supérieure en phase gazeuse qu'en phase liquide¹²⁵. Les temps de vie de cette espèce diffèrent énormément d'un solvant et un autre : 3 - 4 μ s dans l'eau, 71 μ s dans l'acétonitrile, 160 - 410 μ s dans le chloroforme et 26-87 ms dans des solvants halogénés comme CCl₄. Ceci implique que la réactivité de l'oxygène singulet varie aussi en fonction du milieu¹²⁶. Ces différences peuvent être exploitées pour prouver l'intervention de l'oxygène singulet dans les réactions d'oxydation.

La mesure expérimentale de ¹O₂ est basée sur sa réaction avec des sondes moléculaires, le plus souvent des dérivés du furane tels que le 2,5-diméthylfurane, l'alcool furfurylique ou le diphénylisobenzofurane. D'autres réactifs possibles comprennent des dérivés hétérocycliques tels que l'imidazole ou l'histidine, des sulfures, des oléfines encombrées (telles que l'adamantylidène-adamantane) ou des éthers vinyliques. Dans tous les cas, la présence de ¹O₂ est déduite soit de la disparition du réactif ajouté, soit de la formation de produits de réaction connus¹²⁷.

De nombreux cas d'oxydation de pesticides par l'oxygène singulet ont été décrits dans la littérature^{128,129}.

b4) Photosensibilisation dans l'environnement

De nombreuses molécules dans l'environnement jouent le rôle de sensibilisateurs, certaines d'entre elles sont énumérées dans le **Tableau 5**. On peut citer en plus les flavonoïdes et les alkyl cétones à longue chaîne qui font partie des composants de la cire des feuilles des plantes. A la surface du sol, on considère que la photosensibilisation par des substances humiques peut avoir lieu⁸⁴. La matière organique dissoute (DOM) est un mélange hétérogène de molécules organiques naturelles pouvant servir de photosensibilisateurs dans les eaux naturelles¹³⁰. La matière organique dissoute colorée (cDOM) largement présente dans le milieu aquatique absorbe la lumière et produit une série d'espèces réactives qui peuvent dégrader un produit chimique. Ces espèces réactives comprennent les radicaux hydroxyles (\cdot OH), l'oxygène singulet (¹O₂), les radicaux carbonates (\cdot CO₃⁻), les états excités triplest (³DOM^{*}), les électrons hydratés¹³¹. La dégradation des polluants se fait à la fois par le biais de radicaux (photoinduction) et d'espèces excitées (photosensibilisation). Cependant il est habituel avec ce type de chromophores de parler de photosensibilisation.

La photolyse des ions nitrate et nitrite, de l' H_2O_2 et du fer peut également produire des radicaux hydroxyles et participer à la phototransformation des pesticides dans les eaux naturelles¹³². Si la cDOM peut augmenter les taux de photodégradation des pesticides dans certains cas, elle peut également le diminuer en entrant en concurrence avec les pesticides vis-à-vis des photons à absorber¹³³, en agissant comme antioxydant¹³⁴⁻¹³⁶ ou en servant de puits pour les espèces réactives. La photodégradation d'un composé dans une eau naturelle est la somme de nombreux processus directs et indirects et est un phénomène assez complexe¹³².

c) Procédés de traitement des pesticides par du rayonnement UV

En raison des impacts négatifs des pesticides, il y a nécessité de les contrôler. Initialement, des techniques conventionnelles ont été utilisées pour le traitement des pesticides. L'adsorption a été largement appliquée mais une telle approche était juste une ségrégation des pesticides plutôt qu'un traitement. De plus, plusieurs techniques comme la biodégradation, l'ozonation et la chloration des sols¹³⁷ ou des résidus de pesticide dans certains fruits¹³⁸⁻¹⁴⁰ et dans l'eau¹⁴¹ ont également été rapportées, mais les résultats n'étaient pas assez satisfaisants. Les méthodes photochimiques qui reposent principalement sur l'utilisation du rayonnement lumineux comme source d'énergie constituent une alternative aux approches traditionnelles. Diverses méthodes de traitement photochimique des pesticides sont utilisées (**Figure 11**). Ces méthodes peuvent faciliter leur minéralisation¹⁴². Les techniques photochimiques sont principalement proposées pour le traitement des pesticides dans les eaux naturelles¹⁴³⁻¹⁴⁶. Le traitement des pesticides dans l'air et autres milieux est moins étudié¹⁴⁷.

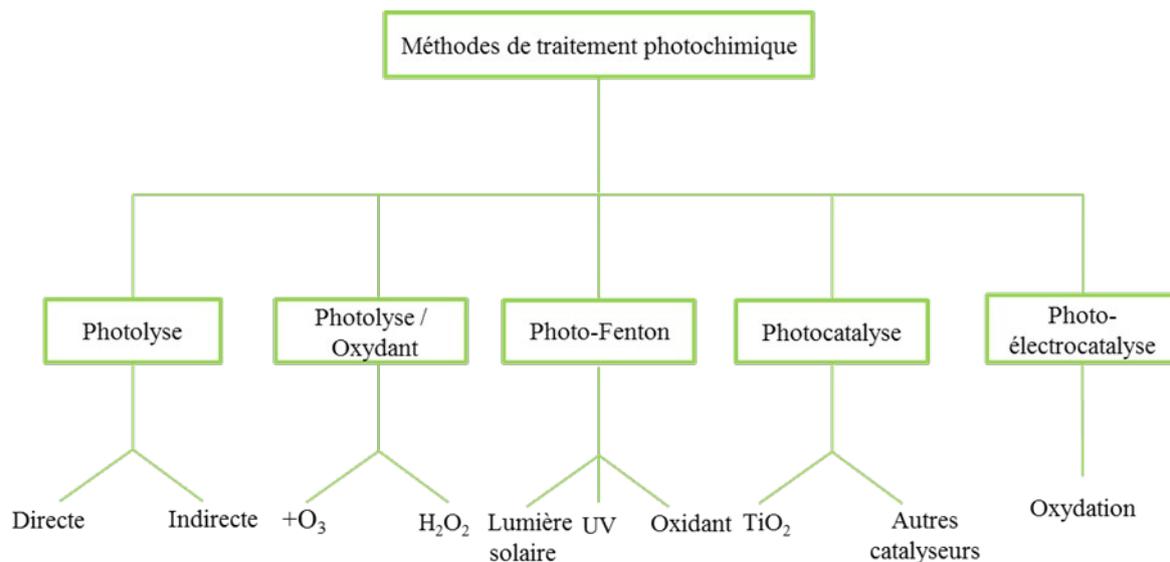


Figure 11: Techniques photochimiques de traitement des pesticides¹⁴².

La lumière utilisée dans les techniques de phototraitement des pesticides est soit UV (UVC, UVB ou UVA) soit lumière solaire (naturelle). Hirahara et al.¹⁴⁸ ont mené une étude pour comparer l'efficacité des UVA, UVB et UVC pour l'élimination de certains pesticides en solution aqueuse et sur solide (plaque en quartz). Ils ont signalé que l'efficacité du rayonnement UV pour la photoxydation des pesticides varie. Par exemple, l'irradiation UVC du disulfoton à une concentration initiale de 5 mg/L conduit à une dégradation complète en une heure ce qui était 5 fois plus rapide que celle obtenue en utilisant des UVB ou UVA. Les UVC et les UVB ont éliminé le fenthion sur solide, en solution aqueuse en moins d'une heure, mais il a fallu plus de 8 h pour l'irradiation avec des UVA. Les auteurs ont attribué les résultats à la forte absorbance des pesticides dans la gamme de longueur d'onde des UVC par rapport à celles des UVB et UVA. Les irradiations UVC ont été également trouvées plus efficaces dans la dégradation des photoproduits du disulfoton et du fenthion. De plus, la photolyse par rayonnement UVC (monochromatique 253.7 nm) s'est révélée extrêmement efficace pour dégrader les pesticides comme l'atrazine, le diuron, l'alachlor, le pentachlorophénol et le chlorfenvinphos dans l'eau¹⁴⁹. D'autres études confirment l'efficacité des rayonnements UVC dans la dégradation des pesticides principalement dans l'eau^{149,150}. Ces résultats ne sont pas étonnants étant donné que :

- La plupart des molécules de pesticides absorbent fortement dans le domaine UVC.
- Les photons du domaine UVC sont très énergétiques. Les énergies correspondantes (426 à 593 kJ/mol) sont capables de casser la plupart des liaisons moléculaires dans les composés organiques (carbone-carbone, carbone- hydrogène, carbone-halogène, oxygène-oxygène etc...) ¹⁰⁴.

Nos études de photoréactivité ont porté sur 4 pesticides pulvérisés dans les serres agricoles à Menyeh (thiophanate méthyl, bifénazate, imidaclopride et acétamipride). Ils ont été irradiés avec un rayonnement solaire simulé pour évaluer leur photodégradabilité en milieu serricole et avec une lumière UVC monochromatique dans un objectif de décontamination. L'acétamipride qui n'absorbe pas au-delà de 290 nm n'a été irradié qu'à 254nm. Les expériences ont été menées en solution aqueuse, sur des supports solides ainsi que sur des échantillons de légumes pour voir l'effet du support et du mélange et pour estimer l'efficacité des rayonnements UVC dans le traitement des résidus de pesticides sur différentes matrices.

III. Principaux pesticides étudiés

III.1. Imidaclopride

III.1.1. Définition et propriétés physico-chimiques

L'imidaclopride (**Figure 12**) est un insecticide largement utilisé appartenant à la famille des néonicotinoïdes. C'est le premier néonicotinoïde qui a été mis sur le marché au début des années 1990¹⁵¹. Les néonicotinoïdes affectent le système nerveux des insectes par l'intermédiaire des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine. Ces pesticides sont largement utilisés car ils agissent comme des agonistes puissants, activant les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine des insectes. Cependant, l'effet n'est pas aussi important chez les vertébrés. Ils sont donc hautement toxiques pour les insectes, mais sont généralement considérés comme modérément nocifs pour les vertébrés^{152,153}. Les néonicotinoïdes sont soupçonnés d'être des contributeurs possibles du déclin de la population des abeilles au cours des dernières décennies en raison de ce que l'on appelle le trouble d'effondrement des colonies¹⁵⁴. Pour cela, en 2013, la Commission Européenne a sévèrement restreint l'utilisation de trois néonicotinoïdes (clothianidine, imidaclopride et thiaméthoxame) pour protéger les abeilles (le règlement (UE) numéro 485/2013)¹⁵⁵. En mai 2018, la Commission a adopté le règlement afin d'interdire complètement les utilisations à l'extérieur de l'imidaclopride, de la clothianidine et du thiaméthoxame¹⁵⁵. Seules les utilisations de ces insecticides dans les serres agricoles permanentes ou pour le traitement des semences destinées à être utilisées dans des serres agricoles sont autorisées. La culture obtenue doit encore rester dans une serre permanente pendant tout son cycle de vie¹⁵⁶. L'imidaclopride est appliqué sur les plantes de diverses manières, notamment sur la peau des plantes, par prétraitement des semences ou par applications au sol, etc¹⁵⁷.

Les propriétés physico-chimiques de l'imidaclopride sont rassemblées dans le **Tableau 6**¹⁵⁸.

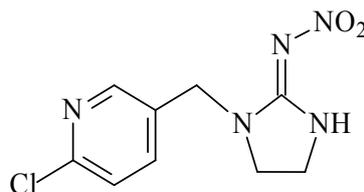


Figure 12 : Structure chimique de l'imidaclopride

Tableau 6 : Propriétés physico-chimique de l'imidaclopride

| | |
|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Nom chimique | (<i>E</i>)-1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)- <i>N</i> -nitroimidazolidin-2-ylideneamine |
| Formule chimique | C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O |
| Masse molaire (g/mol) | 255.7 |
| Solubilité dans l'eau (mg /L ⁻¹) à 20°C | 610 |
| Point de fusion (°C) | 144 |
| Log K _{ow} | 0.57 |
| Pression de vapeur à 20°C (mPa) | 4 x 10 ⁻⁷ |

L'imidaclopride est un pesticide soluble dans l'eau (**Tableau 6**) et possédant un faible potentiel de volatilisation (pression de vapeur égale à 4 x 10⁻⁷mPa). L'imidaclopride est un pesticide stable à l'hydrolyse avec une durée de demi vie (t_{1/2}) supérieure à 30 jours dans une eau à pH=7¹⁵⁹.

III.1.2. Photodégradation

L'imidaclopride peut se répartir dans les différentes matrices environnementales après l'application et il peut subir des modifications pour produire de nouveaux composés ¹⁶⁰. Par exemple, dans une étude en laboratoire, la demi-vie de l'imidaclopride dans le sol était de 997 jours en l'absence de lumière¹⁶¹. Les différents produits de décomposition de l'imidaclopride dans le sol étaient l'urée, l'oléfine et l'acide 6-chloronicotinique^{162,163} (**Figure 13**). L'humidité, le pH, la présence ou l'absence de lumière et les microbes du sol, sont responsables de la transformation de l'imidaclopride. Plusieurs études ont révélé que la photodégradation est l'une des principales voies de dégradation de l'imidaclopride¹⁶⁴. La photodégradation de l'imidaclopride a été largement étudiée sur solide, sur surface végétale, dans plusieurs solvants et sous différentes conditions d'irradiations (**Tableau 7**).

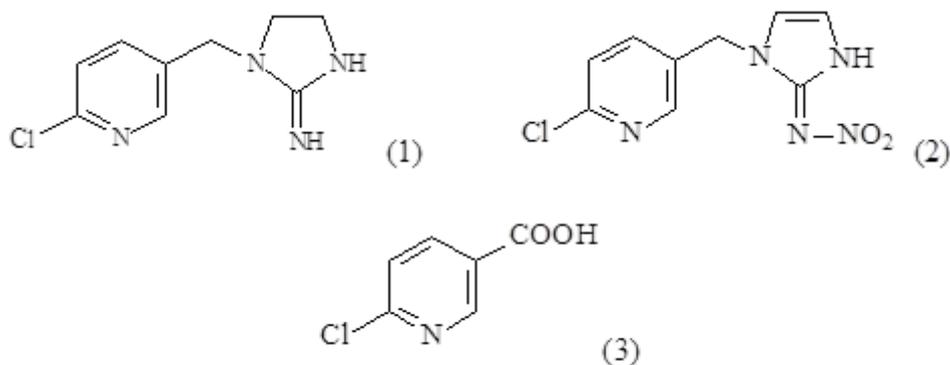


Figure 13 : Structure chimique de l'imidaclopride urée (1), l'imidaclopride oléfine (2) et l'acide 6- chloronicotinique (3)

Plusieurs photoproduits représentés dans la **Figure 14** ont été également identifiés sur des surfaces végétales ou après irradiation de l'imidaclopride dans d'autres solvants. Les photoproduits 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 et 12 ont été retrouvés sur les cuticules des tomates isolées après irradiation dans un simulateur de lumière solaire. Les mêmes photoproduits ont été retrouvés après irradiation avec la lumière solaire mais avec un photoproduit supplémentaire qui est le 13¹⁶⁵. D'autre part, la photodégradation de l'imidaclopride dans des solvants organiques (cyclohexane, cyclohexène, éthanol, méthanol et 2-propanol) a conduit principalement à la formation du photoproduit 2. Même les photoproduits identifiés après irradiation en solution aqueuse diffèrent selon les conditions d'irradiations^{164,166}. Il est à noter que les photoproduits de l'imidaclopride peuvent être confondus avec les métabolites formés dans les légumes et les fruits puisqu'ils peuvent avoir les mêmes structures. Par exemple dans les tomates, les molécules 2, 3, 11 ou 12 peuvent être formés par photolyse et par métabolisation¹⁶⁷.

Ces données bibliographiques démontrent que la photodégradation de l'imidaclopride ainsi que la formation de ces produits de photodégradation sont influencés par la nature du solvant et du support et des conditions d'irradiations.

Tableau 7 : Données bibliographiques sur la photodégradation de l'imidaclopride

| Substance étudiée ^{référence} | Irradiation sur solide / support d'étude | Irradiation en solution/ solvant d'étude | Conditions d'irradiation | Taux de conversion / temps | t _{1/2} |
|------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|----------------------------|------------------|
| Imidaclopride pur ¹⁶⁸ | Cristallisoirs en verre | - | Lumière solaire | - | 16,1 H |
| | | | Lumière monochromatique $\lambda = 254 \text{ nm}$ | | 13,5 H |
| Imidaclopride pur ¹⁶⁹ | - | Eau | Lumière polychromatique $\lambda \geq 290 \text{ nm}$ | - | 1,2 H |
| | - | 50% eau, 50% ACN | Simulateur de lumière solaire | - | 3 H |
| Imidaclopride pur ¹⁶⁵ | Cuticules de tomates isolées | - | Simulateur de lumière solaire | 23% en 24 H | - |
| | | | Lumière solaire | 24% en 24 H | |
| Imidaclopride formulé, Confidor ¹⁶⁵ | Cuticules de tomates isolées | - | Lumière solaire | 23,3% en 24 H | - |
| | Surface d'une tomate | - | | 43,8 % en 24 H | |
| Imidaclopride pur ¹⁶⁵ | Surface d'une tomate | - | Simulateur de lumière solaire | 33% en 24 H | - |
| | | | Lumière solaire | 70% en 24 H | |
| Imidaclopride pur ¹⁶⁶ | - | Eau | Lumière polychromatique $\lambda > 280 \text{ nm}$ | - | 10,2 H |
| | | | Lumière polychromatique $\lambda > 210 \text{ nm}$ | - | 0,21 H |
| Imidaclopride pur ¹⁷⁰ | - | Méthanol, ethanol, 2-propanol, cyclohexène et cyclohexane | Lumière polychromatique $\lambda > 280 \text{ nm}$ | 100 % en 5 H | - |
| Imidaclopride pur ¹⁶⁴ | - | Eau | Lumière monochromatique $\lambda = 254 \text{ nm}$ | - | 4,7-18 minutes |
| Imidaclopride pur ¹⁷¹ | - | Eau de rizière | Lumière polychromatique $280\text{nm} < \lambda < 315 \text{ nm}$ | - | 24,2 H |

Les photoproduits de l'imidaclopride décrits dans la littérature^{164-166,169,170} après irradiation dans l'eau sont représentés dans la **Figure 14**.

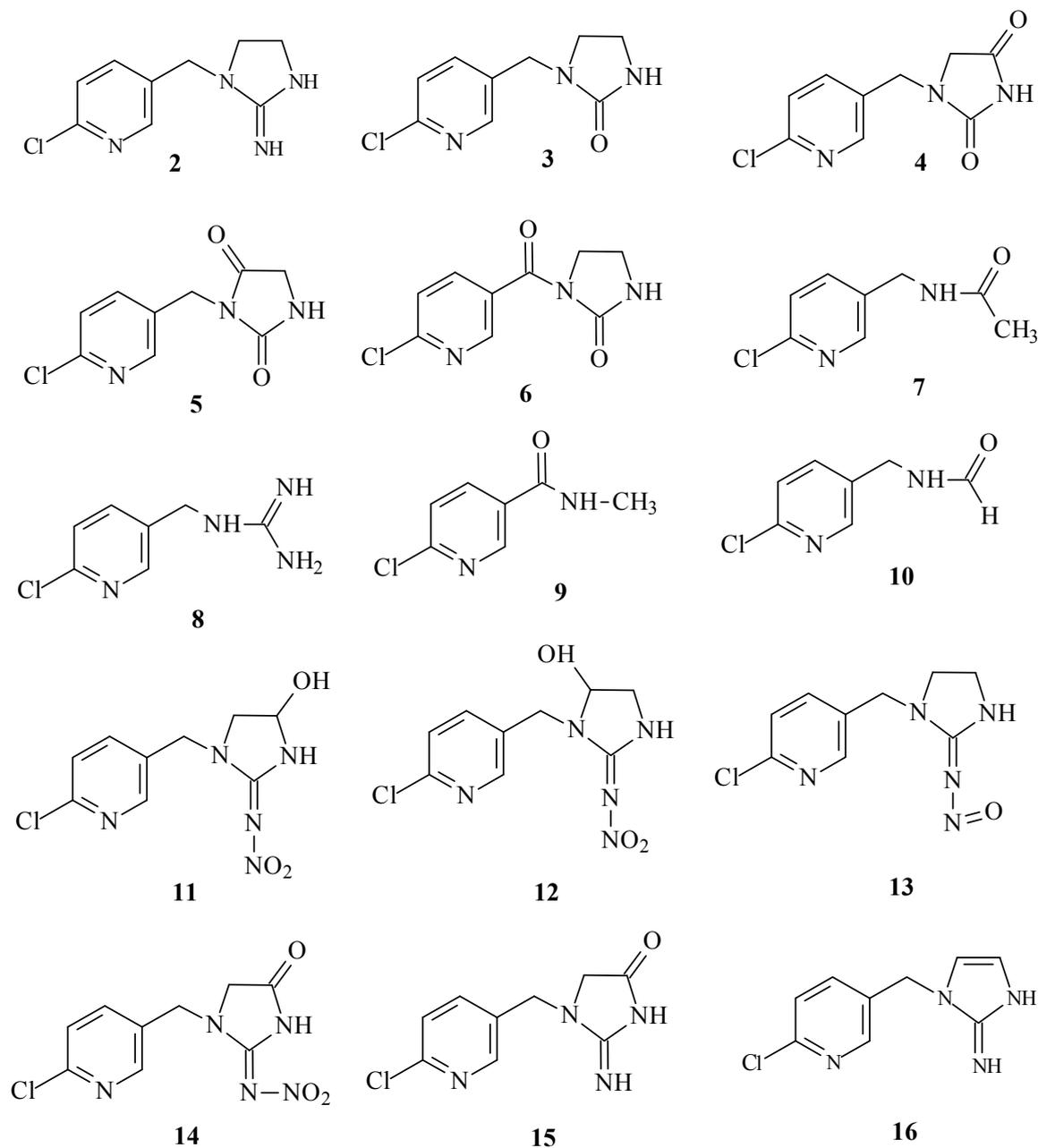


Figure 14 : Structures chimiques des produits de phototransformation de l'imidaclopride décrits dans la littérature après irradiation dans l'eau

III.2. Thiophanate Méthyle

Le thiophanate méthyle (TM) (**Figure 15**) est un fongicide appartenant à la famille des benzimidazoles. Il a été introduit pour la première fois sur le marché en 1970¹⁷². Ce fongicide a un large spectre d'action et peut être utilisé pour son activité protectrice ou curative. Contrairement à plusieurs fongicides appartenant à la même famille (bénomyl, thiophanate d'éthyle, carbendazime), le thiophanate méthyle est toujours autorisé en Europe. Sa toxicité a été étudiée de manière intensive au début des années 70, et il a été conclu qu'aucun effet toxique significatif n'était induit par la molécule^{173,174}. Pourtant, des études récentes ont également montré que le TM induit des effets réprotoxiques¹⁷⁵. L'utilisation intensive de cette molécule pour la protection des cultures a conduit à sa détection, souvent au-delà des limites maximales de résidus, dans plusieurs échantillons commerciaux tels que le colza, les fruits, les jus de fruits et les vins¹⁷⁶⁻¹⁸⁰. Les propriétés physico-chimiques de TM sont présentées dans le **Tableau 8**¹⁸¹.

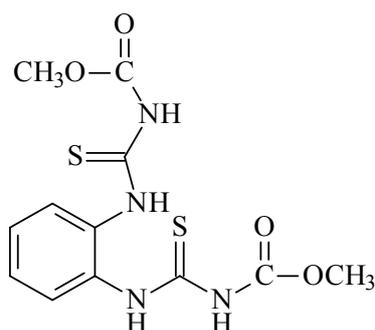


Figure 15 : Structure chimique de TM

Tableau 8 : Propriétés physico-chimiques de TM

| | |
|---------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| Nom chimique | (diméthyl 4,4 - (o-phénylène) bis (3-thioallophanate)) |
| Formule chimique | C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S ₂ |
| Masse molaire (g/mol) | 342,39 |
| Solubilité dans l'eau (mg /L ⁻¹) à 20°C | 18,5 |
| pK _a à 25°C | 7,28 |
| Log K _{ow} | 1,4 |
| Pression de vapeur à 20°C (mPa) | 9 x 10 ⁻³ |

TM est peu soluble dans l'eau et possède un faible potentiel de volatilisation (**Tableau 8**). Il a été montré qu'il subit une photolyse dans différentes matrices et sur différents supports: verre, papier filtre, feuilles de plantes et dans l'eau^{182,183}. Dans une étude de la photodégradation en solution aqueuse¹⁸⁴, les auteurs ont rapporté qu'environ 60% de TM est transformé après 2 jours d'exposition solaire, ce qui correspond à une durée totale d'ensoleillement de 22 heures. Le principal photoproduit identifié était le méthylbenzimidazol-2-ylcarbamate (MBC) (**Figure 16**) également connu pour être le principal métabolite de TM. Sur des sols exposés au soleil, les molécules ont présenté une oxydation du S sur un des deux fragments C = S et la formation de MBC¹⁸⁵. Sur des plaques de verre, le thiophanate méthyle a été rapidement phototransformé par conversion d'une des fonctions C = S en C=O et par la cyclisation intramoléculaire de MBC. Sur les feuilles de vigne, les feuilles de pomme et les plants de haricot, le principal photoproduit détecté après exposition à la lumière solaire était aussi MBC^{186,187}.

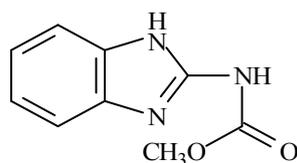


Figure 16 : Structure chimique de MBC

Une étude récente des photoproduits de TM générés dans l'eau et sur la peau du raisin et des tomates a été réalisée par analyse HPLC/MS/MS¹⁸³. Dans cette étude, neuf photoproduits ont été identifiés après irradiation dans l'eau (**Figure 17**). Les expériences MS-MS ont démontré clairement que la molécule avec $m/z = 192$ ne correspond pas à MBC comme déclaré dans plusieurs études préalables^{186,187}, mais à la molécule (I) de la **Figure 17**.

Dans cette même étude, le photoproduit (I) ainsi que TM ont été identifiés après irradiation du TM sur des tomates et des raisins. Un autre photoproduit (II) a été retrouvé sur la peau des raisins seulement et pas dans leurs pulpes. De plus il a été montré que la capacité de TM et de (II) à traverser la peau du fruit dépend fortement de la composition et de la matrice : plus élevé pour (II) dans le raisin et plus élevé pour TM dans les tomates. Des analyses de toxicité ont indiqué que le photoproduit (I) est plus toxique que TM. Il a une valeur de LC50 (concentration létale médiane) 7 fois plus petite que celle du TM¹⁸³.

Enfin, des données sur les mécanismes de photolyse de TM ainsi que de formation des photoproduits sont presque inexistantes. Pour cette raison, cette molécule nous a semblé intéressante à étudier dans cette thèse

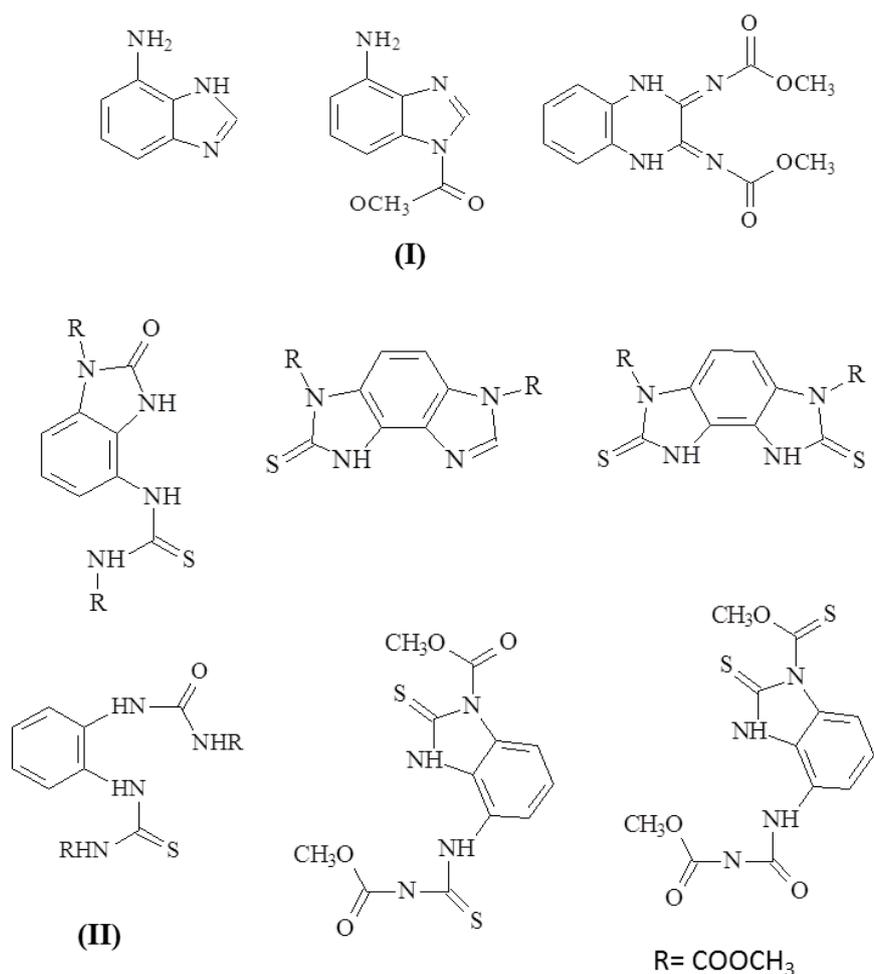


Figure 17 : Structures chimiques des photoproduits de TM identifiés par HPLC/MS/MS dans l'eau¹⁸³.

III.3. Bifénazate

Le Bifénazate (BIF) (**Figure 18**) est un insecticide utilisé pour lutter contre les acariens phytophages sur différents types de cultures telles que les pommes, les pêches, les poires, les prunes, les raisins, le coton et les fraises. Il est également utilisé pour le traitement des aubergines, concombres, courgettes, melons, pastèques et sur les plantes à fleurs et ornementales¹⁸⁸.

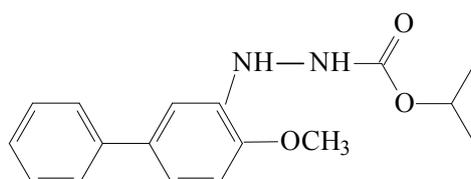


Figure 18 : Structure chimique du BIF

Tableau 9 : Propriétés physico-chimiques du BIF¹⁸⁹

| | |
|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Nom chimique | 2- (4-méthoxybiphényl-3-yl) hydrazino formiate d'isopropyle) |
| Formule chimique | C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₃ |
| Masse molaire (g/mol) | 300,35 |
| Solubilité dans l'eau (mg /L ⁻¹) à 20°C | 2,06 |
| Log K _{ow} | 3,4 |
| Pression de vapeur à 20°C (mPa) | 1,33 x 10 ⁻² |

BIF est très peu soluble et instable dans l'eau (**Tableau 9**). La stabilité du BIF dans les solutions aqueuses est énormément affectée par le pH, le BIF n'étant stable qu'en milieu acide. Le temps nécessaire pour atteindre 50% de dégradation dans l'eau ($t_{1/2}$) est compris entre 1,6 H à pH 9 et 9,1 jours à pH 4¹⁹⁰. Le devenir du BIF dans l'environnement a été très faiblement étudié. Certaines études ont porté sur l'absorption et la dissipation du BIF dans les tomates, les haricots rouges et le thé^{191,192}.

Les études du comportement photochimique du BIF se limitent à un rapport publié par la FAO (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture) qui a décrit la photodégradation du BIF dans l'eau après irradiation par une lumière solaire simulée¹⁹⁰. Dans cette étude, le BIF a rapidement disparu par irradiation, le $t_{1/2}$ étant compris entre 0,72 et 0,8 jours à pH 5¹⁹⁰. Le principal produit de photodégradation est le BIF-diazène (**Figure 19**)^{188,190,193}. Le BIF-diazène hydroxylé, le 3,4-dihydroxybiphényle, le 3-hydroxy-4-méthoxybiphényle, le 3-amino-4-méthoxybiphényle et le 4-méthoxybiphényle ont été trouvés comme photoproduits mineurs (**Figure 19**)¹⁹⁰.

Le BIF-diazène était aussi le produit principal de dégradation du BIF à l'obscurité. Cette dégradation donne lieu aux mêmes produits que ceux représentés **Figure 19**, à l'exception du BIF-diazène hydroxylé et du 3-amino-4-méthoxybiphényl. Comme le BIF, le BIF-diazène était très instable en milieu aqueux basique avec un $t_{1/2}$ de 0,28 H à pH 9 et de 58 H à pH 4^{190,193}. Le BIF-diazène a également subi une photolyse rapide avec un $t_{1/2}$ de 1,5 jour sous lumière solaire^{190,193}.

Il est surprenant que les données dans la littérature sur la photolyse de BIF soient très limitées. La photodégradation de ce pesticide n'a été étudiée que dans l'eau. Pour cette raison,

la photodégradation de cette molécule dans plusieurs solvants et sur différents supports nous a semblé intéressante à examiner.

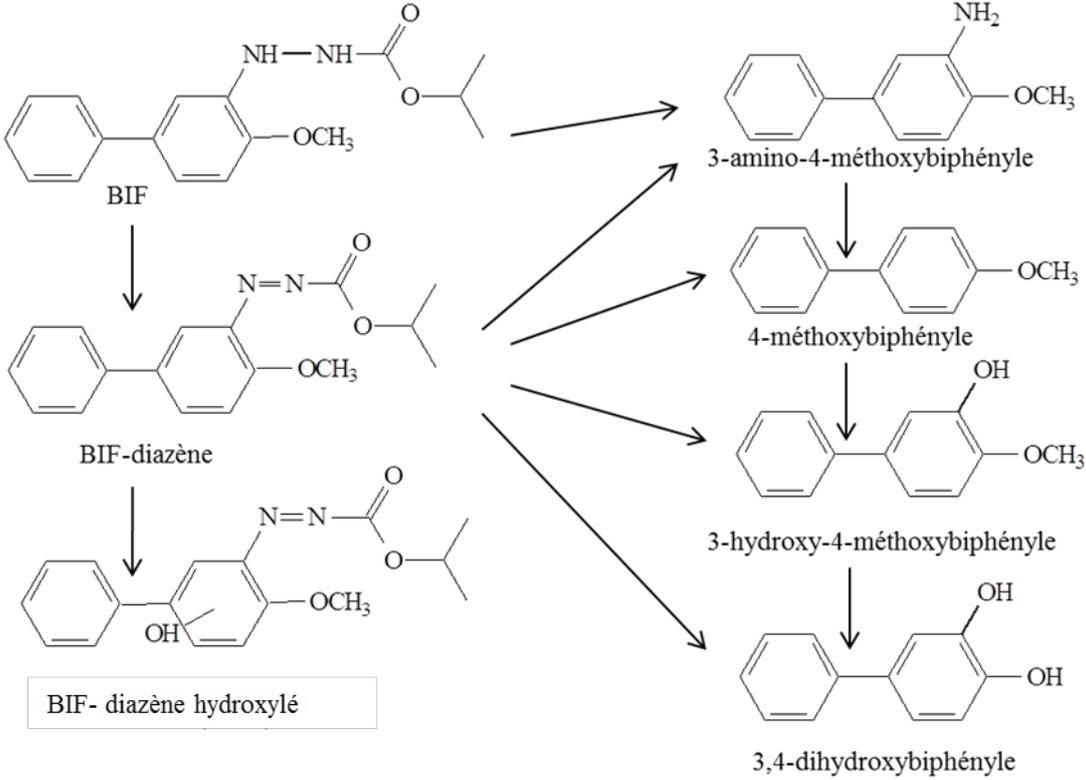


Figure 19 : Voies de photodégradation de BIF dans l'eau avec une lumière solaire simulée ¹⁹⁰

CHAPITRE II

Matériels et méthodes

I. Produits chimiques utilisés

Les pesticides purs

Bifénazate (BIF), Pestanal, Sigma Aldrich

Thiophanate méthyle (TM), 99,3%, Pestanal, Sigma Aldrich

Imidaclopride, 98%, Pestanal, Sigma Aldrich

Acétamipride, Pestanal, Sigma Aldrich

Les pesticides formulés

Topsin, poudre mouillable de 500 g contenant 70% de TM. Cette formulation a été fournie par l'agriculteur qui pulvérise au Liban Nord.

Les photosensibilisateurs et autres substrats

Quinoxaline, 99 %, Sigma Aldrich

2,4,6-Triméthylphénol, 99,9%, Sigma Aldrich

Anthracène, 99%, Alfa Aesar

La cire commerciale

Cire de paraffine, Acros Organics

II. Etudes en solution

II.1. Préparation des solutions

Les études en solution ont été réalisées soit dans des solvants organiques (ACN, MeOH) ou dans l'eau. L'ACN a été principalement utilisé pour l'étude des pesticides instables ou à solubilités limitées dans l'eau. L'eau utilisée pour la préparation des solutions était une eau ultra pure purifiée par osmose inverse RIOS 5 et un appareil MilliQ (Millipore) qui contrôle l'eau par mesure de sa résistivité ($\geq 18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$). Cette eau est très peu chargée en carbone organique ($\text{COD} < 0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Le pH était ajusté quand c'était nécessaire en ajoutant quelques gouttes de l'acide perchlorique (HClO_4) pour obtenir un $\text{pH} = 4$ ou quelques gouttes d'une solution de phosphate de sodium monobasique à 0,04 M pour obtenir un $\text{pH}=5,7$. La mesure des pH a été effectuée à l'aide d'un pH-mètre JENWAY 3310 équipé d'une électrode combinée de type Orion.

L'oxygénation et la désoxygénation de certaines solutions ont été nécessaires pour l'étude de l'effet de l'oxygène sur les processus de phototransformation. La saturation en oxygène a été effectuée en faisant barboter un flux d'oxygène dans la solution pendant 15 minutes avant l'irradiation et la désoxygénation a été réalisée en faisant passer un flux d'argon dans la solution pendant 15 minutes avant l'irradiation. Dans les 2 cas, les cellules contenant les solutions ont été fermées par des bouchons rapidement après le barbotage afin d'empêcher la rentrée de l'air ou fermées grâce à un robinet. Les cellules utilisées étaient en quartz et avaient 1 cm d'épaisseur.

II.2. Dispositifs d'irradiations

II.2.1. Irradiations avec de la lumière monochromatique

a) A l'aide d'un monochromateur

Ces irradiations ont été spécifiquement réalisées afin de pouvoir calculer les rendements quantiques des réactions photochimiques. Dans ce cas, le faisceau de photons est homogène et parallèle, ce qui rend possible la mesure de I_0 . L'intensité lumineuse absorbée I_a peut alors être obtenue et le rendement quantique du processus mis en jeu calculé.

Irradiations à 304 nm, 313nm et 334 nm :

Le dispositif utilisé pour les irradiations monochromatiques est constitué d'une lampe à mercure haute pression équipée d'un monochromateur Oriel. La lampe est reliée à un système de refroidissement, ils sont tous les deux allumés 20 minutes avant utilisation, afin d'avoir un flux de photons bien stable et homogène pour l'ensemble du volume de la solution à irradier. Les irradiations ont été réalisées à 313 nm pour le BIF (voir Chapitre V), et à 304 et 334 nm pour le TM (voir Chapitre IV). Les solutions ont été irradiées dans des cellules en quartz de 1 cm d'épaisseur équipées de bouchons en téflon et les degrés de conversion de chaque pesticide ont été mesurés par analyse HPLC-DAD.

Irradiations à 546 nm :

Les irradiations monochromatiques à 546 nm ont été effectuées en utilisant une lampe Xénon à haute pression équipée d'un monochromateur Oriel. Un filtre spécifique a été utilisé pour éliminer les longueurs d'ondes inférieures à 365 nm (harmonique due au réseau).

Mesure des flux de photons

Un radiomètre QE65000 de marque Ocean Optics équipé d'une fibre optique a été utilisé pour mesurer les flux de photons I_0 . Les valeurs sont rassemblées dans le **Tableau 10**:

Tableau 10 : Intensités des flux photoniques lors des irradiations sur les bancs

| λ (nm) | 313 | 304 | 334 | 546 |
|--------------------------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| I_0 (/10 ¹⁴ photons. cm ⁻² .s ⁻¹) | 2,8 ± 0,1 | 1,2 ± 0,1 | 1,9 ± 0,1 | 7,5 ± 0,5 |

b) En enceinte monochromatique 254 nm

L'irradiation à 254 nm a été réalisée dans le but d'étudier l'effet du rayonnement UVC sur la vitesse de photodégradation de diverses molécules de pesticides en solution majoritairement aqueuse. Le dispositif utilisé (**Figure 20**) est constitué d'une enceinte à base circulaire équipée de 6 tubes germicides 15W. Les solutions à irradier sont placées dans un tube en quartz de 50 mL de capacité et un diamètre interne de 2,5 cm. Le refroidissement est assuré par un ventilateur qui maintient la température à 24°C environ. Afin d'établir les cinétiques de photolyse, des volumes de chaque solution ont été prélevés à différents temps d'irradiations puis analysées par HPLC-DAD.

II.2.2. Irradiations avec de la lumière polychromatique

c) Irradiations en enceinte polychromatique

Dans les 2 cas qui suivent, le schéma de chaque enceinte est semblable à celui présenté dans la **Figure 20**. Un réacteur cylindrique en Pyrex de 20 mL de capacité et d'un diamètre interne de 1,4 cm est utilisé pour l'irradiation des solutions dans ces enceintes. Les cinétiques de photolyse ont été obtenues en prélevant un volume de chaque solution à différents temps d'irradiation puis en les analysant par HPLC-DAD.

Irradiations avec une lumière de longueur d'onde 300-450 nm

Le dispositif d'irradiation est constitué d'une enceinte à base circulaire équipée de six tubes fluorescents (TLAD 15W05 Philips). Ces six tubes émettent une lumière polychromatique avec des longueurs d'ondes allant de 300 nm à 450 nm. Le spectre d'émission des tubes utilisés (**Figure 21**) est similaire au spectre d'émission solaire jusqu'à 365nm. Les irradiations en solution ont été réalisées dans cette enceinte pour avoir des résultats représentatifs de la photolyse dans les conditions naturelles.

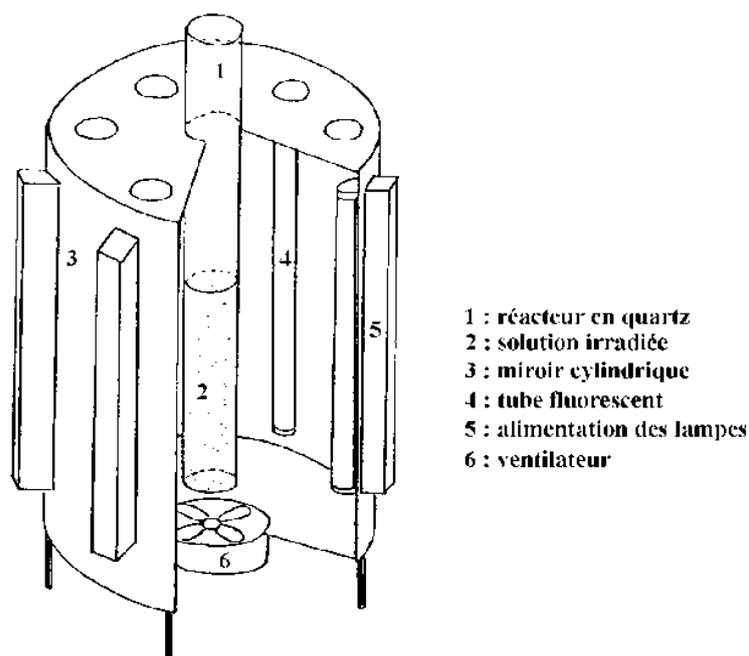


Figure 20 : Schéma de l'enceinte d'irradiation à 254 nm

Irradiations avec une lumière de longueur d'onde 280-350 nm

Pour accélérer certaines réactions, quelques irradiations ont été réalisées dans une autre enceinte équipée de six tubes fluorescents DUKE GL 20E émettant une lumière polychromatique entre 280 nm et 350 nm. Le spectre d'émission des tubes utilisés dans ce dispositif est représenté dans la **Figure 21**. Les spectres d'émission ont été enregistrés avec un radiomètre QE65000 Ocean Optics.

II.2.3. Photolyse Laser Flash

La spectroscopie d'absorption transitoire a été utilisée pour étudier les mécanismes réactionnels de deux pesticides : BIF et TM. L'appareillage utilisé est constitué d'un spectrophotomètre LKS.60 (Applied Photophysics) couplé à un laser Nd :YAG, de marque Quanta-Ray GCR-130-1 équipé d'un cristal tripleur ou quadrupleur de fréquence. Les solutions sont excitées dans une cellule en quartz de 1 cm de côté par le faisceau laser (durée du flash inférieure à 10 ns) puis analysées par spectroscopie UV-visible à l'aide d'une chaîne constituée d'une lampe xénon de 150 W pulsée et d'un monochromateur positionnés à 90° du faisceau d'excitation. La procédure est détaillée dans la référence Bonnichon et Richard (1998)¹⁹⁴. L'absorbance des espèces transitoires est enregistrée longueur d'onde par longueur

d'onde. Dans la plupart des cas, les solutions ont été désoxygénées car l'oxygène peut désactiver certaines espèces transitoires. Les expériences effectuées permettent de mesurer les spectres d'absorption transitoires des espèces produites suite à l'excitation et leurs constantes de vitesse de réaction.

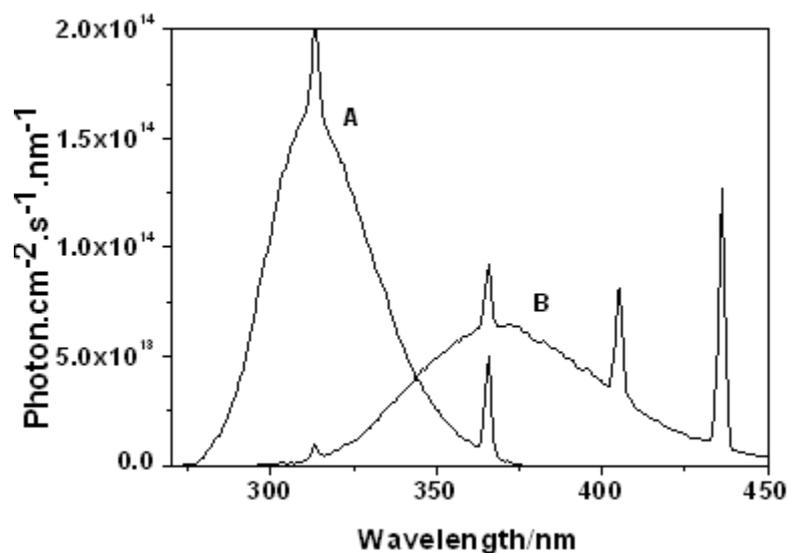


Figure 21 : Distribution spectrale de la lumière reçue à l'intérieur du réacteur Pyrex. A: tubes polychromatiques 280-380 nm; B: tubes polychromatiques 300-450 nm

II.2.4. Actinométrie

Le peroxydisulfate de potassium a été utilisé comme actinomètre chimique pour évaluer les produits $\epsilon \times \phi$ des transitoires formés à partir de BIF. La formation de radicaux sulfates a été suivie à 450 nm ($\epsilon \times \phi = 1900 \pm 150 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Des solutions désoxygénées de BIF ayant la même absorbance à 266 nm que celle de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ont été utilisées. La désoxygénation a été obtenue en faisant barboter de l'argon directement dans la cellule.

II.2.5. Détection et quantification de H_2O_2

Le peroxyde d'hydrogène a été quantifié en utilisant un protocole adapté de Miller et al (2002)¹⁹⁵, basé sur la formation du dimère fluorescent de l'acide (p-hydroxyphényl) acétique. En bref, trois solutions ont été préparées. La solution A était constituée de 20,25 ml de Na_2HPO_4 (0,04 M), 4,75 ml de NaH_2PO_4 (0,04 M) et 3 mg de peroxydase qui ont été complétés à 50 ml avec de l'eau pure. La solution A a été conservée à 4°C et renouvelée chaque jour. La solution B consistait en une solution aqueuse d'acide 4-hydroxyphénylacétique (10^{-3}

M). La solution C a été une solution mère de H₂O₂ à 0,1 mM préparée par dilution volumétrique de 30% (w/w) de H₂O₂. Cette solution a été utilisée pour obtenir la courbe d'étalonnage. 2 mL de A, 4 mL de B et 120 µL de la solution irradiée ou de la solution C ont été mélangés. Le dimère fluorescent a été détecté par fluorescence ($\lambda_{exc} = 330$ nm et $\lambda_{exc} = 408$ nm). Pour éliminer les interférences possibles avec les peroxydes (ROOR et ROOH), les solutions considérées comme blancs ont été des solutions irradiées qui ne contiennent pas de H₂O₂. Ces solutions sans H₂O₂ ont été préparées en ajoutant 120 µL de catalase (1 mg dans 1 mL d'eau ultra pure) aux solutions de TM irradiées. Pour la courbe d'étalonnage de H₂O₂, le blanc a été fait sur une solution initiale de TM contenant de la catalase.

III. Dépôt et irradiations des pesticides sur solide

III.1. Dépôt des pesticides sur support solide

III.1.1. A la surface des poivrons verts

a) Préparation des morceaux de poivrons à irradier

Les poivrons verts utilisés sont bio. Ils ont été achetés dans un supermarché à Clermont Ferrand-France. Avant toute utilisation, la totalité de la pièce de poivron vert a été rincée avec de l'eau distillée ultra pure puis laissée pour 30 min jusqu'à séchage total. Le poivron vert a ensuite été coupé en petits morceaux de 2 cm² chacun (**Figure 22**). Chaque groupe de 3 morceaux de poivron vert constitue un point d'analyse. Deux répliquas ont été réalisés pour chaque temps d'irradiation (six morceaux de poivron vert).



Figure 22 : Six morceaux de poivron sur lesquels les pesticides sont déposés et irradiés

b) Application des pesticides

Les solutions de pesticides déposées sur les poivrons verts ont été préparées dans l'ACN. Le volume total déposé sur chaque 3 pièces de poivron était de 100 µL pour tous les pesticides étudiés. Ce volume a été déposé à l'aide d'une micropipette automatique de type Eppendorf sous forme de 20 gouttelettes de 5 µL chacune. Les 20 gouttelettes ont été réparties

sur 3 morceaux de poivrons : deux morceaux sur lesquels sont déposées 7 gouttelettes et un morceau avec 6 gouttelettes (**Figure 23**). Une fois la solution déposée à la surface du poivron vert, le solvant a été évaporé totalement sous un ventilateur. En général le temps nécessaire à l'évaporation total était de 60 minutes pour l'ACN. On obtient alors un dépôt solide de pesticides qui a été irradié.



Figure 23 : Un morceau de poivron vert sur lequel sont déposées 7 gouttelettes de 5 μL chacune d'une solution de pesticide

III.1.2. A la surface des films de cire

a) Réalisation des films de cire

La paraffine est un mélange d'alcane constitués de 20 à 40 atomes de carbone¹⁹⁶. C'est le cas des cires épicuticulaires chez certains fruits et légumes qui sont essentiellement formés d'alcane^{197,198}. Par conséquent, les cires de paraffine peuvent être un bon modèle des cires épicuticulaires. Plusieurs expériences d'irradiation de pesticides ont été menées sur des films de cire de paraffine afin d'être le plus représentatif possible des conditions naturelles.

Les films de cire ont été préparés dans des cristallisoirs jetables en polyéthylène de 9 cm^2 . Une masse de 1 g de cire de paraffine a été déposée dans chaque cristallisoir et chauffée dans une étuve à 95°C pour 60 minutes jusqu'à fusion totale. Après fusion, la paraffine a été laissée à température ambiante pour refroidir. Le film de cire obtenu après refroidissement présentait environ 1 mm d'épaisseur (**Figure 24**).

b) Application des pesticides

Les solutions de pesticides déposées sur les films de cire ont été préparées dans l'ACN. Le volume total déposé sur chaque film était de 100 μL . Ce volume a été déposé à l'aide d'une micropipette automatique de type Eppendorf sous forme de 20 gouttelettes de 5 μL chacune ou de 50 gouttelettes de 2 μL chacune. Une fois la solution déposée, l'ACN a été mis à évaporer totalement sous un ventilateur durant 120 minutes. C'est donc un dépôt solide, a priori sec, qui a été irradié.



Figure 24 : Film de paraffine de 1mm d'épaisseur après dépôt de 100 μL d'une solution de pesticide

III.1.3. A la surface des cristallisoirs en verre

Des solutions de pesticides ont été déposées dans des cristallisoirs en verre (**Figure 25**). Les solutions déposées ont été préparées dans l'ACN, sauf pour le TM dont les solutions utilisées ont été préparées dans l'eau pour quelques expériences et dans l'ACN dans d'autres pour savoir l'effet du solvant sur la vitesse de la photolyse de cette molécule. Le volume total déposé dans chaque cristallisoir était de 100 μL pour tous les pesticides étudiés. Ce volume a été déposé à l'aide d'une micropipette automatique de type Eppendorf sous forme de 20 gouttelettes de 5 μL chacune. Une fois la solution déposée, le solvant a été évaporé totalement à l'aide d'un ventilateur. En général le temps nécessaire à l'évaporation totale était de 60 minutes pour l'ACN et de 12 heures pour l'eau, ce qui justifie l'utilisation de l'ACN dans la plupart des expériences. C'est le dépôt solide des molécules de pesticides qui a été irradié.



Figure 25 : Dépôt d'une solution de pesticide dans un cristallisoir en verre

III.1.4. A la surface des films en plastique

a) Préparation des films en plastique

Les films de plastique utilisés sont les mêmes films que ceux qui servent à couvrir les serres agricoles au Liban Nord. Un grand film de plastique de 1 m^2 a été ramené du Liban Nord et coupé d'un paquet neuf qui n'avait jamais été utilisé. Le film a été découpé en des petits films de 2 cm^2 qui ont été utilisés dans les expériences d'irradiation (**Figure 26**). Les films ont été très bien rincés avec de l'eau distillée et séchés avant utilisation.



Figure 26 : Films de plastique de 2 cm²

b) Application des pesticides

Le dépôt des solutions sur les films de plastique a été réalisé avec une micropipette manuelle en appliquant 2 gouttes de 10 μ L chacune sur chaque film de plastique. Les solutions de pesticide déposées ont été préparées dans l'ACN. Une fois les volumes déposés le solvant a été laissé à évaporer totalement sous un ventilateur pendant 60 minutes.

III.2. Irradiations des pesticides sur solide

Deux dispositifs d'irradiation ont été spécifiquement conçus pour l'irradiation des dépôts solides de pesticides : le simulateur de lumière solaire et un dispositif assurant l'irradiation des pesticides avec un rayonnement UVC monochromatique de 254 nm.

III.2.1. Simulateur de la lumière solaire

Le simulateur de la lumière solaire est une source lumineuse ayant une distribution spectrale très proche du rayonnement solaire. Ce dispositif est un Suntest CPS (Atlas) équipé d'une lampe à arc xénon et d'un filtre qui coupe les radiations lumineuses de longueurs d'onde inférieures à 290 nm (**Figure 27**). La puissance de l'appareil a été fixée à 500 W.m⁻² dans nos conditions expérimentales. Le suntest est relié à un système de réfrigération qui maintient la température du plateau sur lequel les échantillons sont déposés à 10°C. Le refroidissement de la lampe est assuré par une ventilation. Une plaque en quartz est utilisée pour couvrir les échantillons au cours de l'irradiation afin de les protéger du flux d'air de la ventilation. Des pesticides déposés sur les films de cires, sur les poivrons et sur les films en plastique ont été irradiés dans ce simulateur de lumière solaire.

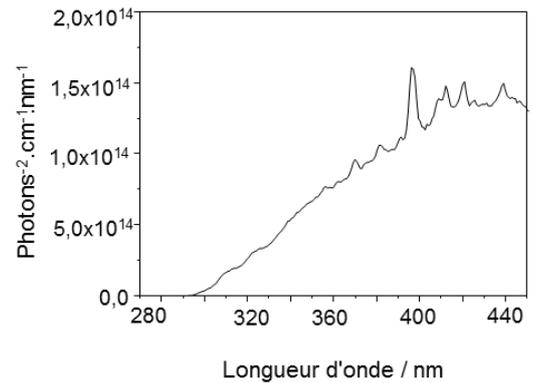
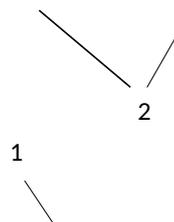


Figure 27 : Photographie du suntest utilisé et distribution spectrale de sa lampe

III.2.2. Irradiation avec une lumière monochromatique à 254 nm

Les échantillons ont été irradiés dans un dispositif conçu spécifiquement pour l'irradiation des échantillons solides avec une lumière UVC monochromatique. Ce dispositif consistait en une grande boîte en bois dans laquelle a été placé un porte échantillon et deux lampes germicides (**Figure 28**). 24 échantillons peuvent être placés simultanément dans le porte échantillon. La boîte en bois peut être fermée pour empêcher le rayonnement UVC dangereux pour les yeux de sortir à l'extérieur au cours des irradiations. L'emplacement du porte échantillon a été repéré pour que toutes les irradiations se déroulaient exactement dans les mêmes conditions. Le flux de photons a été mesuré pour les 24 trous qui se trouvent dans le porte échantillon et il a été trouvé homogène sur toute la surface. Le flux I_0 délivré par les 2 lampes germicides et reçu par les échantillons était de 2×10^{15} photons. $\text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Des pesticides déposés sur les cristallisoirs en verre et à la surface de poivrons verts ont été irradiés dans ce dispositif. Le but principal de ces expériences était de mesurer la vitesse de photodégradation des dépôts de pesticides solides sous une lumière UVC.



1: Porte échantillon
2: Deux lampes germicides

Figure 28 : Dispositif d'irradiation des échantillons solides à 254 nm

III.3. Rinçage des échantillons solides

III.3.1. Rinçage des films de cire et des cristallisoirs en verre

Les échantillons irradiés ont été prélevés à différents temps pour pouvoir établir une courbe de disparition de chaque pesticide. Des tests de récupération effectués sur des dépôts non irradiés sur films de cire et sur verre ont montré que 2 mL d'ACN permettaient une excellente récupération des composés avec des efficacités de $96\% \pm 5\%$. Par conséquent, le rinçage de tous les échantillons a été effectué avec 2 mL d'ACN sous agitation manuelle du cristallisoir pour 30 secondes. Cette méthode de récupération a été destructive. Afin de pallier aux erreurs de mesure, deux répliques ont été analysés pour chaque temps d'irradiation. Les volumes récupérés ont été ensuite analysés par HPLC-DAD et quelques uns par HPLC-MS pour identifier les photoproduits.

III.3.2. Rinçage des films de plastique et des poivrons verts

Les échantillons de films de plastique et des poivrons verts ont été tous les deux rincés avec la même technique. Chaque 3 petits morceaux de poivrons verts, qui constituaient ensemble un temps d'irradiation, ont été plongés dans un tube de centrifugation de 15 mL contenant 2 mL d'ACN (**Figure 29**). Le tube a été ensuite très bien fermé et agité manuellement pendant 2 minutes. Pour les films en plastique, la même technique a été adaptée mais le volume d'ACN utilisé était de 1 mL. Cette méthode de récupération détruisait

l'échantillon. Deux répliques ont été analysés pour chaque temps d'irradiation afin de réduire les imprécisions des mesures. L'efficacité de récupération est de $98\% \pm 7\%$. Les analyses des volumes récupérés ont été réalisées par HPLC-DAD et puis HPLC-MS.



Figure 29 : Rinçage des poivrons verts avec 2 mL d'ACN

III.4. Volatilisation, diffusion et dégradation thermique

Pour estimer les taux de volatilisation et de diffusion des pesticides au cours des irradiations, des expériences de contrôle ont été menés à l'obscurité. La volatilisation a été mesurée pour les échantillons maintenus à l'obscurité sur film de cire, cristalliseur en verre et film de plastique. Ce phénomène a été trouvé négligeable pour les molécules de pesticides étudiées dans les conditions expérimentales. La diffusion mesurée pour les échantillons conservés à l'obscurité sur les poivrons verts était négligeable pour toutes les molécules sauf pour le BIF. 14% de la quantité de BIF initiale déposée sur poivron vert a été transformée pendant 3 H à l'obscurité. La concentration de référence (t_0) correspondant à l'échantillon non irradié, a été préparée dans les mêmes conditions que les échantillons irradiés et rincés juste après évaporation du solvant.

IV. Méthodes analytiques

IV.1. Spectroscopie UV-visible

IV.1.1. En solution

Les spectres d'absorption des pesticides ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre Cary Varian 3 à double faisceau parallèle. La précision en absorbance est de $\pm 0,002$.

IV.1.2. En solide

Les spectres UV-visible des films de plastique ont été enregistrés entre 250 et 800 nm avec un spectromètre d'absorption UV-visible UV2600 équipé d'une sphère d'intégration (Shimadzu). La précision de l'appareil est de $\pm 0,002$ en absorbance. Les films de polymère donnent généralement lieu à une transmission diffuse importante. La sphère d'intégration a alors pour rôle de permettre à mesurer la transmission diffuse, et non pas seulement la transmission régulière.

IV.2. Spectroscopie de fluorescence

Les spectres de fluorescence ont été enregistrés sur un spectrofluorimètre Varian Cary Eclipse.

IV.3. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

L'évolution quantitative des quantités de pesticides au cours des irradiations a été évaluée à l'aide d'une chaîne HPLC Shimadzu NEXERA XR HPLC équipée d'un passeur d'échantillon, d'une pompe et couplée à un détecteur UV-visible à barrettes de diodes. Les analyses ont été effectuées en phase inverse. La séparation des composés est réalisée sur une colonne Macherey Nagel EC100/2 NUCLEODUR Polartec, 100 mm \times 2,1 mm, 5 μ m. Une précolonne de phase identique a été ajoutée. Le débit du solvant dans la colonne a été fixé à 0,25 ml/min et le volume d'injection à 10 μ L pour toutes les analyses. Les conditions chromatographiques utilisées pour les divers pesticides sont listées dans le **Tableau 11**.

Tableau 11 : Conditions HPLC pour les analyses effectuées

| Pesticide | Elution | Longueur d'onde de détection (nm) | Temps de rétention (min) |
|------------------------------------|------------|-----------------------------------|--------------------------|
| Extraits des échantillons naturels | Gradient 1 | - | - |
| Imidaclopride | Gradient 2 | 270 | 6,8 |
| BIF | Gradient 2 | 266 | 13 |
| TM | Gradient 2 | 266 | 8,8 |
| Acétamipride | Gradient 2 | 254 | 7,3 |

Pour les 2 gradients la phase mobile était constituée de l'eau et d'ACN. Les pourcentages d'ACN pour le gradient 1 sont présentés dans le **Tableau 12**. La composition de la phase éluante du gradient 2 était similaire à celle du gradient 1 mais le temps d'analyse était

réduit à 21 minutes. Le pourcentage d'ACN a été augmenté de 55% à 100% pendant 5 minutes et maintenu sur cette valeur pour 2 minutes seulement.

Tableau 12 : Pourcentage d'ACN en fonction du temps pour le gradient 1

| Gradient 1 | Temps (minutes) | % ACN |
|-------------------|--------------------|----------|
| | 0.1-5 | 15 à 55 |
| | 5-10 | 55 |
| | 10-21 | 55 à 100 |
| | 21-26 | 100 |
| | 26-27 | 100 à 15 |
| | 27-30 | 15 |

IV.4. Spectrométrie de masse

L'identification des photoproduits a été réalisée par analyse des échantillons par spectrométrie de masse. L'appareil utilisé est un spectromètre de masse haute résolution (HRMS) constituée d'un orbitrap Q-Exactive de la marque ThermoScientific, couplé à un chromatographe liquide ultra haute performance (UHPLC) de type Ultimate 3000 RSLC de la marque ThermoScientific et équipé d'un détecteur UV-visible. La solution à analyser est introduite dans le spectromètre de masse depuis l'HPLC par vaporisation directe dans une chambre de nébulisation. Dans la chambre de nébulisation, les molécules sont ionisées par électronebulisation (ou ESI pour électrospray ionisation). Deux modes d'ionisation ont été utilisés : le mode d'ionisation positif formant les ions ($M+H^+$ et éventuellement $M+Na^+$) et le mode d'ionisation négatif formant les ions ($M-H^+$).

La séparation des molécules analysées a été effectuée en phase inverse avec une colonne Kinetic EVO C18 Phenomenex (100 mm × 2,1 mm, 1,7 μm). Le débit était fixé à 0,45 ml/min. Les gradients d'élution utilisés pour chaque pesticide sont les mêmes que ceux répertoriés dans le **Tableau 12**.

IV.5. GC-MS

Les analyses des VOCs (composés organiques volatils) collectés sur les cartouches par échantillonnage de l'air dans les serres agricoles à Menyeh ont été effectués par GC-MS après désorption thermique (ATD-GC-MS) avec un Turbomatrix ATD150. Le temps de désorption était de 15 minutes avec une température de 300°C. Le débit de désorption a été fixé à 50 ml/min. l'appareil GC-MS utilisé est de type Agilent. Une colonne chromatographique HP-5MS

a été utilisée pour la séparation des volatils avec un gradient qui commence à 50°C pour 1 min puis augmente la température de 15°C chaque minute jusqu'à atteindre une température de 300 °C.

IV.6. Spectroscopie Infrarouge

Afin de caractériser le polymère constituant les films de plastique qui couvrent les serres agricoles au Liban Nord, des analyses par spectrophotométrie infrarouge ont été réalisées. Cette technique d'analyse permet d'identifier la nature des groupements chimiques existant dans le matériau étudié en se basant sur les modes de vibration des liaisons existantes. L'attribution des bandes d'absorption obtenues dans ce travail a été réalisée à l'aide de plusieurs références¹⁹⁹.

IV.6.1. Spectroscopie infrarouge en mode transmission

L'analyse du polymère étudié a été principalement effectuée en transmission classique à l'aide d'un spectromètre IR de type ThermoElectron corporation. Le nombre d'acquisition été fixé à 32.

IV.6.2. Spectroscopie infrarouge en mode réflexion totale atténuée, ATR

L'ATR est un procédé qui permet d'analyser la surface d'un solide²⁰⁰. Par conséquent cette technique a été utilisée pour analyser la surface des films en plastique avant et après utilisation pour la couverture des serres. L'appareil utilisé est le spectromètre IR de type ThermoElectron équipé d'un accessoire ATR monoréflexion muni d'un cristal diamant. Le cristal diamant permet de réaliser des analyses sur les premiers micromètres (environ 5µm).

V. Calcul des concentrations de pesticides dans les extraits des échantillons naturels

La quantification des résidus de pesticides dans les échantillons de poivrons verts et de concombres analysés par HPLC-MS a été réalisée par la méthode de l'étalonnage interne. Cette méthode consiste à ajouter aux échantillons une quantité connue d'une molécule qui servira comme référence durant les phases de l'analyse (étalon interne). Par ailleurs, la molécule de l'étalon interne va subir les mêmes étapes de traitement précédant l'analyse et les

pertes en étalon interne et en pesticides seront alors les mêmes. Cette méthode nous permet ainsi de calculer les concentrations en pesticides dans l'échantillon brut. Dans notre étude, le naphthol a été utilisé comme étalon interne à une concentration de 2 mg/l.

En analyse chimique l'intensité d'un signal est proportionnelle au coefficient de réponse du produit analysé et à sa concentration. Le coefficient de réponse est un paramètre spécifique pour chaque molécule qui décrit son comportement vis-à-vis de l'appareil. On peut alors écrire la relation suivante :

$$S_{\text{pesticide}} = \alpha_{\text{pesticide}} \times C_{\text{pesticide}} \quad \text{Eq 1}$$

Avec S : surface du signal du pesticide obtenu par HPLC-MS, α : coefficient de réponse du pesticide et C : concentration du pesticide.

Cette même relation peut être écrite pour le naphthol :

$$S_{\text{naphthol}} = \alpha_{\text{naphthol}} \times C_{\text{naphthol}} \quad \text{Eq 2}$$

En faisant le rapport des équations 1 et 2 on aura :

$$\left(\frac{S_{\text{pesticide}}}{S_{\text{naphthol}}} \right)_{\text{standard}} = \frac{\alpha_{\text{pesticide}}}{\alpha_{\text{naphthol}}} \times \left(\frac{C_{\text{pesticide}}}{C_{\text{naphthol}}} \right)_{\text{standard}} \quad \text{Eq 3}$$

Les coefficients α dans les Eq 1 et 2 sont aisément obtenus à partir des valeurs de surface et des concentrations de chaque pesticide et du naphthol. Les valeurs de surface se réfèrent aux valeurs obtenues par analyse d'un mélange standard de pesticide et de naphthol à 2 mg/l. Ce mélange est analysé par le même appareil HPLC-MS sous les mêmes conditions d'analyse des extraits.

Connaissant ainsi le rapport des coefficients de réponse, la concentration de l'étalon interne ainsi que les surfaces obtenues pour chaque pesticide et pour le naphthol dans chaque échantillon, on peut calculer la concentration $C_{\text{pesticide}}$ selon l'équation suivante :

$$\left(\frac{S_{\text{pesticide}}}{S_{\text{naphthol}}} \right)_{\text{Ech}} = \frac{\alpha_{\text{pesticide}}}{\alpha_{\text{naphthol}}} \times \left(\frac{C_{\text{pesticide}}}{C_{\text{naphthol}}} \right)_{\text{Ech}} \quad \text{Eq 4}$$

Le rendement d'extraction du naphthol doit être pris en compte dans le calcul.

CHAPITRE III

Suivi des résidus de pesticides dans les serres agricoles à Menyeh

I. Introduction

Le Liban est le premier pays consommateur de pesticides au Moyen Orient. Les grandes quantités des pesticides pulvérisés ainsi que la manque de contrôle sur les pratiques agricoles (mesures de sécurité prises par l'agriculteur, type de pesticide utilisé) rendent l'exposition des consommateurs et des agriculteurs aux pesticides et à leurs produits de dégradation de plus en plus importante. A noter également que les cultures sous serres agricoles au Liban constituent une partie importante de la superficie agricole totale.

Très rares sont les études qui concernent la caractérisation des pesticides et de leurs photoproduits dans des légumes cultivés dans les serres agricoles au Liban Nord. De plus, les analyses de la phase gazeuse dans ces serres n'ont jamais été effectuées. Dans ce contexte, l'objectif principal de ce chapitre a été de suivre sur plusieurs jours et différentes saisons les quantités de pesticides pulvérisés dans les serres agricoles au Liban Nord dans la région de Menyeh ainsi que l'identification de leurs photoproduits formés. Des analyses de l'air ont été effectuées dans le but d'identifier les molécules qui peuvent être présentes dans une serre agricole et donc inhalées par l'agriculteur, qu'elles proviennent des pesticides eux-mêmes ou des végétaux qui répondent au stress chimique. Par conséquent, plusieurs analyses ont été effectuées :

- 1- Analyse des légumes cultivés (tomates, concombres et poivron vert)
- 2- Analyse de la phase gazeuse des serres agricoles
- 3- Analyse des films plastique couvrant les serres

Au cours de mes 3 années de thèse, 3 échantillonnages ont été effectués dans les serres agricoles de la région de Menyeh. Le premier a été réalisé durant ma première année de thèse au début du printemps 2016, le deuxième en juillet 2016 et le troisième en juin 2017. Des problèmes techniques et logistiques ont été rencontrés lors des 2 premiers prélèvements, ce qui a abouti à l'obtention de résultats partiels qui n'ont pas permis de quantifier les résidus, ni d'identifier les photoproduits. Par conséquent, dans ce Chapitre on expose les résultats des prélèvements de légumes, d'air et du plastique qui ont été faits entre le 28 mai (un jour avant la pulvérisation des pesticides) et le 4 juin 2017 (6 jours après la pulvérisation des pesticides), dans une serre agricole où sont cultivés des poivrons verts, des tomates et des concombres. Durant cette période les pesticides pulvérisés ont été les suivants : acétamipride, imidaclopride, bifénazate et thiophanate méthyle.

La moitié des légumes prélevés a été extraite par la méthode Quechers au Liban dans le laboratoire d'analyse des composés organiques (LACO), puis analysé en France afin de quantifier les résidus des pesticides et suivre leur évolution. Les photoproduits éventuels ont été également identifiés. L'autre moitié a été transportée en France pour que seulement la peau soit analysée par rinçage pour identifier les résidus et les photoproduits des pesticides.

Afin d'évaluer la réponse des plantes au stress chimique ainsi que d'identifier les produits volatils inhalés par l'agriculteur, l'air prélevé des serres agricoles a été analysé par GC-MS En France.

Parallèlement à ces suivis dans la serre et pour mieux comprendre le comportement photochimique des pesticides pulvérisés, nous avons mené quelques études de photodégradation à l'échelle du laboratoire en solution, sur solide et sur plastique de serre. Trois pesticides ont été spécifiquement concernés : l'imidaclopride, le thiophanate méthyle et le bifénazate. Nous avons présenté dans ce chapitre les résultats relatifs à l'imidaclopride seulement. Les études du thiophanate méthyle et du bifénazate sont détaillées dans les chapitres suivants (Chapitre IV et V).

Le plastique est un composant de la serre dont la transmittance peut largement affecter le comportement photochimique des pesticides. Pour cela, un échantillon de film de plastique couvrant la serre a été étudié. Ce film couvrait la serre depuis 4 ans. Un autre échantillon du même film de plastique avant utilisation a été également apporté afin d'étudier l'évolution des propriétés spectrales et donc principalement la transmittance et l'oxydation du polymère après 4 ans d'utilisation.

Les résultats présentés dans ce chapitre contribueront essentiellement à la compréhension du comportement photochimique des pesticides dans une serre agricole, à l'identification des molécules présentes dans la phase gazeuse. Ils permettront aussi d'estimer les quantités de pesticides présents dans les tomates, poivrons verts et concombres cultivés à Menyeh - Liban Nord

II. Traitements phytosanitaires effectués par l'agriculteur

II.1. Méthode d'application des pesticides

Les pesticides peuvent être appliqués par différentes méthodes, telles que la pulvérisation liquide, l'époudrage ou la fumigation, notamment. Au Liban Nord, spécifiquement dans la région de Menyeh, les serres agricoles sont traitées par pulvérisation liquide. Les formulations liquides ou solides de pesticides sont diluées avec de l'eau et appliquées sur les cultures serricoles sous forme de microgouttelettes. Les types de légumes cultivés et traités dans cette région sont les tomates, les concombres, les poivrons verts, les haricots verts et les aubergines. Les tomates, les poivrons verts et les concombres sont cultivés tous dans les mêmes serres tandis qu'il y a des serres spécifiques conçues séparément pour les haricots verts et les aubergines. Dans ce qui suit, on va se concentrer sur le traitement des poivrons verts, des concombres et des tomates car ce sont les légumes les plus consommés au Liban et les plus faciles à extraire selon la méthode d'extraction décrite ci-après.

La pulvérisation se fait au moyen d'un pulvérisateur à tuyau à main. Cet équipement est léger et il est facile à manipuler par l'agriculteur. Le montage (**Figure 30**) est constitué d'un premier tuyau (1) qui relie une pompe (3) à une grande cuve stationnaire de 240 L de capacité où le mélange des pesticides est réalisé. Un autre long tuyau en plastique (4) qui se termine par une buse réglable (5) est relié à l'autre extrémité de la pompe. La pompe aura alors pour rôle de pomper le mélange à pulvériser et le faire passer dans le tuyau (4) afin qu'il sorte sous forme de gouttelettes par la buse caractéristique.

La phase de traitement commence dès que les premières feuilles apparaissent, à peu près 10 jours après la mise en place des semences et continue jusqu'à la récolte des fruits. Le traitement se fait donc avant et après l'apparition des légumes (soit sur les feuilles seules soit à la fois sur les feuilles et les légumes) (**Figure 33**). La fréquence des pulvérisations dépend des saisons (température, humidité, etc.). En été le traitement se fait chaque 7 à 9 jours puisque les hautes températures, qui peuvent atteindre 30 - 40°C, causent une augmentation de l'infestation par les insectes nuisibles aux cultures. D'un autre côté, pendant l'hiver, la fréquence réduit un peu, la pulvérisation étant réalisée chaque 10 à 12 jours.



Figure 30 : Montage utilisé pour la pulvérisation des pesticides à Menyeh



Figure 31 : Buse utilisée pour la pulvérisation



Figure 32 : L'agriculteur mélangeant la solution à pulvériser dans la cuve de 240 L

Connaissant le temps qui s'écoule entre la mise en place des semences et la récolte des poivrons verts, des concombres et des tomates, on peut estimer le nombre approximatif de traitements appliqués sur chaque type de culture durant cette période. Le **Tableau 13** résume ces données.

Le mélange des formulations de pesticides se fait dans un volume d'eau de 240 L. Ce volume est utilisé en totalité pour traiter 6 serres seulement. Connaissant les dimensions d'une serre : 8 m de large et 51 m de long, on obtient une surface de 408 m². On peut donc calculer le volume pulvérisé par m² et donc par hectare (ha) (1 ha = 10000 m²). On obtient alors que le volume total pulvérisé par traitement est de 980 L/ha ou 0,098 L/m².

Tableau 13 : Nombre approximatif de traitements appliqués sur les 3 types de légumes entre la mise en place des semences et la récolte.

| Type de culture | Période nécessaire pour récolter* (jours) | Nombre total approximatif de traitements avant récolte** |
|-----------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Tomates | 90-95 | 8 |
| Concombres | 40-50 | 3 |
| Poivrons verts | 60-65 | 5 |

* : cette période ne peut pas être exacte car elle dépend fortement des conditions climatiques.

** : On considère que 10 jours est le nombre moyen entre deux pulvérisations

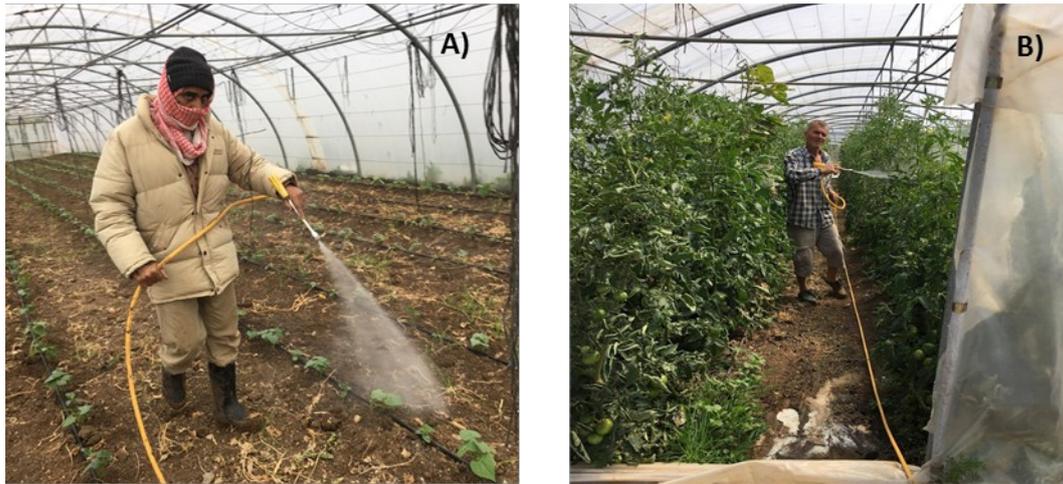


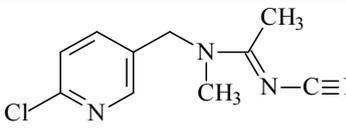
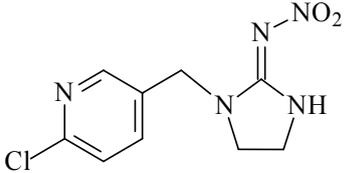
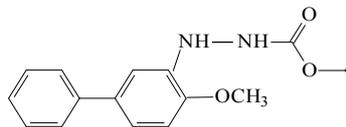
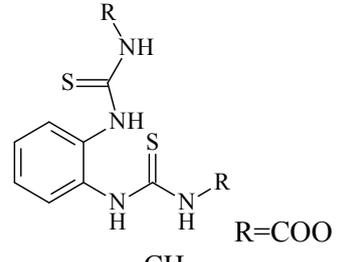
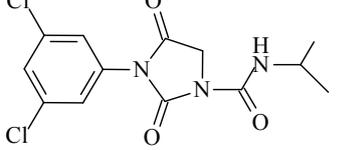
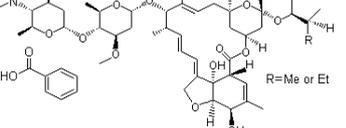
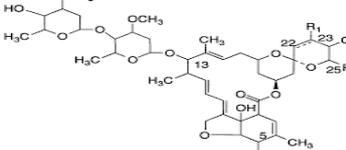
Figure 33 : Application des pesticides dans les serres agricoles à Menyeh par pulvérisation :
A) des feuilles, B) feuilles + fruits

II.2. Pesticides pulvérisés

Les pesticides utilisés varient entre fongicides, acaricides et insecticides. Sept molécules sont principalement pulvérisées en mélange. Les formulations qui contiennent les principes actifs des phytosanitaires sont des suspensions, des émulsions ou des produits solides. Ces produits commerciaux sont achetés dans des marchés locaux au Nord du Liban où le contrôle sur les pratiques agricoles est très limité. Il est à noter que le nombre de molécules utilisées peut varier selon les saisons et leurs disponibilités sur le marché. Par exemple, en hiver il y a plus de nécessité d'utiliser les fongicides alors que pendant les saisons chaudes l'utilisation des insecticides est plus indispensable (surtout l'imidaclopride et l'acétamipride). Les structures et certaines propriétés de ces molécules sont rassemblées dans le **Tableau 14**.

Les instructions d'utilisation mentionnées sur les emballages sont très rarement suivies, l'agriculteur se réfère en général à son expérience dans le domaine pour fixer les doses et les nombres de traitement. Cela est clairement visible si on calcule les masses pulvérisées par unité de surface (m^2 ou ha). Pour chaque traitement d'une surface de $2448 m^2$ ($408 m^2$ pour chacune des 6 serres), l'agriculteur mélange dans 240 L d'eau la totalité des quantités répertoriées dans le **Tableau 14**. Sachant cela le calcul des masses appliquées par unité de surface pour chaque substance active sera possible. Le **Tableau 15** compare les doses appliquées et le nombre d'applications réelles à Menyeh avec celles recommandées. Cette étude comparative nous permettra alors de comprendre à quel degré les normes de santé et les bonnes pratiques agricoles sont suivies au Liban.

Tableau 14: Pesticides pulvérisés et leurs propriétés

| Nom et structure du pesticide | Fonction ^a | Solubilité dans l'eau (mg/ L) à 20°C ²⁰¹ | Produit commercial utilisé | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------|
| | | | Nom / type | Masse ou volume apporté dans la cuve de 240 L | % de matière active |
|  <p>Acétamipride</p> | I | 2950 | Kalex / poudre soluble dans l'eau | 100 g | 20% w/w* |
|  <p>Imidaclopride</p> | I | 610 | Pilarking plus/ Granules solubles dans l'eau | 50 g | 70% w/w* |
|  <p>Bifénazate</p> | A | 0.102 | Floramite / suspension concentrée | 250 mL | 24% w/v* |
|  <p>Thiophanate méthyl</p> | F | 20 | Topsin / poudre mouillable | 500 g | 70% w/w* |
|  <p>Iprodione</p> | F | 6.8 | Toronto/ Poudre mouillable | 500 g | 50% w/w* |
|  <p>Emamectine benzoate</p> | I | 30 – 50 | Super apolone / granules solubles dans l'eau | 50 g | 5,7% w/w* |
|  <p>Abamectine</p> | A | 7-10 | Diva / Emulsion dans l'eau | 250 mL | 1,8% w/v* |

a : I, insecticide ; F, fongicide et A, acaricide et * : w/w, rapport masse sur masse; w/v, rapport masse sur volume

Le **Tableau 15** montre que les doses en kg/ha permises par traitement sont respectées pour toutes les molécules sauf le bifénazate. La quantité de bifénazate pulvérisée par traitement est plus du double de la quantité recommandée. Néanmoins, le grand problème réside dans la fréquence de traitement et/ou le nombre total d'application avant récolte. Il est bien clair, d'après les valeurs présentées dans le **Tableau 15**, que les recommandations ne sont pas prises en compte pour ce paramètre. Pourtant le décalage entre le nombre d'applications permises et celles effectuées est plus ou moins important pour chaque molécule selon le type de culture considérée. Par exemple, si on considère le cas du bifénazate, le nombre de traitement permis est de 2 par culture. Cette valeur est dépassée de façon peu importante pour le traitement des concombres qui sont traités 3 fois avant d'être consommés, mais nettement pour les poivrons verts traités 5 fois avant récolte. D'autre part, la limite de traitement des tomates par l'abamectine est fortement non respectée puisque les tomates sont traitées 8 fois au lieu de 3. Les valeurs des quantités totales pulvérisées avant récolte montre un dépassement pour le bifénazate, le thiophanate méthyl, l'imidaclopride et l'iprodione.

Les données présentées dans le **Tableau 15** constituent une preuve assez concrète de l'importance de l'étude du devenir de ces molécules de pesticides dans les tomates, concombres et poivrons verts de façon à déterminer les quantités de résidus les plus significatifs qui vont persister dans les légumes consommés. Dans ce cadre plusieurs échantillonnages et analyses ont été réalisés dans ces serres agricoles.

Tableau 15: Comparaison entre les quantités de pesticides réellement pulvérisées à Menyeh et celles recommandées

| Pesticide | Recommandations de traitement | | | Traitement réel | | |
|---------------------|-------------------------------|----------------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------------------------|
| | Dose (kg / ha / traitement) | Nombre d'applications | Quantité totale (kg/ha) | Dose (kg/ha/traitement) | Nombre d'applications* | Quantité totale appliquée (kg/ha) |
| Acétamipride | 0,25 - 0,5 | 2 (concombre) | 0,5 - 1 | 0,08 | 3 - 8 | 0,24-0,64 |
| Imidaclopride | 0.15 - 0.2 (tomates) | 2 | 0,3 - 0,4 | 0,14 | 3 - 8 | 0,42- 1,04 |
| Bifénazate | 0,1 (poivron et concombre) | 2 (poivron vert et concombre) | 0,2 | 0,24 | 3 - 8 | 0,72-1,92 |
| Thiophanate méthyl | 1 - 1,6 (tomates) | 2 (tous les légumes) | 2 - 3,2 | 1,4 | 3 - 8 | 4,2-11,2 |
| Iprodione | 1,5 | 3 | 4,5 | 1,02 | 3 - 8 | 3,06-8,16 |
| Emamectine benzoate | 1,5 (tous les légumes) | 3 (tous les légumes) | 4,5 | 0,01 | 3 - 8 | 0,03-0,08 |
| Abamectine | 0,01 (tomates) | 3 (tomates) | 0,03 | 0,02 | 3 - 8 | 0,06-0,12 |

* : Selon le type de culture (se référer au **Tableau 13**)

III. Prélèvement des échantillons

Des prélèvements dans les serres agricoles ont été réalisés pour l'air et les légumes cultivés. Trois types de légumes ont été collectés : tomates, poivrons verts et concombres.

Ces 3 types de légumes sont tous cultivés dans la même serre où les prélèvements d'air et de légumes ont été réalisés au début de l'été 2017 entre le 28 mai et le 4 juin, durant une semaine commençant avant le jour de la pulvérisation (J) et cela de la manière suivante :



* : Ce prélèvement été effectué juste à proximité du nez et de la bouche de l'agriculteur lors de la pulvérisation.

Le jour qui précède le traitement des serres agricoles, est le 10^{ème} jour après la dernière pulvérisation. Ce point a été pris comme référence ou blanc. 2 échantillons d'air sont pris dans le même jour à 2 temps différents. L'intensité du rayonnement solaire était largement différent à ces 2 moments et ces moments ont été choisis pour pouvoir mieux comprendre l'effet de cette intensité sur la composition chimique de la phase gazeuse à l'intérieur de la serre.

Le mélange de pesticides qui a été pulvérisé avant ces prélèvements ne contenait pas toutes les molécules déjà citées. Cela est dû à des raisons d'indisponibilité sur le marché de certains d'entre eux. La liste des molécules pulvérisées était la suivante :

- Thiophanate méthyl (TM)
- Bifénazate (BIF)
- Acétamipride
- Imidaclopride

Les techniques et les méthodes de prélèvement vont être détaillées dans la partie suivante.

III.1. Prélèvements des légumes

III.1.1. Choix des échantillons

L'échantillonnage a été effectué de telle sorte que les échantillons représentent le lot. Des tomates, des poivrons verts et des concombres ont été prélevés de façon aléatoire à différents endroits de la serre (haut, milieu et bas). Trois pièces pour chaque type de légume ont été prises d'un endroit différent de la serre de façon à avoir une masse totale de 500 g environ. L'ensemble des 3 pièces constitue un point d'analyse.

III.1.2. Transport et stockage des légumes

Les légumes ont été cueillis en utilisant des gants stériles jetables, directement emballés par trois dans du papier d'aluminium et placés dans un sac en polyéthylène avec fermeture. Il était nécessaire d'emballer le produit dans une feuille d'aluminium immédiatement parce que le polyéthylène peut interférer avec l'intégrité de chaque légume. Les gants ont été changés entre les différents échantillons pour éviter la contamination. La moitié des échantillons prélevés a été extraite au Liban dans un laboratoire spécialisé pour

analyser les résidus des pesticides dans la totalité du fruit. L'autre moitié a été transportée en France pour que seulement la peau soit analysée par rinçage. Les sacs transportés en France ont été mis sous vide et stockés dans un réfrigérateur à 4°C afin d'éviter toute contamination microbiologique.

III.2. Prélèvement de l'air

Les échantillons d'air ont été prélevés au moyen d'une petite pompe automatique à laquelle était rattaché un tube contenant un adsorbant spécifique (Tenax) pour piéger les molécules contenues dans l'air. Ces tubes sont en inox et ont des bouchons qui les rendent à 100% étanches après fermeture. La pompe a été déposée presque au centre de la serre sur une petite chaise et le tube adsorbant a été fixé avec une attache spécifique (**Figure 34 B**). Le flux de la pompe était fixé à $200 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ et elle a été laissée chaque fois pour 1h afin de piéger les molécules contenues dans un volume total de 12 L d'air. Sauf pour le prélèvement effectué le jour de la pulvérisation à côté de la bouche et du nez de l'agriculteur, la pompe a été laissée 20 minutes et a piégé 4 L d'air. Comme la **Figure 33** le montre, l'agriculteur pulvérise sans prendre aucune mesure de protection contre les molécules de pesticides toxiques. Pour cela on a pensé analyser l'air qu'il respire au moment où il pulvérise pour identifier les molécules chimiques qu'il inhale.



A)



B)

Figure 34 : Prélèvements de l'air à Menyeh A) à côté du nez et de la bouche de l'agriculteur lors de la pulvérisation, B) Dans la serre agricoles après pulvérisation



Figure 35 : Tube utilisé pour le prélèvement d'air dans les serres agricoles

IV- Extraction et analyse des résidus de pesticides

Dans cette partie on va évoquer les techniques qui ont été utilisées pour déterminer les quantités de résidus de pesticides dans les échantillons de légumes et d'air collectés. Les échantillons de légumes sont divisés en 2 groupes, chacun analysé de façon distincte. La moitié des tomates, concombres et poivrons verts sont rincés pour identifier et caractériser les résidus de pesticides et les éventuels produits de dégradation qui se trouvent sur la peau. L'autre moitié des légumes est extraite en totalité (peau + pulpe) afin de pouvoir estimer les quantités totales de résidus de pesticide présents dans les légumes et les produits de dégradation. Sur la peau soumise au rayonnement solaire, on peut s'attendre à trouver des photoproduits. Dans les légumes, les produits de dégradation peuvent être issus de la photolyse ou de la métabolisation.

IV.1. Extraction des légumes par la méthode QUECHERS

La méthode QUECHERS est une méthode d'extraction de multi résidus qui est validée pour les produits phytosanitaires dans la matrice végétale. Le mot QUECHERS est une abréviation qui est constituée de la première lettre de chacun de ces mots suivants : Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe. Donc comme son nom l'indique, QUECHERS est une méthode simple, rapide et peu coûteuse pour la détermination des résidus de pesticides dans les fruits et légumes. Le protocole suivi est le suivant

- 1- Broyer les légumes avec un mixeur spécifique pour le laboratoire (tomates, concombres ou poivrons verts, chaque 3 pièces ensemble)
- 2- Peser 10 g de l'échantillon dans un tube de centrifugation de 50 mL
- 3- Ajouter 10 mL d'acétonitrile
- 4- Homogénéiser à l'aide d'un mélangeur Vortex
- 5- Ajouter 4 g de $MgSO_4$ et 1 g de NaCl
- 6- Ajouter 100 μL d'une solution de naphtol à 200 $mg.L^{-1}$, comme étalon interne
- 7- Centrifuger 3 minutes à 5000 rpm
- 8- Transférer 3 mL du surnageant dans un tube de centrifugation de 15 mL
- 9- Ajouter 25 mg primary secondary amine (PSA) et 150 mg $MgSO_4$ par mL.
- 10- Homogénéiser à l'aide d'un mélangeur Vortex
- 11- Centrifuger 5 minutes à 5000 rpm
- 12- Prélever 1,5 mL du surnageant dans un vial spécifique à l'injection HPLC.

Les sels ($NaCl$ et $MgSO_4$) sont ajoutés pour induire la séparation des phases. Le sulfate de magnésium ($MgSO_4$) est utilisé en raison de sa capacité à adsorber de grandes quantités d'eau et ainsi réduire considérablement la phase aqueuse, ce qui favorise la partition des pesticides dans la phase organique. Dans cette méthode d'extraction, on utilise une approche de nettoyage très simple appelé «SPE -dispersive». Durant l'étape 9, 75 mg de l'amine primaire secondaire (PSA) et 450 mg de $MgSO_4$ sont ajoutés aux 3 mL prélevés du surnageant dans l'étape précédente et le mélange est secoué ou mélangé sur un mélangeur Vortex brièvement pour répartir uniformément le matériau SPE et ainsi faciliter le processus de nettoyage. PSA et $MgSO_4$ sont ensuite séparés par centrifugation et 1,5 mL de l'extrait final est prélevé pour l'analyse HPLC. Le PSA contient des amines primaires et secondaires qui ont pour rôle d'éliminer les acides gras qui sont dans la matrice végétal et donc nettoyer cette matrice. $MgSO_4$ est ajouté simultanément avec le sorbant SPE pour enlever une grande partie de l'excès d'eau et pour fournir un meilleur nettoyage. L'étalon interne est ajouté avant le premier transfert de liquide, afin que la manipulation des échantillons soit plus précise et plus pratique, et les erreurs systématiques et aléatoires liées aux transferts de liquide soient minimisées²⁰². Le naphtol a été choisi puisque qu'il a plus d'affinité avec la phase organique et il ne peut pas être retenu par le sorbant lors de la phase SPE dispersive, de plus son temps de rétention est différent du celui de tous les pesticides recherchés ce qui rend alors l'analyse des extraits par HPLC-DAD et HPLC-MS plus simple.

L'extrait est analysé par HPLC-DAD. Des extraits spécifiques sont choisis pour être analysés par HPLC-MS. Le choix se fait selon les chromatogrammes HPLC-DAD (intensité des pics, nombres de pics, rendement d'extraction). L'analyse HPLC-MS permet d'identifier les produits de dégradation dans les légumes prélevés (s'ils existent) et quantifier les résidus de pesticides. La quantité de l'étalon interne présente dans les extraits finaux permet de normaliser les quantités de pesticides retrouvés dans chaque échantillon.

IV.2. Rinçage de la peau des légumes

Les légumes prélevés apportés en France sont analysés par rinçage de leur peau avec 2 solvants organiques successivement. Les solvants utilisés sont le méthanol (MeOH) puis l'acétonitrile (ACN). Un volume de 10 mL de chaque solvant est versé dans un cristalliseur circulaire en verre de 9 cm de diamètre. Chaque 3 pièces collectées de tomates, concombres et poivrons ont été rincées à l'extérieur par 10 mL de MeOH puis par 10 mL de ACN. On a utilisé l'ACN après le MeOH pour être sûr d'enlever tous les pesticides et/ou les produits de photodégradation qui sont sur la peau. Après rinçage de la peau de chaque 3 pièces, les 10 mL de chaque solvant sont transférés dans un tube de centrifugation de 15 mL et laissés jusqu'à évaporation de 1/5 du volume initial. Le volume final est alors de 2 mL pour chaque échantillon. Cette étape de pré-concentration est nécessaire pour avoir des résultats plus nets après l'analyse des volumes finaux par HPLC-DAD et HPLC-MS. Cette analyse a un but qualitatif plus que quantitatif. Elle permet juste de voir si les pesticides pulvérisés peuvent persister sur les peaux des tomates, des concombres et des poivrons verts, ainsi que de déceler l'existence éventuelle des produits de photodégradation de ces pesticides.

IV.3. Analyse des molécules collectées

Les molécules collectées sur les cartouches ont été extraites par désorption thermique et analysées par GC-MS. Cette technique permet l'extraction thermique des composés volatils ou semi-volatils, adsorbés sur la phase Tenax des tubes qui ont été attachés à la pompe. Les composés thermodésorbés sont concentrés par cryogénie, avant d'être élués par un gaz porteur vers une colonne chromatographique placée dans un four où ils sont séparés. Un spectromètre de masse est utilisé pour identifier les produits élués. Cette technique s'applique aux substances volatiles, non-thermolabiles à des températures inférieures à 300°C.

V. Expériences de photodégradation en laboratoire

Parallèlement à ces suivis dans la serre et pour mieux comprendre le comportement photochimique des pesticides présentés dans le **Tableau 14**, nous avons mené des études de photodégradation à l'échelle du laboratoire. Puisqu'on s'intéresse à la réactivité photochimique de ces molécules, la première caractéristique physico-chimique essentielle à considérer est le profil d'absorption de la lumière. Les spectres UV de l'imidaclopride, l'acétamipride, du BIF, du TM et de l'iprodione sont présentés **Figure 36**. On a exclu de nos études 2 pesticides : l'emamectine benzoate et l'abamectine, vu la complexité de leurs molécules. Pour l'iprodione et l'acétamipride, les coefficients d'extinction molaires sont très faibles dans la plage du rayonnement solaire atteignant la surface de la terre (> 290 nm), on peut donc s'attendre à ce que leur vitesse de photodégradation dans la serre soit extrêmement faible. Par conséquent, nos études de laboratoire ont concerné les 3 autres pesticides : le BIF, le TM et l'imidaclopride car ces 3 molécules absorbent la lumière solaire et sont susceptibles de se photodégrader dans le milieu naturel.

Dans ce paragraphe, nous décrivons les expériences réalisées sur l'imidaclopride en solution et sur un support végétal. Le BIF et le TM seront traités dans les deux chapitres qui suivent.

V.1. Etude de la photodégradation de l'imidaclopride

V.1.1. En solution

L'imidaclopride ($3,9 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹ dans ACN) a été irradié dans l'enceinte polychromatique 300-450 nm. Puis, les solutions irradiées ont été analysées par HPLC-DAD et HPLC-MS, modes d'ionisation ES⁺ et ES⁻ (voir chapitre II). La cinétique de photodégradation de l'imidaclopride est montrée **Figure 37**. Cette figure nous permet de constater qu'après 8 heures d'irradiation avec une lumière polychromatique 300-450 nm très semblable à la lumière solaire, 70 % de la quantité initiale l'imidaclopride a disparu. Ce composé se photodégrade donc relativement rapidement dans un solvant organique comme l'ACN. Ensuite, on a réalisé des analyses HPLC-MS pour identifier les photoproduits formés dans l'ACN.

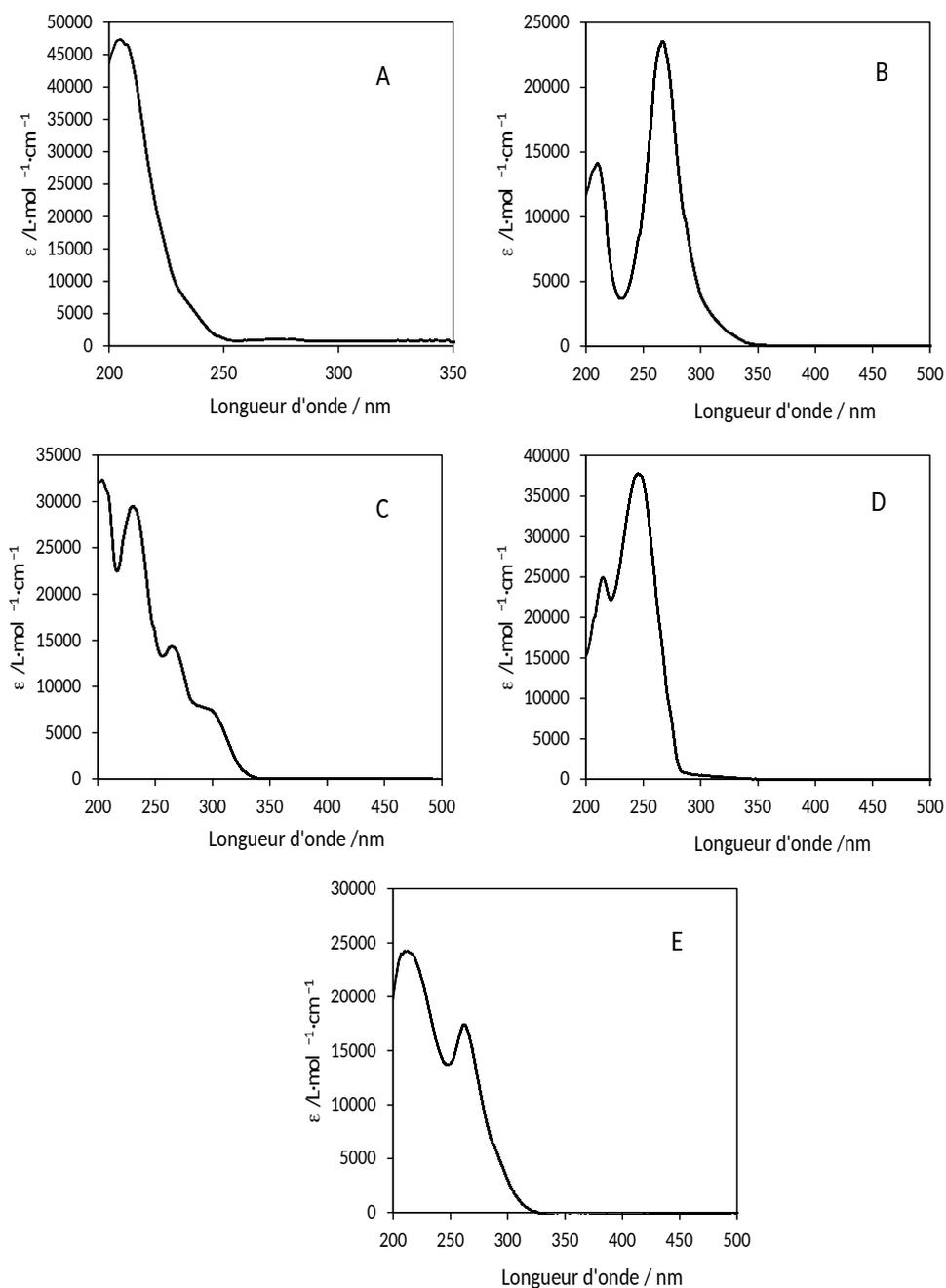


Figure 36 : Spectres d'absorption UV des 5 pesticides : A) l'iprodione dans l'ACN, B) l'imidaclopride dans l'eau, C) BIF dans ACN, D) Acétamipride dans ACN et E) TM dans l'eau

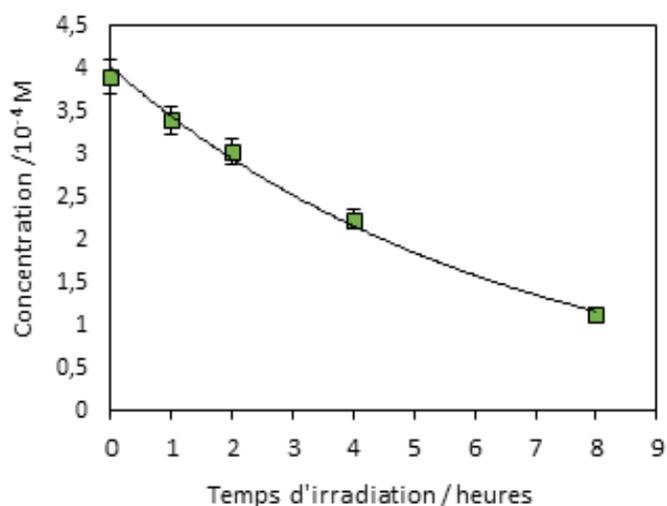


Figure 37 : Cinétique de photodégradation de l'imidaclopride ($3,9 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) dans l'ACN

Quatre photoproduits ont été trouvés après 8 h d'irradiations : P1, P2, P3 et P4. (Tableau 16, Figure 38). Pour former le P1 on enlève NO et un atome d'hydrogène de la molécule de l'imidaclopride. P2 est formé en arrachant à la molécule de l'imidaclopride le groupement nitro (NO_2). D'autre part, on obtient P4 en oxydant l'imidaclopride, (+O – 2H). P3 est possiblement produit par hydrolyse acide de P2.

Les 4 photoproduits sont déjà décrits^{164-166,170}. Pourtant, dans les études déjà effectuées dans l'eau, quelques photoproduits en plus ont été identifiés^{166,169,203} (voir Chapitre I partie III.1). On peut donc conclure que le mécanisme de photolyse de l'imidaclopride dans un solvant organique comme l'ACN peut différer un peu de celui dans l'eau.

P1 est un fluorescent²⁰⁴, sa cinétique de formation a été suivie par spectrofluorométrie (Figure 39) (longueur d'onde d'excitation = 334 nm et longueur d'onde d'émission = 377 nm).

Tableau 16 : Photoproduits issus de la photodégradation de l'imidaclopride dans l'ACN

| Nom | m/z en ES ⁺ | Temps de rétention HPLC-DAD | Temps de rétention HPLC-MS | Formule de l'ion neutre | Structure proposée |
|-----|------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------------------------------------------|--------------------|
| P1 | 225,05318 | 1,1 | 0,7 | C ₉ H ₆ N ₄ OCl | |
| P2 | 211,07393 | 1,5 | 1,0 | C ₉ H ₁₂ N ₄ Cl | |
| P3 | 212,05820 | 3,4 | 3,4 | C ₉ H ₁₀ N ₃ OCl | |
| I* | 256,09511 | 6,0 | 4,2 | C ₉ H ₁₀ N ₅ O ₂ Cl | |
| P4 | 270.038 | 7,2 | 4,7 | C ₉ H ₈ N ₅ O ₃ Cl | |

* : Imidaclopride

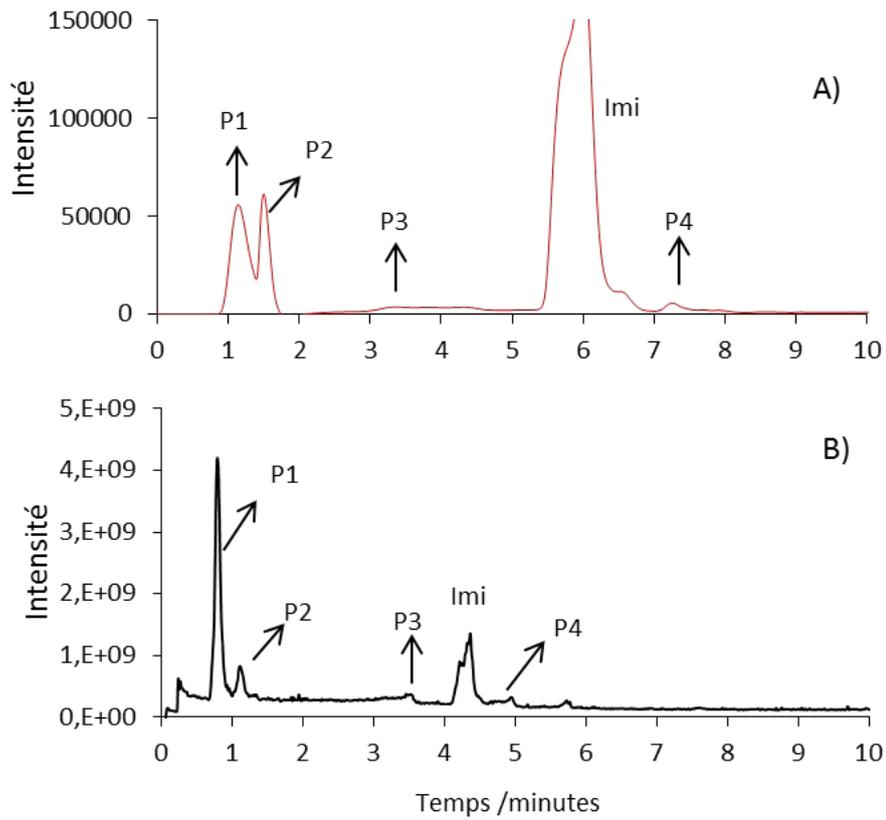


Figure 38 : Chromatogrammes A) HPLC DAD et B) HPLC-MS de l'imidaclopride irradié 8 heures dans l'ACN.

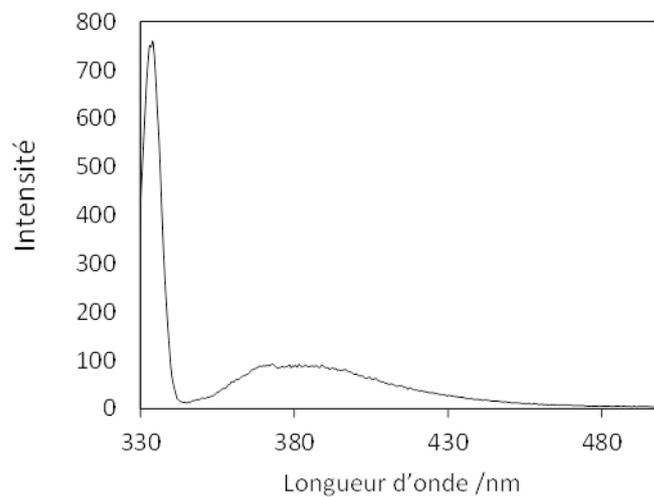


Figure 39 : Spectre de fluorescence de P1 après 1 heure d'irradiation de l'imidaclopride

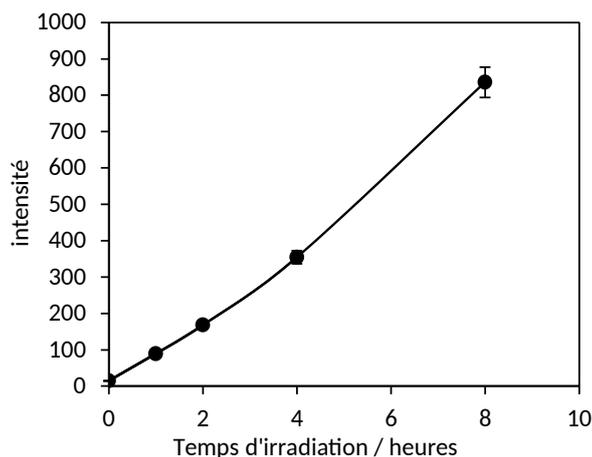


Figure 40 : Cinétique de formation de P1 mesurée par fluorescence

V.1.2. Sur les poivrons

a) Conditions d'analyses

Pour représenter au mieux les conditions naturelles, on a étudié la photodégradation de l'imidaclopride sur la surface de morceaux de poivrons verts. 100 μL d'une solution d'imidaclopride dans l'ACN à $2 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ ont été déposés sous forme de 20 gouttes de 5 μL , à la surface de 3 petits morceaux de poivrons (voir Chapitre II). Les poivrons ont été irradiés 3 heures dans un simulateur solaire après séchage des gouttes déposées. Les irradiations ont été limitées à 3 heures pour éviter le dessèchement et la distortion de la peau des poivrons verts. La récupération du dépôt a été faite en plongeant les morceaux de poivrons dans 2 mL d'ACN. Le rendement de récupération a été de 80%. Le volume récupéré a été ensuite analysé directement par HPLC-DAD pour calculer le degré de conversion puis par HPLC-MS pour identifier les photoproduits.

b) Résultats

Le degré de conversion de l'imidaclopride après 3 heures d'irradiation sur poivron a été égal à 60%, ce qui équivaut à 8 heures d'irradiation dans l'ACN. Nos analyses HPLC-MS n'ont montré la formation que de P2 contrairement à ce que l'on a trouvé en solution. Dans une étude préalable, le photoproduit P2 a été aussi trouvé le produit majoritaire après irradiation de l'imidaclopride pur et formulé à la surface des fruits de tomates, en compagnie d'autres photoproduits¹⁶⁵. Néanmoins, une autre étude dans laquelle l'imidaclopride a été irradié dans des solvants organiques simulants les constituants de la cuticule végétale, le photoproduit P2 a été le seul détecté¹⁷⁰.

Les résultats obtenus démontrent bien que le type de support et de milieu à une grande influence sur la nature des photoproduits de l'imidaclopride.

VI. Résidus de pesticides et identification des produits de photodégradation

VI.1. Analyse des extraits obtenus par la méthode QUECHERS

La détermination des concentrations des résidus de pesticides a été effectuée par la méthode d'étalonnage interne sans tenir compte des rendements d'extractions individuels de chaque pesticide, mais en supposant que le rendement d'extraction de l'étalon interne est équivalent à celui du pesticide. Ces rendements varient entre 95 et 98 %. Le mélange étalon de pesticides (2 mg/L pour chacun) contenait BIF, TM, l'imidaclopride et l'acétamipride. La méthode de calcul est détaillée dans le Chapitre II. Les extraits ont été analysés par HPLC-DAD selon la méthode décrite dans le Chapitre II et par HPLC-MS. Le temps de rétention de chacun des 4 pesticides, les valeurs des ratios m/z et les structures proposées sont présentés dans le **Tableau 17**. Ils ont servi de base au dosage des résidus dans les extraits. Les résultats des chromatogrammes HPLC-DAD nous ont conduits à sélectionner les extraits de poivrons et de concombres pour les analyses par HPLC-MS. En effet, les pics dans ces extraits étaient beaucoup plus intenses et nombreux que ceux dans les extraits de tomates, ce qui rend plus facile l'identification des pesticides et des photoproduits ainsi que la quantification des résidus.

Tableau 17 : Temps de rétention et m/z mesurés pour l'acétamipride, l'imidaclopride, TM et BIF de la solution étalon par analyse HPLC-MS

| Nom du pesticide | Temps de rétention (min) | m/z en ES ⁺ |
|------------------|--------------------------|------------------------|
| Imidaclopride | 3,4 | 256,05914 |
| Acétamipride | 3,9 | 223,07420 |
| TM | 5,3 | 343,05231 |
| BIF | 7,7 | 301,15384 |

L'objectif principal de cette étude était de faire un suivi des quantités de résidus de pesticides dans les poivrons et les concombres pendant une semaine après la pulvérisation et de déceler et d'identifier les photoproduits éventuels.

VI.1.1. Quantification et suivi des résidus de pesticides avec le temps

L'analyse des chromatogrammes HPLC-MS des échantillons de poivrons et de concombres extraits nous a permis d'identifier et de quantifier les résidus des 4 pesticides pulvérisés: acétamipride, imidaclopride, TM et BIF. Ces résidus ont été retrouvés à la fois dans les concombres et les poivrons tout au long des 7 jours pendant lesquels l'échantillonnage été réalisé mais à des quantités différentes. La **Figure 41** montre la variation des quantités de résidus trouvés de chaque pesticide au cours des 6 jours suivant la pulvérisation. Les quantités sont exprimées en mg/g. Le BIF-diazène étant un produit de dégradation du BIF qui se forme rapidement par hydrolyse dans l'eau, les quantités de BIF calculées représentent la somme des quantités de BIF+BIF diazène.

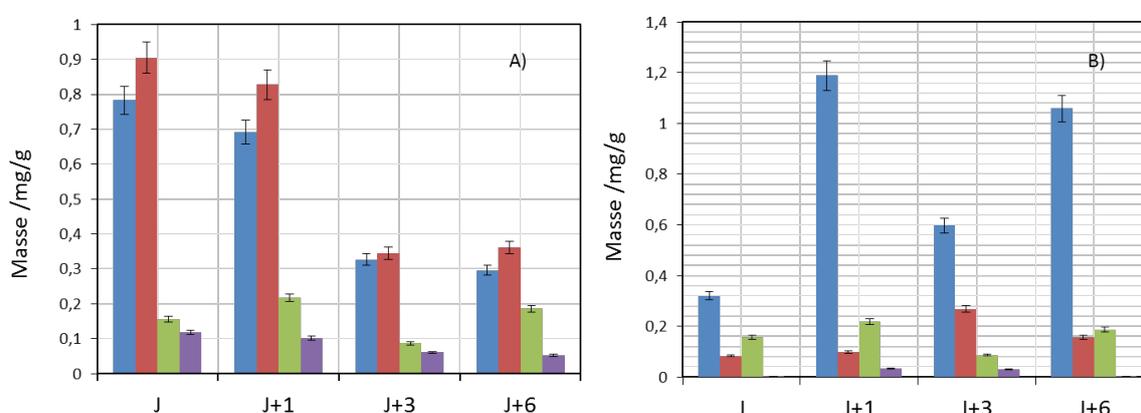


Figure 41 : Variation des quantités de résidus de l'acétamipride (bleu), l'imidaclopride (rouge), le TM (vert) et le BIF (violet), au cours des 6 jours suivant la pulvérisation : A) dans les poivrons verts et B) dans les concombres

La **Figure 41 A)** montre que les quantités d'acétamipride, d'imidaclopride et de BIF trouvées dans les poivrons verts ont diminué avec le temps. De plus, l'imidaclopride est la molécule qui se trouve en plus grande quantité avec 0,9 mg/g dans les échantillons de poivrons 7 heures après la pulvérisation durant le même jour (J). Cette quantité a diminué légèrement un jour après la pulvérisation (J+1) tandis qu'elle a diminué d'un tiers après 3 jours (J+3) (0,3 mg/kg). Cette valeur a resté presque stable après 6 jours. Le rythme de la variation de la quantité d'acétamipride est très semblable à celui de l'imidaclopride, la quantité de ce dernier baissant de deux tiers 6 jours après la pulvérisation. En ce qui concerne les résidus de BIF, ils ont été beaucoup plus petits que ceux de l'acétamipride et de l'imidaclopride. La quantité initiale de BIF dans l'échantillon collecté le jour (J) a été 7 à 9 fois plus petite que celle trouvée pour l'imidaclopride et l'acétamipride. Trois jours après la pulvérisation, la quantité de BIF a diminué de presque la moitié. D'un autre côté, les quantités

de TM ont varié aussi au cours du temps mais d'une façon moins systématique. La quantité de cette molécule a légèrement augmenté à J+1, puis elle a diminué à J+3 jours pour réaugmenter à la fin. Ces variations peu logiques, peuvent être dues à un problème dans l'extraction de cette molécule.

On voit bien qu'il y a des fluctuations non logiques dans les quantités des 4 pesticides au cours des 6 jours qui suivent la pulvérisation des concombres (**Figure 41 B**). Par exemple à J+1 qui est juste après la pulvérisation, les quantités des 4 pesticides ont augmenté pour rediminuer 2 jours après et ont augmenté de nouveau après 6 jours. On remarque aussi que les quantités de résidus des pesticides trouvés dans les échantillons de concombres ont été inférieures à celles décelées dans les poivrons verts sauf pour l'acétamipride. Cela est surtout vrai pour l'imidaclopride.

Sur le plan pratique, les **Figures 41 A et B** apportent des informations importantes sur les quantités approximatives présentes dans les poivrons verts et les concombres consommés au Liban Nord spécifiquement. Pour comprendre à quel degré ces quantités peuvent être nuisibles à la santé humaine, une comparaison avec les MRLs (Maximum residue limit : taux de résidus maximal permis par les législations) de chaque molécule a été établie (**Tableau 19**).

En observant les données rassemblées dans le **Tableau 18**, on peut remarquer qu'il y a un grand écart entre les valeurs de résidus maximales imposées par la commission européenne et les quantités réelles trouvées à la fois dans les extraits des concombres et des poivrons verts pour les 4 molécules de pesticides. Pour les poivrons verts, même les quantités les plus faibles de résidus retrouvées 6 jours après la pulvérisation sont respectivement 1000 fois, 300 fois et 16 fois plus grandes que les MRLs pour l'acétamipride et le TM, l'imidaclopride et le BIF.

Tableau 18 : Comparaison entre les quantités de résidus de pesticides retrouvés dans les extraits de poivrons et de concombres et les MRLs permis

| Molécule | Poivron vert | | | | | Concombre | | | | |
|---------------|-----------------|---------------------------|-----|------|------|----------------|---------------------------|------|------|-------|
| | MRLs* (mg/g) | Quantité de résidu (mg/g) | | | | MRLs (mg/g) | Quantité de résidu (mg/g) | | | |
| | | J | J+1 | J+3 | J+6 | | J | J+1 | J+3 | J+6 |
| Acétamipride | 0,0003 | 0,8 | 0,7 | 0,3 | 0,3 | 0,0003 | 0,3 | 1,2 | 0,6 | 1 |
| Imidaclopride | 0,001 | 0,9 | 0,8 | 0,3 | 0,3 | 0,001 | 0,08 | 0,1 | 0,27 | 0,15 |
| TM | 0,0001 | 0,15 | 0,2 | 0,1 | 0,19 | 0,0001 | 0,04 | 0,08 | 0,1 | 0,07 |
| BIF** | 0,003 | 0,1 | 0,1 | 0,06 | 0,05 | 0,0005 | 0,001 | 0,03 | 0,03 | 0,003 |

* : Les valeurs des MRLs sont prises de la base de données du site de la commission européenne²⁰⁵.

** : les MRLs sont donnés pour les quantités de BIF+ BIF diazène

Le cas des concombres est quasi semblable mais avec des écarts plus faibles pour l'imidaclopride (80 fois), le TM (400 fois) et plus grande pour le BIF (50 fois). Il est à noter que les extraits des échantillons collectés un jour avant la pulvérisation de ce mélange (10 jours après la dernière pulvérisation) ne contenaient aucuns résidus de ces 4 molécules de pesticides. On peut considérer alors que les résidus de l'acétamipride, l'imidaclopride, le TM et le BIF disparaissent environ 10 jours après l'application. Néanmoins, cela ne permet pas d'éviter le problème des grandes quantités de résidus trouvés dans les 7 jours suivants la pulvérisation, puisque l'agriculteur ne laisse pas un écart de 10 jours entre la dernière pulvérisation et la récolte des légumes. L'agriculteur peut au besoin pulvériser même un jour avant la récolte, ce qui rend alors les quantités exactes de pesticides qui peuvent être consommés inconnues mais sûrement plus grandes que celles imposées par les normes.

Enfin, l'examen détaillé de la **Figure 40** et du **Tableau 18** permet de tirer plusieurs conclusions :

- 1- Pour la figure A concernant les poivrons verts, on peut dire que les diminutions observées pour les quantités d'imidaclopride, d'acétamipride, de BIF et de TM nous permettent d'assurer que ces molécules ont été sujettes à des mécanismes de phototransformation ou/et de métabolisme, qui sont les plus intenses et effectifs durant les 3 premiers jours qui succèdent la pulvérisation de ces légumes.
- 2- Les fluctuations observées dans la figure B peuvent être expliquées par la non homogénéité de la pulvérisation et donc de l'échantillonnage, c'est à dire que chaque échantillon pris a été pulvérisé d'une façon différente. Ceci peut être dû à l'emplacement des concombres qui sont cultivés près du sol et sont difficilement accessibles lors de la pulvérisation. Cela peut encore expliquer la différence entre les quantités trouvées dans les concombres et les poivrons verts qui sont cultivés à des niveaux plus hauts ce qui les rend plus accessibles lors de la pulvérisation.
- 3- Sachant que les MRLs fixées pour chaque combinaison pesticide-culture sont fixées à des niveaux bien inférieurs à la quantité pouvant poser un problème de santé²⁰⁶, on peut déduire alors qu'il y a vraiment des risques de santé auxquels les consommateurs de ces légumes analysés peuvent être exposés à long terme.

Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés aux produits de dégradation. L'objectif était notamment de déterminer si les pesticides pouvaient être l'objet d'une photodégradation ou si d'autres procédés de dégradation avaient lieu.

VI.1.2. Recherche des photoproduits

Les photoproduits de l'imidaclopride, du TM et du BIF ont été recherchés dans les chromatogrammes LC-MS des extraits analysés sur la base de leurs masses exactes. Les structures ainsi que les masses exactes des produits de photodégradation ont été obtenues dans des études préalables^{164,165,170,183,207}, dans le paragraphe précédent et dans les Chapitres IV et V de cette thèse. Soulignons que la connaissance des photoproduits potentiels à rechercher a grandement facilité l'obtention des résultats.

a) Dans les poivrons verts

Aucun photoproduit connu n'a été trouvé dans les extraits de poivrons verts bien que la **Figure 41 A)** démontre que les 4 pesticides disparaissent avec le temps. Cela peut avoir 2 raisons :

- 1- La dégradation des pesticides dans les poivrons verts se fait par des processus non photochimiques (métabolisation, microbiologiques, chimiques,.. etc).
- 2- Les photoproduits existent mais à des quantités trop faibles pour être détectés (au-dessous de la limite de détection)

b) Dans les concombres

Plusieurs produits de photodégradation ont été trouvés dans les extraits de concombres. Ils sont listés dans le **Tableau 19**.

Les photoproduits retrouvés proviennent essentiellement de la photodégradation de TM et du BIF. Pour le TM, il s'agit du photoproduit ayant perdu $C_5H_7NO_4S_2$ et de celui ayant perdu 2 atomes H. Ces 2 photoproduits sont formés aussi par photolyse directe du TM en solution dans l'ACN et dans l'eau.

Le produit provenant de la photodégradation du BIF résulte de l'élimination de 2 atomes H de la fonction hydrazine pour former la fonction azo et de l'hydroxylation du cycle aromatique. Sur les échantillons prélevés 3 jours après la pulvérisation on identifie plus de photoproduits, ce qui est en accord avec l'histogramme B) de **Figure 41** qui montre une plus grande disparition de TM et de BIF après 3 jours. On remarque que le photoproduit du TM avec $m/z = 192$ persiste même 6 jours après la pulvérisation. Dans une étude menée par Chayata et al, ce photoproduit a été le seul photoproduit trouvé après irradiation des tomates traitées par de TM¹⁸³. Pourtant dans le cas du concombre présenté ici, il y a formation d'un

présentant une masse $m/z = 341$. Par conséquent, le type de la matrice végétale a influencé la photodégradation du TM.

Tableau 19 : Photoproduits trouvés dans les extraits de concombres analysés par HPLC-MS

| Echantillon | Temps de rétention (min) | m/z en ES ⁺ | Formule de l'ion neutre | Structure chimique | Molécule mère |
|-------------|--------------------------|------------------------|------------------------------------------------------------------------------|--------------------|---------------|
| J+1 | 1,2 | 192,07658 | C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ | | TM |
| J+3 | 1,2 | 192,07658 | C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ | | TM |
| | 8,3 | 341,03668 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₄ S ₂ | | TM |
| | 6,9 | 315,13318 | C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₄ | | BIF |
| J+6 | 1,2 | 192,07658 | C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ | | TM |

VI.2. Analyse des échantillons obtenus par rinçage de la peau des légumes

VI.2.1. Identification des résidus de pesticides

Comme c'est préalablement mentionné, le rinçage de la peau des légumes ne permet d'avoir qu'une partie des résidus de pesticides ou de leurs photoproduits. Les tomates, les poivrons et les concombres étant des légumes très rarement épluchés avant consommation, il est essentiel d'avoir une idée des pesticides qui persistent sur la peau extérieure. Par ailleurs, puisque la photodégradation est un phénomène se produisant essentiellement à la surface externe du fruit, cette étude peut confirmer si la photodégradation est possible et peut se passer sur les plantes cultivées sous protection (serres agricoles). Toutes les solutions de MeOH et d'ACN récupérées ont été analysées par HPLC-DAD. Les chromatogrammes ayant confirmé l'efficacité du méthanol à récupérer presque les pesticides, ce solvant a été choisi pour préparer les extraits. Sur la base des intensités et du nombre de pics présents dans les chromatogrammes HPLC-DAD, six échantillons ont été retenus pour les analyses HPLC-MS : 2 pour les tomates, 2 pour les poivrons verts et 2 pour les concombres à 1 jour et 3 jours après la pulvérisation (J+1 et J+3). Des résidus des 4 pesticides sont retrouvés dans les chromatogrammes HPLC-MS de ces échantillons (**Figure 42 et Tableau 17**). Il est à noter qu'aucune molécule de pesticide n'a été retrouvée dans les échantillons à J-1.

VI.2.2. Identification des photoproduits

Les photoproduits ont été recherchés de la façon décrite dans la partie VI.1.2

a) Dans les tomates et les concombres

Plusieurs produits de photodégradation ont été trouvés dans les solutions de récupération des peaux des tomates et des concombres et analysées par HPLC-MS. Ces produits sont semblables pour les tomates et les concombres (**Tableau 20**).

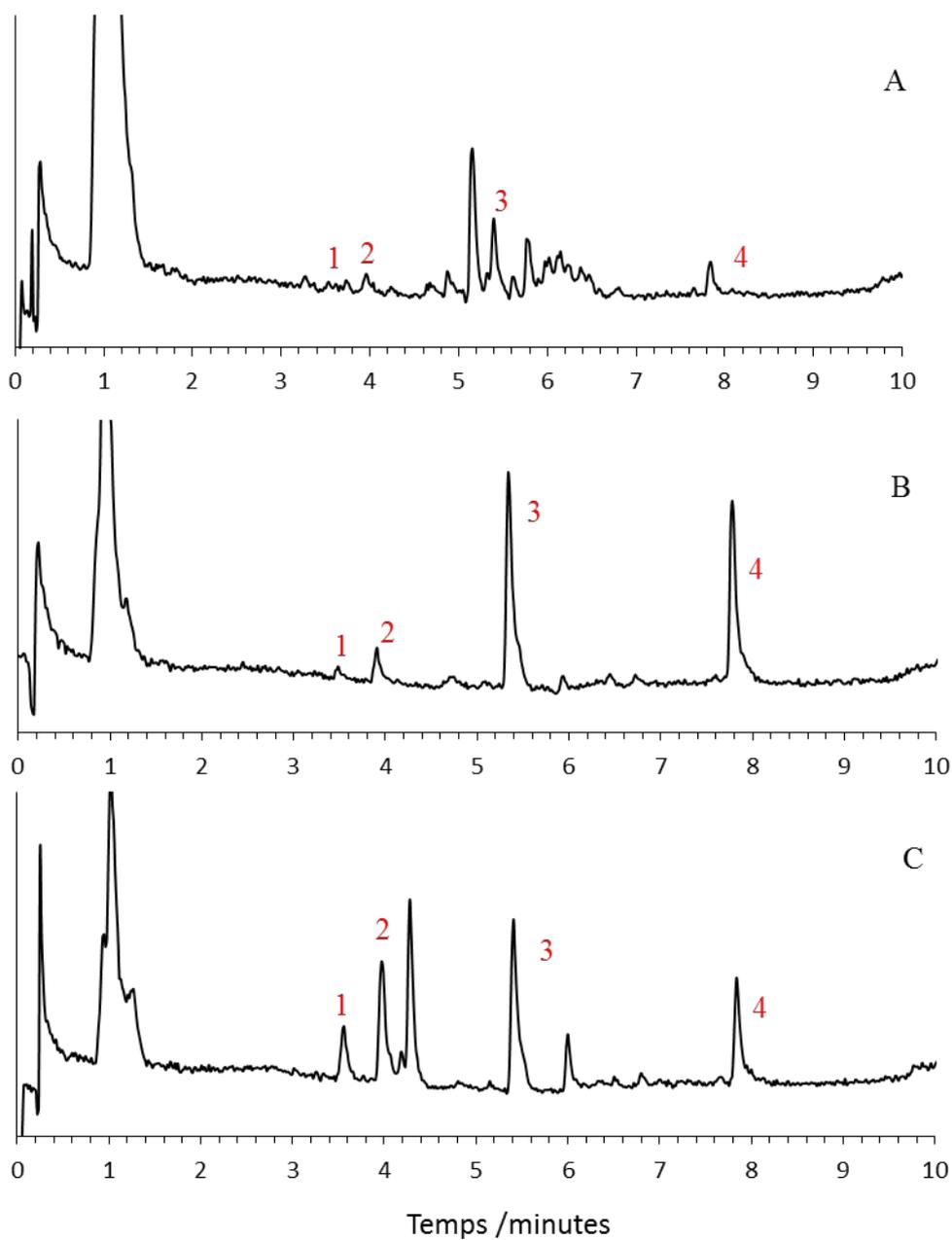
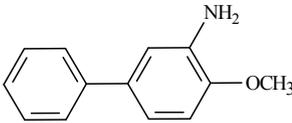
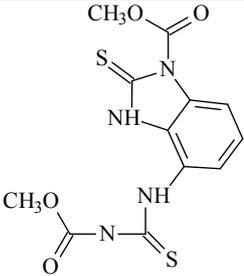
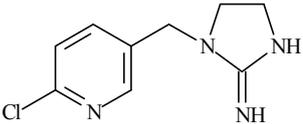
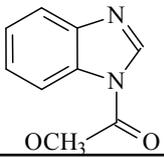
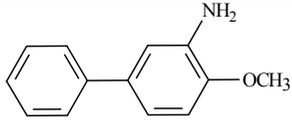
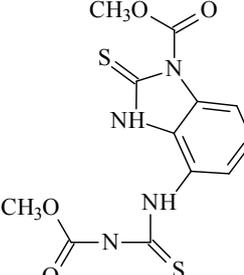
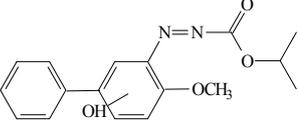


Figure 42 : Chromatogrammes HPLC-MS des échantillons à J+3 : A, des poivrons ; B, des concombres et C, des tomates. Les numéros 1, 2, 3 et 4 désignent respectivement : l'imidaclopride, l'acétamipride, le TM et le BIF

Tableau 20 : Photoproduits retrouvés après rinçage de la peau des tomates et des concombres par le méthanol

| Echantillon | Temps de rétention (min) | m/z en ES ⁺ | Formule de l'ion neutre | Structure chimique proposée | Molécule mère |
|-------------|--------------------------|------------------------|------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| J+1 | 4,7 | 200,1066 | C ₁₃ H ₁₃ ON |  | BIF |
| | 8,3 | 341,03668 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₄ S ₂ |  | TM |
| J+3 | 1,0 | 211,07423 | C ₉ H ₁₁ N ₄ Cl |  | Imidaclopride |
| | 1,2 | 192,07658 | C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ |  | TM |
| | 4,7 | 200,1066 | C ₁₃ H ₁₃ ON |  | BIF |
| | 8,3 | 341,03668 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₄ S ₂ |  | TM |
| | 6,9 | 315,13318 | C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₄ |  | BIF |

Les produits de photodégradation retrouvés par rinçage de la surface des concombres sont les mêmes que ceux déjà trouvés par extraction QUECHERS de la totalité du légume

(pulpe + peau) mais avec 2 molécules de plus. La première a un ratio $m/z = 200$ en ES^+ et provient de la photodégradation du BIF, cette molécule a été aussi détectée après photodégradation du BIF dans l'ACN et sur des morceaux de poivrons en conditions de laboratoire. La 2ème molécule est un photoproduit relatif à l'imidaclopride, le ratio m/z est de 211. Cette molécule a été également formée par photolyse de l'imidaclopride dans l'ACN et sur la surface des poivrons verts. L'augmentation du nombre de photoproduits à J+3 est aussi en accord avec les résultats obtenus par extraction QUECHERS des concombres. Ces résultats confirment l'existence d'un processus de photodégradation du TM, du BIF et de l'imidaclopride à la surface des concombres exposées à la lumière solaire. L'absorption de la lumière solaire par ces 3 pesticides semble donc possible même en présence des films de plastiques couvrant les serres. Il est en de même pour les tomates sur lesquelles ces molécules sont encore présentes. L'apparition d'un photoproduit de l'imidaclopride sur la peau des concombres et pas dans les analyses de la totalité du légume peut être expliqué par le fait que ces produits se forment à des quantités très petites, par suite l'analyse de la pulpe et de la peau peut avoir pour rôle de diluer leurs quantités après broyage du légume (le pulpe contenant une grande quantité d'eau). Il en résulte que les quantités de ces photoproduits deviennent de plus en plus petites et même inférieures à la limite de détection de l'HPLC-MS. La **Figure 43** confirme cette hypothèse. En comparant les intensités des pics des photoproduits P_1 , P_2 , P_3 , P_4 et P_5 à celle des pics des pesticides (**Figure 42** chromatogramme C), on peut conclure que les photoproduits existent bien dans les échantillons mais à des quantités beaucoup plus petites que celle des résidus des pesticides. Ces quantités sont encore plus faibles dans les extraits totaux des légumes (pulpe + peau) ce qui confirme alors la difficulté de les détecter tous dans ce cas.

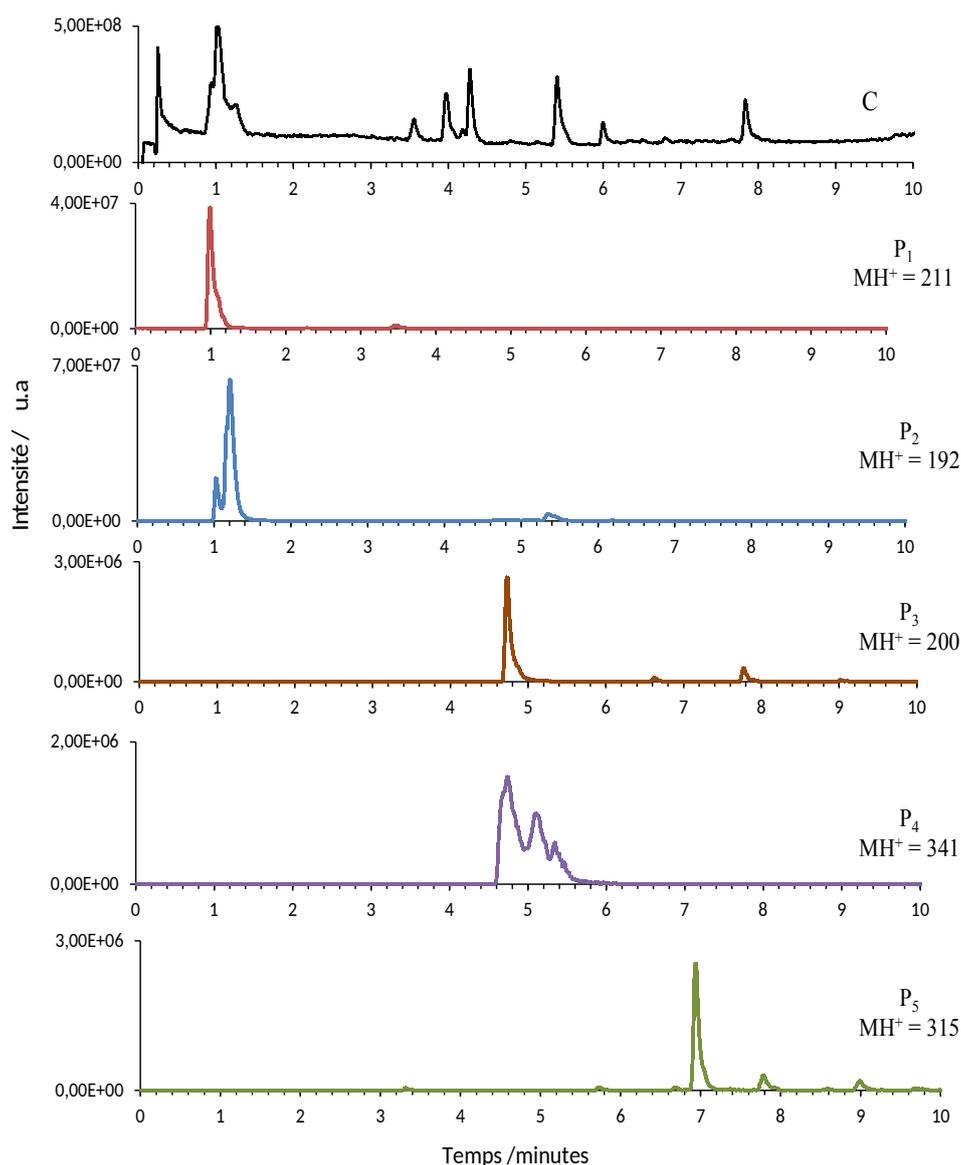
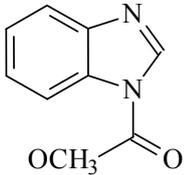
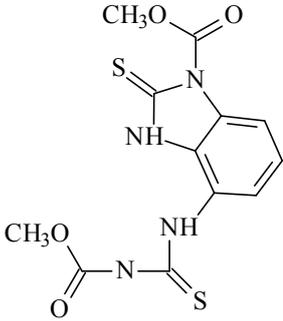
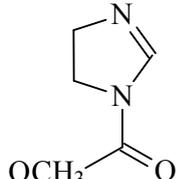
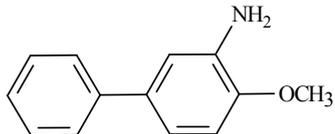
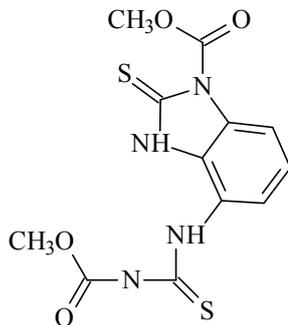


Figure 43 : Chromatogrammes HPLC-MS de l'échantillon à J+ 3 résultant du rinçage des peaux des tomates (C) et pics caractéristiques pour chaque photoproduits trouvés (P₁, P₂, P₃ et P₄ et P₅)

b) Dans les poivrons

Au contraire de ce qui été trouvé par extraction QUECHERS, plusieurs photoproduits ont été identifiés après rinçage de la surface des poivrons par le méthanol (**Tableau 21**). L'existence de photoproduits à la surface des poivrons verts conduit à rejeter l'hypothèse que d'autres processus de dégradation sont seuls responsables de la disparition des pesticides (comme les résultats de l'extraction par méthode QUECHERS ont montré). Il est alors plus logique de confirmer la présence des photoproduits mais à des quantités trop faibles pour être détectés (au-dessous de la limite de détection).

Tableau 21 : Photoproduits trouvés après rinçage de la peau des poivrons verts par le méthanol à J+1 et J+3

| Echantillon | Temps de rétention (min) | m/z en ES ⁺ | Formule de l'ion neutre | Structure chimique proposée | Molécule mère |
|-------------|--------------------------|------------------------|------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| J+1 | 1,2 | 192,07658 | C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ |  | TM |
| | 8,3 | 341,03668 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₄ S ₂ |  | TM |
| J+3 | 1,2 | 192,07658 | C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ |  | TM |
| | 4,7 | 200,1066 | C ₁₃ H ₁₃ ON |  | BIF |
| | 8,3 | 341,03668 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₄ S ₂ |  | TM |

Les photoproduits retrouvés après rinçage de la peau des poivrons verts sont similaires à ceux listés dans le **Tableau 21** sauf que sur les poivrons aucun photoproduit relatif à l'imidaclopride n'a été détecté. Il est à noter que le photoproduit du BIF avec un ratio m/z =200 a été également détecté par irradiation dans les conditions du laboratoire d'un dépôt

solide de BIF sur les poivrons verts. Il en est de même pour les 2 photoproduits trouvés pour le TM ($m/z=341$ et $m/z=192$) déjà observés en irradiant un dépôt de TM sur des poivrons verts au laboratoire. Ces résultats semblent être alors en accord total avec ce qui a été obtenu sous les conditions du laboratoire.

On remarque qu'aucun photoproduit résultant de la photolyse de l'acétamipride n'est trouvé dans les échantillons extraits par la méthode QUECHERS ou obtenus par rinçage de la peau. Cela est bien en accord avec la littérature où il a été démontré que l'acétamipride ne se photodégrade pas à la lumière solaire²⁰⁸ (presque pas d'absorption au-delà de 280 nm). Dans la plupart des études menées sur la photolyse de l'acétamipride, des photocatalyseurs ou des sensibilisateurs ont été utilisés pour induire sa photodégradation^{128,209-211}.

Enfin, la présence de photoproduits sur la peau des concombres et des poivrons constitue une preuve assez concrète de la possibilité d'une photodégradation des pesticides pulvérisés dans les serres agricoles même présence d'un couvert de film plastique. Ce phénomène est sûrement bien facilité par l'ouverture permanente d'une partie de la couverture plastique qui permet à la lumière solaire de pénétrer à l'intérieur de la serre (**Figure 44**).

VI.3. Analyse des échantillons d'air

Les prélèvements d'air dans les serres agricoles avait pour but de déterminer la composition atmosphérique régnant après application des phytosanitaires et donc d'identifier les molécules qui susceptibles d'être inhalées par l'agriculteur, qu'elles proviennent des pesticides eux-mêmes ou des végétaux qui répondent au stress chimique.

La volatilité d'une molécule est estimée sur la base de sa pression de vapeur (V_p). Pour qu'un pesticide soit capable de se volatiliser de la surface d'une plante ou du sol elle doit présenter respectivement un $V_p > 10^{-5}$ Pa ou $V_p > 10^{-4}$ Pa à 25°C²¹². Se faisant, aucun des 4 pesticides pulvérisé n'était donc suffisamment volatil pour être piégé sur les cartouches:

$$V_{p \text{ TM}} = 8,8 \times 10^{-6} \text{ Pa}$$

$$V_{p \text{ Bif}} = 9 \times 10^{-6} \text{ Pa}$$

$$V_{p \text{ Imidaclopride}} = 9 \times 10^{-10} \text{ Pa}$$

$$V_{p \text{ acétamipride}} = 1,7 \times 10^{-7} \text{ Pa}$$



Figure 44 : Ouverture permanente des serres agricoles à Menyeh

VI.3.1. Identification et suivi des composés volatils

Les principales molécules retrouvées sont listées dans le **Tableau 22**. Les produits volatils détectés dans les échantillons d'air appartenaient à 3 groupes principaux : les alcanes, les terpènes et les aldéhydes. Leurs structures ont été identifiées d'après la librairie du logiciel d'analyse des spectres. Aucun photoproduit de pesticides pulvérisés n'a été détecté dans les échantillons. Cela démontre que ces photoproduits ne sont pas suffisamment volatils. Les terpènes, également appelés terpénoïdes ou isoprénoïdes, constituent la plus grande classe de produits naturels avec plus de 55 000 composés connus²¹³. Ces produits chimiques sont issus du métabolisme secondaire des espèces végétales et animales. Les structures types contiennent des squelettes carbonés en $(C_5)_n$ et sont classés comme hémiterpènes C_5 , monoterpènes C_{10} , sesquiterpènes C_{15} , diterpènes C_{20} , sesterterpènes C_{25} , triterpènes C_{30} et tétrapentènes C_{40} ²¹⁴.

Les monoterpènes, les aldéhydes à chaînes saturées ($C_6 - C_{10}$) et les alcanes, existaient même le jour précédant la pulvérisation, mais en plus faible d'abondance que le jour de la pulvérisation et celui d'après. A J+6, l'air collecté à 18 H le soir ne contenait qu'une seule molécule : le nonaldéhyde. Par contre, l'échantillon pris ce même jour à 11 H du matin contenait des terpènes et des aldéhydes. Il en était de même pour les deux échantillons pris 3 jours après la pulvérisation : plus de molécules étaient présentes dans la phase gazeuse le matin que le soir. Ceci constitue une preuve de l'effet de la lumière solaire sur la composition chimique de la phase gazeuse dans une serre agricole. Il a déjà été rapporté que l'émission des aldéhydes par les plantes est fortement liée à la présence de la lumière et à l'augmentation des

températures autour des plantes²¹⁵. L'intensité de la lumière solaire étant plus forte à 11 H qu'à 18 H, nos résultats sont en excellent accord avec ces données de la littérature.

De plus, la pulvérisation des pesticides semble avoir aussi eu un impact sur la composition chimique de l'air. L' α -terpinène et le décanal sont 2 composés chimiques présents dans tous les échantillons. Il a été démontré dans une étude précédente que les tomates sont responsables de l'émission de l'hexanal et du β -phéllandrène²¹⁶. Les aldéhydes en C₆-C₁₀ sont des constituants du matériel végétal. Ces composés sont ainsi synthétisés par les plantes et peuvent également être émis^{217,218}. D'un point de vue chimique, la cuticule est formée par un ensemble de composés ayant des propriétés physico-chimiques différentes. Ces composés sont des cires, de la cutine et/ou du cutane, des polysaccharides, des composés phénoliques et minéraux. Les cires cuticulaires sont un mélange de composés, tels que les acides gras à longue chaîne, les alcools, les alcanes, les esters ou les triterpénoïdes²¹⁹. On peut alors considérer que cela était la raison de l'existence de molécule d'alcanes dans l'air des serres agricoles.

Un suivi des quantités des molécules par famille a été effectué en utilisant et en sommant les intensités des pics des chromatogrammes GC-MS (**Figure 45**). Ceci a permis de comprendre dans quel sens ces quantités varient sur les 6 jours suivant la pulvérisation. L'exploitation des variations des quantités de composés volatils permet d'évaluer l'effet du stress chimique chez les plantes cultivées dans la serre et sur la composition de la phase gazeuse d'une serre agricole.

Tableau 22 : Principales molécules chimiques principales identifiées dans les volumes d'air analysés

| Groupe | J-1 | J | | J+1 | J+3 | | J+6 | | |
|----------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-----|---------------------------------------------------------|
| | | A proximité de l'agriculteur | Dans la serre après pulvérisation | | 11 H | 18 H | 11H | 18H | |
| Alcanes | Tridécano C ₁₃ H ₂₈ | Heptane C ₇ H ₁₆ | Heptane C ₇ H ₁₆ | Nonane C ₉ H ₂₀ | Nonane C ₉ H ₂₀ | Octadécane C ₁₈ H ₃₈ | X | X | |
| | Tétradécane C ₁₄ H ₃₀ | Octane C ₈ H ₁₈ | | Tétracosane C ₂₄ H ₅₀ | Octane C ₈ H ₁₈ | | | | |
| | | Cyclohexane C ₆ H ₁₂ | | Octadécane C ₁₈ H ₃₈ | Octadécane C ₁₈ H ₃₈ | | | | |
| | Pentadécane C ₁₅ H ₃₂ | 1,1,3-Triméthylcyclohexane C ₉ H ₁₈ | | | | | | | |
| | | Propylcyclohexane C ₉ H ₁₈ | | | | | | | |
| Terpènes | α -Terpinène C ₁₀ H ₁₆ | α -Pinène C ₁₀ H ₁₆ | α -Pinène C ₁₀ H ₁₆ | α -Terpinène C ₁₀ H ₁₆ | α -Terpinène C ₁₀ H ₁₆ | X | α -Terpinène C ₁₀ H ₁₆ | X | |
| | l-Limonène C ₁₀ H ₁₆ | α -Terpinène C ₁₀ H ₁₆ | Thuyène C ₁₀ H ₁₆ | | | | | | β -Phélandrène C ₁₀ H ₁₆ |
| | Sabinène C ₁₀ H ₁₆ | I-Limonène C ₁₀ H ₁₆ | Sabinène C ₁₀ H ₁₆ | | | | | | |
| | | β -Phélandrène C ₁₀ H ₁₆ | β -Pinène C ₁₀ H ₁₆ | β -Phélandrène C ₁₀ H ₁₆ | | | | | |
| | | Caryophyllène C ₁₅ H ₂₄ | α -Terpinène C ₁₀ H ₁₆ | γ -Terpinène C ₁₀ H ₁₆ | I-Limonène C ₁₀ H ₁₆ | | | | |
| | | | I-Limonène C ₁₀ H ₁₆ | I-Limonène C ₁₀ H ₁₆ | | | | | |

| Groupe | J-1 | J | | J+1 | J+3 | | J+6 | |
|-----------|-------------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| | | A proximité de l'agriculteur | Dans la serre après pulvérisation | | 11 H | 18 H | 11H | 18H |
| Aldéhydes | Hexanal C ₆ H ₁₂ O | Décanal C ₁₀ H ₂₀ O | X | Octanal C ₈ H ₁₆ O | Heptanal C ₇ H ₁₄ O | X | Hexanal C ₆ H ₁₂ O | Nonaldéhyde C ₉ H ₁₈ O |
| | Heptanal C ₇ H ₁₄ O | Ethanal C ₂ H ₄ O | | | Octanal C ₈ H ₁₆ O | | Heptanal C ₇ H ₁₄ O | |
| | Benzaldéhyde C ₇ H ₆ O | | | Décanal C ₁₀ H ₂₀ O | Nonaldéhyde C ₉ H ₁₈ O | | Octanal C ₈ H ₁₆ O | |
| | Octanal C ₈ H ₁₆ O | | | Nonaldéhyde C ₉ H ₁₈ O | Décanal C ₁₀ H ₂₀ O | | Nonaldéhyde C ₉ H ₁₈ O | |
| | Nonaldéhyde C ₉ H ₁₈ O | | | | Nonaldéhyde C ₉ H ₁₈ O | | Décanal C ₁₀ H ₂₀ O | |
| | Décanal C ₁₀ H ₂₀ O | | | | Benzaldéhyde C ₇ H ₆ O | | | |

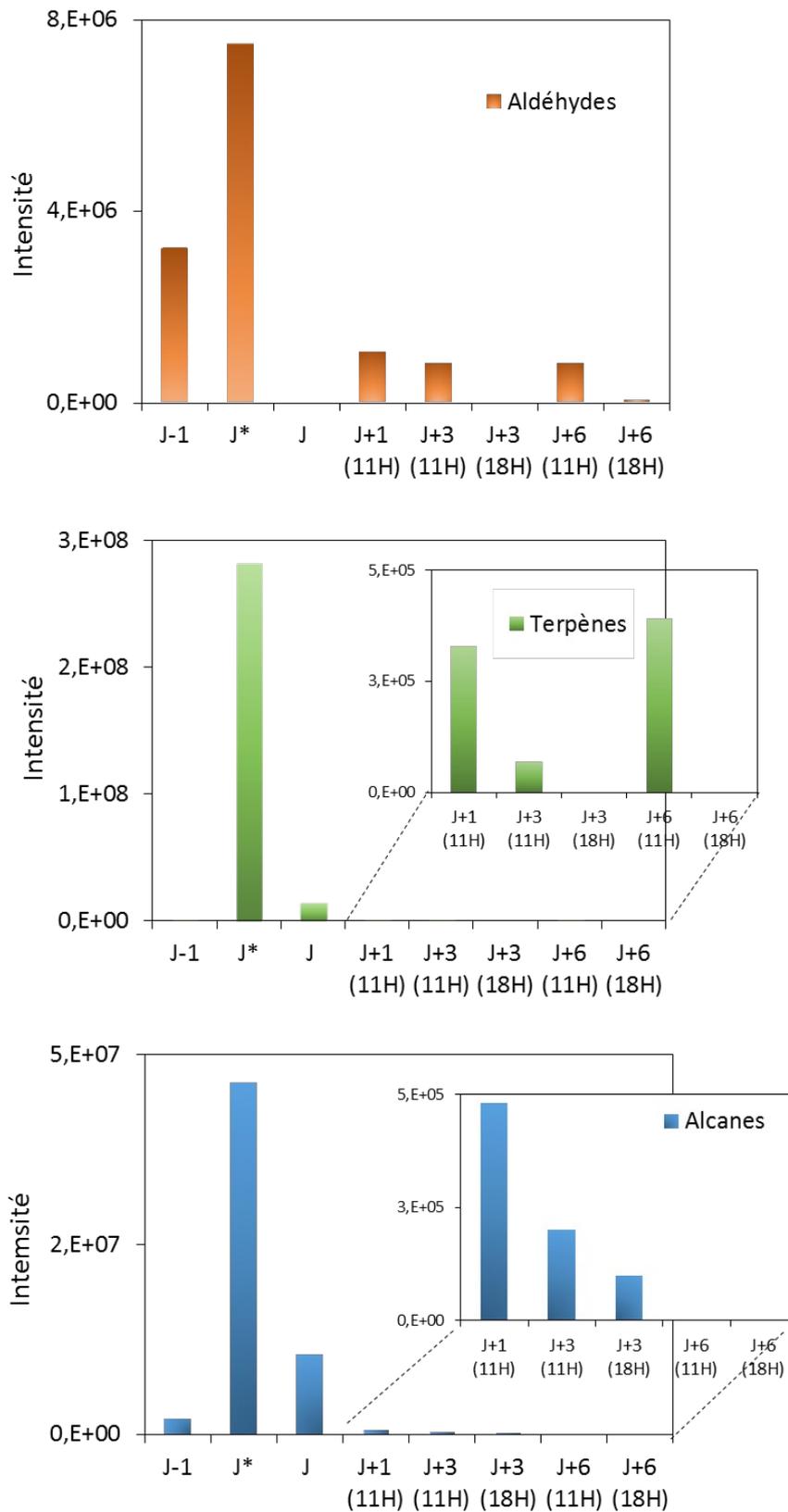


Figure 45 : Variation des quantités de terpènes, d’alcanes et d’aldéhydes dans les 6 jours suivants la pulvérisation de pesticides. Les inserts sont des zooms.

J* : échantillon pris le jour de la pulvérisation à proximité de l’agriculteur

La première chose qu'on observe sur la **Figure 45** est la forte augmentation de terpènes, d'alcane et d'aldéhydes dans l'échantillon de l'air pris à proximité de la bouche et du nez de l'agriculteur lors de la pulvérisation. Il est bien visible que ces intensités étaient les plus élevées à J*. Les terpènes étaient les molécules les plus abondantes (pics de plus grandes intensités) détectées dans l'air inhalé par l'agriculteur, suivi par les alcanes puis les aldéhydes. Néanmoins, l'agriculteur était aussi exposé à de grandes quantités de divers aldéhydes et d'alcane.

D'un autre côté, l'air prélevé le jour (J) contenait aussi beaucoup de terpènes et d'alcane. L'augmentation brusque des quantités de composés organiques volatils au moment de la pulvérisation pose 2 d'interrogations :

- 1- Ces composés sont-ils une vive réaction des plantes à la pulvérisation? A noter cependant qu'ils existaient déjà dans l'échantillon J-1 mais en plus faible d'abondance. Est-ce lié à l'agriculteur lui-même compte tenu des quantités importantes autour de sa bouche et de son nez ?
- 2- Quel est l'effet de l'inhalation de ces quantités d'aldéhydes, de terpènes et d'alcane (**Tableau 22**) sur la santé de l'agriculteur. A noter qu'il ne prend aucune mesure de protection en pulvérisant

Si on exploite seul chaque histogramme de la **Figure 45**, on peut en déduire les éléments suivants :

Pour les terpènes : l'intensité des terpènes était la plus faible le jour qui précède la pulvérisation. Cette intensité augmentait beaucoup au moment de la pulvérisation surtout dans (J*). L'air prélevé juste après la pulvérisation des pesticides contenait moins de terpènes qu'au moment de la pulvérisation. La quantité de terpènes continuait à diminuer dans les 3 jours qui suivent la pulvérisation, puis augmentait de nouveau le 7ème jour. Les quantités de terpènes dans une même journée en fonction de l'intensité lumineuse augmentaient sous l'effet de cette dernière (J+3 et J+6). Tout ça peut être expliqué par le fait que tout facteur de stress peut potentiellement modifier le taux de libération de ces composés organiques volatils par la plante²²⁰. Les facteurs de stress peuvent être biotiques (herbivores, pathogènes ou virus)^{221,222} ou abiotiques (température, lumière, exposition à l'ozone)^{223,224}. Les plantes ont développé des systèmes de défense physiques et chimiques pour se protéger contre des facteurs de stress. Parmi les systèmes de défense physiques, les épines et les feuilles durcies jouent un rôle important dans plusieurs espèces végétales^{225,226}, tandis que les cires et les métabolites secondaires constituent une réponse de défense directe commune à toutes les

plantes²²⁷. De plus, les composés volatils induits par un stress contribuent aussi à la défense indirecte et peuvent être un signal d'appel à l'aide entre les plantes²²⁸. Les terpènes, étant des métabolites secondaires, ils sont émis en plus grandes quantités sous un stress de température ou un stress chimique abiotique comme la pulvérisation des pesticides. Ceci peut expliquer les quantités plus élevées à midi et l'augmentation de ces quantités lors et après pulvérisation. En se basant sur ce qui est déjà dit, on peut expliquer l'augmentation des quantités de terpènes 6 jours après la pulvérisation par une défense contre une certaine attaque d'herbivores ou de pathogènes ou une signalisation de défense indirecte entre les plantes.

Pour les alcanes : Les variations des quantités d'alcanes allaient dans le même sens que celui des terpènes, sauf qu'aucune augmentation n'a été observée à J+6. L'existence de plus d'alcanes dans les échantillons pris jour de la pulvérisation peut être expliqué de 2 manières : soit ces alcanes proviennent des formulants (adjuvants, surfactants) qui existent dans les formulations de pesticides appliqués soit ces volatils sont émis par la cuticule des plantes comme réponse à un stress abiotique (chimique)

Pour les aldéhydes : une étude montre une augmentation des quantités d'aldéhyde dans l'air des serres agricoles suite à un stress chimique d'ozone et à une augmentation de la température²¹⁵. Ceci explique alors bien les variations observées (**Figure 45**). La non-détection d'aldéhyde le jour J pourrait être liée à un problème d'analyse.

Enfin, en ce qui concerne l'effet de l'inhalation des produits détectés, plusieurs réponses sont apportées dans la littérature. En plus du risque de toxicité acquise, il existe maintenant des preuves que l'exposition à des aldéhydes environnementaux peut accélérer l'apparition et le développement de certaines affections humaines impliquant un stress oxydatif, par exemple des maladies cardiovasculaires, le diabète et la maladie d'Alzheimer^{229,230}. Les aldéhydes sont des composants omniprésents dans l'environnement et l'exposition humaine représente un risque potentiel pour la santé étant donné la toxicité bien documentée de ces produits chimiques^{231,232}. De plus, nous pensons que les émissions d'aldéhydes à partir des plantes sont importantes pour la chimie atmosphérique car la photolyse de ces composés par la lumière solaire peut conduire à la formation de radicaux²¹⁵ potentiellement très toxiques. Chez les humains, de fortes concentrations d'alcanes inhalés peuvent entraîner des effets anesthésiques ou une narcose²³¹. Chez les mammifères, les alcanes peuvent solubiliser les graisses ou les muqueuses et pénétrer dans les fibres nerveuses de la gaine de myéline²³³. En ce qui concerne l'effet des terpènes sur la santé, ce groupe chimique ne semble avoir aucun impact négatif sur la santé humaine. Par contre, plusieurs

études rapportent les effets bénéfiques de ces molécules (effet anti-inflammatoire, antifongique, antimicrobien)^{234,235}. Néanmoins, les produits résultant de l'oxydation du limonène, un monoterpène identifié dans plusieurs de nos échantillons, peut avoir des effets allergènes sur la peau²³⁶. Par conséquent, l'exposition aux VOCs (composés organiques volatils) détectés dans les serres agricoles au Liban nord suite à la pulvérisation des pesticides peut avoir un effet négatif sur la santé à long terme. Donc il est fortement conseillé de prendre des mesures de protection que ce soit lors de la pulvérisation ou même en pénétrant dans les serres jusqu'à 10 jours après la pulvérisation. La **Figure 45** constitue une preuve de la persistance des molécules d'aldéhydes même après 10 jours de la pulvérisation. La serre agricole étant une structure fermée, le confinement des gaz à l'intérieur sera plus important et nécessite plus de précautions.

VII. Comportement du plastique des serres

VII.1 Généralités sur les plastiques recouvrant les serres

Les films de plastique utilisés pour la couverture des serres agricoles ont plusieurs fonctions essentielles : la protection des cultures contre les intempéries (pluie, vent, froid), l'amélioration de la gestion du climat et l'optimisation des conditions de culture (lumière, température, hygrométrie, etc.). Par conséquent, la sélection d'une couverture est cruciale pour atteindre un environnement contrôlé optimal, en particulier en ce qui concerne l'intensité du rayonnement solaire et la filtration de certaines longueurs d'onde. Les films utilisés pour cette application ont généralement entre 80 et 220 μm d'épaisseur. Le marché est partagé entre les films monocouches et les films tri-couches en fonction du niveau technologique du pays. Plus de 80% du marché mondial est constitué de films réalisés à partir de LDPE (polyéthylène basse densité), de copolymères éthylène-acétate de vinyle (EVA) et d'éthylène-acrylate de butyle (EBA). D'autres polymères sont utilisés tels que le PVC (polychlorure de vinyle) plastifié au Japon et le polyéthylène basse densité linéaire (LLDPE) dans le reste du monde²³⁷.

Comme tous les matériaux polymères, les couvertures en plastique des serres sont potentiellement sujettes à la dégradation photochimique, thermique et chimique pendant leur utilisation. De nos jours, la durée de vie des films de serre peut varier entre six et quarante-cinq mois. Dans les pays industrialisés, une durée de vie minimale (une à quatre saisons

agricoles) est garantie par le fournisseur. Les paramètres les plus importants affectant la durée de vie utile des films de serre peuvent être regroupés en deux catégories ²³⁸ :

- Paramètres inhérents au film : type de polymère (LDPE, EVA, EBA, LLDPE, autres), type de film (monocouche ou multicouches), additifs de stabilisation, autres additifs (charges minérales, pigments ...), épaisseur du film et procédé de fabrication du film
- Paramètres environnementaux: conception de serre (hauteur, ventilation, fixation du film), paramètres géographiques et météorologiques (irradiation solaire, température, pluie, altitude), produits agrochimiques (composition des produits chimiques, fréquence d'application et méthode d'application des pesticides).

La dégradation des propriétés fonctionnelles des polymères par le rayonnement solaire est une des principales causes de leur durée de vie limitée^{239,240}. Les pesticides peuvent également réduire la vie des films du plastique. Leur influence dépend de la structure chimique du pesticide, de la fréquence et de la concentration de l'application, et de la composition chimique du film (LDPE ou EVA)²⁴¹. L'ajout d'additifs pendant la fabrication des films est indispensable pour ralentir leur processus de dégradation. Par exemple, la combinaison d'absorbants UV et d'anti-oxydants est généralement utilisée pour protéger les films transparents²⁴¹.

Compte tenu de l'importance de la lumière solaire sur l'altération des films plastiques des serres agricoles, nous avons consacré une partie de notre travail à cet aspect. Nous nous sommes plus particulièrement intéressés à la photodégradation des pesticides sur la surface du film utilisé pour couvrir les serres agricoles au Liban. Les photoproduits formés issus de la dégradation des pesticides ont également été identifiés.

VII.2. Analyse du film plastique des serres agricoles du Liban

VII.2.1. Constitution du polymère et caractéristiques spectrales

La caractérisation du film de polymère utilisé pour la couverture des serres agricoles au Nord Liban a été effectuée par analyses spectrales. Deux types de technique ont été mises en œuvre : la spectroscopie infrarouge (transmittance et réflexion totale atténuée (ATR)) pour identifier la structure chimique du film de serre agricole, la présence d'additifs et la formation des produits de dégradation après utilisation, ainsi que la spectroscopie UV-visible pour identifier la présence d'additifs (anti-UV) et un éventuel jaunissement après utilisation. Au

préalable de ces analyses spectroscopiques, l'épaisseur du film de serre a été mesurée à plusieurs endroits à l'aide d'un micromètre. Ces mesures ont permis de révéler une hétérogénéité dans l'épaisseur qui est comprise entre 198 μm et 226 μm .

Les spectres infrarouge (IR) en transmittance d'un film de plastique pour la couverture des serres avant utilisation (Pt0), celui d'un film d'EVA (contenant 14% de groupes vinyle acétate) et celui d'un film de polyéthylène (PE) de 100 μm d'épaisseur sont représentés sur la **Figure 46 A**.

La **Figure 46 A**, qui correspond à une analyse en transmission de toute l'épaisseur du film de serre, révèle la présence de bandes communes aux trois polymères désignés. Le spectre du plastique des serres montre la présence des bandes IR classiquement attribuées au PE: les bandes à 2849 cm^{-1} et 2920 cm^{-1} correspondent au mode de vibration des groupes CH_2 , celles à 1430 cm^{-1} et entre 720 et 850 cm^{-1} (faible intensité) correspondent au mode de déformation et d'allongement du groupe CH_2 . De plus, plusieurs bandes IR du plastique Pt0 coïncident avec les groupes chimiques caractéristiques de l'EVA, notamment les bandes à 2852 (étirement C-H), 1740 (C=O de l'ester), 1241 (C-O-C de l'ester éther), 1099 (C-O) et 1370 cm^{-1} (C-H). Nous avons aussi réalisé des analyses IR/ATR de la surface du film de serre en sondant environ les cinq premiers microns (**Figure 46 B**). Le spectre IR/ATR de la face supérieure et inférieure présente les vibrations IR du PE, mais pas celles de l'EVA, suggérant ainsi que la première couche du film de serre est constituée de PE uniquement. En éliminant environ les 10 premiers microns superficiels avec du papier abrasif, on observe l'apparition d'une bande de vibration à 1740 cm^{-1} caractéristique de la liaison C=O de l'EVA. L'ensemble de ces analyses nous permet de conclure que le film de serre agricole (Pt0) est un polymère tri-couches constitué d'EVA entre deux couches de PE (PE/EVA/PE).

Les spectres IR/ATR révèlent aussi la présence de bandes de faible intensité vers 1722 et 1739 cm^{-1} généralement attribuées à la présence d'anti-oxydants de *process*, additifs indispensables pour pouvoir mettre en forme les polymères. Le spectre du plastique de serre Pt0 présente également plusieurs bandes IR supplémentaires qui ne correspondent ni au PE ni à l'EVA : par exemple les bandes à 3456, 1542, 1082 et 874 cm^{-1} . La bande à 1542 cm^{-1} est la plus spécifique et correspond à la vibration d'une liaison N-OR¹⁹⁹, suggérant donc la présence d'un autre additif.

Il est à noter alors que des additifs de type NOR sont généralement utilisés pour stabiliser les films de serres agricoles contre les produits chimiques, spécialement les

pesticides, afin de les mieux tolérer²⁴². Le spectre IR/ATR du Pt0 après élimination de 10 à 20µm d'épaisseur (**Figure 46 B**) montre la persistance de la bande à 1542 cm⁻¹ relative à l'additif N-OR. Cela signifie soit que PE et EVA contiennent cet additif, soit qu'il a diffusé depuis le PE vers l'EVA.

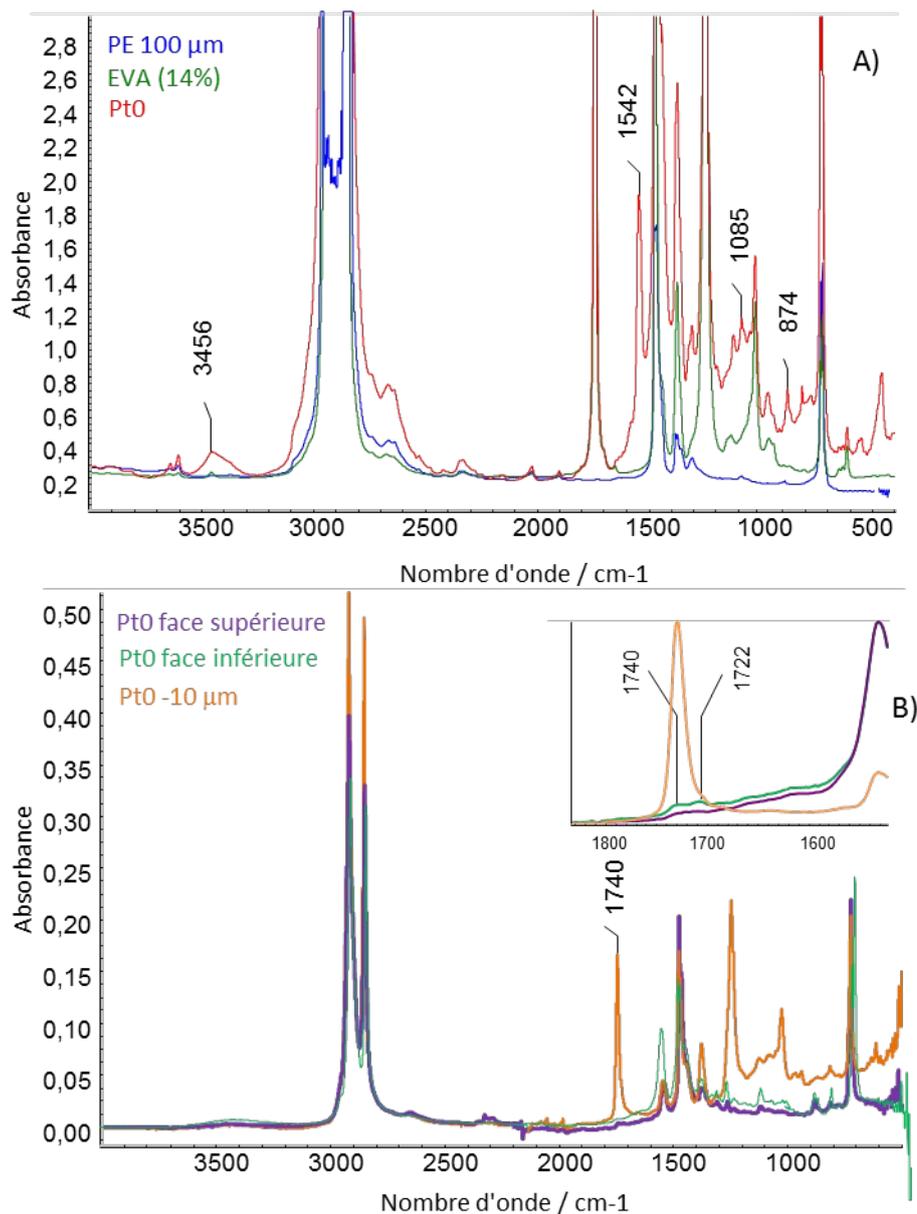


Figure 46 : A) Spectres IR en transmittance du film utilisé pour la couverture des serres (Pt0) par comparaison avec celui de deux polymères de référence : un film de PE (100 µm) et un film d'EVA (100 µm). B) Spectres IR/ATR de Pt0 : face supérieure et face inférieure ainsi qu'après élimination d'environ 10 µm d'épaisseur. L'insert est un zoom

L'analyse par spectroscopie UV-visible du film de Pt0 génère un spectre d'absorption (**Figure 47**) qui présente une très forte absorbance en dessous de 400 nm, l'absorbance entre 300 et 400 nm variant de 1 à 2. On observe une bande d'absorption avec un maximum en UV à 350 nm. Comme PE et EVA sont des polyoléfines sans groupe chromophore propre capable d'absorber les photons UV-visible du spectre solaire, on peut en déduire la présence d'un autre additif dans le film, probablement un stabilisant de type anti-UV.

En comparant ce spectre avec ceux des pesticides pulvérisés (**Figure 47** montre BIF comme exemple), il est clair que le film absorbe intensément dans la zone de longueur d'onde d'absorption des pesticides. Entre 300 et 350 nm où l'absorbance du film est de 2, on obtient en utilisant la relation :

$$A = \log I_0/I_T$$

Où A est l'absorbance, I_0 et I_T les intensités reçue et transmise par le film, qu'à peu près 1% de la lumière dans cette région spectrale pénètre dans la serre. La photodégradation directe des pesticides est alors particulièrement atténuée, voire quasi-impossible.

En conclusion, les analyses spectroscopiques du film de plastique utilisé pour la couverture des serres agricoles au Liban permettent de dire que le plastique est probablement un polymère tricouche PE/EVA/PE stabilisé par trois types d'additifs, un contre le rayonnement UV, un anti-oxydant de *process* et un troisième additif contre l'effet des pesticides. La présence de l'additif anti-UV rend la photodégradation des pesticides dans la serre presque impossible. De plus l'épaisseur de ce film n'est pas homogène.

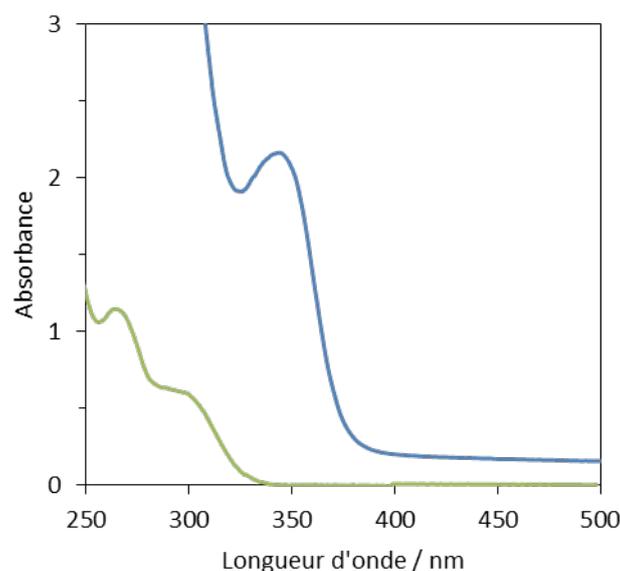


Figure 47 : Spectre d'absorption UV-visible du plastique des serres (Pt0) (bleu) et spectre d'absorption de BIF (vert)

VII.3. Evolution du film des serres agricoles après quatre années d'utilisation

VII.3.1. Analyse visuelle des échantillons

Afin de comprendre l'effet des conditions naturelles (soleil, vent, poussière, pluie, variations de température) sur la modification des caractéristiques spectrales des films de plastique de serre utilisés au Liban, plusieurs échantillons de plastique ont été analysés. L'échantillon analysé dans ce travail est un film de plastique qui a été utilisé pour la couverture d'une serre agricole pendant quatre années successives (**Figure 48 A**). Alors que le film est initialement transparent, il apparaît clairement sur la Figure 48 A que le film après utilisation n'a pas une coloration homogène. Par suite trois zones ont été sélectionnées pour pouvoir analyser trois échantillons représentatifs (**Figure 48 B**). Echantillon 1 : un film de plastique quasi-transparent (Pt4 a); échantillon 2 : un film ayant une coloration brune (Pt4 b); et échantillon 3 : un film ayant une coloration presque noire (Pt4 c).

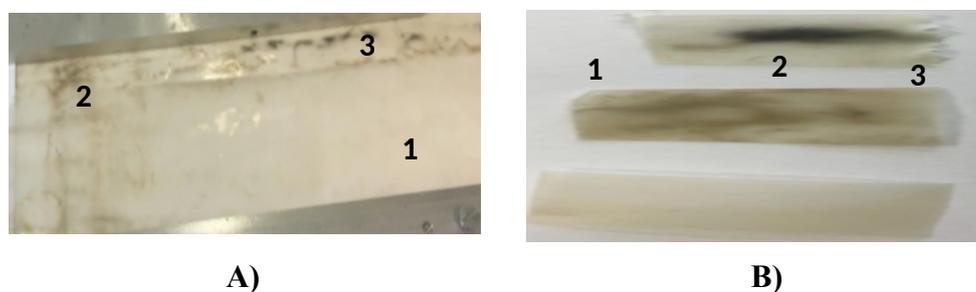


Figure 48 : Film de plastique utilisé pendant quatre ans en tant que couverture d'une serre agricole au Liban Nord : A) Zones sélectionnées pour les analyses et B) différence de couleur des films analysés appartenant à chacune des zones précitées

VII.3.2. Analyses spectroscopiques

a) Analyse par spectroscopie UV-visible

Les spectres d'absorption UV-visible des trois échantillons Pt4 a, Pt4 b et Pt4 c ont été enregistrés (**Figure 49**).

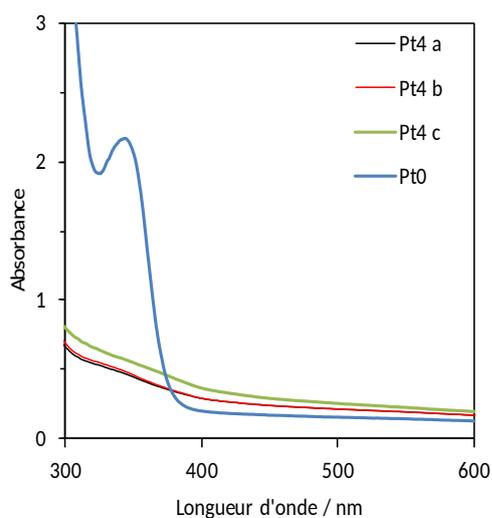


Figure 49 : Spectre d'absorption de trois échantillons de couleur différente du plastique des serres après quatre années d'utilisation (Pt4 a, Pt4 b et Pt4 c)

La **Figure 49** montre tout d'abord que le fait le plus notable est la perte totale de l'additif après quatre années d'utilisation et ce quelque soit l'échantillon. Par rapport au film neuf (**Figure 47**), on observe une diminution importante de l'absorption en dessous de 400 nm liée à la disparition de l'additif. L'absorbance entre 300 et 400 nm varie entre 0,25 et 0,6. Ceci implique qu'une quantité plus grande de photons dans le domaine 300-400 nm peut traverser le film de plastique après quatre ans d'utilisation. Le film transmet alors 25 à 40% de la lumière solaire dans cette plage de longueur d'onde. Il est important de souligner que c'est ce plastique usager qui recouvrait la serre de laquelle nous avons pris les échantillons de légumes étudiés dans ce travail. Cela rend possible l'existence de processus photochimiques directs et la formation de photoproduits de l'imidaclopride, du BIF et du TM, puisque ces trois molécules absorbent la lumière jusqu'à 350 nm.

On observe aussi sur les spectres UV-Visible des absorbances différentes entre 300 et 400 nm pour les trois échantillons. C'est l'échantillon Pt4 c qui absorbe le plus dans ce domaine. Ceci est en accord avec la coloration de Pt4 c qui est presque noir. L'échantillon Pt4 b a une absorbance de 0,2 à 0,6 entre 300 et 400 nm. Cette absorbance est intermédiaire par rapport aux absorbances des deux autres échantillons dans ce domaine (Pt4 a et Pt4c). La coloration des trois échantillons est bien en adéquation avec les spectres d'absorption UV-Visible qui révèlent des absorbances dans l'ordre croissant suivant : $A(\text{Pt4a}) < A(\text{Pt4b}) < A(\text{Pt4c})$.

L'hétérogénéité de coloration, en adéquation avec les spectres UV-Visible des trois échantillons analysés après quatre ans d'utilisation, peut être expliquée par deux hypothèses :

- 1- Le film s'est dégradé et son vieillissement est hétérogène. Le vieillissement du film est *a priori* possible puisqu'il a perdu son stabilisant anti-UV (bande à 350 nm), mais cependant peu probable puisque le vieillissement des polyoléfines n'est pas connu pour provoquer un tel brunissement. Par contre, la photodégradation des pesticides, et plus précisément des espèces intermédiaires mises en jeu, pourrait amorcer celle du film polymère.
- 2- Une contamination à la surface par une matière organique est responsable du changement de couleur.

Afin de confirmer l'une de ces deux hypothèses, des analyses spectroscopiques IR/ATR ont été effectuées à la surface de l'échantillon Pt4 b qui a une coloration brune et représente le cas intermédiaire. L'analyse par spectroscopie IR/ATR semble ici plus informative que la spectroscopie IR en transmittance puisque l'existence de la bande acétate dans les spectres IR du plastique rend la caractérisation de l'évolution particulièrement délicate.

b) Analyse par spectroscopie IR/ATR

Les spectres IR/ATR ont été enregistrés pour les deux faces de l'échantillon Pt4 b (**Figure 50**). Rappelons que le cristal diamant utilisé sonde environ une épaisseur de 5 μm .

En comparant les spectres IR/ATR des deux faces du film Pt4 b, on observe clairement la présence du même type de produit de dégradation. Par contre, le degré de dégradation n'est pas le même, puisque les deux bandes à 1016 cm^{-1} et à 3456 cm^{-1} sont moins intenses sur la face 2 que la face 1. Cette observation suggère que cette dégradation ne résulte pas du vieillissement de l'EVA ni du PE, puisque ces deux polymères sont perméables à l'oxygène et de fait il n'y a pas de profil d'oxydation dans le cas de leur vieillissement.

De plus, nous avons eu à disposition l'évolution des spectres IR d'un film de PE soumis pendant 14 mois à un vieillissement en condition extérieure à Clermont Ferrand. La **Figure 50** montre que c'est une bande dans le domaine des carbonyles centrée à 1726 cm^{-1} qui se développe dans le cas du PE; par contre on observe le développement d'aucune bande centrée à 1016 cm^{-1} , bande qui est le produit de la dégradation majoritaire du film de serre. On

peut donc en conclure que la dégradation observée sur le film de serre ne peut définitivement pas être attribuée à la photodégradation de la couche PE.

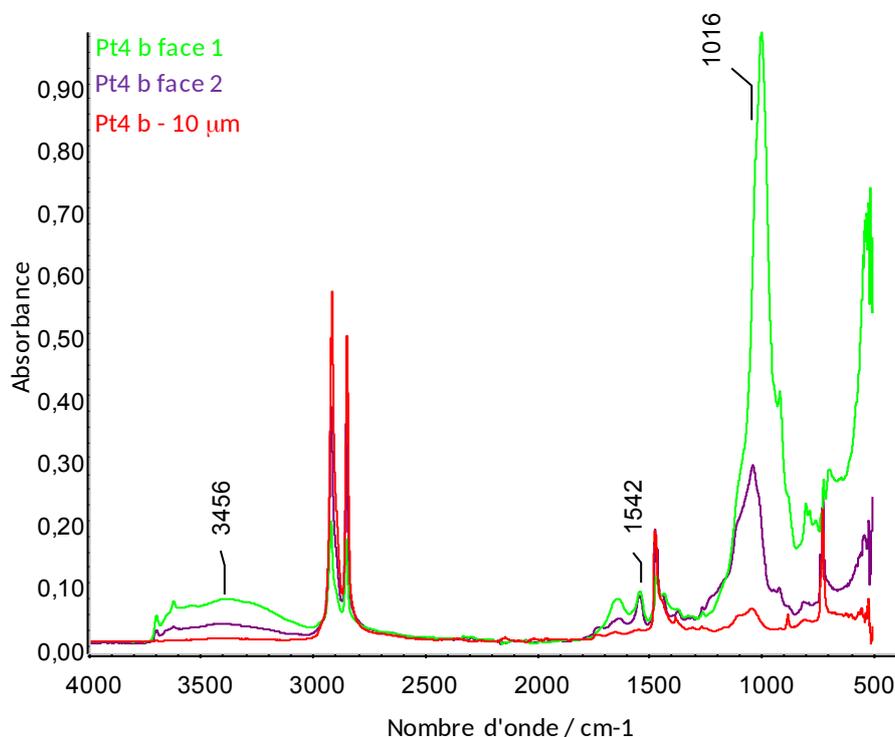


Figure 50 : Spectre IR/ATR des deux faces de l'échantillon Pt4 b et de la face 1 après élimination de 10 µm d'épaisseur

On écarte aussi une dégradation issue de celle de l'additif anti-pesticides NOR caractérisé par la bande 1540 cm⁻¹. En effet, l'intensité de cette bande est identique pour les deux faces 1 et 2, alors que la dégradation caractérisée par la bande à 1016 cm⁻¹ n'est observée que sur une des deux faces du film.

Il ne reste alors que la possibilité d'une contamination par de la matière organique. Pour confirmer cette dernière hypothèse, il était nécessaire de mettre en évidence l'existence de celle-ci à la surface du film Pt4 b. Pour ce faire, l'échantillon Pt4 b ayant la coloration brune a été frotté délicatement avec papier abrasif pour enlever environ 10 µm d'épaisseur. Le spectre IR/ATR obtenu est présenté sur la **Figure 50**.

Une diminution notable de l'intensité de la bande à 1016 cm⁻¹ et une disparition de celle à 3400 cm⁻¹ sont observées. Le spectre IR/ATR obtenu après frottement est alors identique à celui d'un PE ordinaire. En outre, une fois frotté, l'échantillon Pt4 b a perdu sa coloration brune. Ces deux résultats confirment donc l'existence de matière organique à la surface du polymère de l'échantillon Pt4 b analysé, matière organique responsable de la

coloration brune. La disparition de la bande de l'additif anti-pesticide à 1542 cm^{-1} après élimination de $10\text{ }\mu\text{m}$ peut indiquer que cet additif s'est dégradé après 4 années d'utilisation du film de plastique.)

En conclusion, le film de plastique utilisé pour la couverture de serre s'est montré, résistant aux contraintes de ses conditions d'utilisation après quatre années d'utilisation, à savoir spécifiquement la lumière et la chaleur. Le film ne s'est pas oxydé et a conservé apparemment ses propriétés mécaniques, en accord avec le cahier des charges (il est vendu pour durer quatre ans). Par contre, il a perdu totalement son additif anti-UV ce qui pourrait avoir comme effet de modifier significativement l'occurrence des processus photochimiques à l'intérieur de la serre.

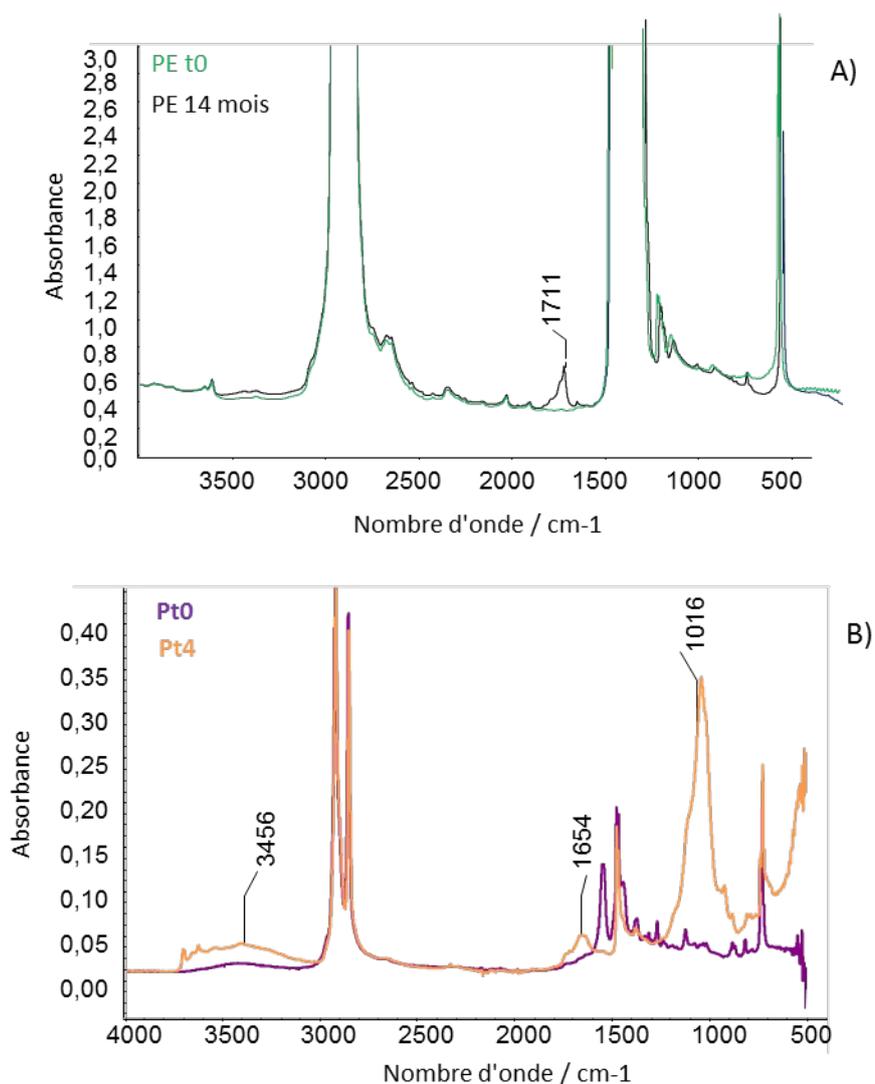


Figure 51: A) Spectres IR en transmittance d'un PE à t0 et un PE vieilli exposé à la lumière solaire pour 14 mois et B) spectres ATR d'un film de plastique de serre avant et après 4 ans d'utilisation.

VII.3. Photodégradation des pesticides sur les films du plastique des serres

Trois pesticides ont été déposés séparément sur des films de plastique neuf : imidaclopride, BIF et TM. Le dépôt s'est fait sous forme de deux gouttes de 10 µL pour chaque pesticide. Les irradiations ont été effectuées dans un simulateur solaire (SUNTEST) à 40°C pendant 22 et 48 H. Dans ce type d'expérience, les durées d'irradiations sont courtes puisque les pesticides ne sont pas protégés du rayonnement UV par l'anti-UV contenu dans le film. La récupération des pesticides irradiés sur les films de plastique a été faite avec 1 mL d'ACN. Les volumes récupérés ont été analysés par HPLC-DAD pour la détermination du degré de conversion de chaque pesticide, et par HPLC-MS pour identifier les photoproduits. Les concentrations de pesticides déposées étaient les suivantes :

- Imidaclopride : $4 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$
- BIF : $3,3 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$
- TM : $3 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$

Le degré de conversion de chaque pesticide est présenté dans le **Tableau 23**. Il apparaît clairement que les trois pesticides se dégradent sur les films à des degrés plus ou moins importants. C'est la photodégradation de l'imidaclopride qui est la plus rapide : 100% après 22 H. La dégradation est particulièrement rapide dans notre expérience car les pesticides étaient déposés sur le plastique et donc non protégés de la photodégradation directe par l'anti-UV présent dans le film comme c'est le cas dans une serre.

L'identification des photoproduits a été faite après 22 H d'irradiation. Leur structure est présentée dans le **Tableau 24**.

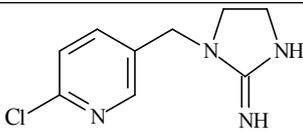
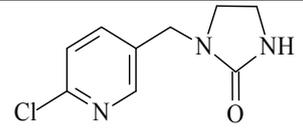
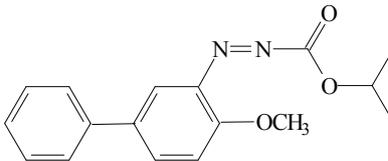
Tableau 23 : Pourcentage de photodégradation de l'imidaclopride, de BIF et de TM sur les films neufs de plastique de serre après 22 H et 48 H.

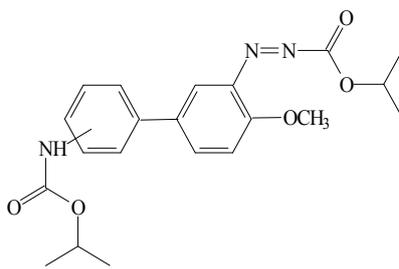
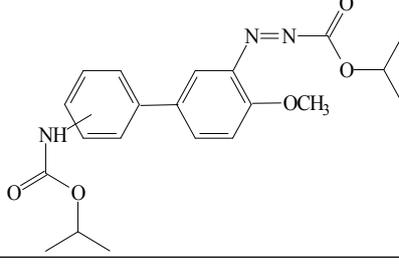
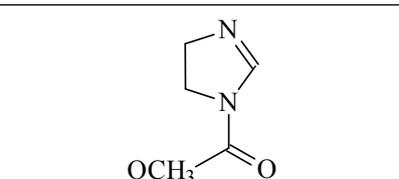
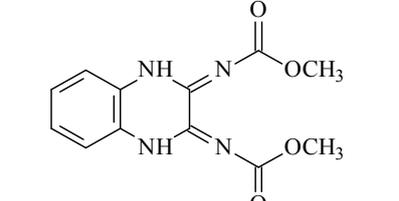
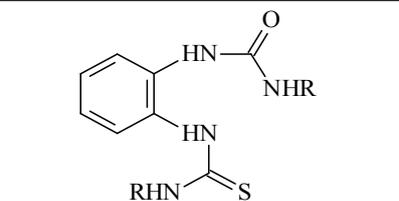
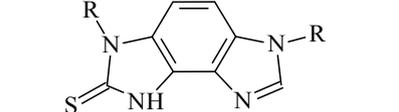
| Pesticide | Degré de conversion | |
|---------------|---------------------|------|
| | 22 H | 48 H |
| Imidaclopride | 100% | 100% |
| BIF | 59% | 92% |
| TM | 73% | 90% |

Les photoproduits du BIF formés sur PE/EVA/PE sont les mêmes que ceux formés sur cire. C'est un résultat assez logique puisque ces deux surfaces sont hydrophobes et ne contiennent pas d'eau. Nous avons détecté deux photoproduits avec $m/z = 400$ correspondant à $[C_{21}H_{26}N_3O_5]^+$ dans l'ionisation mode positif en plus du BIF-diazène ($m/z=299$). Par rapport au BIF, ces 2 isomères ont gagné $C_4H_6NO_2$, ce qui pourrait correspondre à une molécule de BIF-diazène substituée par $NH-CO-(OC_3H_7)$ dans deux positions différentes (**Tableau 25**). Une telle structure apparaît cohérente avec un temps de rétention plus long que celui du BIF-diazène, en accord avec la présence d'un substituant non polaire. La formation de tels adduits semble caractéristique d'une réaction photolytique survenant dans la phase solide. En effet, la faible mobilité des espèces radicalaires et / ou des molécules à l'état solide devrait favoriser les réactions d'addition.

Deux photoproduits déjà trouvés lors de l'irradiation de l'imidaclopride dans l'ACN ont été identifiés sur le film de plastique. Le photoproduit ayant une $m/z = 211$ est aussi formé par irradiation de l'imidaclopride sur la surface du poivron. En ce qui concerne le TM, tous les photoproduits trouvés par irradiation sur film de plastique ont été identifiés en solution. Il est à noter que le photoproduit de TM ayant un $m/z = 277$ a des propriétés photosensibilisatrices comme cela sera démontré dans les chapitres suivants. Ce produit peut donc accélérer la photodégradation des autres molécules.

Tableau 24 : Photoproduits de l'imidaclopride, de TM et de BIF identifiés par LC-MS après 22 H d'irradiation sur un film neuf LDPE/EVA/LDPE

| Pesticide | m/z en ES ⁺ | Temps de rétention HPLC-MS | Formule de l'ion neutre | Structure proposée |
|---------------|------------------------|----------------------------|---------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Imidaclopride | 211,07393 | 1,0 | C ₉ H ₁₂ N ₄ Cl |  |
| | 212,05820 | 3,4 | C ₉ H ₁₀ N ₃ OCl |  |
| BIF | 299,13818 | 10,3 | C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₃ |  |

| Pesticide | m/z en ES ⁺ | Temps de rétention HPLC-MS | Formule de l'ion neutre | Structure proposée |
|-----------|------------------------|----------------------------|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| | 400,18552 | 12,6 | C ₂₁ H ₂₅ N ₃ O ₅ |  |
| | 400,18552 | 13,2 | C ₂₁ H ₂₅ N ₃ O ₅ |  |
| Pesticide | m/z en ES ⁺ | Temps de rétention HPLC-MS | Formule de l'ion neutre | Structure proposée |
| TM | 192,06472 | 0,9 | C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ |  |
| | 277,09247 | 4,4 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₄ |  |
| | 327,07501 | 5,2 | C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₅ S |  |
| | 307,04883 | 6,8 | C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O ₄ S |  |

| Pesticide | m/z en ES ⁺ | Temps de rétention HPLC-MS | Formule de l'ion neutre | Structure proposée |
|-----------|------------------------|----------------------------|------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| | 325,05901 | 7,0 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₅ S | |
| | 339,02295 | 7,5 | C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O ₄ S ₂ | |
| | 341,04168 | 8,3 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₄ S ₂ | |

R=COOCH₃

VIII. Conclusion

Les quantités totales approximatives (kg/ha) de pesticides pulvérisés dans les serres agricoles à Menyeh-Liban Nord sur les tomates, les concombres et les poivrons verts avant récolte ont été calculées. Les valeurs obtenues démontrent un large dépassement des quantités recommandées pour les traitements, spécialement pour 4 pesticides : TM, BIF, imidaclopride et iprodione.

Le suivi des quantités de pesticides (TM, BIF, imidaclopride et acétamipride) dans les échantillons de poivron vert et concombre extraits par méthode Quechers montre une diminution progressive au cours des 6 jours suivant la pulvérisation des quantités de pesticides dans les poivrons verts. Cependant, dans les 2 types de légumes, les quantités calculées après 6 jours de pulvérisation de pesticide sont beaucoup plus grandes que les MRLs imposées pour chaque pesticide. Cela peut poser des risques pour la santé des consommateurs à long terme. Plusieurs photoproduits de BIF et de TM ont été détectés dans les concombres par recherche des ions, mais aucun photoproduit connu n'a été identifié dans les échantillons de poivron vert.

Le rinçage de la peau des poivrons verts, des concombres et des tomates collectées indique l'existence de plusieurs photoproduits issus de BIF et de TM sur les poivrons et de BIF, de TM et de l'imidaclopride sur les concombres et les tomates. Ces résultats constituent une preuve assez concrète de la possibilité d'une photodégradation des pesticides pulvérisés dans les serres agricoles même en présence d'un couvert de film de plastique. Les consommateurs peuvent alors être exposés aux photoproduits de ces pesticides autant qu'à leurs résidus.

Les analyses IR en transmittance et IR/ATR du plastique neuf destiné à la couverture des serres agricoles à Menyeh ont indiqué que ce plastique est un polymère tri-couche constitué d'une couche d'EVA entre 2 couches PE (PE/EVA/PE) et qu'il contient un additif antioxydant *process* et un autre contre l'effet des pesticides. Les spectres UV-visible ont révélé l'existence d'un 3^{ème} additif anti-UV. L'analyse par les mêmes techniques des échantillons de plastique utilisés pendant 4 ans dans la couverture des serres a montré la perte totale de l'additif anti-UV ce qui augmente la transmittance du film de 1% à 25- 40% entre 300 et 400 nm et donc la photochimie dans la serre. Néanmoins, les analyses par IR et ATR/IR ont bien indiqué que le film de plastique ne s'est pas oxydé et a conservé ses propriétés mécaniques.

Bien qu'aucun pesticide ni photoproduit n'ait été détecté dans la phase gazeuse de la serre, plusieurs VOCs ont été trouvés. Les terpènes, les alcanes et les aldéhydes ont été les principaux groupes de volatils détectés dans la phase gazeuse de la serre. L' α -terpinène et le décanal ont été trouvés dans tous les échantillons. Le suivi des abondances de ces volatils par GC-MS a montré que la pulvérisation des pesticides peut induire l'augmentation de leurs quantités en phase gazeuse. Les terpènes, les aldéhydes et les alcanes sont la réponse des plantes au stress chimique de la pulvérisation et au stress des hautes températures durant le matin. Enfin, l'exposition aux VOCs (composés organiques volatils) détectés dans les serres agricoles à Menyeh suite à la pulvérisation des pesticides peut avoir un effet négatif sur la santé à long terme. Il est donc fortement conseillé de prendre des mesures de protection que ce soit lors de la pulvérisation ou même en pénétrant dans les serres jusqu'à 10 jours après la pulvérisation.

L'existence des résidus et de photoproduits des pesticides dans les légumes prélevés à Menyeh, surtout issus de BIF et de TM, nous a conduit à essayer de comprendre les mécanismes de photodégradation de ces deux molécules qui sont capables d'absorber la lumière solaire comme c'est déjà mentionné. Ces 2 études constituent la suite de ce travail.

CHAPITRE IV

Photodégradation du fongicide thiophanate méthyl dans l'eau: formation d'un photoproduit sensibilisant

I. Objectifs du travail

La phototransformation des micropolluants dans l'environnement implique généralement deux types de réactions: la photolyse directe, due à l'absorption de la lumière solaire par le composé d'intérêt, et la photolyse indirecte due aux réactions photoinduites ou sensibilisées impliquant des substances chromophores. Tout contaminant peut agir en tant que sensibilisateur à condition qu'il présente les propriétés photochimiques spécifiques requises pour la sensibilisation. Au cours de nos recherches, nous avons découvert une autre situation beaucoup moins décrite où la sensibilisation ne provient pas du contaminant lui-même mais de l'un de ses photoproduits. C'est le cas du thiophanate méthyl (TM, diméthyl-4,4'-(ortho-phénylène) bis (3-thioallophanate)) qui est un fongicide largement utilisé en Europe pour lutter contre les maladies des plantes sur différentes cultures.

Ce cas nous a semblé extrêmement intéressant étant donné que le TM est pulvérisé en mélange avec d'autres pesticides dans les serres agricoles à Menyeh où on a réalisé plusieurs études. Dans ce chapitre nous nous sommes intéressés à deux aspects principaux :

- 1- Mieux comprendre la réaction et donc le mécanisme de photolyse de TM dans l'eau et la formation de ses photoproduits.
- 2- Développer une approche permettant de démontrer l'effet sensibilisant du photoproduit de TM, un dérivé de la quinoxaline.

II. Méthodologie

Le travail dans ce chapitre a été effectué selon plusieurs étapes qui se résument comme suit :

La cinétique de photolyse de TM dans l'eau a été établie après irradiation avec une lumière polychromatique 300-450 nm en présence et en absence d'oxygène. Cela a permis de tester l'effet de l'oxygène sur la formation des photoproduits ainsi que sur la vitesse de photolyse de TM. Les taux de conversion ont été calculés d'après les analyses par HPLC-DAD et les photoproduits ont été identifiés par HPLC-MS.

L'effet sensibilisateur du photoproduit I de TM a été testé grâce à une sonde : le triméthylphénol (TMP). Le TMP a été mélangé et irradié dans l'eau avec le TM sous air et sans argon. Le rendement quantique de phototransformation de TMP dans une solution de TM préirradié a été mesuré à deux longueurs d'onde pour prouver l'intervention du photoproduit

de type quinoxaline. De plus, la réactivité de TM avec l'oxygène singulet a été évaluée en utilisant le rose de bengal comme sensibilisateur.

La formation de H_2O_2 a également été mesurée en utilisant un protocole basé sur la dimérisation du *p*-hydroxybiphényle fluorescent.

Les espèces transitoires ont été étudiées par spectroscopie d'absorption transitoire.

Enfin, des calculs théoriques ont permis d'élaborer le mécanisme de photolyse de TM dans l'eau ainsi que de la formation de deux photoproduits I primaire et II secondaire.

III. Principaux résultats

III.1. Cinétique de photodégradation de TM dans l'eau

Le temps de demi-vie, $t_{1/2}$, de TM lors de son irradiation dans l'eau avec une lumière polychromatique de 300 - 450 nm a été de $9 \pm 0,5$ H. La courbe de photodégradation a révélé une autoaccélération de la réaction. La suite de ce travail a visé à expliquer l'origine de cette autoaccélération.

III.2. Formation des photoproduits

Les photoproduits identifiés par LC-MS étaient les mêmes que ceux trouvés dans l'étude récente réalisée par Chayata et al. Les photoproduits principaux trouvés sont I, II et III, I étant le dérivé de la quinoxaline et II et III du benzimidazole. Ces 3 photoproduits présentent des maximums d'absorption à 340, 304 et 286 nm, respectivement. Les cinétiques de formation de I, II et III montrent que le photoproduit I était primaire tandis que II et III étaient secondaires.

L'oxygène avait un grand effet sur la cinétique de photolyse de TM et donc sur la formation de I et de II. En absence d'oxygène la vitesse de photodégradation de TM était réduite, la formation de I multipliée par 2, la formation de II totalement inhibée et la formation de III légèrement favorisée. Le grand effet de l'oxygène sur la formation de II nous a incité à rechercher la formation de H_2O_2 . Il a été trouvé que le rendement de formation de H_2O_2 était égal à celui de disparition de TM.

III.3. Preuves de l'effet photosensibilisateur de I

Une fois irradié en mélange, TM a considérablement accéléré la photodégradation de TMP. Le taux de conversion de TMP était très faible dans les deux premières minutes et a fortement augmenté après des temps d'irradiation plus longs, confirmant la présence d'une molécule photosensibilisatrice dans le milieu et sa formation pendant l'irradiation. Une mesure des rendements quantiques à 2 longueurs d'onde où I absorbe très différemment (304 nm et 334 nm) a apporté la preuve de son pouvoir photosensibilisateur.

L'irradiation avec un faisceau laser à 355 nm d'une solution de TM contenant I et TMP, a permis de détecter le triplet de I et indiqué que sa réactivité avec TMP ($2 \times 10^9 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$) est très semblable à celle du triplet de la quinoxaline avec TMP ($2,5 \times 10^9 \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$). Ceci confirme que le triplet de I était l'espèce responsable de la phototransformation du TMP.

Enfin la constante de vitesse de réaction de TM avec l'oxygène singulet a été trouvée très faible. Ceci est une preuve que la photodégradation de TM a été sensibilisée en réagissant directement avec le triplet de I et non avec l'oxygène singulet.

III.4. Mécanismes de formation de I et de II

Des calculs théoriques ont démontré que I se forme par photocyclisation, élimination d'hydrogène intra et intermoléculaires H et perte de HS_2 .

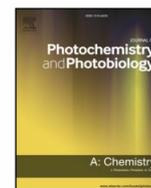
La formation de II se fait comme suit : I dans l'état triplet excité arrache un atome d'hydrogène à TM pour donner un radical capable de subir une cyclisation et de produire II après un transfert d'atome H sur l'oxygène. En même temps, la forme réduite de I pourrait régénérer I après un transfert d'atome d'hydrogène sur l'oxygène et formation du radical hydroxyperoxy. La dismutation des deux radicaux hydroperoxy va générer H_2O_2 .

IV. Conclusion

Lors de cette étude nous avons démontré que la photolyse de TM était autoaccélérée, du fait des propriétés sensibilisatrices du photoproduit primaire (I), un dérivé de la quinoxaline. La sensibilisation de TM par I a impliqué un arrachement d'atome d'hydrogène pour former les photoproduits secondaires. De plus, I est également capable d'oxyder les dérivés phénoliques et une variété de composés organiques, de micropolluants ou de composés naturels, présents dans les eaux de surface (**Voir Annexe**).

La formation de I a également été étudiée au moyen de calculs théoriques. Nos résultats ont montré que la réaction se déroulait par l'intermédiaire d'états excités triplets afin d'obtenir une photocyclisation et ensuite des réactions d'abstraction hydrogène intra et intermoléculaires.

Bien que ce travail se concentre uniquement sur le cas du thiophanate méthyl, il est probable que la photodégradation d'autres polluants aqueux puisse également être source de photosensibilisateurs non reconnus qui augmentent la réactivité de l'eau naturelle lors d'une exposition au soleil. Ainsi, notre étude a souligné la nécessité d'études plus systématiques de l'effet photosensibilisateur des intermédiaires lors des études de photolyse, car cet effet pourrait altérer les mécanismes de réaction et le devenir environnemental des polluants.



Light induced degradation of the fungicide Thiophanate-methyl in water: Formation of a sensitizing photoproduct



Sofia Kouras-Hadef^a, Samar Hamdache^{a,b}, Pascal de Sainte-Claire^a, Mohamad Sleiman^a, Farouk Jaber^b, Claire Richard^{a,*}

^a Université Clermont Auvergne, CNRS, SIGMA Clermont, Institut de Chimie de Clermont-Ferrand, F-63000 Clermont-Ferrand, France

^b Laboratory of Analysis of Organic Compounds, Faculty of Sciences I, Lebanese University, Hadath, Beirut, Lebanon

ARTICLE INFO

Keywords:

Benzimidazole fungicide
Photolysis
Sensitization
Photoproduct
Quinoxaline
Quantum calculations

ABSTRACT

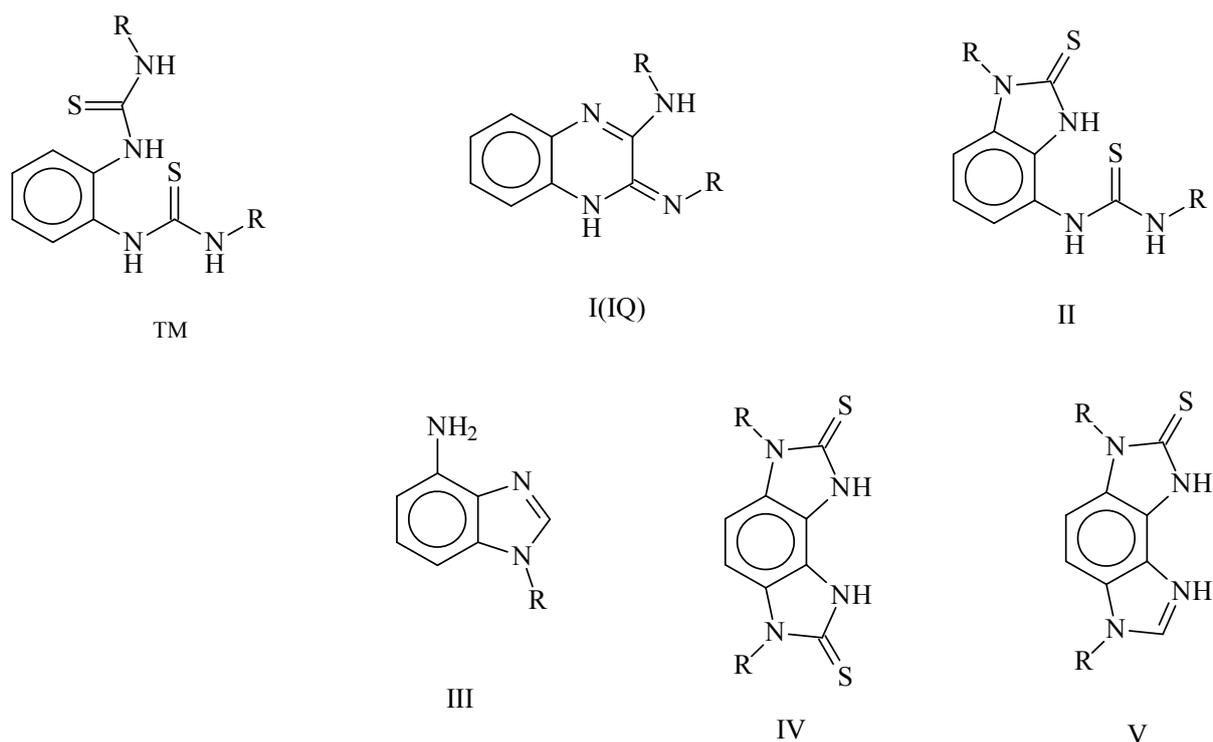
This work demonstrates that the fungicide thiophanate-methyl generates a sensitizing photoproduct upon irradiation in solar light and explains how the reaction proceeds. The degradation profile of aqueous thiophanate-methyl in simulated solar light showed an autoaccelerated shape indicating the formation of some photo-degrading compounds. Among the detected photoproducts, I ($\lambda_{\text{max}} = 340 \text{ nm}$), a quinoxaline derivative generated in the very beginning of the reaction seemed to be the molecule responsible for this autoacceleration. Further experiments were conducted to confirm this hypothesis. The laser flash photolysis ($\lambda_{\text{exc}} = 355 \text{ nm}$) of I generated a transient species reminiscent to the triplet excited state of unsubstituted quinoxaline. The two triplets reacted with the phenolic probe, 2,4,6-trimethylphenol, with $k = 2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Steady-state irradiations showed that thiophanate-methyl drastically accelerated the photolysis of the probe in an auto-accelerated reaction confirming the production of a sensitizing photoproduct. Moreover, unsubstituted quinoxaline sensitized the degradation of thiophanate-methyl showing that this latter contains labile H atoms. All these data confirmed that I was the sensitizer responsible for the auto-accelerated light induced transformation of thiophanate-methyl. The mechanism of formation of I was studied by quantum calculations. It proceeds through photocyclisation to form a S–S bridge, followed by intra and intermolecular H abstractions and finally departure of HSS. The sensitizing properties of micropollutants photoproducts open a large array of investigations. Our study provides a reliable approach to investigate the overlooked photosensitizing effect of photoproducts during photochemical reactions in water and opens the way to a vast array of research.

Kouras-Hadef, S.; Hamdache, S.; de Sainte-Claire, P.; Sleiman, M.; Jaber, F.; Richard, C. Light Induced Degradation of the Fungicide Thiophanate-Methyl in Water: Formation of a Sensitizing Photoproduct. J. Photochem. Photobiol. A Chem. 2018, 360, 262–269.

1. Introduction

The phototransformation of micropollutants in the environment can result from two types of reactions: those due to solar light absorption by the compound of interest, the so-called direct photolysis, and those due to photoinduced or sensitized reactions involving chromophoric substances. NOM (natural organic matter), nitrate ions and ferric species are examples of natural constituents whose photodegrading effects through their ability to generate various reactive species have been intensively studied [1]. The situation in real waters is however very complex because (i) once the photochemical reactions have been initiated, they can continue due to the secondary oxidant species generated [2] and (ii) the range of possible photoinducers or sensitizers is possibly very large including contaminants themselves. Any contaminant can act as a sensitizer provided it shows the specific photochemical properties required for sensitization. For example, previous studies have shown that upon solar light irradiation chlorothalonil, an intensively used fungicide, generates a very oxidant triplet excited state with a high yield as well as singlet oxygen [3]. Chlorothalonil is actually able to sensitize the photodegradation of other pesticides on the leaves [4] and could photooxidize other compounds in illuminated surface waters [5]. Sensitizing molecules can be also found among pharmaceutical compounds, for instance those containing a benzophenone-like chromophore known to generate oxidant triplet excited states [6]. Once released in surface waters these compounds could potentially photodegrade other molecules coexisting in the medium and the reactions can continue [7].

During the course of our investigations, we discovered another situation much less described. The sensitization does not occur from the parent contaminant but from one of its photoproducts. This is the case for thiophanate methyl (TM, dimethyl-4,4'-(ortho-phenylene)bis(3-thioallophanate) (Scheme 1).



Scheme 1: Chemical structure of TM, and the main photoproducts of TM reported by Chayata et al, 2016. There are two other structural isomers of I. The specific isomer depicted in this scheme is named IQ below.

TM is a fungicide, as chlorothalonil, greatly used in Europe for plant diseases on various crops. TM absorbs solar light up to 350 nm (Figure 1) and was shown to undergo photolysis whatever the studied medium : on glass, filter paper, plant leaves and in water [8-11]. A recent detailed study of the photoproducts generated in water and on the peel of grape and tomatoes was conducted [12]. Nine photoproducts were firmly identified using LC-HR-MS/MS, in particular photoproducts I-V (Scheme 1). Based on their chemical structures, one can conclude that TM undergoes cyclisation with formation of a quinoxaline derivative (I) and substituted benzimidazoles (II-V). To note, compound III which was for long characterized as carbendazim would be actually the isomeric structure shown in Scheme 1 [12]. In some other photoproducts, S atoms are also replaced by O atoms (structures not shown).

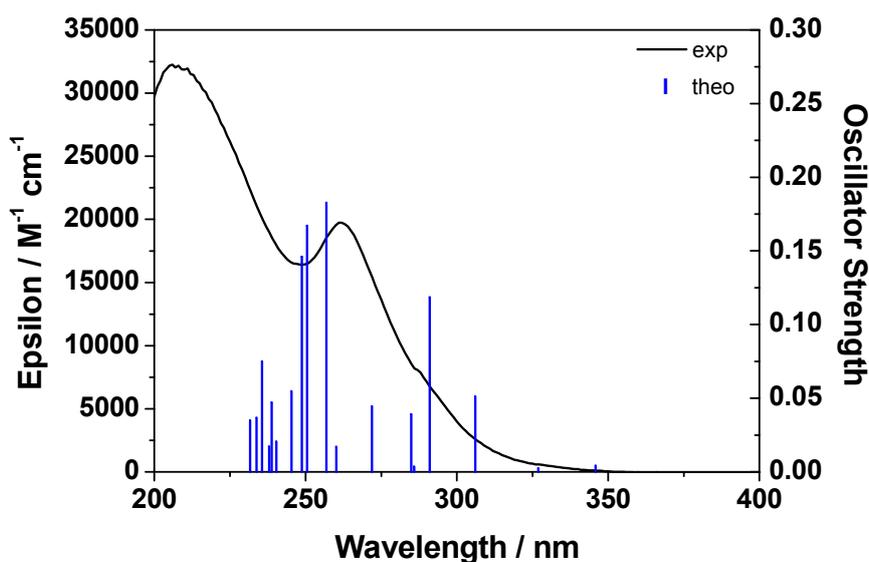


Figure 1 : Experimental absorption spectrum of TM in water (solid line) and theoretical oscillator strengths calculated with TD-DFT at the B3LYP/6-31+G(d,p)+PCM level (blue lines).

To better understand this reaction, the mechanism of TM photolysis was investigated by means of steady-state irradiations and laser-flash photolysis. We demonstrated that the quinoxaline derivative formed as a primary photoproduct shows sensitizing properties and plays a key role in the TM photolysis. Quantum calculations were also performed to explain its formation. Our idea was to develop an approach allowing to demonstrate the sensitizing effect of photoproducts.

2. Material and methods

2.1. Chemicals

Thiophanate methyl (TM, Pestanal, 99.3%), quinoxaline (99%), 2,4,6-trimethylphenol (99.9%), and *p*-hydroxyphenyl-acetic acid (98%) were purchased from Sigma Aldrich. Catalase from bovine liver, 2000-5000 units mg^{-1} , peroxidase from horse radish and hydrogen peroxide (30%, w/w) were obtained from Sigma-Aldrich. Catalase was stocked at -20°C while hydrogen peroxide and peroxidase at 4°C . Water was purified using a reverse osmosis RIOS 5 and Synergy (Millipore) device (resistivity $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$, $\text{DOC} < 0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). The other reagents and solvents were of the best purity available and used as received without further purification. The solubility of TM in water being limited to 26.6 mg L^{-1} , the stock solutions of TM were made in acetonitrile. Final solutions were prepared by adding water to reach water-

acetonitrile (98-2%, v/v) as a final solvent composition. Stocks solutions of TM were stored at 4°C and renewed each two days.

2.2. Irradiations

TM (5×10^{-5} M) was mainly irradiated in a device equipped with six fluorescent tubes TLAD 15W05 Philips (300-450 nm, Figure SI-1). A 20 mL capacity Pyrex-glass cylindrical reactor (1.4 cm, i.d.) was used. To accelerate reactions, irradiations were also performed in a device equipped with six fluorescent tubes DUKE GL 20E emitting between 280 and 380 nm (Figure SI-1). Solutions were deoxygenated by bubbling argon in the solution 15 min prior to the irradiation and during the irradiations. The irradiation of 2,4,6-trimethylphenol (1×10^{-4} M) in the presence of TM or quinoxaline (5×10^{-5} M) was made in the polychromatic device 300-450 nm. To investigate the sensitizing effect of the photoproduct I on 2,4,6-trimethylphenol, the following experiments were undertaken. TM (5×10^{-5} M) was pre-irradiated in the polychromatic device 280-380 nm until a conversion extent of 23% in order to accumulate I. Then 2,4,6-trimethylphenol was added to this solution to reach a final concentration of 10^{-4} M. The mother solution of 2,4,6-trimethylphenol was as high as possible to dilute negligibly the pre-irradiated TM solution. The absorbance of the mixture was of 0.210 at 304 nm and of 0.133 at 334 nm. The contribution of I to these absorbances were obtained by measuring the HPLC peaks area. We found that I contributed for 12% and 49% to the absorbances at 304 and 334 nm respectively, the remaining absorption being mainly attributed to TM and II. The air-saturated mixtures of pre-irradiated TM+2,4,6-trimethylphenol were irradiated at 304 and 334 nm in parallel beam using a high pressure mercury lamp equipped with an Oriel monochromator. The photon flux, I_0 , was measured using a radiometer QE65000 from Ocean optics. I_0 was equal to $(1.2 \pm 0.1) \times 10^{14}$ Photon. $s^{-1}.cm^{-2}$ at 304 nm and $(1.9 \pm 0.1) \times 10^{14}$ Photon. $s^{-1}.cm^{-2}$ at 334 nm. The solutions were irradiated for 17 h 30 min at 304 nm and 2 h at 334 nm and then analysed by HPLC to determine the percentage of 2,4,6-trimethylphenol photodegradation. 2,4,6-Trimethylphenol was also irradiated alone at 304, 334 nm, and in the polychromatic device 300-450 nm; the measured photodegradations were negligible. The reactivity of TM with singlet oxygen was investigated using rose bengal as a sensitizer. Irradiations were performed at 546 nm ($I_0 = (7.5 \pm 0.5) \times 10^{14}$ Photon. $s^{-1}.cm^{-2}$) using a high pressure xenon lamp equipped with an Oriel monochromator and a filter to cut off wavelengths shorter than 365 nm. Furfuryl alcohol was used as a reference. The solutions containing rose bengal (absorbance at 546 nm = 0.48) and the probe molecule (2.5×10^{-5} M) were buffered at pH 7 using phosphate buffers. They were saturated with oxygen before the

irradiations and then the cells were closed using a stopper. Probes consumption was measured by HPLC.

2.4. Analyses.

UV-visible spectra were recorded using a Varian Cary 3 spectrophotometer. Fluorescence spectra were recorded on a Perkin–Elmer LS-55 luminescence spectrometer that was equipped with a xenon excitation source. HPLC analyses were performed using a NEXERA XR HPLC-DAD apparatus. The analytical column was a Macherey Nagel EC100/2 NUCLEODUR Polartec column (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm particle size). The eluent was a mixture of acetonitrile and water and the flow rate was set at 0.25 mL.min⁻¹. The elution gradient started with 15% acetonitrile maintained for 5 min, then the percentage of acetonitrile was linearly increased to reach 55% after 5 min. HPLC analyses allowed the monitoring of TM and TMP disappearance as well as the I, II, III and IV formations. Absorption spectra of I, II and III were also obtained by HPLC analysis. High resolution mass spectrometry (HRMS) analysis of TM, I, II, III and IV was performed on an Orbitrap Q-Exactive (ThermoScientific) coupled to an ultra-high performance liquid chromatography (UHPLC) instrument Ultimate 3000 RSLC (ThermoScientific). Analyses were made in positive (ESI⁺) electrospray mode. The column was a Kinetec EVO C18 (100×2.1 mm), particule size of 1.7 μm (Phenomenex). The elution gradient was the same as previously indicated. The flow was set at 0.45 mL.min⁻¹.

2.5. Detection and quantification of H₂O₂

Hydrogen peroxide was quantified using a protocol adapted from [13] based on the fluorescent dimerization of (p-hydroxyphenyl) acetic acid. Briefly, three solutions were prepared. Solution A contained 20.25 mL of Na₂HPO₄ (0.04 M), 4.75 mL of NaH₂PO₄ (0.04 M), and 3 mg of peroxidase completed to 50 mL with MilliQ water. Solution A was kept at 4°C and renewed each day. Solution B consisted in an aqueous solution of 4-hydroxyphenyl acetic acid (10⁻³ M). Solution C was a working stock solution of 0.1 mM H₂O₂ prepared by volumetric dilution of 30% (w/w) H₂O₂, used to get the calibration curve. Two mL of A, 4 ml of B and 120 μL of the irradiated solution or of solution C were mixed. The fluorescent dimer was detected by fluorescence ($\lambda_{exc} = 330$ nm and $\lambda_{exc} = 408$ nm). To eliminate the possible interference with peroxides (ROOR and ROOH), blank solutions consisted in the irradiated solutions free of H₂O₂. These H₂O₂ free solutions were prepared by adding 120 μL of catalase

(1 mg in 1 mL of MilliQ water) to the irradiated TM solutions. For the H₂O₂ calibration curve, the blank determination was made on an initial solution of TM containing catalase.

2.6. Laser-Flash photolysis

Transient absorption experiments were carried out using a frequency-quadrupled Nd:YAG laser (Quanta-Ray DCR-1, pulse duration 10 ns and Quanta-Ray GCR-130-1). The procedures used for transient absorption spectroscopy measurements have been described previously [14]. Quinoxaline and TM solutions were excited at 266 nm, while pre-irradiated solutions of TM containing I were excited at 355 nm. Solutions containing I were prepared by pre-irradiating TM (10⁻³ M) in the polychromatic device 280-380 nm for 30 min until a conversion extent of 4%. Then this solution was concentrated by evaporation to reach an absorbance of 0.2 at 355 nm.

2.7. Quantum calculations

The Gaussian09 series of programs [15] was used to perform Density Functional Theory (DFT) calculations at the B3LYP/6-31+G(d,p) level. The Polarizable Continuum Model (PCM) [16] was used throughout to model the solvent (water) implicitly. Equilibrium geometries were obtained in the ground state (S₀), first singlet excited state (S₁) and first triplet state (T₁). Intrinsic Reaction Coordinate (IRC) pathways were followed systematically from transition states in S₀ and T₁. The Time-Dependent DFT method was used to model the absorption spectra of TM (Figure 1) and the quinoxaline derivative at the same level of theory (B3LYP/6-31+G(d,p)+PCM(water)).

3. Results and discussion

3.1. Autoaccelerated phototransformation of TM

The photodegradation profile of TM in air-saturated solution is shown Figure 2. TM losses reached 80% after 15 h of irradiation using a light source mimicking natural sunlight within the wavelength range 300-380 nm (Figure SI-1). The half-life of TM was of 9.0±0.5 h. Close examination of the degradation curve shape revealed that the decay was autoaccelerated. Indeed, after one hour of irradiation, the loss of TM was less than 5% while it reached 30% after 3 h. Such an accelerating effect was never mentioned in the literature to our knowledge and our work aimed at explaining its origin.

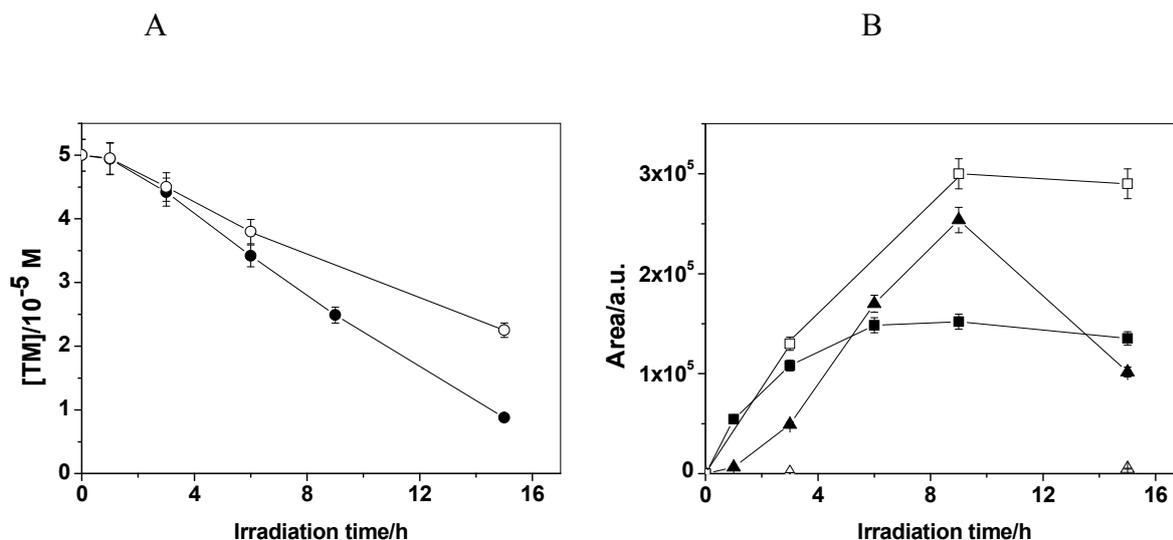


Figure 2 : Photodegradation profile of TM (5×10^{-5} M) and formation of photoproducts I and II upon irradiation in water-acetonitrile (98-2%, v/v) within the wavelength range 300-450 nm. A/ Consumption of TM in air-saturated solution (●) and in Argon-saturated solution (○); B/ Formation of I in air-saturated solution (■) and in Argon-saturated solution (□) and Formation of II in air-saturated solution (▲) and in Argon-saturated solution (△).

3.2. Photoproducts formation

The analytical study of the reaction was greatly facilitated by a previous work [12]. We confirmed the formation of I, II and III as the main photoproducts, and of IV as minor photoproduct, based on the HRMS data (Table SI-1). The absorption spectrum of I, II and III are given in Figure SI-2. I showed a long-wavelength maximum of absorption at 340 nm and it was fluorescent (Figure 3B). II had a maximum of absorption at 303 nm and III at 286 nm. Therefore, I and in a lesser extent II were the only photoproducts absorbing above 300 nm significantly. The kinetics of formation of I and II during the TM photolysis are shown Figure 2B. I, formed from the very beginning of the reaction, was clearly a primary photoproduct. Its concentration reached a plateau value after 8 h of irradiation showing that at this stage its formation rate equalled its photodegradation rate. In contrast, given the shape of its formation curve, II was a secondary photoproduct. II reached a maximum concentration after 9 h of irradiation when the conversion extent of TM was >50% and was photolyzed in turn (Figure 2B). III was also essentially a secondary photoproduct (data not shown). From these first results one can deduce that the formation of the quinoxaline ring (TM → I) occurred in a primary step while the formation of the benzimidazole ring (TM → II) required a preliminary

photochemical reaction that could be the formation of I. The formation of the second benzimidazole ring (II → IV) proceeded probably similarly.

The effect of oxygen on the reaction was also studied. Removing oxygen by saturating the solutions with argon gave contrasting results (Figure 2). The rate of TM photodegradation was not changed in the early stages of the reaction but was reduced by about 35% after 3 h of irradiation and 10% of conversion. The formation of I was unaffected in the early stages of the reaction but the plateau value was about twice higher in the absence of oxygen than in air-saturated medium. In contrast, the formation of II was completely inhibited by the elimination of oxygen and that of III little increased (data not shown). On the other hand, saturating the medium by air reduced the rate of TM photodegradation. The reduction was about 50 % in the autoaccelerated part of the curve.

The important effect of oxygen on II prompted us to investigate the possible formation of H_2O_2 because H_2O_2 is often produced as an end product in the oxidation reactions. H_2O_2 was titrated in irradiated solutions of TM. As expected, H_2O_2 was detected. In solutions irradiated until 20% of TM conversion, the amount of H_2O_2 produced was equal to the amount of TM consumed (chemical yield = 100%) and in solutions irradiated until 40% of TM conversion, the amount of H_2O_2 was equal to 80% of the TM consumed (chemical yield = 80%). The formation of H_2O_2 is consistent with the existence of a sensitization reaction.

3.3. Sensitizing effect of the irradiated TM solutions

The auto-accelerated shape of the TM photodegradation profile and the formation of H_2O_2 suggested that some of the photoproducts acted as sensitizers. To confirm this hypothesis, we irradiated TM in the presence of 2,4,6-trimethylphenol chosen as an oxidable probe. TM drastically enhanced the 2,4,6-trimethylphenol consumption (Figure 3). The rate of 2,4,6-trimethylphenol consumption was low in the first two minutes and became higher at longer irradiation times, confirming the formation of a sensitizing molecule during the irradiation.

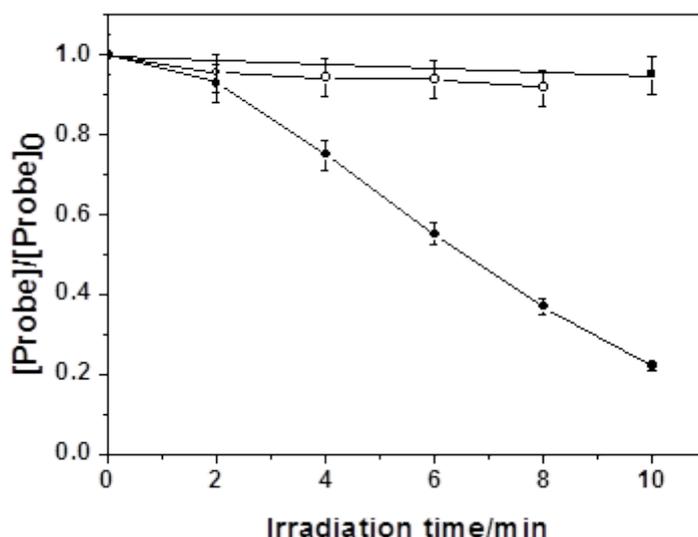


Figure 3: Phototransformation of the probe 2,4,6-trimethylphenol (10^{-4} M) irradiated in the presence of TM (5×10^{-5} M). Polychromatic light 280-380 nm. Decay of 2,4,6-trimethylphenol (●) and of TM (■) in air-saturated medium; decay of 2,4,6-trimethylphenol (○) in argon-saturated medium

3.4. Evidences of the sensitizing properties of photoproduct I

Based on these preliminary data, I appeared as the candidate sensitizer for three reasons: (i) I belonged to the family of diazines that are known sensitizers [17, 18], (ii) I was the only primary photoproduct and (iii) I absorbed in the suitable wavelength range. Several additional experiments were undertaken to confirm this hypothesis.

We measured the quantum yield of 2,4,6-trimethylphenol sensitized oxidation in a solution of pre-irradiated TM. Two wavelengths were chosen: 334 nm that is very close to the maximum of absorption of I and 304 nm where I absorbs much less. If I was really the only sensitizer, the quantum yields should be equal at the two wavelengths. A pre-irradiated solution of TM was prepared as described in the experimental section to accumulate I. This solution that also contained TM, II and III was mixed with 2,4,6-trimethylphenol. After 17 h 30 of irradiation at 304 nm and 2h of irradiation at 334 nm, the losses of 2,4,6-trimethylphenol amounted to 24% and 11% respectively. The quantum yield of the sensitized reaction is given by the following relationship:

$$i \frac{r}{I_0 \times (1 - 10^{-A_{334}})}$$

where A_λ is the absorbance of I at the selected wavelength λ , I_0 is the photon flux and r is the rate of 2,4,6-trimethylphenol loss. Calculations gave 0.035 ± 0.005 at 334 nm and 0.038 ± 0.005 at 304 nm, i.e. very similar values as expected in the case of a sensitization by I.

We also compared the laser flash photolysis of unsubstituted quinoxaline with that of I. Quinoxaline is known to yield a triplet excited state able to transfer its energy to ground state oxygen generating singlet oxygen and to abstract hydrogen atom from oxidizable compounds. The triplet state of quinoxaline shows a maximum of absorption at 420 nm [17] and it is quenched by oxygen with a quenching rate constant of $2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ [17]. In air-saturated aqueous solution, we measured an apparent first order decay rate constant of the triplet of $5.4 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$, fully consistent with the literature data. The addition of 2,4,6-trimethylphenol ($2 \times 10^{-4} - 7.5 \times 10^{-4} \text{ M}$) accelerated the triplet decay drastically. Plotting the rate constant of the triplet decay versus the concentration of the probe gave a second order rate constant of $2.5 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (Figure SI-3). The same experiments were conducted using a pre-irradiated solution of TM containing I. In this case, the excitation wavelength was set at 355 nm to excite I as selectively as possible. The detected transient species showed a maximum of absorption at 460 nm (Figure SI-4) and the apparent first order decay was of $2.7 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$ in air-saturated aqueous solution. The absorbance decay at 460 nm was enhanced to $7.4 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$ in the presence of 2,4,6-trimethylphenol ($2.5 \times 10^{-4} \text{ M}$) giving a second order rate constant of $\sim 2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ for the reaction between the transient species issued from I supposed to be the triplet and 2,4,6-trimethylphenol. All these data are in a good agreement with data obtained for the triplet of the unsubstituted quinoxaline. We noted that the maximum of absorption of the triplet of I was red-shifted by 40 nm compared to the triplet of the unsubstituted quinoxaline. In the ground state the red-shift was of 20 nm.

We checked that the unsubstituted quinoxaline was able to sensitize the photodegradation of TM (10^{-4} M). Air-saturated solutions containing TM ($5 \times 10^{-5} \text{ M}$) and quinoxaline ($5 \times 10^{-5} \text{ M}$) were irradiated in the polychromatic device 300-450 nm for 20 min. This led to a loss of TM of 20% against $< 5\%$ in the absence of quinoxaline. We detected II as the main photoproduct confirming that the phototransformation $\text{TM} \rightarrow \text{II}$ is a sensitized reaction. In contrast I was negligibly formed in agreement with the generation of I by excitation of TM. For comparison, we undertook the same experiment using 2,4,6-trimethylphenol instead of TM. The rate of 2,4,6-trimethylphenol phototransformation was twice faster than that of TM which gives a rate constant of reaction between the triplet of quinoxaline and TM in the range $10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.

To confirm that TM reacted with triplet quinoxaline and not singlet oxygen [18], we measured the rate of reaction of TM with singlet oxygen. After an irradiation of 4 h at 546 nm in the presence of rose bengal, the loss of TM (2.5×10^{-5} M) was < 5%, i.e. negligible. For comparison, furfuryl alcohol was degraded by 10% after 5 min of irradiation in the same conditions. Using that the deactivation of singlet oxygen in water ($k_d = 2.5 \times 10^5$ s⁻¹, [19]) is much faster than its reaction with the probe ($k_r \times [\text{probe}] = 2500$ s⁻¹ for furfuryl alcohol with $k_r = 1.0 \times 10^8$ M⁻¹.s⁻¹, [20]), the rate of the probe decay can be written: $r = r_{\text{SO}} \times k_r \times k_d^{-1} \times [\text{probe}]$, with r_{SO} the rate of singlet oxygen production. The rate of furfuryl alcohol oxidation was equal to 8.3×10^{-9} M.s⁻¹ while that of TM < 8.6×10^{-11} M.s⁻¹. Thus, the rate constant of reaction of TM with singlet oxygen is 100-fold smaller than that of furfuryl alcohol, and therefore equal to 1.0×10^6 M⁻¹.s⁻¹ at best. Given this, one can conclude that in air-saturated medium TM (5×10^{-5} M) trapped 9% of the unsubstituted quinoxaline triplet but only 0.02% of singlet oxygen. The decay of TM was thus due to the direct reaction with the triplet of quinoxaline through an H atom abstraction. I is expected to behave similarly.

3.5. Mechanism of formation of I

3.5.1 Theoretical absorption spectrum of TM and I (IQ).

Among the many conformers of TM that were obtained through internal rotation about 6 CN bonds, named hereafter δ_1 , δ_2 , δ_3 and δ'_1 , δ'_2 , δ'_3 (see Figure SI-5), the global minimum (named TM hereafter) was one where the sulfur atoms were face to face ($\delta = -25.4$ deg; see geometry in Figure SI-6 and Table SI-2).

Such geometry allows favorable 4-ring atom photocyclization (SCCS). Therefore, only structures where sulfur atoms lied on the same side of the phenyl ring ($-90 < \delta < 90$ deg) were investigated below since this geometry constraint was required to achieve the photoreaction. For symmetry reasons, only 10 combinations of the above dihedral angles may give conformers where sulfur atoms lie face to face. Note that an additional minimum energy structure was found as well, i.e. eleven conformers were obtained. Their relative electronic energies are given in Table SI-3. Some of these conformers (TM_{rotS0}, TM'_{rotS0}, and TM''_{rotS0}) are relevant to the overall degradation mechanism.

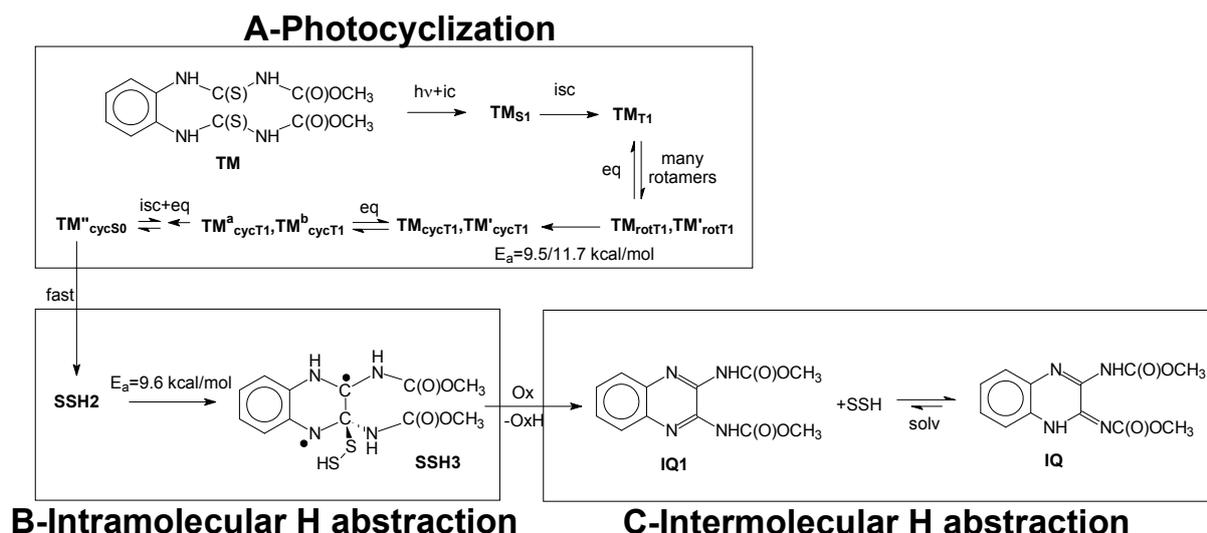


Figure 4: The complete photodegradation mechanism of TM into IQ.

Their structure are given in Figure SI-7. Theoretical positions and oscillator strengths were calculated at the B3LYP/6-31+G(d,p)+PCM(water) level. Results are compared in Figure 1 with the experimental spectrum. Very good agreement is reached at this level. The shoulder at 285 nm corresponds to an n_s/π^* transition to S_4 state while the band at 265 nm is characteristic of a π/π^* transition (S_{10}) and n_s/π^* transitions (S_9 and S_{11}). The respective Molecular Orbitals involved in the transitions are given in Figure SI-8. This result shows that the level of calculation used here is sufficient to model accurately the system investigated.

The theoretical absorption spectrum was also calculated for IQ (see Scheme 1) and its isomers at the B3LYP/6-31+G(d,p)+PCM(water) level with the TD-DFT method. The global minimum energy structure of the quinoxaline derivative is that shown in Scheme 1. The other isomers can be obtained from IQ by a hydrogen shift mediated by the solvent in a tautomeric equilibrium (structures and relative energies are given in Figures SI-9a and b). The first intense theoretical transition is located at 344 nm for IQ (see Figure SI-2A), in good agreement with the experimental value (~ 340 nm; see Figure SI-2A). It represents the S_1 π/π^* transition (see Figure SI-9c for orbitals). This result gives further evidence that photoproduct I may be identified with the quinoxaline derivative IQ. The experimental absorption of I is in full agreement with the calculated spectrum, confirming the assignment. Considering the energy difference between the isomers, calculation of the Boltzmann factor shows that IQ represents 95% of the quinoxaline species in the medium. Thus, the presence of two maxima around 340 nm in the experimental spectrum may not be attributed to other isomers, and can characterize transitions to different vibronic levels.

3.5.2 Laser Flash Photolysis of TM

The laser flash photolysis of TM at 266 nm yielded the transient species shown in Figure 5. The maximum of absorption was located around 300 nm and the half-life was equal to 45 μ s. The formation and the decay of this species were not affected by oxygen.

3.5.3 Formation of I: Theoretical Calculations.

Our objective here aims at explaining the formation of I. This reaction will be shown to proceed through photocyclization, intra and inter-molecular H abstractions, and departure of HS₂ (Figure 4).

A-Photocyclization. In comparison to carbonyl compounds, the photochemistry of thiocarbonyl species exhibits unusual properties, such as photoreaction from the S₂(π/π^*) state, an exception to Kasha's rule, and fast S₁(n/π^*)/T₁ intersystem crossing because the singlet/triplet splitting is usually very small [21-23]. In our study, irradiations were conducted at wavelengths above 280 nm, a region where only S₁ is reached for TM (see Figure 1 and absorption spectrum analysis above). Thus, theoretical calculations were performed to address the mechanism of formation of the quinoxaline derivative in light of these considerations.

Optimization of the Franck–Condon structure in the S₁ state yielded TM_{S1} (see Figure SI-10). Since intersystem crossing (isc) may also take place, optimization in the T₁ state was performed for both the Franck-Condon TM structure and TM_{S1}. Both calculations yielded the same species, i.e. TM_{T1} in Figure SI-10. A systematic search for triplet state conformers was performed and seven structures were found upon combined rotation about the δ_i and δ'_i dihedral angles (see dashed levels in Figure SI-10). Among these, six conformers were separated by less than 6 kcal.mol⁻¹ and can be the reactive species for cyclization in the triplet state. The energies and specific geometric parameters of the species of importance are reported in Table 1.

The search for the cyclization reaction transition states in S₀ and T₁ led to a single stationary point in S₀ (TS_{S0}), and three transition states in T₁ (TS_{T1}, TS'_{T1} and TS''_{T1}; see Figures 8 and SI-7). In the ground state, the resonance energy strongly favors structures where substituent atoms (NH-C(S)-NH-C(O)OC) are coplanar. The repulsive interaction between substituents at the TS is further stabilized by long-range hydrogen bonding (see Figure SI-7a). In the triplet state, the transition states connect structures that have different spin density distributions (see Table 1). In non cyclized species (TM_{rotT1}, TM'_{rotT1} and TM''_{rotT1} in

Figure 8), spin density is large at one C-S bond. Atoms in the respective substituent are no longer coplanar (see Figures SI-7b, c and d). In the cyclized species (TM_{cycT_1} and TM'_{cycT_1}), the spin density is localized on sulfur atoms and planar geometry is favored for both substituents. This effect, while restrictive in the singlet state, is at the origin of the diversity of transition states in T_1 .

Intrinsic Reaction Coordinate calculations were performed to connect respective reactants (TM_{rotT_1} , TM'_{rotT_1} and TM''_{rotT_1}) and products (TM_{cycT_1} , TM'_{cycT_1} and $TM''_{cycT_1}=TM_{cycT_1}$). Considering that TM''_{rotT_1} is too high in energy, there are two favorable pathways that may lead to cyclization, with respective activation energies of 9.5 kcal/mol ($TM_{rotT_1} \rightarrow TM_{cycT_1}$) and 11.7 kcal/mol ($TM'_{rotT_1} \rightarrow TM'_{cycT_1}$). In the cyclization region of the phase space ($2.4 \text{ \AA} < R_{CS-CS} < 1.8 \text{ \AA}$), the triplet state T_1 lies below S_0 . While the cyclization reaction is clearly ruled out in S_0 by energetic considerations, it is also very unlikely that cyclization would proceed in the first singlet excited state because internal conversion to S_0 is expected on kinetic grounds.

Finally, as an alternative to the cyclization reaction, TM_{rotT_1} , TM'_{rotT_1} and TM''_{rotT_1} may undergo competitive isc, thermal equilibration and yield back reactant TM. The ground state structures connected to the triplet state levels in Figure 8 by isc (wavy lines) were obtained upon optimization of the respective triplet state geometries in the S_0 state. Six cyclized conformers were found in the triplet state, with $TM^a_{cycT_1}$ and $TM^b_{cycT_1}$ being the low energy conformers (Figure 8). Intersystem crossing simulation (procedure described above) of the four low lying cyclized structures (TM_{cycT_1} , TM'_{cycT_1} , $TM^a_{cycT_1}$ and $TM^b_{cycT_1}$) yielded four ground state species in S_0 (TM'_{cycS_0} , TM''_{cycS_0} , $TM^a_{cycS_0}$ and $TM^b_{cycS_0}$).

Table 1: Energies (kcal/mol), C-C, S-S bond lengths (resp. R_{CS-CS} , and R'_{S-S} , Å), key dihedral angles (deg) and spin densities (SD) of the significant species shown in Figure 8. See Figure 6 for definitions.

| S_0 | | | | | | T_1 | | | | | | | |
|-----------------------------------|-------|-------------|------------|------------|-------------|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|-------------|------------|------------|-------------|-----------------------------|------------------------------|
| | E | R_{CS-CS} | R'_{S-S} | δ_3 | δ'_3 | | E | R_{CS-CS} | R'_{S-S} | δ_3 | δ'_3 | SD (C/S/C/S) | |
| TM | 0.00 | 4.240 | | | | TM _{T1} | 61.5 | 4.739 | | | | | |
| TM _{rotS0} | 11.07 | 4.397 | | | | TM _{rotT1} | 66.7 | 2.990 | | | | 0.82/0.87/0.02/0.16 | |
| TM ['] _{rotS0} | 7.37 | 3.616 | | | | TM ['] _{rotT1} | 63.8 | 3.559 | | | | 0.66/0.87/0.00/0.00 | |
| TM ^{''} _{rotS0} | 12.67 | 4.268 | | | | TM ^{''} _{rotT1} | 72.3 | 2.676 | | | | 0.12/0.38/ 0.57/0.70 | |
| TS _{S0} | 87.00 | 1.895 | | | | TS _{T1} | 76.2 | 1.850 | | | | 0.02/ 0.75/0.01/0.79 | |
| | | | | | | TS ['] _{T1} | 75.5 | 1.972 | | | | 0.15/ 0.67/0.02/0.69 | |
| | | | | | | TS ^{''} _{T1} | 76.8 | 1.943 | | | | 0.04/ 0.73/0.04/0.80 | |
| TM _{cycS0} | 67.22 | 1.591 | 3.25 | 61. | 155.0 | | | | | | | | |
| TM ['] _{cycS0} | 34.66 | 1.597 | 2.11 | - | 6.2 |  | TM ['] _{cycT1} | 59.9 | 1.579 | 2.77 | - | 21.3 | -0.01/ 0.59/0.01/0.56 |
| TM ^{''} _{cycS0} | 31.10 | 1.579 | 2.12 | 129 | 77.9 |  | TM _{cycT1} | 59.3 | 1.565 | 2.81 | 118. | 95.8 | 0.00/ 0.52/0.04/0.60 |
| TM ^a _{cycS0} | 32.26 | 1.587 | 2.12 | -4.5 | 80.7 |  | TM ^a _{cycT1} | 57.7 | 1.574 | 2.77 | -5.3 | 76.1 | |
| TM ^b _{cycS0} | 32.71 | 1.572 | 2.12 | - | 51.5 |  | TM ^b _{cycT1} | 57.1 | 1.556 | 2.83 | - | 64.0 | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| TM _{S1} | 73.11 | 4.643 | | | | | | | | | | | |

The S-S bond is small in S_0 (R_{S-S} in Table 1). The cyclized species with lowest energy in T_1 and S_0 (resp. TM^b_{cycT1} and TM''_{cycS0}) are obtained through thermal equilibrium in the respective states. Their structures are shown in Figure SI-8 and differ mainly by the respective values of δ_3 and δ'_3 and the distance between sulfur atoms (repulsive spin density is large on S atoms in T_1 ; see Table 1). Interstate crossing connects structures that have similar values for δ_3 and δ'_3 (see Table 1). The cartesian coordinates of all the transition states and the geometries of the cyclized species can be found in Table SI-4 and Figures SI-7, SI-8 and SI-9.

B-Intramolecular H-abstraction. The reaction path from TM''_{cycS0} towards the quinoxaline end product was found to proceed through intra- and intermolecular hydrogen abstraction reactions on the ground state surface. The intramolecular hydrogen abstraction reaction is depicted in Figure SI-14.

The reaction proceeds in two phases. First, favorable orientation of the sulfur atoms must be reached. The reaction coordinate is δ' here (see left hand-side in Figure SI-14). Small activation barriers (less than 1 kcal.mol⁻¹) need to be overcome in order to achieve C-S bond breaking and favorable orientation of the S-S and H-N bonds, as seen in Figure SI-14 (see SSH2). The second phase characterizes the intramolecular H-abstraction reaction and is the limitant step in this scheme with an activation barrier of 9.6 kcal.mol⁻¹ (see TS3 in Figure SI-14). The reaction coordinate is R'_{S-H} here. SSH3 is a diradical structure where one sulfur atom lies at the bridge position above the C-C bond in the ring. Extensive search for subsequent intramolecular H-abstraction was performed, but a transition state could not be found. Complex non elementary routes were pursued such as combinations of δ' and S-H bond distances. In this study, the abstraction reactions of any of the three hydrogen atoms borne by neighbouring N atoms were also investigated, but none led to favorable pathways.

C-Intermolecular H-abstraction. Thus, intermolecular H abstraction was finally investigated. The most labile hydrogen atom in SSH3 is that borne by the nitrogen atom within the cycle. When this hydrogen atom is removed in SSH3, optimization of the remaining species yielded spontaneously separated quinoxaline and SSH radical fragments (see reaction from SSH3 to IQ1 in Figure 4). The obtained structure is shown in Figure 5.

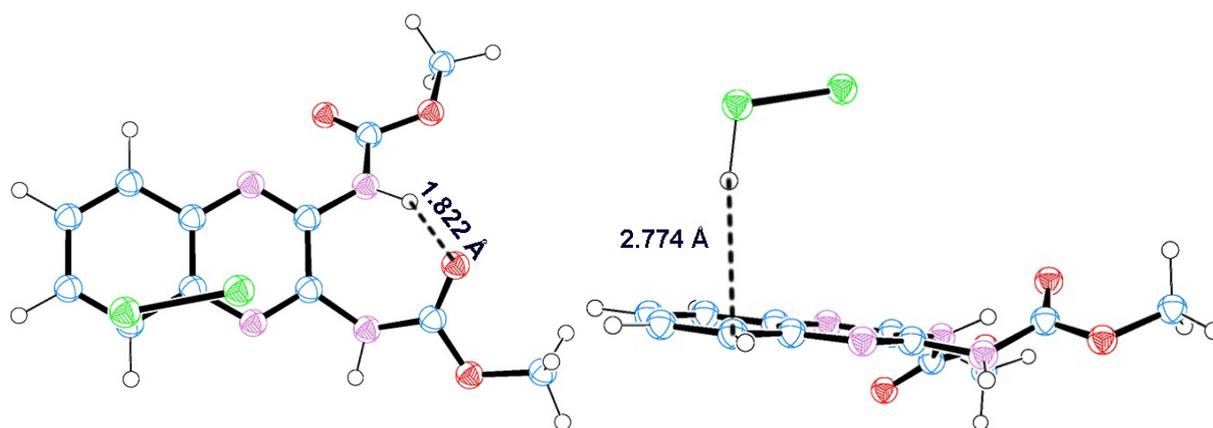


Figure 5: Optimized geometry of the quinoxaline derivative (isomer IQ1) and SSH radical at the B3LYP/6-31+G(d,p)+PCM(water) level. Top (left) and side (right) views.

The intermolecular H abstraction from SSH3 requires the involvement of an oxidant, for instance initial traces of I. To conclude, the phototransformation of TM into I can be described by the photocyclization reaction followed by intramolecular and intermolecular hydrogen abstraction shown above in Figure 7. By laser flash photolysis we observed a long-lived transient. Based on the calculations, one can postulate that this species is SSH3 formation of which is quite fast based on the activation barriers. The lifetime of SSH3 would depend on the dissociation energy of the N-H bond and on the concentration of the oxidant that abstracts this H atom.

3.6. Mechanism of formation of secondary photoproducts

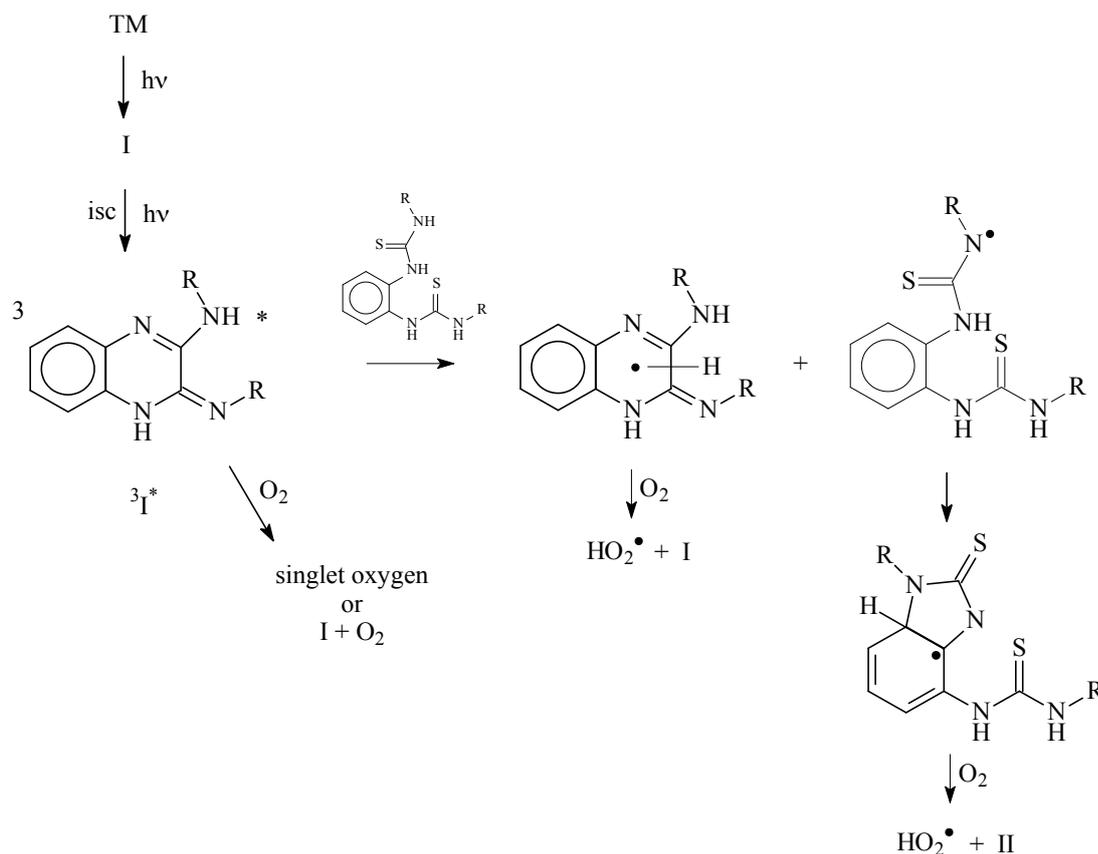
As previously shown, II was a secondary photoproduct only observed in the presence of oxygen and formed along with H_2O_2 , according to a mass balance : $\text{TM} + \text{O}_2 = \text{II} + \text{H}_2\text{O}_2$. Given this, one can propose the processes depicted in Scheme 2. In air-saturated medium, I in the triplet excited state is trapped by oxygen or abstracts an hydrogen atom from TM to yield a radical able to undergo cyclisation and to produce II after a H atom transfer on oxygen. At the same time reduced I could regenerate I after a H atom transfer on oxygen. Dismutation of the two hydroperoxyl radicals will generate H_2O_2 . The same type of reaction involving II instead of TM would produce IV and thus the second cyclisation reaction.

Given this, the rate of TM phototransformation can be written:

$$r_{TM} = I_a \Phi + I_a' \Phi_T \frac{k[TM]}{k_d + k[TM]}$$

where I_a and I_a' are the rate of light absorption of TM and I, Φ is the quantum yield of transformation of TM into I, Φ_T is the quantum yield of triplet population of I, k the rate constant of reaction of triplet I with TM, k_d the rate constant of triplet I deactivation and $[TM]$ the TM concentration. The autoaccelerated shape of the TM consumption curve is due to the increase of the second term through I_a'

The rate of TM phototransformation was lower in oxygen-saturated medium than in air-saturated medium because the triplet I is more efficiently trapped by oxygen while the oxidation of TM by singlet oxygen remains very slow. On the other hand, deoxygenation of the medium should enhance the rate of TM phototransformation due to the much higher stationary concentration of triplet I. This is not the case. A possible explanation is that the H-atom transfer between triplet I and TM is reversible in the absence of oxygen. This is the same case for 2,4,6-trimethylphenol that only disappears significantly in oxygenated medium.



Scheme 2: Mechanism of formation of II

The formation of III that is mainly secondary is more difficult to explain and would probably deserve a specific focus. It must be stressed that all the reports on the TM photolysis claimed the formation of carbendazim [8, 9, 11]. Based on a detailed MS analysis, Chayata et

al (2016) were the first to demonstrate that III would not be carbendazim but an isomeric compound.

To our knowledge, such a case where a pesticide undergoes an autoaccelerated photodegradation due to the formation of a sensitizing photoproduct is rare. Yet, this situation is probably not unique, but the complexity of the photochemical reactions can make identification of such properties difficult. Moreover, a photoproduct behaves as a sensitizer if its spectral characteristics allow it. Here the absorption spectrum of I extends up to 370 nm against 340 nm for TM and I can thus freely absorb solar light. This situation should have consequences in the surface water reactivity and the fate of other water contaminants. Once released in the aquatic medium, TM may contribute to the natural micropollutants remediation through the formation of photoproduct I.

4. Conclusion

We show that the photolysis of thiophanate methyl in water is a complex reaction during which the primary photoproduct, a quinoxaline derivative, acts as a sensitizer. This gives an autoaccelerated shape to the consumption profile of thiophanate methyl. The sensitization involves the abstraction of hydrogen atoms from thiophanate to yield cyclic secondary photoproducts. The primary photoproduct is also able to oxidize phenolic derivatives and could oxidize a variety of organic compounds, micropollutants or natural compounds, present in surface waters. The formation of the quinoxaline derivative was also studied by means of theoretical calculations. Our results have shown that the reaction proceeded through triplet state intermediates in order to achieve photocyclization ($E_a \sim 10$ kcal/mol). It is followed by intra- and intermolecular hydrogen abstraction reactions. Finally, the theoretical absorption spectrum of the quinoxaline derivative confirmed the experimental attribution of species I. While this work focus only on the case of thiophanate methyl, it is likely that the photodegradation of other aqueous pollutants can also be source of unrecognized photosensitizers that enhance the reactivity of natural water under sunlight exposure. Thus, our study highlights the need for more systematic studies of the photosensitizing effect of intermediates during photolysis studies as this effect could alter the reaction mechanisms and the environmental fate of pollutants.

Acknowledgments: Ms Samar Hamdache thanks the Union of Municipalities of Menyeh, North Lebanon, for their financial support. We thank Martin Leremboure, CNRS Engineer, for assistance with HPLC-HRMS.

References

- [1] Calza P. and Vione D. (eds) Surface water photochemistry, Comprehensive Series in Photochemical and Photobiological Sciences, vol 12, RSC, Cambridge 2016.
- [2] Tafer R., Sleiman M., Boulkamh A., Richard C., *Water Res.* 106 (2016) 496-506
- [3] Monadjemi S., el Roz M., Richard C., ter Halle A., *Environ. Sci. Technol.* 45 (2011) 9582-9589
- [4] Monadjemi S., Richard C., *J. Agric. Food Chem.* 62 (2014) 4846-4851.
- [5] Bouchama S., de Sainte-Claire P., Arzoumanian E., Oliveros E., Boulkamh A., Richard C., *Environ. Sci.: Processes and Impacts* 16 (2014) 839-847
- [6] Bosca F., Miranda M.A., *J. Photochem. Photobiol.* 43 (1998) 1-26
- [7] Petrie B., Barden R., Kasprzyk-Hordern B., *Water Res.* 72 (2015) 3-27
- [8] Soeda Y., Kosaka S., Noguchi T., *Agric. Biol. Chem.* 36 (1972) 931-936.
- [9] Buchenauer H., Edgington L.V., Grossmann F., *Pest. Sci.* 4 (1973) 343-348.
- [10] Watkins D. A. M., *Chemosphere* 3 (1974) 239-240.
- [11] Ono S., Tohyama N., *Nippon Noyaku Gakkaishi* 7 (1982) 363-371.
- [12] Chayata H., Lassalle Y., Nicol E., Manolikakes S., Souissi Y., Bourcier S., Gosmini C., Bouchonnet S., *J. Chromatog. A* 1441 (2016) 75-82.
- [13] Miller W. L., Kester D. R., *Anal. Chem.* 60 (2002) 2711-2715.
- [14] Bonnichon F., Richard C., *J. Photochem. Photobiol. A* 119 (1998) 25-32.
- [15] Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B., Scuseria G.E., Robb M.A., Cheeseman J. R., Scalmani G., Barone V., Mennucci B., Petersson G.A., Nakatsuji H., Caricato M., Li X., Hratchian H.P., Izmaylov A. F., Bloino J., Zheng G., Sonnenberg J. L., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Montgomery J.A., Peralta Jr. J. E., Ogliaro F., Bearpark M., Heyd J. J., Brothers E., Kudin K.N., Staroverov V.N., Keith T., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A., Burant J.C., Iyengar S. S., Tomasi J., Cossi M., Rega N., Millam J.M., Klene M., Knox J.E., Cross J.B., Bakken V., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R.E., Yazyev O., Austin A.J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J.W., Martin R.L., Morokuma K., Zakrzewski V.G. Voth G.A., Salvador P., Dannenberg J.J., Dapprich S., Daniels A.D., Farkas O., Foresman J.B., Ortiz J.V., Cioslowski J., Fox D. J., 2010. Gaussian 09, Revision C.01, Gaussian, Inc., Wallingford CT.
- [16] Tomasi J., Mennucci B., Cammi R., *Chem. Rev.* 105 (2005) 2999-3093.
- [17] Bent D. V., Hayon E., Moorthy P. N., *J. Am. Chem. Soc.* 97 (1975) 5065-5071
- [18] Duncan C.K., Keans D.R., *Chem Phys Lett* 12 (1971) 306-309.
- [19] Rodgers M.A.J., Snowden P.T., *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 5543-5545
- [20] Appiani E, Ossola R., Latch D.E., Erickson P.R., McNeill K., *Environ. Sci : Processes and Impacts* 19 (2017) 507-516.
- [21] Steer R. P., *Rev. Chem. Intermed.* 4 (1981) 1-41.
- [22] Coyle J. D., *Tetrahedron* 41 (1985) 5393-5425.
- [23] Rao V.P., *Sulfur Reports* 12 (1992) 359-403.

Supplementary Information Section.

Light induced degradation of the fungicide Thiophanate methyl in water: Formation of a sensitizing photoproduct

Sofia Kouras-Hadef¹, Samar Hamdache^{1,2}, Pascal de Sainte-Claire¹, Mohamad Sleiman¹,
Farouk Jaber², Claire Richard^{1*}

(1) Université Clermont Auvergne, CNRS, SIGMA Clermont, Institut de Chimie de Clermont-Ferrand, F-63000 Clermont-Ferrand, France

(2) Laboratory of Analysis of Organic Compounds (509), Faculty of Sciences I, Lebanese University, Hadath, Beirut, Lebanon.

* Corresponding author : Claire Richard

Claire.richard@uca.fr

+33 (0)4 73 40 71 42

Figure SI-1: Spectral distribution of the light received inside the Pyrex reactor and measured by the optical fiber of the radiometer. A: polychromatic tubes 280-380 nm; B: polychromatic tubes 300-450 nm

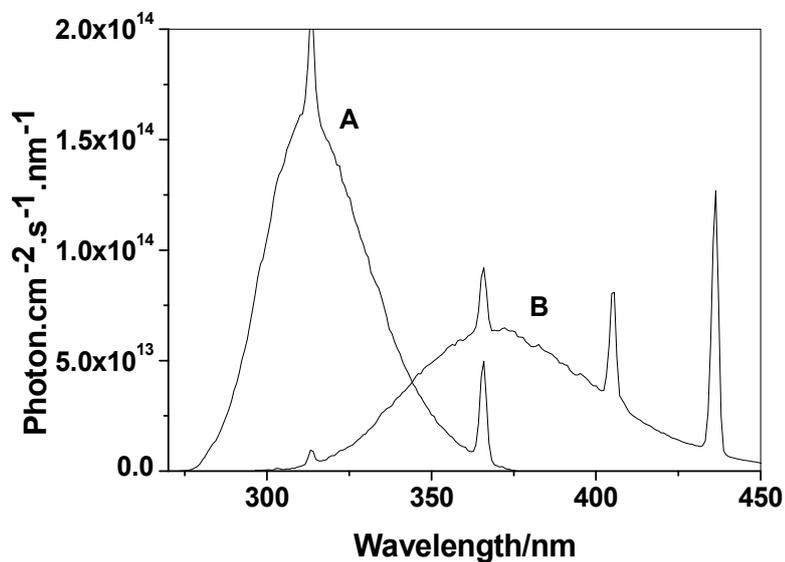


Figure SI-2: A) Experimental Absorption spectrum of I (dotted line), II (solid line) and III (dash line) in water-acetonitrile mixture (45-55%, v/v) ; B) Fluorescence of I in water-acetonitrile (98-2%, v/v). Theoretical position and oscillator strengths of IQ (the most stable structural isomer of I) are also shown in this Figure (blue vertical lines).

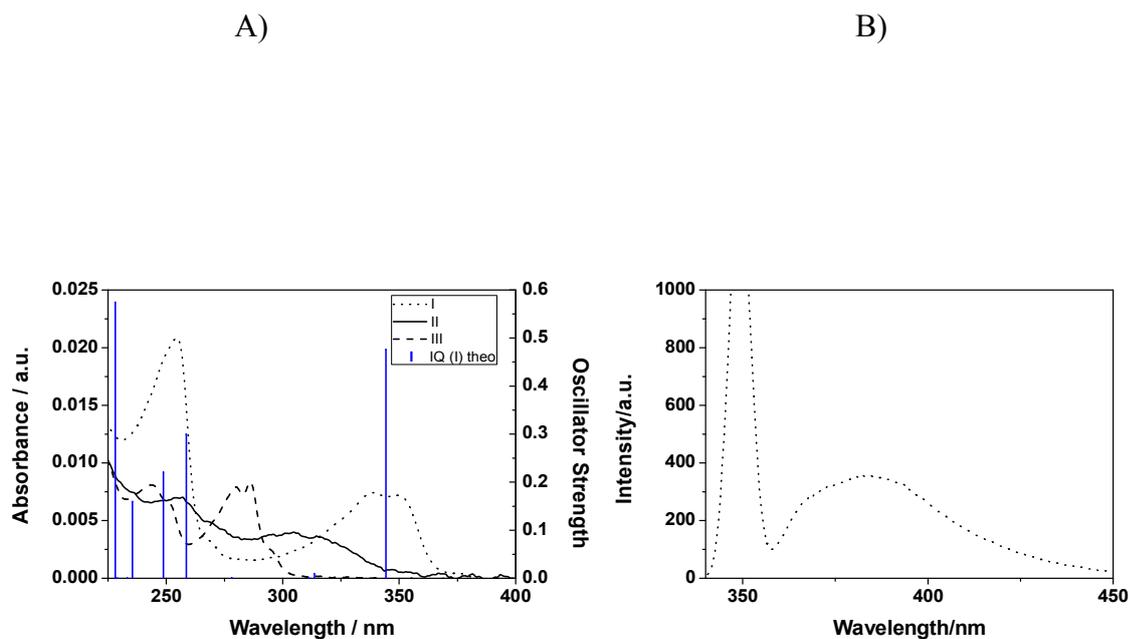


Figure SI-3 : Plot of the rate constant of reaction, k , between the triplet of quinoxaline and the probe 2,4,6-trimethylphenol vs the probe concentration. Excitation of quinoxaline in air-saturated aqueous solution at 266 nm and measurement of the decay of the triplet at 420 nm.

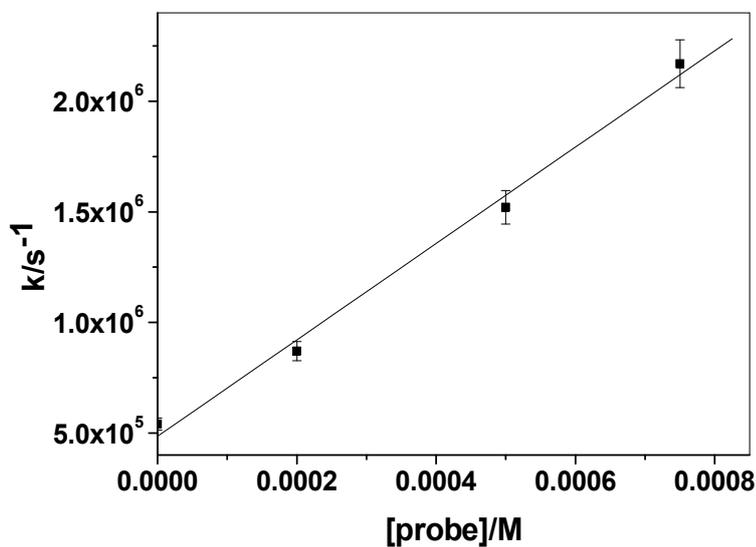


Figure SI-4: Transient spectra obtained by excitation of TM (7×10^{-5} M) at 266 nm (●) and by excitation of a pre-irradiated solution of TM (2.9×10^{-4} M) at 355 nm (○) (see text).

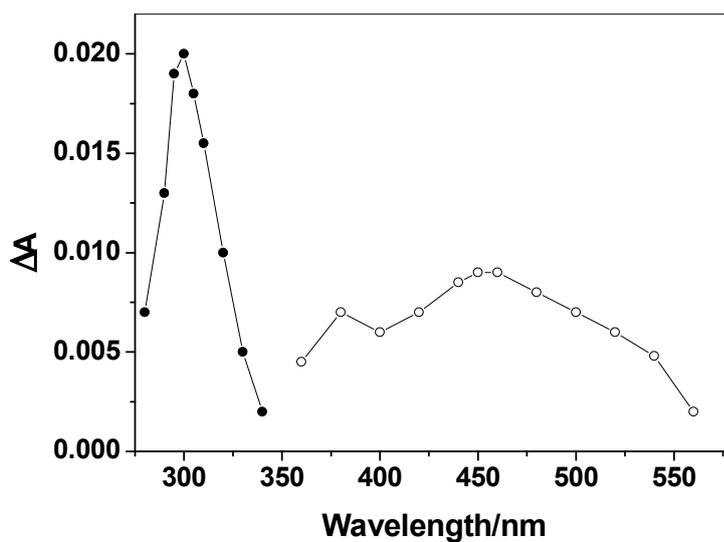


Figure SI-5 : Key geometry parameters used throughout for Thiophanate Methyl (TM). R is the C(S)-C(S) distance, δ is the SC-CS dihedral angle and δ' is the CC-SS dihedral angle.

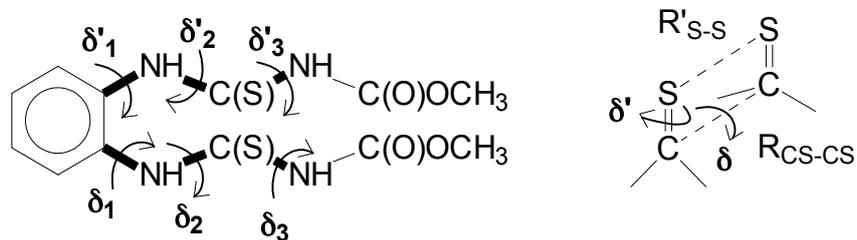


Figure SI-6: Geometry of the global minimum for TM in the ground state at the B3LYP/6-31G+(d,p)-PCM (water) level of theory (S atoms are colored in green for better contrast); in TM, the NH-C(S)-NH-C(O)OC atoms are coplanar.

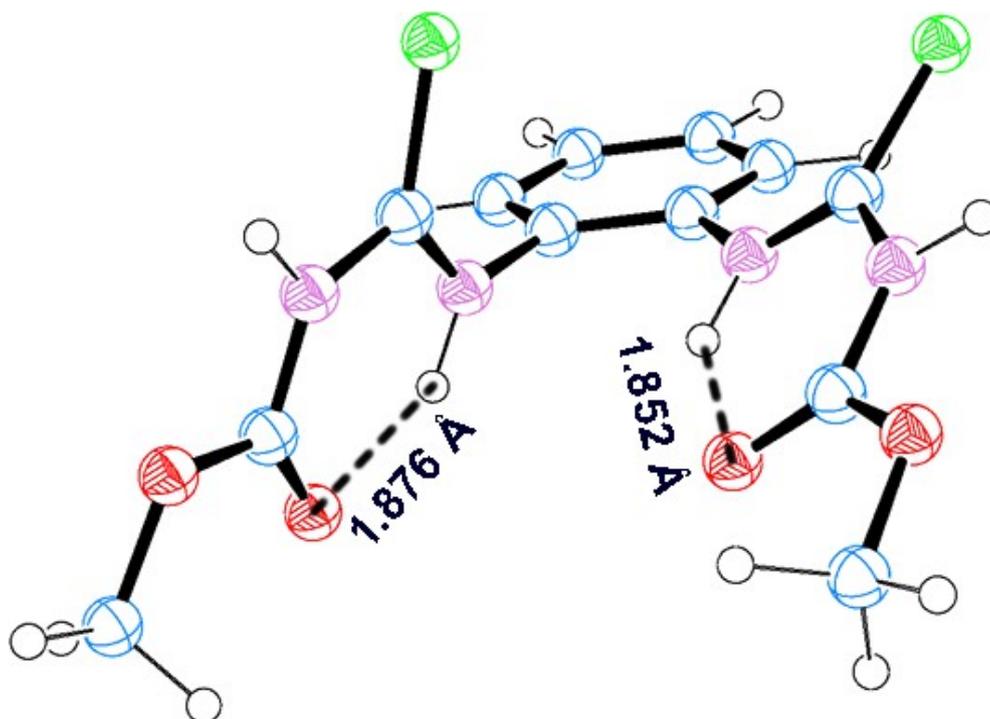
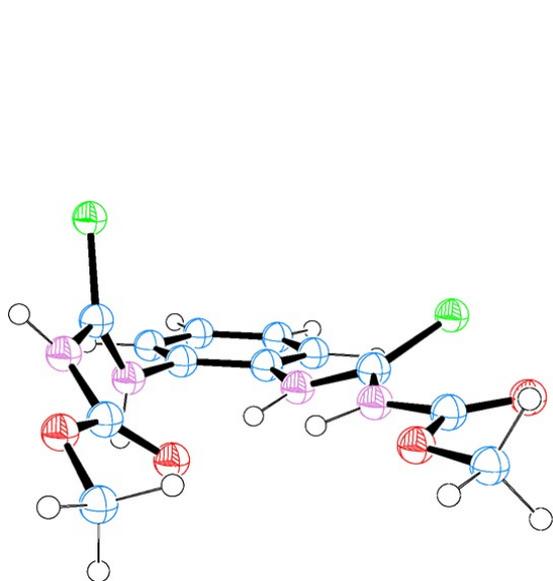
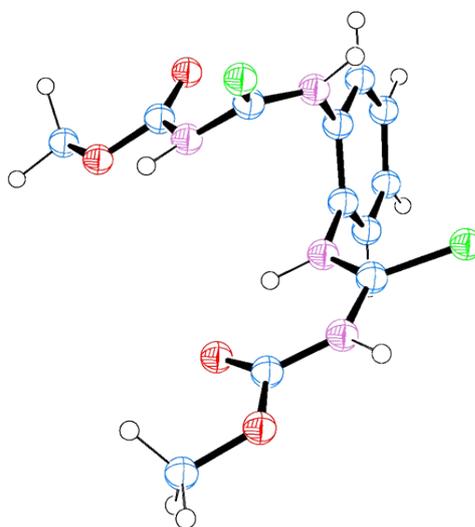


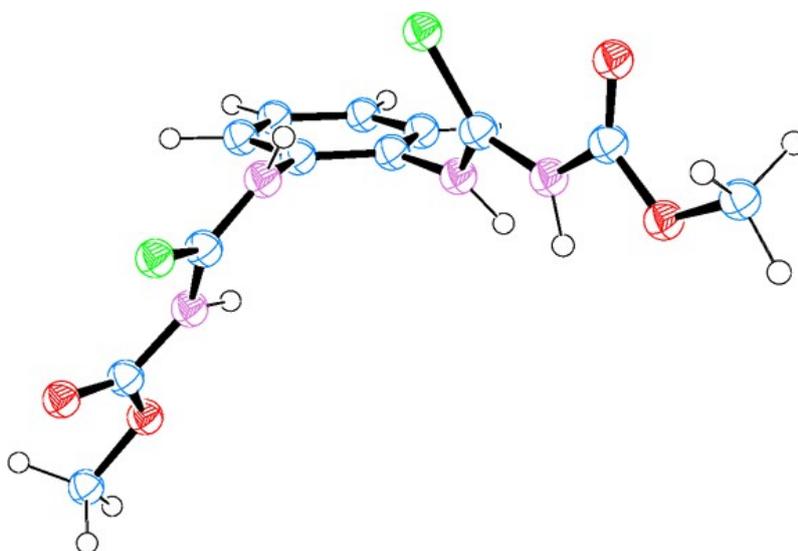
Figure SI-7: Geometries of minimum energy structures TM_{rotS0} , TM'_{rotS0} and TM''_{rotS0} at the B3LYP/6-31+G(d,p)-PCM(water) level.



TM_{rotS0}



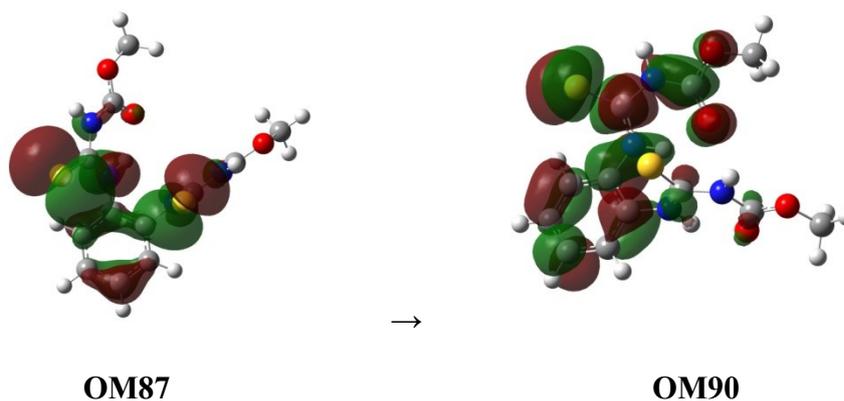
TM'_{rotS0}



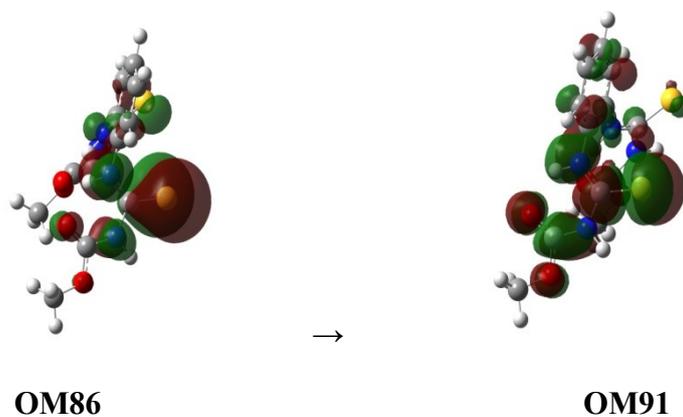
TM''_{rotS0}

Figure SI-8: The Molecular Orbitals involved in the shoulder (285 nm, n_s/π^* , S_4 transition) and band (265 nm, π/π^* for the S_{10} transition and n_s/π^* for S_9 and S_{11} transitions) patterns of the electronic absorption spectrum of TM. Respective theoretical wavelength, oscillator strength (f) and nature are indicated for each transition.

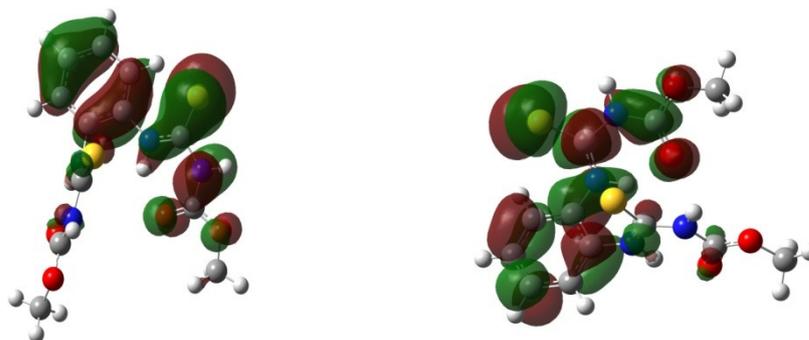
$S_0 \rightarrow S_4$ (291 nm; $f=0.1185$; n_s/π^*)



$S_0 \rightarrow S_9$ (257 nm; $f=0.1827$; n_s/π^*)



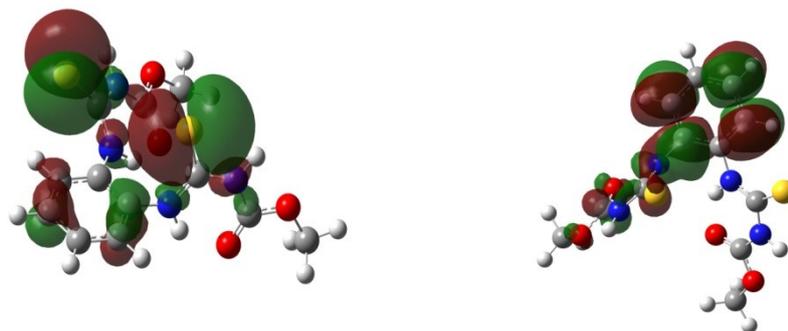
$S_0 \rightarrow S_{10}$ (251 nm; $f=0.1672$; π/π^*)



OM85

OM90

$S_0 \rightarrow S_{11}$ (249 nm; $f=0.1460$; n_s/π^*)



OM88

OM92

Figure SI-9a: Isomers of the quinoxaline derivative IQ. All the heavy atoms in IQ1 and IQ2 are coplanar. Energies are given with respect to the energy of isomer Q (Scheme 1). Long-range hydrogen bond distances are also indicated.

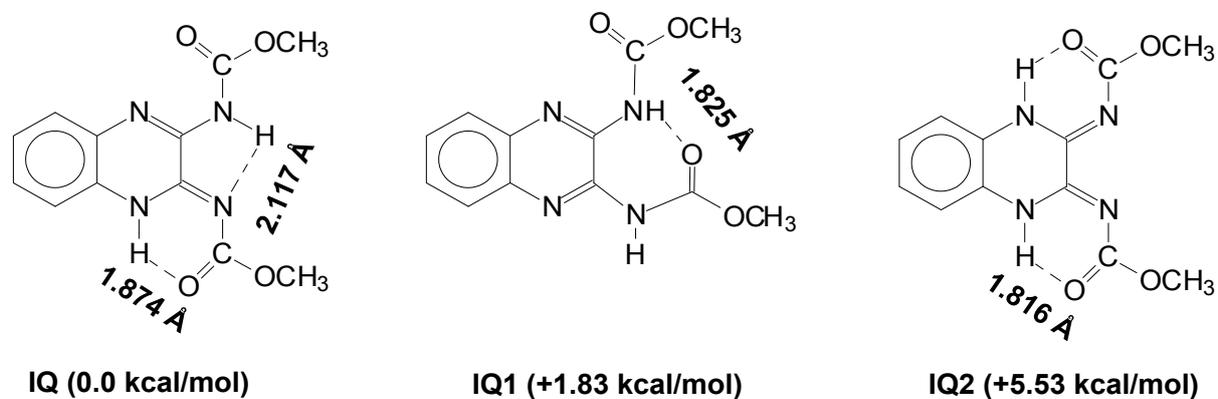


Figure SI-9b: 3-D structure of the quinoxaline derivative IQ (B3LYP/6-31+G(d,p) +PCM(water) level).

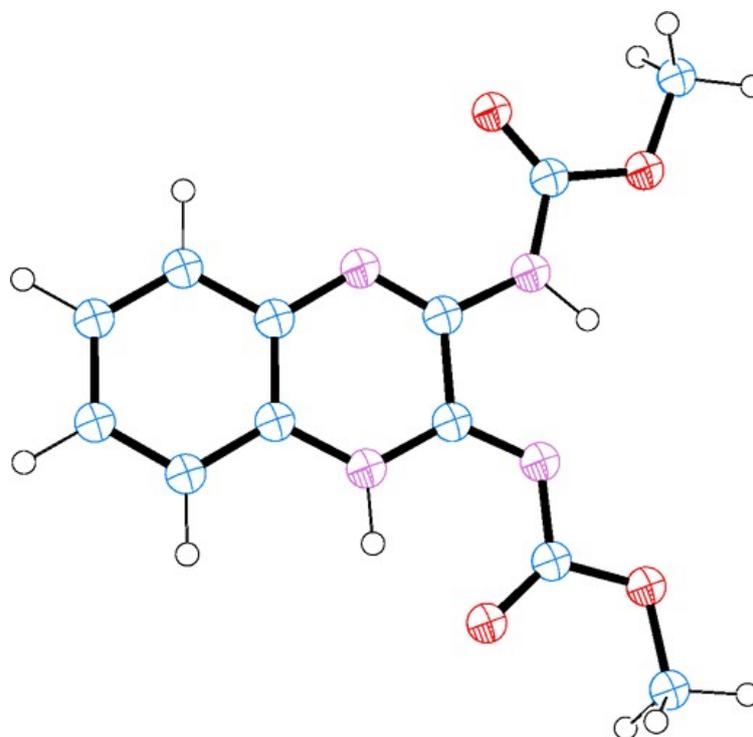


Figure SI-9c: The Molecular Orbitals involved in the π/π^* transition for IQ. Respective theoretical wavelength, oscillator strength (f) and nature of the transition are indicated.

$S_0 \rightarrow S_1$ (344 nm; $f=0.4757$; π / π^*)

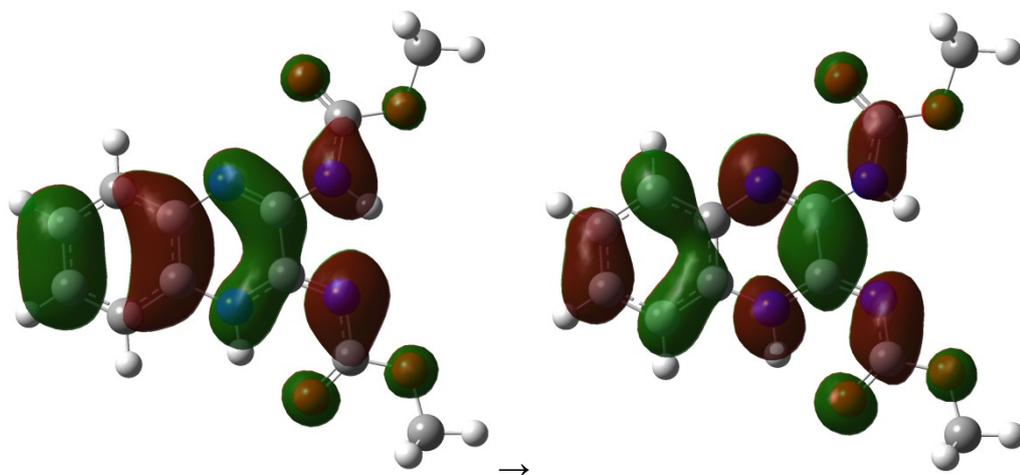


Figure SI-10: Potential Energy Surface of the TM photocyclization reaction at the B3LYP/6-31+G(d,p)-PCM(water) level with respect to the C(S)-C(S) bond distance (see Figure 6). Singlet states (S_0 and S_1) are represented with solid lines, triplet T_1 with dashed lines. Intersystem crossings (isc) are indicated as wavy lines (see text for details). Arrows on the T_1 and S_1 states (upper left hand side) indicate the direction of geometry optimization in the respective states. Initial excitation ($h\nu$) is also shown (solid lines).

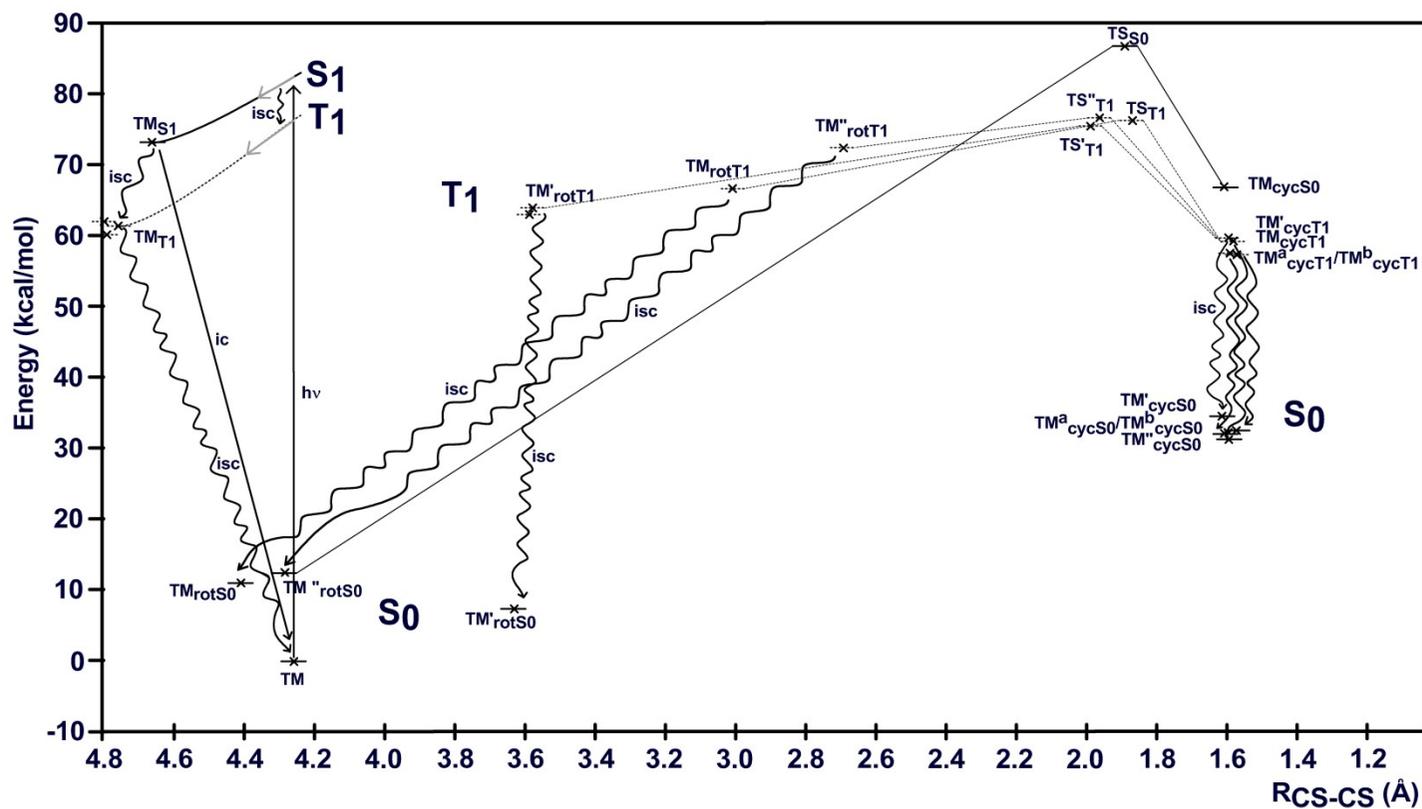


Figure SI-11: Geometries of transition states for the SCCS photocyclization reaction in the ground state S_0 (top) and triplet state T_1 (bottom) obtained at the B3LYP/6-31+G(d,p)-PCM(water) level. Where significant, long range hydrogen bonding distances are indicated.

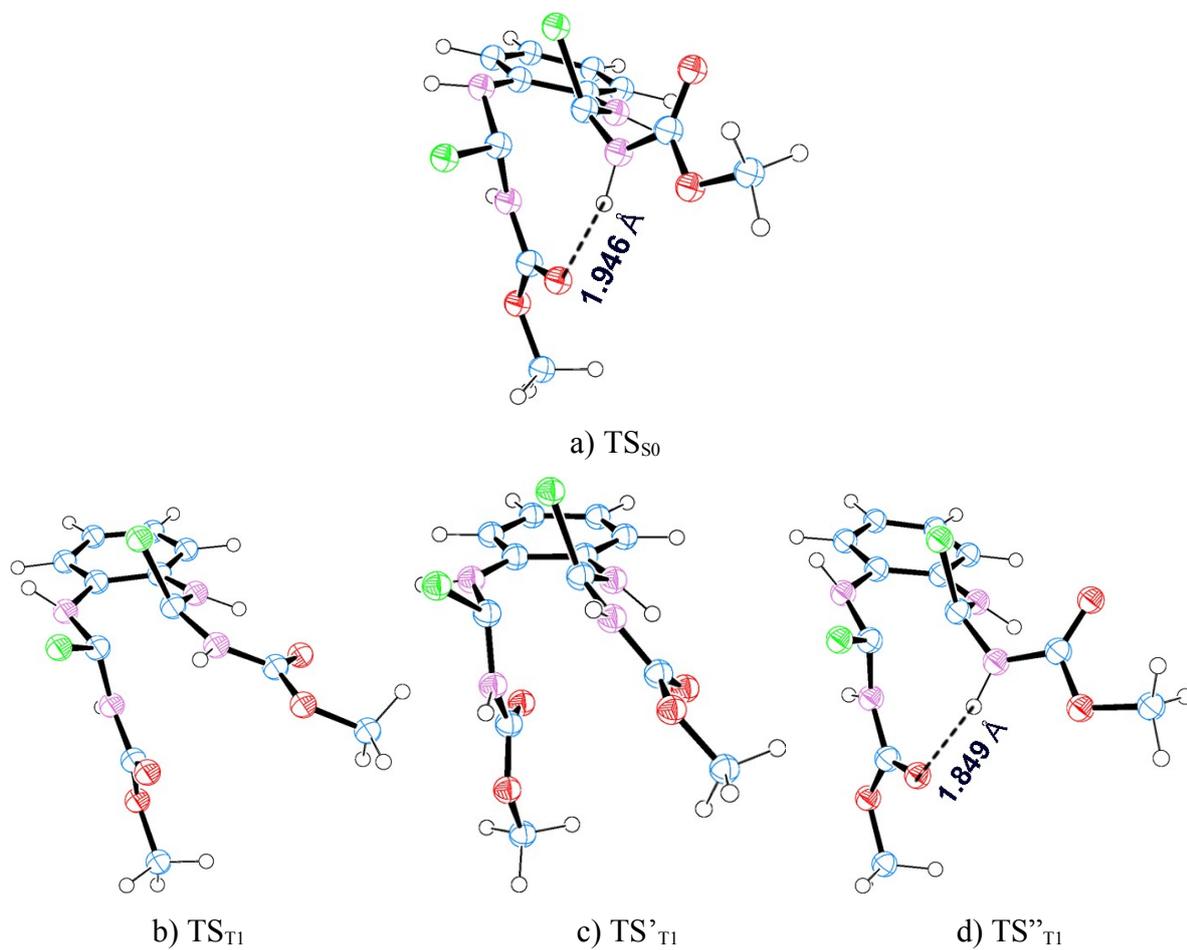
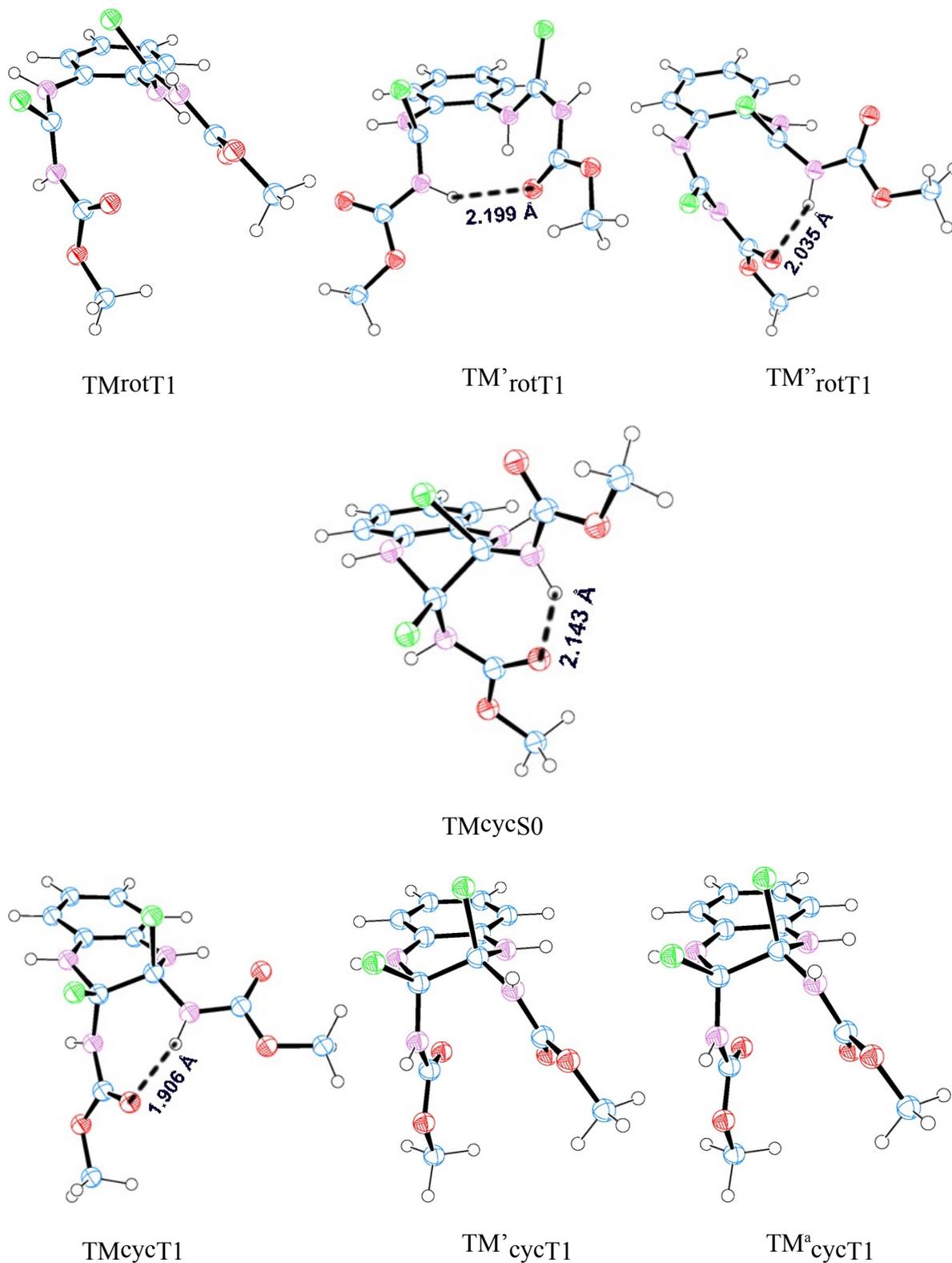


Figure SI-12: Geometries of non-cyclized triplet state T_1 minimum energy structures TM_{rotT_1} , $TM^{\prime}_{rotT_1}$ and $TM^{\prime\prime}_{rotT_1}$ and cyclized species (S_0 and T_1 states) at the B3LYP/6-31+G(d,p)-PCM(water) level. The most stable cyclized structures in the ground state and T_1 state (respectively $TM^{\prime\prime}_{cycS_0}$ and $TM^b_{cycT_1}$) are given in the manuscript.



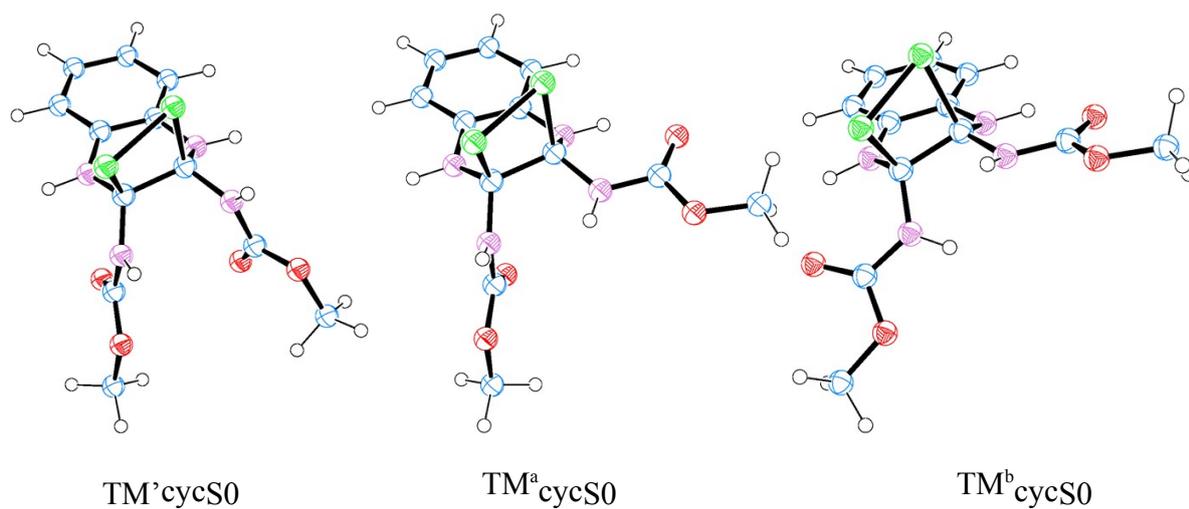


Figure SI-13: Structures of the low energy cyclized species in the ground state (TM''cycS0) and triplet state T₁ (TM^bcycT1) at the B3LYP/6-31+G(d,p)-PCM(water) level. Stabilizing hydrogen bonding is indicated for TM''cycS0.

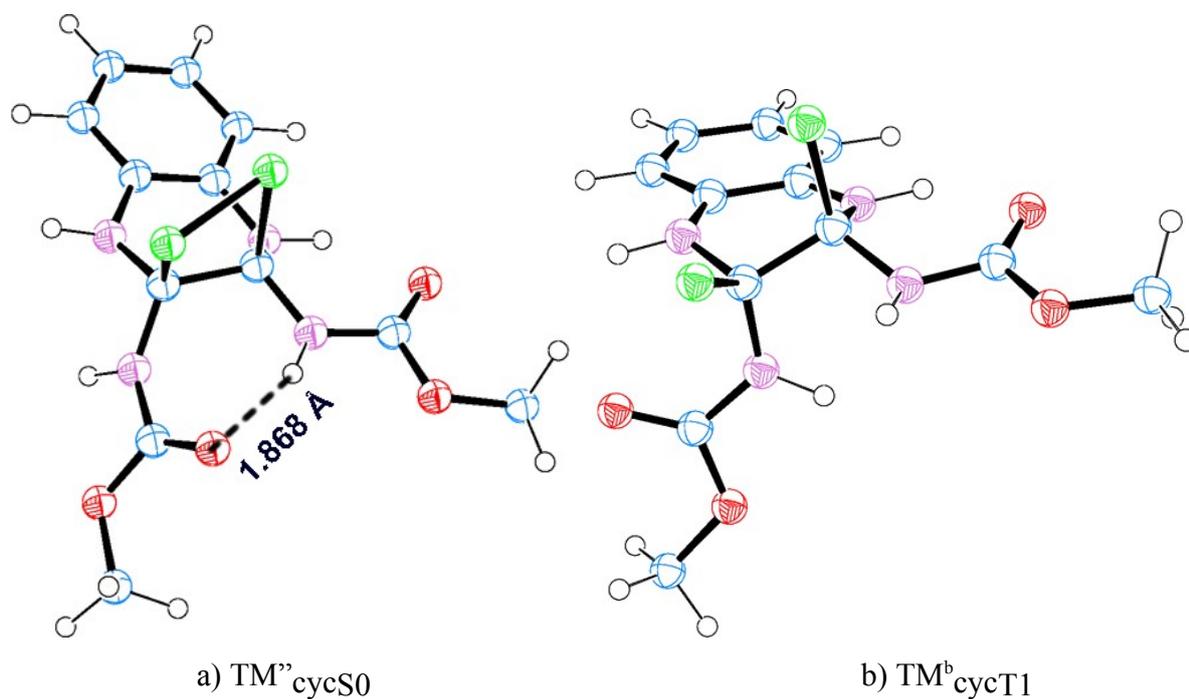


Figure SI-14: The ground state intramolecular H-abstraction reaction of the cyclized species $\text{TM}''_{\text{cycS0}}$ obtained at the B3LYP/6-31+G(d,p)+PCM(water) level. Energies are indicated in parentheses. In this scheme, the reaction coordinate changes from δ' to $R'_{\text{S-H}}$. Transition states are indicated with dashed levels. Long-range hydrogen bond lengths are also indicated for SSH1, SSH2 and SSH3.

Table SI-1 : Identification of photoproducts by HRMS.

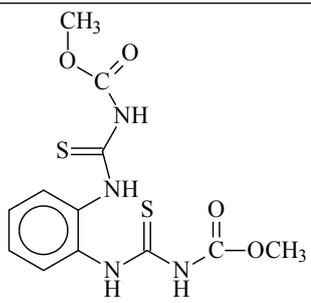
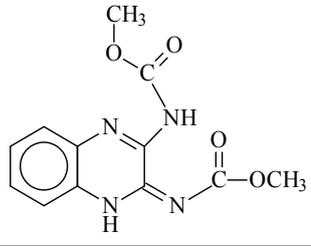
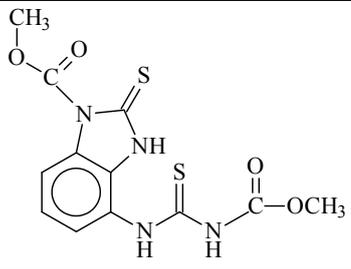
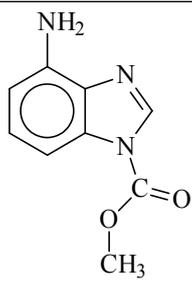
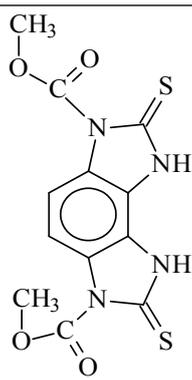
| Name | Measured mass (M+H ⁺) | Formula of the neutral molecule | Chemical structure |
|------|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| TM | 343.0521 | C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S ₂ |  |
| I | 277.09229 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₄ |  |
| II | 341.04168 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₄ S ₂ |  |
| III | 192.07613 | C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ |  |
| IV | 339.0209 | C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O ₄ S ₂ |  |

Table SI-2: Cartesian coordinates of ground state minimum energy structure TM(B3LYP/6-31+G(d,p)+PCM level).

| TM | | | |
|----|-----------|-----------|-----------|
| C | -3.093821 | -1.398280 | -0.933271 |
| C | -1.800975 | -0.973520 | -0.604360 |
| C | 0.767748 | -1.927207 | -0.514010 |
| C | -1.032663 | -3.277512 | -0.749449 |
| C | -2.326735 | -3.695960 | -1.062570 |
| C | -3.352816 | -2.751801 | -1.153237 |
| H | -3.886466 | -0.668169 | -1.025590 |
| H | -0.217788 | -3.990453 | -0.676919 |
| H | -2.528576 | -4.747502 | -1.238589 |
| H | -4.360275 | -3.063647 | -1.410194 |
| N | 0.578686 | -1.514530 | -0.258088 |
| H | 1.246544 | -1.513626 | -1.033328 |
| N | -1.459060 | 0.390365 | -0.437801 |
| C | 1.087694 | -1.264380 | 0.962012 |
| C | -2.144273 | 1.367532 | 0.185311 |
| S | 0.228208 | -1.319157 | 2.410054 |
| S | -3.618587 | 1.236829 | 0.992968 |
| N | 2.438484 | -0.933445 | 0.999476 |
| H | 2.802013 | -0.732123 | 1.923205 |
| N | -1.532894 | 2.621923 | 0.162537 |
| H | -2.058062 | 3.352655 | 0.627480 |
| H | -0.532092 | 0.667934 | -0.773153 |
| C | -0.314982 | 2.985136 | -0.382911 |
| O | -0.108022 | 4.290397 | -0.195246 |
| O | 0.458706 | 2.222562 | -0.951981 |
| C | 1.138303 | 4.825875 | -0.707529 |
| H | 1.982956 | 4.331577 | -0.225361 |
| H | 1.186230 | 4.690160 | -1.788996 |
| H | 1.113704 | 5.883251 | -0.452707 |
| C | 3.339122 | -0.878450 | -0.050837 |
| O | 3.069860 | -1.115269 | -1.222835 |
| O | 4.543661 | -0.530681 | 0.406440 |
| C | 5.604118 | -0.436419 | -0.578340 |
| H | 6.486116 | -0.145012 | -0.012040 |
| H | 5.755002 | -1.404848 | -1.057574 |
| H | 5.355271 | 0.320688 | -1.323338 |

Table SI-3. Energies and key parameters of the eleven ground state (S_0) structures at the B3LYP/6-31+G(d,p)-PCM(water) level.

| Relative energy (kcal/mol) | Absolute energy (u.a) | Relative orientation of $\Phi_{\text{NH-CS-NH}}/\Phi_{\text{NH-CS-NH}}$ atoms ^a | $R_{\text{SC-CS}}$ (Å) |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| 0.0 (TM) | -1782.14048629 | Dn-S-Up/Dn-S-Up | 4.240 |
| 4.75 | -1782.13291875 | Up-S-Dn/Dn-S-Up | 4.277 |
| 7.37 (TM'rotS0) | -1782.12874373 | Up-S-Up/Dn-S-Up | 3.616 |
| 11.07 (TMrotS0) | -1782.12284741 | Dn-S-Up/Dn-S-Dn | 4.397 |
| 12.67 (TM''rotS0) | -1782.12029723 | Up-S-Dn/Dn-S-Dn | 4.268 |
| 12.86 | -1782.11999308 | Up-S-Dn/Up-S-Dn | 4.207 |
| 14.35 | -1782.11761773 | Up-S-Up/Up-S-Dn | 3.937 |
| 14.96 | -1782.11664713 | Up-S-Dn/Dn-S-Dn | 3.377 |
| 15.21 | -1782.11625275 | Up-S-Up/Up-S-Up | 4.192 |
| 15.30 | -1782.11609706 | Up-S-Up/Dn-S-Dn | 3.599 |
| 16.13 | -1782.11477665 | Dn-S-Dn/Dn-S-Dn | 4.228 |

^a Relative position of H atoms with respect to the respective adjacent sulfur atom (Dn=Down) for each substituent. S atoms are in the upward position by definition. See Figure SI-3 for example (TM). Other structures are chiral equivalent to those listed here because of symmetry considerations.

Table SI-4: Cartesian coordinates of transition states TS_{S0}, TS_{T1}, TS'_{T1} and TS''_{T1} (B3LYP/6-31+G(d,p)+PCM level).

| TS _{S0} | | | TS _{T1} | | | TS' _{T1} | | | TS'' _{T1} | | |
|------------------|-----------|-----------|------------------|-----------|-----------|-------------------|-----------|-----------|--------------------|-----------|-----------|
| C | 2.556064 | -1.214863 | C | 2.914463 | -1.563223 | C | 2.588022 | -0.051374 | C | 2.836369 | -1.345151 |
| | 2.017933 | | | -1.452775 | | | -2.233219 | | | -1.818654 | |
| C | 1.736069 | -0.975909 | C | 2.116449 | -0.775896 | C | 1.811327 | -0.219579 | C | 2.027308 | -0.815888 |
| | 0.891151 | | | -0.604612 | | | -1.078222 | | | -0.798014 | |
| C | 2.340884 | -0.830910 | C | 2.569661 | 0.490537 | C | 2.321002 | 0.133523 | C | 2.609549 | -0.055321 |
| | 0.396535 | | | -0.182706 | | | 0.189712 | | | 0.236354 | |
| C | 3.730366 | -1.027624 | C | 3.847053 | 0.915965 | C | 3.644830 | 0.603556 | C | 4.001812 | 0.096819 |
| | 0.538441 | | | -0.567804 | | | 0.268525 | | | 0.269847 | |
| C | 4.506948 | -1.307270 | C | 4.653762 | 0.111044 | C | 4.415867 | 0.751093 | C | 4.803806 | -0.469223 |
| | 0.571477 | | | -1.373427 | | | -0.880515 | | | -0.720030 | |
| C | 3.917761 | -1.382736 | C | 4.178096 | -1.123928 | C | 3.888198 | 0.435230 | C | 4.216079 | -1.173467 |
| | 1.856410 | | | -1.835208 | | | -2.142454 | | | -1.780674 | |
| H | 2.096622 | -1.294178 | H | 2.540619 | -2.529111 | H | 2.159939 | -0.320405 | H | 2.371099 | -1.911747 |
| | 2.998225 | | | -1.779566 | | | -3.194403 | | | -2.619983 | |
| H | 4.178254 | -0.936106 | H | 4.192633 | 1.892856 | H | 4.052783 | 0.870647 | H | 4.442179 | 0.682064 |
| | 1.523415 | | | -0.242623 | | | 1.239387 | | | 1.071626 | |
| H | 5.576533 | -1.448626 | H | 5.642708 | 0.457075 | H | 5.432716 | 1.121507 | H | 5.880769 | -0.342777 |
| | 0.458805 | | | -1.656596 | | | -0.793124 | | | -0.677106 | |
| H | 4.539408 | -1.582968 | H | 4.791997 | -1.742986 | H | 4.488067 | 0.556992 | H | 4.832605 | -1.594831 |
| | 2.722739 | | | -2.481060 | | | -3.038055 | | | -2.567950 | |
| N | 1.522881 | -0.528224 | N | 1.757245 | 1.339538 | N | 1.553439 | 0.031579 | N | 1.821135 | 0.563092 |
| | 1.473065 | | | 0.600321 | | | 1.336506 | | | 1.239247 | |
| H | 2.022759 | -0.288102 | H | 2.198181 | 1.685753 | H | 1.947186 | 0.439541 | H | 2.047026 | 0.275605 |
| | 2.329271 | | | 1.442799 | | | 2.176261 | | | 2.184169 | |
| N | 0.378129 | -0.864495 | N | 0.860725 | -1.240642 | N | 0.490444 | -0.680839 | N | 0.643918 | -1.021928 |
| | 1.008863 | | | -0.212069 | | | -1.182216 | | | -0.831746 | |
| C | 0.356491 | 0.403419 | C | 0.351331 | 1.113167 | C | 0.165411 | -0.271985 | C | 0.431503 | 0.793086 |
| | 1.230589 | | | 0.766421 | | | 1.430516 | | | 1.062913 | |
| C | -0.520315 | -0.831220 | C | 0.146273 | -0.723514 | C | -0.139213 | -1.374478 | C | -0.210556 | -0.852724 |
| | 0.090542 | | | 0.856782 | | | -0.175998 | | | 0.253383 | |
| S | -0.600821 | 0.796718 | S | -0.254460 | 1.617195 | S | -0.281336 | -1.430592 | S | -0.508815 | 0.784835 |
| | 2.606782 | | | 2.364738 | | | 2.710184 | | | 2.559848 | |
| S | -0.453670 | -2.218904 | S | 0.864959 | -0.940918 | S | 0.630233 | -2.859982 | S | 0.031414 | -1.889423 |
| | 1.180941 | | | 2.521137 | | | 0.476547 | | | 1.696147 | |
| N | 0.838664 | 1.511239 | N | -0.318909 | 1.584946 | N | -0.735573 | 0.816626 | N | 0.276955 | 1.856507 |
| | 0.446303 | | | -0.398207 | | | 1.379210 | | | 0.125118 | |
| H | 1.842065 | 1.623096 | H | 0.287601 | 1.894533 | H | -1.645416 | 0.651612 | H | 1.141584 | 2.319048 |
| | 0.358794 | | | -1.149059 | | | 1.794720 | | | -0.134869 | |
| N | -1.786543 | -0.304785 | N | -1.241528 | -1.060636 | N | -1.542045 | -1.489650 | N | -1.562506 | -0.672552 |
| | -0.278284 | | | 0.800360 | | | -0.343870 | | | -0.176608 | |
| H | -1.877723 | 0.712972 | H | -1.807809 | -0.654404 | H | -1.996389 | -2.137251 | H | -1.969251 | 0.262025 |
| | -0.278583 | | | 1.534602 | | | 0.287884 | | | -0.095269 | |
| H | -0.015451 | -0.722309 | H | 0.331298 | -1.843817 | H | -0.121371 | -0.271268 | H | 0.202198 | -1.066022 |
| | -1.934256 | | | -0.850285 | | | -1.893070 | | | -1.744203 | |
| C | -2.889656 | -1.058889 | C | -1.899177 | -1.829241 | C | -2.359809 | -0.748841 | C | -2.392686 | -1.713767 |
| | -0.570293 | | | -0.114019 | | | -1.159473 | | | -0.486410 | |
| O | -3.942730 | -0.246647 | O | -3.207060 | -1.889149 | O | -3.643613 | -1.046993 | O | -3.652073 | -1.256874 |
| | -0.807953 | | | 0.187594 | | | -0.914631 | | | -0.671661 | |
| O | -2.936317 | -2.281183 | O | -1.388624 | -2.407281 | O | -1.981276 | 0.051911 | O | -2.059276 | -2.886254 |
| | -0.623779 | | | -1.076813 | | | -2.012650 | | | -0.605008 | |
| C | -5.181827 | -0.898284 | C | -4.031539 | -2.691520 | C | -4.626376 | -0.396399 | C | -4.629525 | -2.237952 |
| | -1.161871 | | | -0.689297 | | | -1.756072 | | | -1.078584 | |
| H | -5.059694 | -1.474982 | H | -3.995920 | -2.298631 | H | -4.575110 | 0.685711 | H | -4.341936 | -2.691280 |
| | -2.080881 | | | -1.706800 | | | -1.626280 | | | -2.029478 | |
| H | -5.512033 | -1.552366 | H | -3.697858 | -3.730643 | H | -4.458766 | -0.659128 | H | -4.734189 | -3.011141 |
| | -0.352515 | | | -0.676198 | | | -2.801919 | | | -0.314900 | |
| H | -5.894780 | -0.089219 | H | -5.037576 | -2.608168 | H | -5.585818 | -0.778797 | H | -5.560337 | -1.683505 |
| | -1.312382 | | | -0.282245 | | | -1.413235 | | | -1.187974 | |
| | | | C | -1.666137 | 1.785770 | C | -0.569124 | 2.065893 | C | -0.871030 | 2.501174 |
| | | | | -0.610694 | | | 0.803313 | | | -0.269845 | |
| | | | O | -2.573338 | 1.560633 | O | 0.409189 | 2.462101 | O | -2.018678 | 2.110148 |
| | | | | 0.171884 | | | 0.196530 | | | -0.086823 | |
| | | | O | -1.832069 | 2.295281 | O | -1.685410 | 2.789241 | O | -0.550326 | 3.633905 |
| | | | | -1.850754 | | | 1.026228 | | | -0.911581 | |
| | | | C | -3.191946 | 2.592462 | C | -1.691410 | 4.129606 | C | -1.652566 | 4.400545 |
| | | | | -2.238242 | | | 0.483999 | | | -1.454143 | |
| | | | H | -3.117495 | 2.994968 | H | -2.661572 | 4.540756 | H | -1.186969 | 5.256239 |
| | | | | -3.246968 | | | 0.756944 | | | -1.939161 | |
| | | | H | -3.794793 | 1.682448 | H | -0.886621 | 4.719443 | H | -2.205998 | 3.800869 |
| | | | | -2.232819 | | | 0.926617 | | | -2.178699 | |
| | | | H | -3.625318 | 3.331630 | H | -1.579291 | 4.098257 | H | -2.314436 | 4.726854 |
| | | | | -1.561839 | | | -0.601342 | | | -0.650490 | |

| | | | |
|---|-----------|----------|---|
| C | 0.081480 | 2.525165 | - |
| | 0.079684 | | |
| O | -1.137656 | 2.511334 | |
| | -0.213808 | | |
| O | 0.875726 | 3.536012 | - |
| | 0.469698 | | |
| C | 0.226917 | 4.637568 | - |
| | 1.148162 | | |
| H | 1.031673 | 5.324605 | - |
| | 1.402920 | | |
| H | -0.275163 | 4.282071 | |
| | -2.049718 | | |
| H | -0.491807 | 5.118135 | |
| | -0.482415 | | |

CHAPITRE V

Réactivité du bifénazate à l'obscurité et sous irradiation dans l'eau et sur les légumes

I. Objectifs du travail

Plusieurs études concernant la photolyse des pesticides ont démontré que dans de nombreux cas, les photoproduits formés peuvent être plus toxiques que le pesticide lui-même. De plus, il a aussi été trouvé que la nature des photoproduits formés et la cinétique de la réaction peuvent être affectées par le milieu dans lequel le pesticide est photodégradé. Par conséquent, pour mieux comprendre le devenir des pesticides dans les différents compartiments de l'environnement, il est nécessaire d'étudier leur photodégradation en solution et en matrices solides.

Le bifénazate (BIF, isopropyl 2-(4-méthoxybiphényl-3-yl)) hydrazino-formiate) est un acaricide utilisé pour lutter contre les acariens phytophages sur différents types de cultures telles que les pommes, les pêches, les poires, etc. La photolyse de ce pesticide dans l'environnement a été très peu étudiée. Pourtant il est rapporté comme étant instable et converti en BIF-diazène en solution aqueuse à $\text{pH} > 5$. Le BIF est utilisé en pulvérisation des légumes dans les serres agricoles à Menyeh et il a été trouvé sous forme de résidus avec quelques photoproduits dans les échantillons de légumes extraits et analysés (Chapitre III).

Nos objectifs dans ce travail ont été les suivants :

- 1- Comparer la photolyse de BIF et la formation des photoproduits dans différents milieux : eau, acétonitrile (ACN), sur des supports solides (films de cire de paraffine) et à la surface de légumes (poivrons verts) ;
- 2- Etudier la réactivité du BIF dans l'obscurité et sous une exposition à la lumière solaire simulée du point de vue cinétique et analytique afin de comprendre les mécanismes de réaction.

II. Méthodologie

Le BIF a été irradié en solution et sous forme de dépôt solide sur les films de cire et sur poivrons verts.

En solution : Des solutions de BIF préparées dans l'ACN, le méthanol et l'eau à 2 pH différents (5,7 et 4) ont été irradiées dans un simulateur de lumière solaire, avec une lumière polychromatique 300 à 450 nm pour 1 H. Les taux de conversion de BIF ont été calculés par analyse HPLC-DAD et les photoproduits ont été identifiés par LC-MS. Les rendements quantiques ϕ ont été calculés en irradiant des solutions de BIF dans l'ACN avec une lumière

monochromatique à 313 nm sous différentes conditions d'oxygénation (sans oxygène, en milieu saturé d'oxygène, sous air). Des expériences en spectroscopie d'absorption transitoire ont permis de détecter la formation des espèces transitoires. Des expériences de contrôle à l'obscurité ont été réalisées pour suivre l'instabilité de BIF dans l'eau et la formation du BIF-diazène. Ces expériences ont été menées pour évaluer l'effet de l'oxygène, du pH et du solvant sur la dégradation de BIF dans l'eau à l'obscurité et à la lumière.

Afin de quantifier la formation du BIF-diazène, son coefficient d'extinction molaire a été mesuré.

Sur solide : Des solutions de BIF ont été déposées et irradiées sur des films de cire et sur des poivrons verts après séchage total du solvant. La récupération a été faite avec 2 mL d'ACN. Le cinétique de photolyse de BIF sur cire a été établie et les photoproduits ont été identifiés sur cire et sur poivrons verts par HPLC-MS.

III. Principaux résultats

III.1. Effet du solvant et de l'oxygène sur la dégradation de BIF à l'obscurité

A l'obscurité, une dégradation négligeable du BIF a été mesurée dans l'ACN après 1 H quelle que soit la concentration en oxygène. Dans l'eau, les pourcentages de dégradation après 1 heure ont varié entre 1 et 43% en fonction du pH et de la quantité d'oxygène. Dans une solution à pH 4 oxygénée, la dégradation de BIF a été de 15% contre 1% pour la même solution sous air. A pH 5,7 le pourcentage de dégradation a atteint 43% dans la solution oxygénée contre 2% sous air. L'oxygène et le pH avaient donc un grand effet sur la dégradation de BIF dans l'eau mais aucun effet sur sa dégradation dans l'ACN.

Pour déterminer si la dégradation était favorisée dans les solvants ayant une capacité à donner un atome H, nous avons également étudié la réaction dans le méthanol. Dans le méthanol saturé en air, la dégradation du BIF après 1 H était négligeable mais dans le méthanol saturé en oxygène, la conversion de BIF a été intermédiaire entre celle mesurée dans l'eau et celle mesurée dans l'ACN ($\Delta_{ACN} < \Delta_{MeOH} < \Delta_{Eau}$). Ces données ont confirmé le rôle de l'oxygène, des solvants protiques et du pH sur la réaction.

III.2. Photodégradation de BIF

III.2.1. En solution

Dans l'ACN aéré, 35% de BIF ont été transformés au bout d'une heure d'irradiation contre 54% en solution oxygénée. Comme l'auto-oxydation dans l'obscurité de l'ACN était négligeable, on peut en conclure que la phototransformation était la principale voie de transformation dans ce solvant. Dans l'eau, la situation était différente. A pH 4, le pourcentage de dégradation du BIF (autoxydation + photolyse) était égal à 4% après 1 H en milieu aéré contre 19% en solution saturée en oxygène. A pH 5,7, le pourcentage de dégradation du BIF était égal à 6% après 1 H dans un milieu aéré et à 46% dans une solution saturée en oxygène. Par conséquent, dans l'eau aux deux pH, l'autoxydation était le processus principal de dégradation.

En ce qui concerne les rendements quantiques dans l'ACN, dans une solution de BIF désoxygénée les valeurs de ϕ_{BIF} étaient comprises entre 0,022 et 0,031. Dans les solutions irradiées sous air, ϕ_{BIF} était compris entre 0,13 et 0,16 et en milieu saturé en oxygène entre 0,18 et 0,24. Ces données confirment que la réaction photochimique était nettement favorisée par l'oxygène.

Par spectroscopie d'absorption transitoire, nous avons détecté l'état excité triplet de BIF.

III.2.2. Sur solide

La dégradation de BIF sur les films de cire à l'obscurité et sous irradiation a été beaucoup plus lente qu'en solution : après 300 H, 70 % de photodégradation et 13% d'autoxydation.

Sur le poivron vert, la photodégradation et l'autoxydation de BIF ont été toutes les deux plus rapides que sur les films de cire avec 14% d'autoxydation et 10% de photodégradation après 3 H. L'étalement plus important des gouttes de BIF à la surface des poivrons verts a rendu l'absorption des photons du dépôt solide plus efficace et a favorisé la photolyse. Le taux important d'autoxydation était quant à lui très vraisemblablement dû à la présence d'eau dans la peau des poivrons verts.

III.3. Identification des photoproduits

La nature des photoproduits dépend largement du solvant et du type de support. Néanmoins, le BIF-diazène a été le photoproduit nettement majoritaire dans tous les cas. En solution, le rendement chimique de formation du BIF-diazène a augmenté avec la concentration d'oxygène : 50% de la quantité totale des photoproduits dans l'eau à pH 5,7 et dans l'ACN contre 61-76% dans les mêmes solutions sous oxygène.

III.3.1. Dans l'eau

A l'obscurité, 3 produits d'autoxydation du BIF dans l'eau en plus du BIF-diazène ont été détectés. Néanmoins, la photolyse du BIF dans l'eau a généré 2 photoproduits différents de ceux formés à l'obscurité.

III.3.2. Dans l'ACN

Dans l'ACN un photoproduit commun à l'eau a été trouvé : le BIF-diazène hydroxylé, en plus de 7 photoproduits supplémentaires.

III.3.3. Sur solide

Sur cire, on voit la formation de 2 adduits isomères ($m/z = 400$). Ces 2 photoproduits ont été également observés après irradiation de BIF sur le poivron vert. En plus du BIF-diazène, 4 autres photoproduits ont été formés sur le poivron vert, parmi lesquels 3 ont été formés dans l'eau par autoxydation ou photolyse et un dans l'ACN.

IV. Conclusion

Cette étude comparative sur le devenir du BIF dans différents solvants et sur différents supports solides a démontré que la réactivité de cette molécule varie considérablement avec le milieu réactionnel d'un point de vue cinétique et analytique. BIF subit une autoxydation dans l'eau et dans des solvants protiques, mais pas dans l'acétonitrile ou sur une surface apolaire. La photolyse de BIF a eu lieu dans toutes les matrices, mais à des vitesses très différentes. Même si le BIF-diazène est le principal produit, quel que soit le milieu, des produits mineurs sont spécifiques à chaque situation.

Les expériences les plus intéressantes ont été réalisées sur la peau de poivrons verts. Les photoproduits formés sur ce support ont été trouvés dans l'eau, dans l'acétonitrile et sur la

cire. Il semble que l'eau contenue dans les poivrons verts a induit l'autoxydation à l'obscurité. Il est donc important de trouver des supports modèles plus appropriés que la cire de paraffine qui pourraient mieux imiter la surface des feuilles et des légumes et leur contenu en eau.

L'identification des photoproduits de BIF a beaucoup facilité leurs recherches dans les extraits des échantillons récupérés des serres agricoles à Menyeh.

Unravelling the reactivity of bifenazate in water and on vegetables: Kinetics and byproducts



Samar Hamdache^{a,b}, Mohamad Sleiman^a, Pascal de Sainte-Claire^a, Farouk Jaber^b, Claire Richard^{a,*}

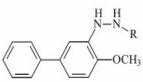
^a Université Clermont Auvergne, CNRS, SIGMA Clermont, Institut de Chimie de Clermont-Ferrand, F-63000 Clermont-Ferrand, France

^b Laboratory of Analysis of Organic Compounds, Faculty of Sciences I, Lebanese University, Hadath, Beirut, Lebanon

HIGHLIGHTS

- Bifenazate undergoes degradation in the dark and under simulated solar light.
- Rates and byproducts are affected by the medium and oxygen.
- Autoxidation takes place in oxygenated water and methanol.
- The reactivity on green pepper is affected by the water contained in the vegetable.
- Using wax or solvent is not adequate to mimic reactions on vegetables.

GRAPHICAL ABSTRACT

| | | | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  Bifenazate |  Wax |  Green Pepper |  Water |
|  | - | Bif-diazene P1 | Bif-diazene P1 |
|  | Bif-diazene + Adducts | Bif-diazene P2+ Adducts | Bif-diazene P2 |

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 February 2018

Received in revised form 16 April 2018

Accepted 16 April 2018

Available online 25 April 2018

Editor: F Frederic Coulon

Keywords:

Insecticide

Autoxidation

Photolysis

Green pepper

Medium

ABSTRACT

In this study, we aimed to better understand the transformation mechanisms of bifenazate, a biphenyl hydrazine derivative insecticide poorly studied up to now. For this, we compared its reactivity in the dark and under simulated solar light irradiation in different media (water, non-aqueous polar solvent, surface of apolar wax films, skin of vegetable). In air-saturated pH = 5.7 water, bifenazate underwent both autoxidation in the dark ($t_{1/2} = 34$ h) and photolysis ($t_{1/2} = 17$ h). In an aprotic polar solvent such as acetonitrile, bifenazate was stable in the dark but was quickly photodegraded in the presence of oxygen ($t_{1/2} = 2$ h). The phototransformation of bifenazate was due to the oxidation of excited states by oxygen and to the cleavage of the N–N bond, while the autoxidation in water started by the initial oxidation of the molecule by oxygen and involved the superoxide anion as chain carrier. On paraffinic wax film, photodegradation ($t_{1/2} = 365$ h) and dark autoxidation ($t_{1/2} = 1600$ h) were very slow. On green pepper skin, bifenazate disappeared both in the dark ($t_{1/2} = 34$ h) and through photolysis ($t_{1/2} = 23$ h) at rates close to those measured in water. This shows that on green pepper skin, bifenazate is affected by water contained in the vegetable and possibly released by transpiration. Bifenazate diazene was the major degradation product in all studied conditions. Minor byproducts were detected too. They depended on the experimental conditions showing that degradation pathways are governed by the nature and properties of the medium. In particular, on green pepper one found byproducts generated in acetonitrile and on wax by photolysis and in water by autoxidation. This finding highlights the need for a better model than wax to mimic photolysis on plant surfaces.

© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

Hamdache, S.; Sleiman, M.; de Sainte-Claire, P.; Jaber, F.; Richard, C. Unravelling the Reactivity of Bifenazate in Water and on Vegetables: Kinetics and Byproducts. *Sci. Total Environ.* 2018, 636, 107–114.

1. Introduction

Pesticides are widely used to protect crops from harmful organisms such as weeds, plants pathogens or pests. However the use of pesticides can also be associated with risks to the environment and human health mainly by the exposure of farmers or contamination of food, and water (Damalas et al., 2011; Rodriguez-Cabo et al, 2018; Villaverde et al, 2018). After application on target areas, pesticides are dissipated or degraded by different natural processes. In some cases, photolysis can be a major destructive degradation pathway of pesticides (Katagi, 2004), leading to the formation of various photoproducts. Being destructive, photolysis can decrease pesticides amounts applied on crops and thus affect the treatments effectiveness (Leach et al., 2017). Therefore, increasing the amount of pesticides applied or shortening intervals between sprays become necessary, resulting in higher exposure and potential health risks.

The photolysis of pesticides is the subject of an intense research (Reddy and Kim, 2015; Burrows et al., 2002; Remucal, 2014). Through these studies it has been demonstrated that in many cases, photoproducts can have higher toxicity than the parent pesticide. This is the case of sulcotrione (a triketonic herbicide) and some other organophosphorus pesticides (Goujon et al., 2014). Most of the photodegradation studies were performed in liquid matrices, especially water (Burrows et al., 2002). Fewer studies focused on the photodegradation of pesticides on plants (Lavieille et al., 2010; Sleiman et al, 2017) or on supports mimicking the surface of leaves (Monadjemi et al., 2011). However, it has been demonstrated that the nature of the photoproducts formed or the kinetics of the reaction are affected by the medium in which the pesticide is photodegraded (Sanz-Asensio et al., 1999; Schwack et al., 1995; Cooke et al., 2017). Thus, to get a better insight into the fate of pesticides in the different environmental compartments, it is necessary to investigate their photodegradation both in solution and in solid matrices.

This study focused on unveiling the mechanism of photodegradation of the commonly used insecticide bifenthrin (isopropyl 2-(4-methoxybiphenyl-3-yl) hydrazino-formate) (BIF, Figure 1). This pesticide is used for the control of phytophagous mites on various types of crops such as apples, peaches, pears, plums, grapes, cotton, hops and strawberries (Maienfisch et al., 2012), on many fruiting vegetables (tomatoes, peppers, aubergines, cucumbers, courgettes, melons, watermelons) and on flowering and ornamental plants (EFSA, 2017). Its fate in the environment was poorly investigated to our knowledge. Some studies concerned the uptake and the dissipation of BIF in tomatoes and kidney beans and tea (Satheshkumar et

al., 2014; Abd El-Zaher et al., 2011). Report of FAO (The Food and Agriculture Organization of the United Nations) described the degradation of BIF in water in the dark and upon exposure to simulated solar light (FAO, 2006; FAO, 2008). BIF was reported to be unstable in aqueous solutions, especially in basic medium. The time necessary to achieve 50% of degradation (DT₅₀) was comprised between 1.6 h at pH 9 and 9.1 d at pH 4. Under light exposure, BIF readily disappeared, the DT₅₀ being comprised between 0.72 and 0.8 d at pH5 (FAO, 2006A). BIF-diazene (Figure 1) was the main primary byproduct formed in the dark and under irradiation (EFSA, 2017; FAO, 2006; FAO, 2008). Like BIF, BIF-diazene was very unstable in aqueous basic medium with a DT₅₀ of 0.28 h at pH 9 but more stable at pH 4 with a DT₅₀ of 58 h (FAO, 2006; FAO, 2008). BIF-diazene also underwent fast photolysis with a DT₅₀ of 1.5 d under solar light (FAO, 2006; FAO, 2008). Along with BIF-diazene, hydroxylated BIF-diazene, 3,4-dihydroxybiphenyl, 3-hydroxy-4-methoxybiphenyl and 3-amino-4-methoxybiphenyl were found as minor photoproducts. Degradation in the dark yielded the same products except the hydroxylated BIF-diazene.

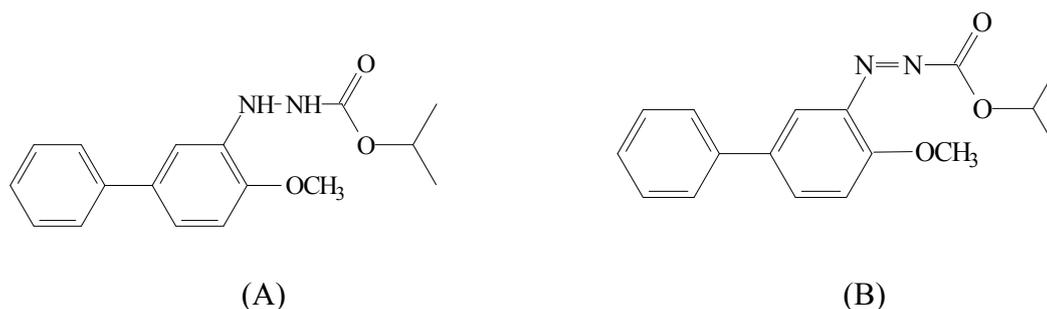


Figure 1: Chemical structure of A) BIF and B) BIF-diazene

Our objective in this work was to better understand the degradation reactions of this pesticide under relevant environmental conditions. We investigated the fate of BIF in different media: in water and acetonitrile, chosen as a polar non-aqueous solvent, on solid supports such as paraffinic wax films that mimic the plant leaves surface and on the skin of a vegetable, the green pepper. In these different conditions, we studied the reactivity of bifenthrin in the dark and under simulated solar light exposure from kinetic and analytical points of views. Studies on transient species were also performed to understand the reaction mechanisms.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals

BIF (Pestanal) was purchased from Sigma Aldrich. Paraffin wax was supplied from Acros Organics. Water was purified using a reverse osmosis RIOS 5 and Synergy (Millipore) device (resistivity 18 M Ω .cm, DOC < 0.1 mg.L⁻¹). The other solvents or reactants were of the highest grade available. Organic green peppers were purchased from a supermarket in Clermont-Ferrand, France.

2.2. Analyses

UV-vis spectra were recorded using a Varian Cary 3 spectrophotometer in a 1-cm quartz cell. Fluorescence spectra were recorded on Perkin-Elmer LS55 apparatus. Analysis of the irradiated solutions were performed using liquid chromatography (Shimadzu NEXERA XR HPLC) coupled to a photodiode array detector. The analytical column used was a Macherey Nagel EC100/2 NUCLEODUR Polartec column (100 mm \times 2.1mm, 1.8 μ m particle size). A mixture of water (solvent A) and acetonitrile (ACN, solvent B) was used as a mobile phase at a flow rate of 0.25 ml.min⁻¹. The elution was performed using the following gradient: 15% B for 1 min, linear increase of B to 55% in 5 min, 55% of B for 5 min and increase of B to 100% in 10 min. The identification of degradation products was performed using High resolution mass spectrometry (HRMS) constituted of an Orbitrap Q-Exactive (ThermoScientific) coupled to an ultra-high performance liquid chromatography (UHPLC) instrument Ultimate 3000 RSLC (ThermoScientific). Analyses were carried out in both negative and positive electrospray modes (ESI⁺ and ESI⁻). BIF and the degradation products were separated using the same elution gradient as previously indicated. The column was a Kinetec EVO C18 Phenomenex (100 mm \times 2.1 mm, particle size of 1.7 μ m) and the flow rate was set at 0.45 mL.min⁻¹.

2.3. Preparation of samples

2.3.1. Solutions of BIF

The stock solutions of BIF were prepared in ACN because of its limited solubility (1.3 mg.L⁻¹) and its unstability in water. The stock solutions were kept in the dark at 4°C and renewed every 3 days. Aqueous solutions of BIF were prepared by diluting the stock solutions with water in order to get a final concentration of 3.3 \times 10⁻⁶ M with a final solvent composition water-ACN (99.5-0.5%, v/v). Solutions at pH 4 were obtained by adding HClO₄ and solutions at pH 5.7 by adding few drops of sodium phosphate monobasic solution at 0.04 M.

2.3.2. Preparation of dry deposits of BIF on paraffinic wax films

Thin films of paraffin wax (1 mm of thickness) were prepared by melting 1 g of paraffin wax in small plastic dishes (9 cm²) in an oven at 95°C for 60 min. The melted paraffin wax was left to cool down under room temperature before use. An Eppendorf micropipette stream was used to deposit the 100 µl of BIF solution in ACN (7.5×10⁻⁴ M) as 50 drops of 2 µl. Then, ACN was let to totally evaporate for 2 h under a ventilator. An additional experiment was performed by depositing 100 µl of the same BIF solution as 20 drops of 5 µl. In this latter case, the photodegradation was 1.5 times faster than for the drops of 2 µl.

2.3.3. Dry deposits of BIF on green peppers

Organic green peppers were cut into small pieces (2 cm²) on which 20 drops of 5µl of the BIF solution in ACN (7.5×10⁻⁴ M) were deposited. Then, ACN was let to evaporate for about 2 h under a ventilator.

2.4. Irradiation experiments

2.4.1. BIF in ACN

For analytical purpose, solutions of BIF (8×10⁻⁵ M) were irradiated in a solar simulator CPS Atlas equipped with a xenon arc lamp and a filter cutting off wavelengths shorter than 290 nm. A refrigeration system maintained the bottom of the device at 10°C. Solutions were irradiated in cylindrical quartz cells (path-length 1cm) closed with a stopper for 15 and 60 min to reach respectively conversion extents of 40 ± 2 % and 95 ± 3 % and then analyzed by HPLC-DAD and HPLC-HRMS. To monitor its disappearance kinetic, BIF (5.6×10⁻⁵ M) was irradiated using a polychromatic device equipped with six fluorescent tubes TLAD 15W05 Philips (300-450 nm, maximum emission at 365 nm). A 20 ml capacity Pyrex-glass cylindrical reactor (1.4 cm, i.d.) was used and closed with a stopper. Aliquots of 2 ml were withdrawn after 15, 30, 60, 90, 120, 180 and 300 min and analyzed by HPLC/DAD to monitor the loss of BIF. Control experiments in the dark were carried out in the same conditions. Air-saturated, oxygen-saturated and deoxygenated solutions of BIF (8×10⁻⁵ M) were irradiated at 313 nm in parallel beam using a high pressure mercury lamp equipped with an Oriel monochromator. Deoxygenation of the solutions was achieved by bubbling argon in the solution for 15 min prior the irradiation and oxygen saturation by bubbling oxygen. In all cases, the irradiation cells were closed with a stopper. A radiometer QE65000 from Ocean optics was used to measure the photon flux I_0 : $(2.8 \pm 0.1) \times 10^{14}$ photons.cm⁻².s⁻¹ at 313 nm. The absorbance of the BIF solution at 313 nm was of 0.28. Argon-saturated solutions were

irradiated for 20 and 60 min, air-saturated solutions for 10 and 20 min and deoxygenated solutions for 10 and 15 min. The conversion extents of BIF were obtained by HPLC-DAD. Solutions of BIF left in the dark did not show any degradation at room temperature as in the solar simulator wrapped by an aluminum foil for light protection.

2.4.2. BIF in aqueous solutions

The irradiation of air-saturated and oxygen-saturated aqueous solutions of BIF (3.3×10^{-6} M, pH=5.7 and pH=4) was carried out using the polychromatic device described previously (maximum emission at 365 nm) and the 20 ml capacity Pyrex-glass cylindrical reactor. Solutions were irradiated for one hour and analyzed by HPLC/DAD. Because of the instability of BIF in water, it was necessary to measure the amount of BIF-diazene in the starting solutions and to monitor its degradation in the dark. BIF-diazene was quantified by HPLC-DAD using the measured extinction coefficient (see §2.6).

2.4.3. BIF deposited on paraffinic wax films

Dry deposits of BIF on paraffinic wax films were irradiated in the sunlight simulator. Tests of recuperation performed on non-irradiated deposits showed that 2 ml of ACN allowed an excellent compound recovering (> 96%). BIF residues and the photoproducts were therefore dissolved in 2 ml of ACN after irradiation and directly analyzed by HPLC-DAD. Every experiment on paraffinic wax films was performed in duplicate. Two small plastic dishes containing paraffinic waxes on which BIF was deposited according to the same experimental procedure as previously described were left in the dark. After 12 d, the solid deposits were recovered using 2 ml ACN and analyzed by HPLC.

2.4.4. BIF deposits on green peppers

Irradiation of BIF solid deposits on green peppers pieces was also performed in the solar simulator. The irradiation time was limited to 3 h to avoid the drying and the distortion of the peppers skin. Extraction of the BIF residues after irradiation was made by dipping the green pepper pieces into a centrifuge tube (15 ml of capacity) containing 2 ml of ACN. The ACN volumes were directly analyzed by HPLC-DAD. Efficiency of this recuperation method was tested with non-irradiated green pepper pieces and showed a very good recovery (> 97%) of BIF. The same experiment was conducted in the dark to determine whether other pathways of BIF dissipation on green pepper skin could take place.

2.5. Laser-Flash photolysis

The transient absorption spectra were recorded using a frequency-quadrupled Nd:YAG laser (Quanta-Ray DCR-1, pulse duration 10 ns and Quanta-Ray GCR-130-1) (Bonnichon and Richard,1998). BIF solutions in ACN (8×10^{-5} M) were excited at 266 nm where the absorbance of the BIF solution was of 0.84. Kalium peroxodisulfate was used as a chemical actinometer to evaluate the $\epsilon \times \Phi$ products of the transients formed from BIF. The formation of sulfate radicals was detected at 450 nm ($\epsilon \times \Phi = 1900 \pm 150 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Deoxygenated solutions of BIF with the same absorbance at 266 nm than that of $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ were used. Deoxygenation was obtained by bubbling argon directly in the cell. The involvement of the triplet excited state was investigated using anthracene as an energy acceptor. A mixture of anthracene (1.2×10^{-4} M) and BIF (8.3×10^{-6} M) was used for the experiments, both compounds having the same absorbance of 0.1 at 266nm.

2.6. Measurement of the extinction coefficient of BIF-diazene

To quantify the formation of BIF-diazene as well as the amount of this product in the initial aqueous solutions of BIF, we measured its extinction coefficient. According to FAO report (2008) BIF-diazene can be converted into BIF by reduction using ascorbic acid. 9 ml of a solution of BIF prepared at 5.6×10^{-5} M in ACN and containing BIF-diazene were mixed to 1 ml of a solution of ascorbic acid at 0.5 M in water. After 10 min, the mixture was injected in HPLC and analyzed in the same conditions as the starting solution of BIF containing BIF-diazene and diluted to 9/10 using ACN. Comparing chromatograms revealed that BIF-diazene was reduced by 95 % in the presence of ascorbic acid. Then, assuming a total conversion of BIF-diazene into BIF and taking for the extinction coefficient of BIF at 265 nm the value of $11300 \pm 500 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, we obtained $17600 \pm 1200 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ for the extinction coefficient of BIF-diazene at 265 nm (Figure 2).

2.7. Quantum yields of photolysis and half-lives measurements

The quantum yields of photolysis (Φ) were determined using the following relationship:

$$\Phi = \Delta c / I_a \Delta t$$

where $\Delta c / \Delta t$ is the rate of bifenzate consumption in M s^{-1} and I_a is the rate of photon absorption expressed in Einstein $\text{L}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Quantum yields were measured in ACN solvent in which BIF autoxidation was negligible. Half-lives ($t_{1/2}$) were obtained assuming a first order kinetic decay and using the relationship:

$$t_{1/2} = \ln 2 / k$$

where k is the apparent first order of reaction. In conditions where both autoxidation and photolysis took place, $t_{1/2}$ of autoxidation was obtained using the consumption rate in the dark and $t_{1/2}$ of photolysis using the consumption rate under irradiation corrected for the consumption rate measured in the dark.

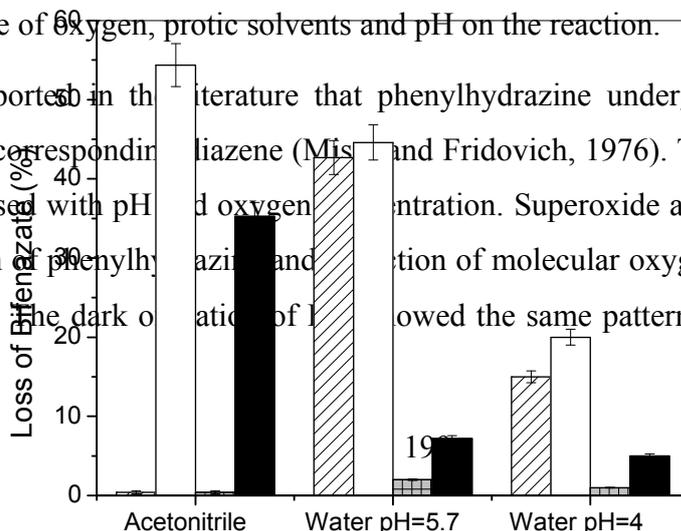
3. Results and discussion

3.1. Degradation of BIF in the dark- Effect of solvent and oxygen

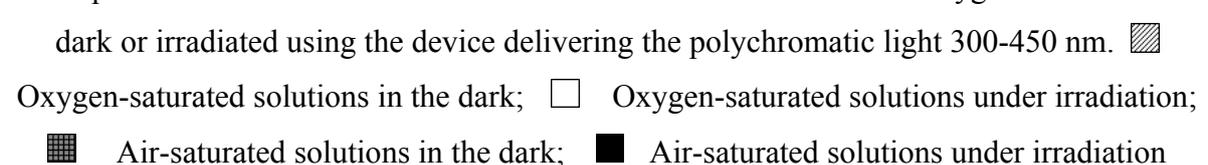
BIF was reported to be unstable in water at $\text{pH} > 5$ and to be converted into BIF-diazene (FAO, 2006; FAO, 2008). To investigate this reaction, we performed several experiments. The stability of BIF was studied in water and non-aqueous solvents to determine whether or not water plays a crucial role in the reaction. Moreover, different concentrations of oxygen were tested because the transformation of BIF into BIF-diazene involves the elimination of 2 H atoms and might need oxygen. Four solutions of BIF at 3.3×10^{-6} M were prepared in water at $\text{pH} 4$, in water at $\text{pH} 5.7$, in ACN and in methanol. They were saturated with air or with pure oxygen and left in the dark at room temperature into the reactor closed by a rubber stopper. The oxygen concentrations were of 2.6×10^{-4} M and 1.3×10^{-3} M in water respectively and of 2.0×10^{-3} M and 1.0×10^{-2} M in ACN respectively. The percentages of transformation are shown in Figure 2. Negligible BIF degradation was measured in ACN whatever the oxygen concentration. In water, the percentages of degradation after 1 h increased with the pH and the oxygen concentration, reaching 15% at $\text{pH} 4$ in oxygenated conditions against 1% in aerated solution, and 43% at $\text{pH} 5.7$ in oxygenated conditions against 2% in aerated solution. In air-saturated medium and at $\text{pH} 5.7$, $t_{1/2}$ was equal to 34 h in line with (FAO 2006).

To determine whether degradation was favored in solvents with H donor capacity, we also investigated the reaction in methanol. In air-saturated methanol, the BIF degradation was negligible but in oxygen-saturated methanol, the loss of BIF was of 10% after 1 h. These data confirmed the role of oxygen, protic solvents and pH on the reaction.

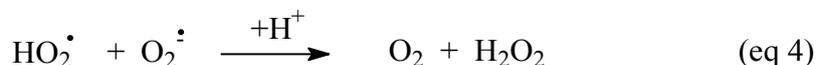
It was reported in the literature that phenylhydrazine undergoes autoxidation with formation of the corresponding diazene (Mishra and Fridovich, 1976). The rate of this reaction drastically increases with pH and oxygen concentration. Superoxide anion that was produced through oxidation of phenylhydrazine and reduction of molecular oxygen was found to be the chain propagator. The dark oxidation of BIF followed the same pattern as the autoxidation of



phenylhydrazine except that we did not find hydrogen peroxide among photoproducts contrary to Misra and Fridovich (1976).

Figure 2: Loss of BIF (in %) after 1 h of irradiation in acetonitrile and in water at pH =4 and at pH= 5.7. For solutions in acetonitrile in the dark and in air-saturated water in the dark, the losses were measured after 24 h to increase the sensitivity. The initial concentration of BIF was equal to 3.3×10^{-6} M. The solutions were saturated with air or with oxygen and left in the dark or irradiated using the device delivering the polychromatic light 300-450 nm. 

One can propose that the initial step of the reaction is an electron transfer from BIF to oxygen generating the superoxide anion (eq 1). This latter could oxidize BIF to form the hydrazyl radical (eq 2) and be regenerated in the oxidation of the hydrazyl radical by oxygen (eq 3). The autoxidation should be terminated by the recombination of the superoxide anion with its protonated form HO_2^- (eq 4) because in our pH conditions the rate of dismutation between HO_2^- and $\text{O}_2^{\cdot-}$ ($k = 9.7 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) is much faster than the negligible recombination between two $\text{O}_2^{\cdot-}$ (Bielski et al., 1985).



This mechanism rationalizes the effects of oxygen and pH. Oxygen is necessary for the oxidation and the rate of reaction 1 is proportional to the oxygen concentration. Moreover as the pH is increased, the ratio $(\text{HO}_2)/(\text{O}_2\dot{-})$ that is equal to $10^{\text{pKa}-\text{pH}}$ with $\text{pKa} = 4.75$ decreases. Therefore the rate of reaction 4 decreases. For instance, at $\text{pH} = 5.7$, the rate of reaction 4 is equal to $2 \times 9.7 \times 10^7 \times (\text{O}_2\dot{-})(\text{HO}_2) = 2 \times 9.7 \times 10^7 \times (\text{O}_2\dot{-})^2/10$, while at $\text{pH} 7$ the rate of reaction 4 is equal $2 \times 9.7 \times 10^7 \times (\text{O}_2\dot{-})^2/180$. When the rate of reaction 4 decreases, the stationary concentration of $\text{O}_2\dot{-}$ increases and reaction 2 is favored consequently.

3.2. Irradiation of BIF in water and ACN

As shown in Figure 3A, BIF shows an intense absorption band with maximum at 300 nm and extending until 340 nm. Therefore BIF absorbs solar light within the wavelength range 295-340 nm and can potentially undergo photolysis. The same spectra were obtained in water and acetonitrile. Regarding fluorescence, BIF gave an emission band showing a maximum at 420 nm (Figure SI-1). The emission was much more intense in ACN than in water. Interestingly, the emission intensity was drastically affected by the oxygen concentration in the solution. The highest intensity was measured in argon-saturated solution and the lowest in oxygen-saturated solution. Saturating the medium with air gave an intermediary signal. This oxygen effect demonstrates that the singlet excited state reacts with oxygen and showed a lifetime within the range 0.1 to 1 ns. Accordingly, singlet excited states of naphthalene and its derivatives were reported to have long lifetimes comprised between 10^{-2} and 100 ns (Murov et al, 1993).

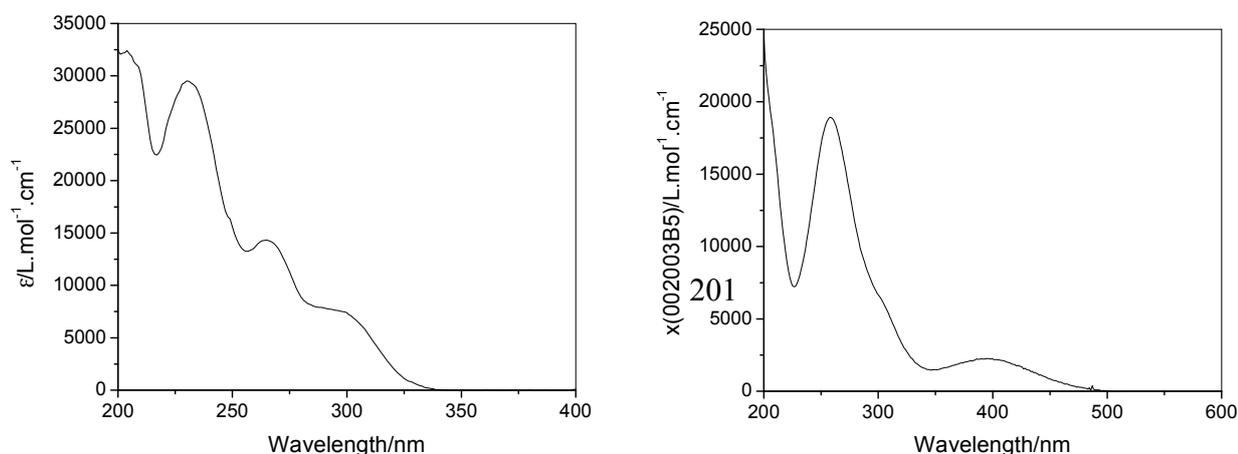


Figure 3: Absorption spectrum of A/ BIF in acetonitrile and in water pH 2/acetonitrile mixture (50:50, v:v) and B/ of BIF-diazene in water

a) Steady-state irradiation

The solutions of BIF prepared in ACN and in water at pH 4 and 5.7 were irradiated for 1 h in the device delivering polychromatic light 300-450 nm. As shown in Figure 2, the percentage of degradation after 1 h depended both on the solvent and on the oxygen concentration. In ACN, 35% of BIF were transformed in aerated solution ($t_{1/2} = 2$ h) against 54% in oxygenated solution. As autoxidation in the dark in ACN was negligible, one can conclude that phototransformation was a significant transformation pathway in this solvent. In water, the situation was different (Figure 2). At pH 4, the percentage of BIF degradation (autoxidation + photolysis) was equal to 4% after 1 h in aerated medium against 19% in oxygen-saturated solution. At pH 5.7, the percentage of BIF degradation was equal to 6% after 1 h in aerated medium and to 46% in oxygen-saturated solution. Therefore, in water at the two pHs, the irradiation increased the loss of BIF only moderately. If one takes into account the part of autoxidation, it comes that $t_{1/2}$ for the sole photolysis was equal to 17 h at pH 5.7. To investigate the effect of oxygen on the photochemical transformation of BIF in ACN more deeply, we also measured the quantum yield of photolysis under different atmospheres. Results are reported in Table 1.

Table 1. Quantum yields of BIF phototransformation, Φ_{BIF} , and of BIF-diazene formation, $\Phi_{\text{BIF-diazene}}$, in acetonitrile for different oxygen concentrations. Initial BIF concentration = 7.1×10^{-5} M.

| Atmosphere | Δt /min | ΔBIF / 10^{-5} M | $\Delta \text{BIF-diazene}$ / 10^{-6} M | $\Delta \text{BIF-diazene} / \Delta \text{Bif}$ | Φ_{BIF} | $\Phi_{\text{BIF-diazene}}$ |
|------------|--------------------|--------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------------------|---------------------|-----------------------------|
| Argon | 20 | 0.36 ± 0.02 | 1.20 ± 0.06 | 0.32 ± 0.03 | 0.022 ± 0.002 | 0.0073 ± 0.0007 |
| | 60 | $1.50 \pm$ | $3.50 \pm$ | 0.23 ± 0.02 | 0.031 ± 0.003 | 0.0073 ± 0.0007 |

| | | | | | | |
|------------------|----|-------------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| | | 0.08 | 0.18 | | | |
| Air-saturated | 10 | 1.30 ± 0.07 | 6.40 ± 0.22 | 0.47 ± 0.05 | 0.160 ± 0.002 | 0.081 ± 0.008 |
| | 15 | 1.60 ± 0.08 | 8.00 ± 0.40 | 0.49 ± 0.05 | 0.130 ± 0.001 | 0.065 ± 0.006 |
| Oxygen-saturated | 10 | 2.00 ± 0.10 | 15.00 ± 0.80 | 0.76 ± 0.08 | 0.240 ± 0.002 | 0.19 ± 0.02 |
| | 20 | 2.90 ± 0.01 | 20.00 ± 1.00 | 0.61 ± 0.06 | 0.180 ± 0.002 | 0.12 ± 0.01 |

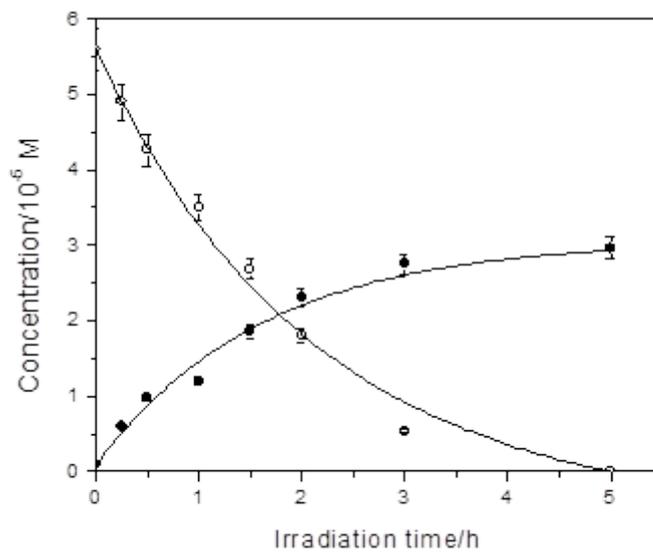
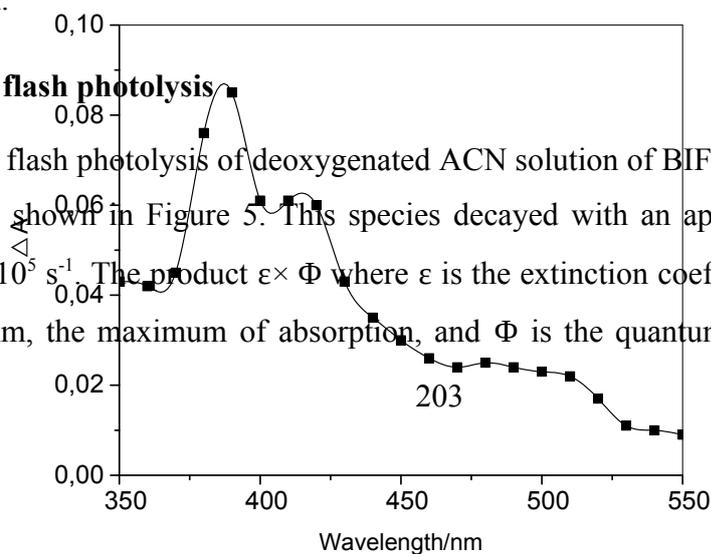


Figure 4: Consumption profile of BIF ($5.6 \times 10^{-5} \text{ M}$) (O) irradiated in acetonitrile within the wavelength range 300-450nm (A) and formation of BIF-diazene (●)

In argon-saturated solution, Φ_{BIF} , the quantum yield of BIF phototransformation ranged between 0.022 and 0.031. In air-saturated medium, Φ_{BIF} reached 0.13-0.16 and in oxygen-saturated medium 0.18-0.24. These data confirm that the photochemical reaction was favored by oxygen. The consumption profile of BIF irradiated in aerated ACN using the polychromatic device is shown Figure 4. BIF had a half-life of 96 min and fully decayed after 5 h of irradiation.

b) Laser flash photolysis

The laser flash photolysis of deoxygenated ACN solution of BIF at 266 nm yielded the transient species shown in Figure 5. This species decayed with an apparent first order rate constant of $5.7 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$. The product $\epsilon \times \Phi$ where ϵ is the extinction coefficient of the transient species at 380 nm, the maximum of absorption, and Φ is the quantum yield of the species



formation was evaluated to $1880 \pm 200 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ by chemical actinometry. In air-saturated medium, the transient species decayed very fast with an apparent first order rate constant of $2 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$, in accordance with a significant reactivity with oxygen.

Figure 5: Transient spectrum obtained at the end of the pulse by excitation of the argon-saturated solution of BIF ($8 \times 10^{-5} \text{ M}$) at 266 nm

The species was also efficiently trapped by anthracene (10^{-4} M) with a bimolecular rate constant of $3.0 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$. This trapping that led to the appearance of the anthracene triplet excited state was an energy transfer. This allowed us to attribute the detected species to the triplet excited state of BIF, in full accordance with its high reactivity with oxygen. The quantum yield of formation of anthracene triplet excited state was equal to 0.03 ± 0.01 . In the presence of anthracene, the triplet of BIF could be either deactivated or could react with anthracene. The proportion of triplet BIF that anthracene was able to intercept is equal to the ratio $3.0 \times 10^9 [\text{Anthracene}] / (5.7 \times 10^5 + 3.0 \times 10^9 [\text{Anthracene}])$ and therefore to 34% at 10^{-4} M . The quantum yield of triplet BIF formation Φ is therefore estimated to 0.09. The parallel effect of oxygen on triplet BIF and on Φ_{BIF} strongly suggests that the triplet excited state of BIF was involved in the reaction. Two mechanisms can be proposed: either the triplet excited state of BIF was directly oxidized by oxygen to form the hydrazyl radical (eq 5) or the reaction between the triplet of BIF and oxygen generated singlet oxygen (eq 6) and this latter oxidized BIF subsequently (eq 7).



However, given the reactivity of the singlet excited state with oxygen, as measured by fluorescence, and the fact that Φ is lower than Φ_{BIF} , it seems that oxidation of singlet BIF by oxygen also leads to photodegradation.

3.3. Irradiation of BIF on paraffinic wax films and on green pepper

BIF was also irradiated on two solid supports : paraffinic wax films that are made of long chain aliphatic compounds and mimic the surface of leaves and green pepper. The photodegradation on wax films is shown in Figure 6. 300 h of irradiation were necessary to degrade BIF by 70%. Taking into account that this percentage must be corrected for the dark degradation that was of 13% after the same 300 h, $t_{1/2}$ was equal to 1600 h for the autoxidation and 365 h for the photolysis, value much lower than those found in water or acetonitrile. Three arguments can be presented. Firstly, the photodegradation rates in solution and on solid are hardly comparable because the rates of photon absorption can be very different. Secondly, the photodegradation on solid is drastically affected by the spreading that governs the efficiency of the light absorption. In this respect, both the size of the applied droplets and the nature of the solvent influence the shape of the deposit after the solvent evaporation and therefore the rate of the phototransformation (Del Puppa et al, 2018). In solid phase, the mobility of molecules and transient species is low favoring back reactions and favoring the starting compound regeneration. If one considers that the initial reaction step is an electron transfer on oxygen (eq 5), the reaction could be favored by a higher polarity of the medium and thus be faster in acetonitrile compared to paraffinic wax.

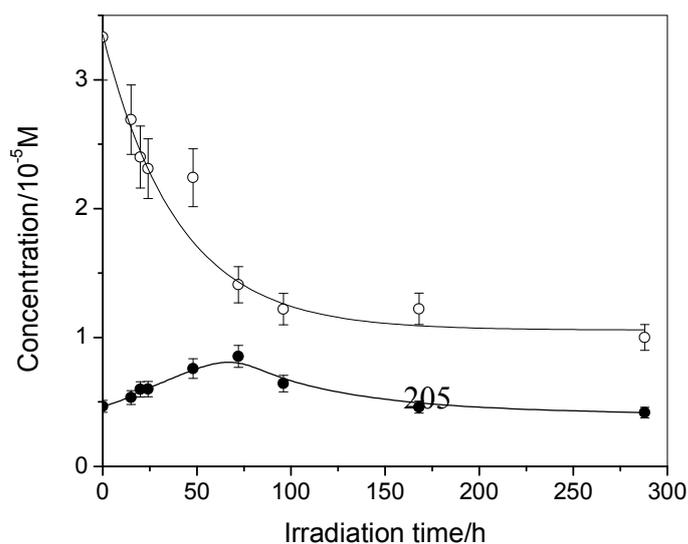


Figure 6: Consumption profile of BIF (○) irradiated on paraffinic wax films in the solar simulator and formation of BIF-diazene (●)

To test a more realistic experimental condition, BIF was deposited on green pepper and irradiated in the exact same conditions as on wax films. On green pepper, the degradation in the dark was of 14% after 3 h while the loss under light exposure in the solar simulator was of 25%. These rates are clearly much faster than those measured on paraffinic wax even though the mode of application (size of droplets and solvent) was the same. The fast degradation of BIF in the dark strongly suggests that water contained in the green pepper was able to allow autoxidation. This implies that BIF was in close contact with water molecules passing through the pepper skin by transpiration or located in the gas phase surrounding the deposit. The 25% of BIF degradation in the solar simulator was the sum of the autoxidation in the dark (15%, $t_{1/2} = 15$ h) and of the photodegradation (10%, $t_{1/2} = 23$ h). The green pepper skin is a more heterogeneous surface compared to paraffinic wax films. Moreover, it is likely that BIF was much more spread out on it than on wax films making the photons absorption more efficient and the rate of photolysis higher. On the other hand, the presence of surrounding water or of polar zone in the skin might have accelerated the photolysis too.

3.4. Photoproducts identification

Whatever the degradation conditions (autoxidation in the dark, irradiation in solution or on solids), BIF-diazene was the major byproduct. As shown in Figure 3B, it absorbs at longer wavelength than BIF with an intense absorption band showing a maximum at 395 nm. In acetonitrile and in water pH 5, BIF-diazene accounted for 50% of photoproducts in air-saturated medium (Figure 4, Table 1) against 61-76% in oxygen-saturated medium (Table 1) of transformed BIF. The formation of BIF-diazene was therefore highly dependent on the oxygen concentration. On wax, the chemical yield of BIF-diazene was smaller, only 15% (Figure 6).

Numerous minor products were detected. They are listed in Table SI-1 for water, Table SI-2 for acetonitrile and Table 2 for the green pepper.

In water, BIF-diazene and 5 were common to autoxidation and photolysis. Products 1 and 4 were produced by photolysis exclusively while 2 and 3 by autoxidation. All were eluted before BIF and thus more polar. Compared to BIF, 1 lost C₃H₇N, which corresponds to the isopropyl group of the lateral chain, and the nitrogen atom of the hydrazine. 2 lost C₄H₈N₂O₂, which corresponds to the full lateral chain. 4 lost 2 H atoms and gained an O atom, and is probably the hydroxylated derivative of BIF-diazene. Most of these products were mentioned in the FAO reports (FAO, 2006; FAO, 2008).

In acetonitrile, new minor photoproducts were generated, except 4 that was observed in both solvents. 4, 6 and 7 were eluted before BIF while 8-12 between BIF (retention time 7.8 min) and BIF-diazene (retention time 10.4 min). Product 6 corresponds to BIF-C₄H₈N₂O₂ and should be the amino derivative already described in FAO reports. 7 lost C₂H₅NO and is not fully identified. 8 to 12 all kept the two N atoms and thus might be BIF-diazene derivatives. 10 and 11 are isomers of 4, the hydroxylated BIF-diazene.

On paraffinic wax films, we detected two photoproducts with m/z = 400.1855, corresponding to [C₂₁H₂₆N₃O₅]⁺ in ES⁺ along with BIF-diazene. Compared to BIF, they have gained C₄H₆NO₂. These isomers labelled 13 and 14 might be a BIF-diazene molecule substituted by NH-CO(OC₃H₇) in two different positions (Table 2). Such a structure appears consistent with a retention time longer than that of BIF-diazene, in agreement with the presence of a non polar substituent (Figure 7). The formation of such adducts seems characteristic of a photolytic reaction occurring in the solid phase. Indeed, the low mobility of radical species and/or molecules in the solid state is expected to favor addition reactions.

When BIF was irradiated on green pepper skin several products were detected: BIF-diazene, the major one, but also 6, 4, 5, 13 and 14 (Figure 7). The formation of 4 and 5 suggests that BIF underwent autoxidation and was therefore in contact with the water molecules contained in the green pepper skin. This confirms the high rate of degradation measured in these conditions. On the other hand, 6, 4, 13 and 14 were generated by photolysis, the two formers being also detected when BIF was in acetonitrile and the two latter as a solid on wax. These results show that on green pepper BIF was located in polar environments in which molecules or radicals have a low mobility. Thus, paraffinic wax films do not appear as a good model support in that particular case

Table 2: Main byproducts of BIF formed upon irradiation on green pepper

| Product | Retention time/min | Experimental exact mass of MH ⁺ | Formula of the neutral ion | Δ ppm |
|---------|--------------------|--------------------------------------------|----------------------------|-------|
|---------|--------------------|--------------------------------------------|----------------------------|-------|

| | | | | |
|-------------|-------|-----------|---------------------------------------------------------------|------|
| <u>6</u> | 4.74 | 200.1066 | C ₁₃ H ₁₃ NO | 2.25 |
| <u>4</u> | 6.90 | 315.1334 | C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₄ | 2.39 |
| <u>5</u> | 7.40 | 415.2112 | C ₂₁ H ₂₆ N ₄ O ₅ | |
| BIF | 7.8 | 301.1539 | C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₃ | 3.35 |
| BIF-diazene | 10.3 | 299.1383 | C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₃ | 2.80 |
| <u>13</u> | 12.65 | 400.18552 | C ₂₁ H ₂₅ N ₃ O ₅ | 2.56 |
| <u>14</u> | 13.26 | 400.18552 | C ₂₁ H ₂₅ N ₃ O ₅ | 2.56 |

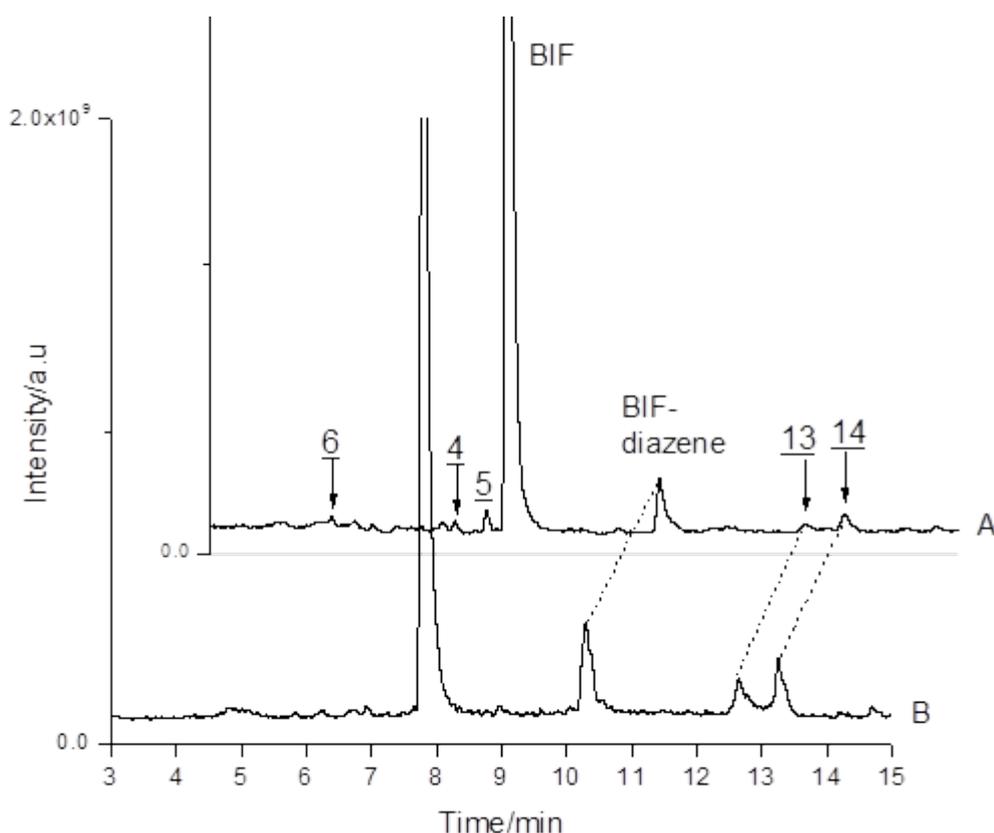


Figure 7: LC-MS analysis of BIF after irradiation as a dry deposit (A) on green pepper for 3 h and (B) on paraffinic wax film for 96 h.

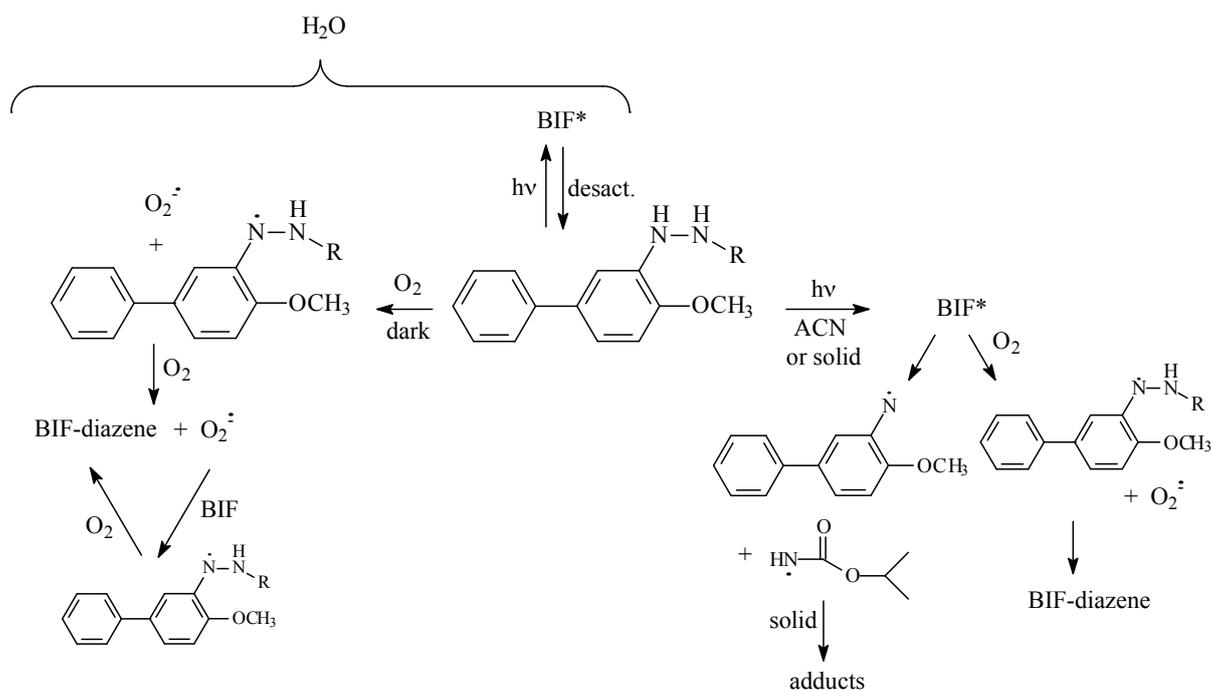
3.5 Mechanisms

The general mechanism of BIF transformation in the dark and upon irradiation is given in Scheme 1. The autoxidation of BIF in water or protic solvent such as methanol was reminiscent to that reported for phenylhydrazine (Misra and Fridovich, 1976). Oxygen would abstract a hydrogen atom or an electron from hydrazine. Then the formed hydrazyl radical will lose the second H atom to yield BIF-diazene. The non-observation of H₂O₂ is likely due to its reactivity in the reactional mixtures or to competitive reactions making the reaction

between O_2^- and HO_2^- negligible. Several products other than BIF-diazene were detected showing the autoxidation was a quite complex reaction.

The photolysis of BIF occurred in all the solvents studied (water, acetonitrile), on paraffinic wax films and on green pepper skin but with different efficiencies. The phototransformation was much slower in water than in ACN. This result can be related to the efficiencies of the fluorescence process in the two solvents. The absence of fluorescence in water can be taken as an indication that deactivation processes are much faster in water than in ACN.

The phototransformation of aromatic hydrazo compounds was studied long ago for synthetic purposes. In oxygen-free n-hexane hydrazoarenes yielded the azo derivative in 53-70% yields and amines in 15-40% yields (Banthorpe et al., 1971) and the phototransformations were strongly enhanced by oxygen (Shizuka et al., 1970). By comparing the chemical yields of azo derivatives and amines for a series of starting molecules, the authors concluded that the route of azo photoproducts formation implied the direct generation of hydrazyl radicals from excited hydrazoarenes. Such mechanism can be proposed for BIF too. The reactivities of singlet and triplet excited states with oxygen observed by fluorescence and laser flash photolysis and the strong enhancing effect of oxygen on the quantum yield of phototransformation are fully in line with this mechanism (Scheme 1). On the other hand, the formation of adducts 13 and 14 shows that the cleavage of the NH-NH bond also took place and constituted an alternative but minor pathway.



Scheme 1: Autoxidation and photolysis of BIF in various media

Conclusion

This comparative study on the fate of BIF in solution and on model or natural solids demonstrates once again that the reactivity of a molecule can vary dramatically with the reaction medium both on the kinetic and on the analytical point of view and thus should be investigated in a broad array of situations. As an example of this complexity, BIF undergoes dark autoxidation in water and in protic solvents but not in acetonitrile or on an apolar model surface. Photolysis occurs in all the media but at very different rates. Even though BIF-diazene is the major product whatever the medium, minor products are specific of each situation. Interestingly, the experiments on the green pepper skin produced results reminiscent of those observed in water, in acetonitrile and on the wax, and dark autoxidation was significant demonstrating the importance of water. It is therefore important to find more suitable model supports than paraffinic wax, which could better mimic the surface of leaves and vegetables and their water content.

Acknowledgments: Ms Samar Hamdache thanks the Union of Municipalities of Menzeh, North Lebanon, for their financial support and Mohamad Sleiman the European Regional Development Fund of the European Union and the Région Auvergne Rhône Alpes for financial support under the Program “Nouveau Chercheur”. We thank Martin Leremboire (CNRS engineer), for assistance with HPLC-HRMS and Guillaume Voyard (CNRS engineer), for assistance with HPLC analyses.

References

- Abd El-Zaher, T.R.; Nasr, I.N.; Mahmoud, H.A. Behavior of Some Pesticide residues in and on Tomato and Kidney Beans Fruits Grown in Open Field. *Am.-Eurasian J. Toxicol. Sci.* 2011, 3 (3), 213-218.
- Banthorpe, D. V.; Cooper, A.; Pearce, D. A.; Thomas, J. A. Mechanism of Benzidine and semidine rearrangements. Part XXIV. Photochemical decomposition of hydrazoarenes. *J. Chem. Soc.* 1971, 2057-2060.
- Bielski, H. J., Cabelli, D. E., Arudi, R. L., Ross, A. Reactivity of HO₂/O₂⁻ radicals in aqueous solution. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 1985, 14, 1041-1100.
- Bonnichon, F.; Richard, C. Phototransformation of 3-hydroxybenzotrile in water. *J. Photochem. Photobiol. A* 1998, 119, 25-32.
- Burrows, H. D.; Canle, L. M.; Santaballa, J.A.; Steenken, S. Reaction pathways and mechanisms of photodegradation of pesticides. *J Photochem Photobiol B.* 2002, 67(2), 71-108.
- Cooke, M.V.; Oviedo, M.B.; Peláez, W.J.; Argüello, G.A. UV characterization and photodegradation mechanism of the fungicide chlorothalonil in the presence and absence of oxygen. *Chemosphere* 2017, 187, 156-162.
- Damalas, C.A.; Eleftherohorinos, I.G. Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2011, 8, 1402-1419.
- Del Puppa, L. (2018, personal communication)
- European Food Safety Authority (EFSA), Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance BIF. *EFSA journal* 2017, 15, Issue 1.
- Handbook of photochemistry, 2nd edition, Murov, S. L.; Carmichael, I.; Hug, G. L. (eds), Marcel Dekker, New-york, 1993.
- Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues. Rome, Italy, 3–12 October 2006
http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation06/Bifenazate06.pdf
- Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues Rome, Italy, 9–18 September 2008
http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/JMPRReport08.pdf
- Goujon, E.; Sta, C.; Trivella, A., Goupil, P.; Richard, C.; Ledoigt, G. Genotoxicity of sulcotrione pesticide and photoproducts on *Allium cepa* root meristem. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2014, 113, 47-54.
- Katagi, T. Photodegradation of Pesticides on Plant and Soil Surfaces. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology: Continuation of Residue Reviews.* Ware, G.W.; Springer: New York, NY, 2004, 182., 1-78.

- Lavieille, D.; Halle, A.T.; Richard, C. The effect of mixing two herbicides mesotrione and nicosulfuron on their photochemical reactivity on cuticular wax film. *Chemosphere* 2010, 79 (4), 482-487.
- Leach, H.; Wise, J.C.; Isaacs, R. Reduced ultraviolet light transmission increases insecticide longevity in protected culture raspberry production. *Chemosphere* 2017, 189, 454-465.
- Maienfisch, P.; Dekeyser, M.A.; Saito, S.; Sakamoto, N.; Loiseleur, O.; Slaats, B. New Unknown Modes of Action. *Modern Crop Protection Compounds*, Kramer, W., Shirmer, U., Jeschke, P., Witschel, M.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, 2012, 12., 1327-1387.
- Misra, H. P.; Fridovich, I. The oxidation of phenylhydrazine: superoxide and mechanism. *Biochem.* 1976, 15 (3), 681-687.
- Monadjemi, S.; El Roz, M.; Richard, C.; Halle, A.T. Photoreduction of chlorothalonil fungicide on plant leaf models *Environ. Sci. Technol.* 2011, 45, 9582-9589
- Reddy, P.V.; Kim, K.H. A review of photochemical approaches for the treatment of a wide range of pesticides. *J. Hazard. Mater.* 2015, 28, 325-335.
- Remucal, C.K. The role of indirect photochemical degradation in the environmental fate of pesticides: a review. *Environ. Sci. Process. Impacts* 2014, 16(4), 628-53.
- Rodriguez-Cabo, I.; Rodriguez, I.; Ramil, M.; Cela, R., Evaluation of the aqueous phototransformation routes of phenyl ethyl azolic fungicides by liquid chromatography accurate mass spectrometry. *Sci. Total Environ.* 2018, 615, 942-954.
- Sanz-Asensio, J.; Plaza-Medina, M.; Martínez-Soria, M.T.; Pérez-Clavijo, M. Study of photodegradation of the pesticide ethiofencarb in aqueous and non-aqueous media, by gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1999, 840(2), 235-2.
- Satheskumar, A.; Senthurpandian, V.K., Shanmugaselvan, V.A. Dissipation kinetics of bifentazate in tea under tropical conditions. *Food Chem.* 2014, 145, 1092-1096.
- Schwack, W.; Walker, F; Bourgeois, B. Fungicides and photo-chemistry photodegradation of the dicarboximide fungicide vinclozolin. *J. Agric. Food Chem.* 1995, 43, 3088–3092.
- Shizuka, H.; Kayoiji, H.; Morita, T. Photolysis of hydrazobenzene in solution. *Mol. Photochem.* 1970, 2, 165-176.
- Sleiman, M.; de Sainte-Claire, P.; Richard, C, Heterogeneous photoreactivity of sprayed agrochemicals: A case study of the plant activator Acibenzolar-S-methyl *J. Agric Food Chem.* 2017, 65, 7653-7660
- Villaverde, J. J.; Sevilla-Moran, B.; Lopez-Goti, C.; Calvo, L.; Alonso-Prados, J. L.; Sandin-Espana, P., Photolysis of clethodim herbicide and a formulation in aquatic environments: Fate and ecotoxicity assessment of photoproducts by QSAR models. *Sci. Total Environ.* 2018, 615, 643-651.

Supplementary Information Section.

Samar Hamdache^{1,2}, Mohamad Sleiman¹, Pascal de Sainte-Claire¹, Farouk Jaber², Claire

Richard^{1*}

(1) Université Clermont Auvergne, CNRS, SIGMA Clermont, Institut de Chimie de Clermont-Ferrand, F-63000 Clermont-Ferrand, France

(2) Laboratory of Analysis of Organic Compounds, Faculty of Sciences I, Lebanese University, Hadath, Beirut, Lebanon.

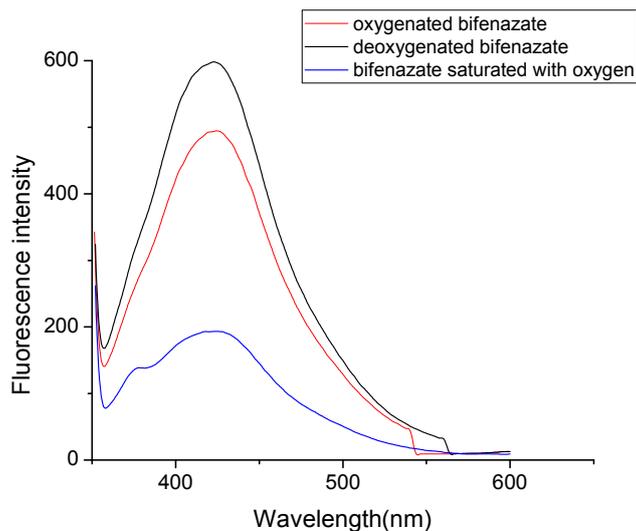


Figure SI-1: Fluorescence spectrum of BIF obtained by excitation at 340 nm in acetonitrile. Black curve: in argon-saturated medium; red curve: in air-saturated medium; blue curve in oxygen-saturated medium

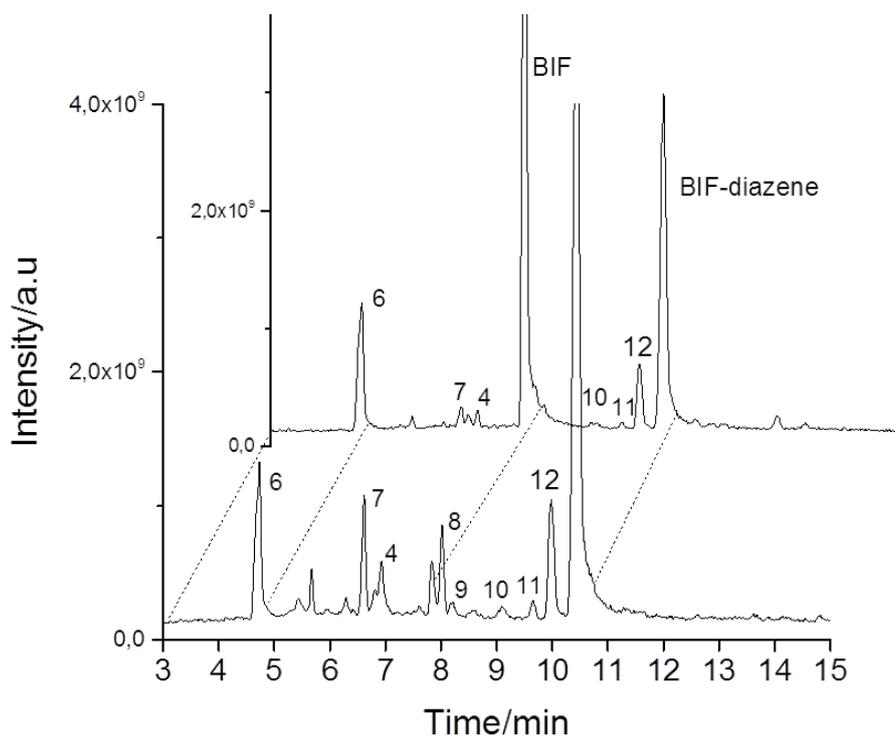


Figure SI-2: LC-HRMS analysis of BIF (8×10^{-5} M) in acetonitrile after 15 min of irradiation (conversion extent= 38%)(A) and after 60 min of irradiation (conversion extent= 98%) (B)

| Compound | Retention time /min | Experimental exact mass of MH ⁺ | Formula of the neutral ion | Δ ppm |
|---------------------|---------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------|
| <u>1</u> b | 5.67 | 244.1904 | C ₁₄ H ₁₃ N O ₃ | 2.0 |
| <u>2</u> a | 5.67 | 185.0595 | C ₁₃ H ₁₂ O | 0.57 |
| <u>3</u> a | 6.61 | 286.1070 | C ₁₆ H ₁₅ NO 4 | 1.5 |
| <u>4</u> b | 6.90 | 315.1334 | C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₄ | 1.6 |
| <u>5</u> a | 7.40 | 415.2112 | | |
| BIF | 7.72 | 301.1540 | C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₃ | 1.5 |
| BIF-diazene a, b | 10.42 | 299.1383 | C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₃ | 1.4 |

Table SI-1: Main products of BIF formed in water by hydrolysis (a) and photolysis (b)

| Compound | Retention time /min | Experimental exact mass of MH ⁺ | Formula of Neutral ion | Δ ppm |
|-------------|---------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------|
| <u>6</u> | 4.74 | 200.1066 | C ₁₃ H ₁₃ N O | 1.4 |
| <u>7</u> | 6.59 | 242.1170 | C ₁₅ H ₁₅ N O ₂ | 2.4 |
| <u>4</u> | 6.96 | 315.1332 | C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₄ | 2.0 |
| BIF | 7.83 | 301.1540 | C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₃ | 2.5 |
| <u>8</u> | 8.00 | 375.1981 | C ₁₆ H ₂₉ N ₃ O ₇ | 4.9 |
| <u>9</u> | 8.20 | 271.1071 | C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₃ | 2.0 |
| <u>10</u> | 9.11 | 315.1333 | C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₄ | 2.3 |
| <u>11</u> | 9.64 | 285.1228 | C ₁₆ H ₁₆ N ₂ O ₃ | 2.0 |
| <u>12</u> | 9.95 | 315.1332 | C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₄ | 2.6 |
| BIF-diazene | 10.42 | 299.1383 | C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₃ | 2.3 |

Table SI-2: Main photoproducts of BIF formed in acetonitrile

CHAPITRE VI

Traitement des pesticides par irradiation à 254 nm

I. Introduction

Le but de ce travail a été d'étudier la capacité de la lumière UVC à éliminer les résidus de pesticides à la surface des légumes et des fruits. Les effets des matrices ont également été examinés pour certains. Le rayonnement utilisé pour les irradiations était une lumière de 253.7 nm fournie par une lampe à vapeur de mercure basse pression.

Les pesticides étudiés dans ce chapitre sont ceux qui ont été pulvérisés à Menyeh : TM, BIF, acétamipride et imidaclopride. Des premières expériences ont été effectuées afin de savoir si la lumière UVC est capable de photodégrader ces pesticides ainsi que leurs photoproduits. Les cinétiques de photodégradation de TM, de l'imidaclopride et de l'acétamipride ont été établies en solution aqueuse. Le TM a été retenu pour des études préliminaires sur différents supports solides : cire de paraffine, verre et poivron vert. L'objectif était de savoir lequel de ces supports est le plus représentatif de la surface végétale et sur quel support la photodégradation est la plus rapide. Ces résultats peuvent servir pour la mise au point d'expériences représentatives des conditions naturelles (surface végétale) mais utilisant des supports plus simples à manipuler que les vraies surfaces végétales. Les analyses ont été effectuées par HPLC-DAD et HPLC-MS pour identifier les photoproduits formés.

Puis, on s'est intéressé à la photodégradation sur poivron vert des 4 pesticides pulvérisés au Liban : TM, imidaclopride, BIF et acétamipride. Cette étape a été essentielle pour tester la possibilité d'une méthode de traitement par UVC de ces 4 pesticides, étant donné qu'ils sont trouvés seuls ou avec leurs photoproduits dans les légumes récupérés des serres agricoles. Les cinétiques de photodégradation sur poivron vert ont été établies par analyse par HPLC-DAD et les photoproduits de ces 4 pesticides ont été identifiés par HPLC-MS.

II- Irradiations en solution

II.1. Etude comparative

Les pesticides ont été irradiés dans l'eau contenant éventuellement un faible pourcentage d'ACN pour améliorer leur solubilité. Les cinétiques de photodégradation sont rapportées **Figure 52**. Les analyses ont été effectuées par HPLC-DAD pour pouvoir calculer les degrés de conversion des molécules de départ. Les concentrations des pesticides ont été choisies de façon à avoir pour tous une absorbance de 0,5 à 254 nm :

- TM: $3,5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ (5 % ACN- dans l'eau)
- Acétamipride : $2,2 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ (1,5% ACN- dans l'eau)
- Imidaclopride: $4 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ (4% ACN- dans l'eau)

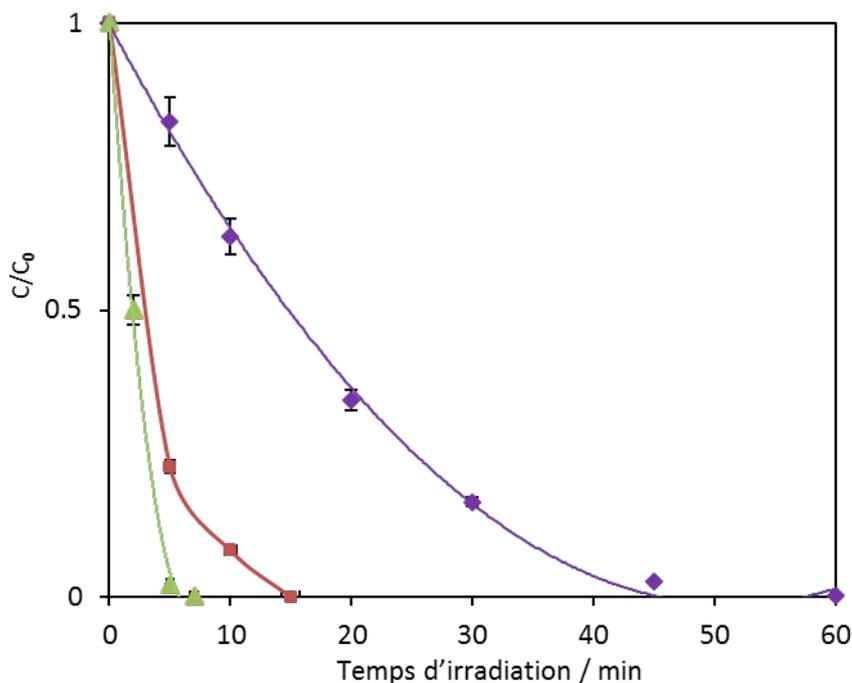


Figure 52 : Variation de C/C_0 au cours de temps par irradiation dans l'eau avec un rayonnement monochromatique à 254 nm des pesticides : TM (◆), acétamipride (■) et imidaclopride (▲)

Puisque les absorbances et I_0 sont identiques pour tous les pesticides, I_a a également la même valeur pour les 3 pesticides. Par conséquent, la comparaison des vitesses de photodégradation est possible et peut renseigner sur la photodégradabilité des molécules.

La **Figure 52** montre que l'imidaclopride était le pesticide qui se photodégradait le plus rapidement : disparition presque totale en 7 minutes. TM s'est dégradé presque totalement après 60 minutes et l'acétamipride après 10 minutes. Les chromatogrammes HPLC-DAD ont révélé la présence de produits de photodégradation qui persistaient après la disparition totale du pesticide. Ceci a été confirmé par le suivi des spectres UV des solutions au cours des irradiations : il y avait encore des espèces absorbantes dans les solutions.

La possibilité de photodégradation de l'acétamipride dans ces conditions nous a semblé intéressante car ce pesticide ne peut pas se photodégrader à la lumière solaire (maximum d'absorption à 250 nm). L'irradiation à 254 nm pourrait être alors une méthode

efficace pour se débarrasser des résidus de ce dernier dans les légumes ou les fruits. La photodégradation de TM à 254 nm a été étudiée en détail pour les 2 raisons suivantes :

- Savoir si le photoproduit ayant des propriétés photosensibilisatrices peut se former dans ces conditions d'irradiation.
- Puisque ce pesticide est un fongicides appliqué en post-récolte sur divers types de fruits et/ou de légumes afin de contrôler plusieurs maladies²⁴³, donc il peut se trouver avec de plus grandes quantités que les autres pesticides (imidaclopride, acétamipride et BIF) dans les fruits et les légumes consommés.

Par conséquent, la recherche du photoproduit (I) de TM après irradiation en solution a été réalisée et des études comparatives de la photodégradation de TM ont été réalisées sur plusieurs supports solides.

II.2. Cas particulier de TM

Le suivi des chromatogrammes HPLC-DAD et des spectres UV-vis de la solution de TM au cours de l'irradiation (**Figure 54**) montre la formation du photoproduit I qui présente des propriétés photosensibilisatrices comme démontré dans le Chapitre IV. Ce photoproduit a été repéré dans les chromatogrammes HPLC-DAD (i) par son temps de rétention déjà connu et (ii) par son spectre d'absorption qui présente une bande caractéristique vers 340 nm (**Figure 53**).

Nous avons comparé la formation du photoproduit I par irradiation à 254 nm d'une solution aqueuse de TM ($3,5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) et par irradiation avec une lumière polychromatique 300-450 nm d'une solution de TM ($5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) au même taux de conversion, 35% (**Figure 55**). On constate que :

La formation de la bande d'absorption à 340 nm est beaucoup plus intense à 254 nm qu'entre 300 et 450 nm. Cette bande étant caractéristique du photoproduit I, on peut donc dire que la formation de I est favorisée dans le cas de l'irradiation avec une lumière UVC.

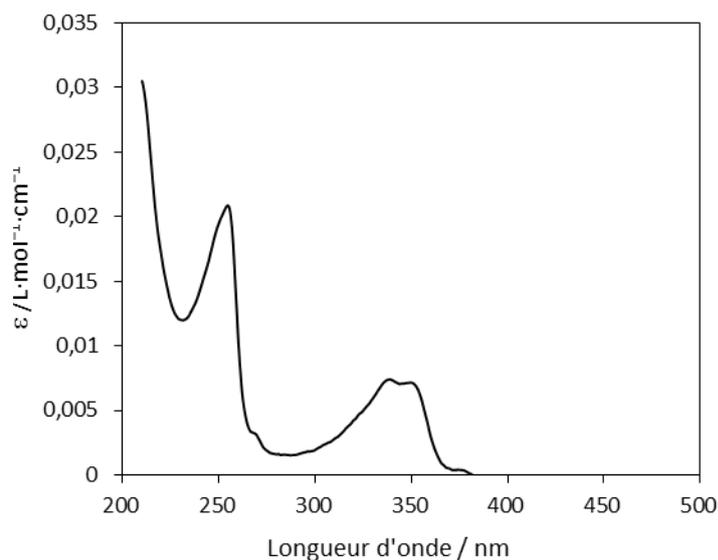


Figure 53 : Structure chimique et spectre d'absorption UV-vis de I

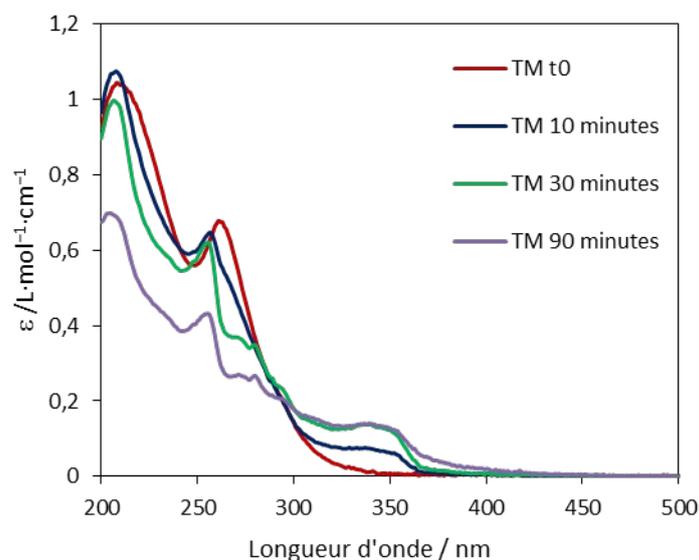


Figure 54 : Evolution du spectre d'absorption UV-vis de la solution de TM ($3,5 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) irradiée 10, 30 et 90 minutes dans l'eau à 254 nm

Par conséquent, la photodégradation de TM en solution est influencée par la longueur d'onde d'irradiation. Cela confirme bien le fait que le comportement photochimique de TM est une exception à la règle de Kasha comme il a été déjà rapporté dans le Chapitre IV.

La formation importante du photoproduit I à la lumière UVC peut avoir un effet accélérateur sur la photodégradation d'autres pesticides dans le cas des mélanges

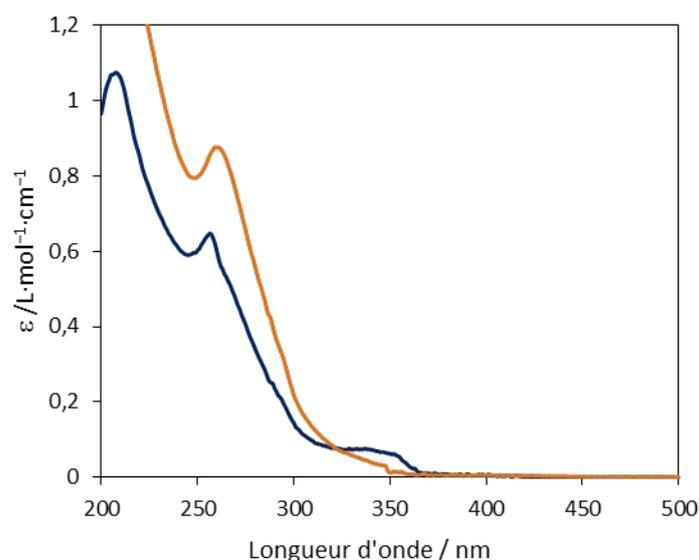


Figure 55 : Spectres UV-vis d'une solution aqueuse de TM ($3,5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) après 10 minutes d'irradiation à 254 nm (trait bleu) et d'une solution aqueuse de TM ($5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) pendant 60 minutes avec une lumière polychromatique de 300 à 450 nm (trait jaune)

III- Irradiations sur solide

Dans une première partie, nous avons étudié la photodégradation de TM sur différents supports solides (verre, film de cire et surface de poivrons verts), ce pesticide étant utilisé pour les traitements post-récolte des fruits et des légumes. Le but de cette étude comparative était de savoir si la nature du support solide influence la vitesse de photolyse et la nature des photoproduits et d'identifier le support solide le plus représentatif de la cuticule végétale.

Une seconde partie a été consacrée à l'étude des cinétiques de photodégradation sur des poivrons verts des 4 pesticides utilisés en pulvérisation sur les légumes dans les serres agricoles à Menyeh: imidaclopride, TM, acétamipride et BIF. L'objectif a été d'estimer les vitesses de photolyse de ces pesticides à 254 nm sur le poivron vert et d'identifier par HPLC-MS les photoproduits formés. Le choix de ces 4 pesticides a résidé dans le fait qu'ils ont été tous les 4 trouvés comme résidus à la surface des légumes (Chapitre III).

Dans ce qui suit, le volume déposé sur chaque support solide était de 100 μL . Il consistait en 20 gouttes de 5 μL . La récupération des dépôts après irradiation a été réalisée par 2 mL d'ACN, la concentration récupérée était donc 20 fois plus petite que celle déposée. Le temps de séchage était de 12 H pour les solutions déposées dans l'eau et d'1 H pour les solutions déposées dans l'ACN.

III.1. Cas de TM

III.1.1. Effet du support

a) Sur les cinétiques

Une solution de TM à $3,3 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ préparée dans l'ACN a été déposée sur des films de cire, à la surface des morceaux de poivrons verts et sur des cristallisoirs en verre. La photodégradation de TM a été suivie par analyse par HPLC-DAD des volumes récupérés. Les cinétiques de photodégradation ont été établies et sont montrées **Figure 56**.

On remarque que la conversion sur les films de cire est presque nulle. Ceci peut s'expliquer par l'étalement très faible des gouttes de TM déposées sur la cire. La photodégradation du TM a été la plus rapide à la surface des poivrons verts et cette vitesse n'est pas très différente de celle du TM sur verre. Sur les deux surfaces TM s'est converti à 65% après 7 H d'irradiation. Ces observations conduisent à tirer 2 conclusions principales :

- 1- La nature du support affecte la photodégradation de TM dans ces conditions d'irradiation ; ceci est principalement dû à la différence d'étalement des gouttes déposées sur cire, sur verre ou sur poivrons verts. Les gouttes les plus étalées (poivrons verts et verre) conduisent à la plus grande vitesse.
- 2- Bien que la cire de paraffine utilisée dans ces expériences ressemble dans sa constitution générale à la cuticule végétale, la **Figure 56** montre une différence importante entre la vitesse de photodégradation de TM sur cire et poivron vert. Avec ce composé, les films de cire ne peuvent donc pas être considérés comme des supports qui simulent les surfaces végétales naturelles. La photodégradation à la surface du verre ressemble plus à celle sur poivron vert. Une meilleure simulation des conditions naturelles nécessite donc soit l'utilisation des cristallisoirs en verre ou la conception d'un nouveau support qui peut se rapprocher plus des propriétés des surfaces végétales.

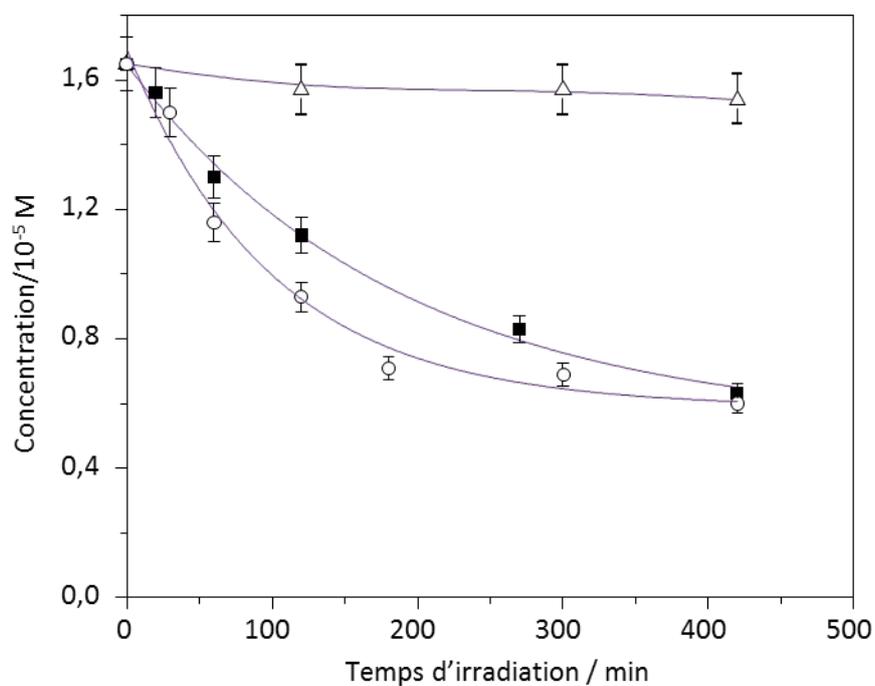


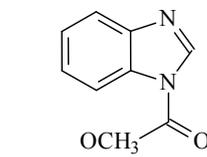
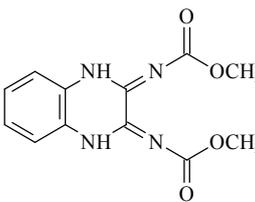
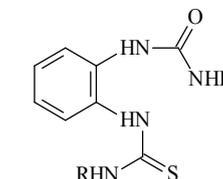
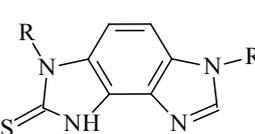
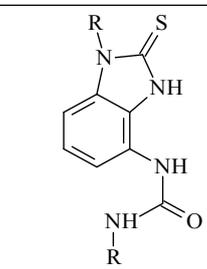
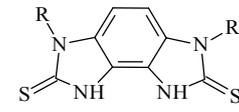
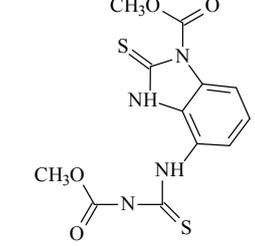
Figure 56 : Cinétiques de photodégradation de TM ($3,3 \times 10^{-4}$ M) sur cire(Δ), verre (\blacksquare) et poivrons verts (\circ) par irradiation à 254 nm

b) Sur les photoproduits

Les photoproduits de TM formés sur verre et sur poivrons verts ont été identifiés par HPLC-MS. Dans les 2 échantillons analysés le taux de conversion du TM était de 30%. Les chromatogrammes HPLC-MS ont montré l'existence des mêmes photoproduits dans les 2 cas. Ce sont aussi les mêmes que ceux identifiés en solution et sur plastique après irradiation avec une lumière polychromatique de 300 à 450 nm. Ces photoproduits sont présentés dans le **Tableau 25**.

Concernant le photoproduit I, on a trouvé qu'il se forme en quantité 3 fois plus grande sur verre que sur poivron verts après 30% de conversion de TM. Le type de support peut donc non seulement influencer la vitesse de photodégradation du TM mais aussi la distribution photoproduits.

Tableau 25: Photoproduits de TM formés sur verre et sur les poivrons verts après irradiation à 254 nm.

| m/z en ES ⁺ | Temps de rétention/ min HPLC-MS | Formule de l'ion neutre | Structure proposée |
|------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 192,06472 | 0,9 | C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ |  |
| 277,09247 | 4,4 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₄ |  |
| 327,07501 | 5,2 | C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₅ S |  |
| 307,04883 | 6,8 | C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O ₄ S |  |
| 325,05901 | 7,0 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₅ S |  |
| 339,02295 | 7,5 | C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O ₄ S ₂ |  |
| 341,04168 | 8,3 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₄ S ₂ |  |

R=COOCH₃

III.1.2. Effet du solvant et des additifs de formulation

a) Sur les cinétiques

Deux solutions de TM formulé (Topsin) ont été préparées à $3,3 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, l'une dans l'eau et l'autre dans l'ACN. Ces solutions ont été déposées et irradiées sur des cristallisoirs en verre. D'autre part, 2 solutions de TM pur préparées dans les mêmes conditions (concentration et solvant) ont été aussi déposées et irradiées sur des cristallisoirs en verre. Les cinétiques de photodégradation de TM formulé et pur déposé dans l'eau et dans l'ACN ont été établies (**Figure 57**). **La figure 57** montre que TM formulé déposé dans l'eau était photostable au bout de 7 H. En revanche, déposé dans l'ACN TM formulé a été photodégradé de 64% au bout du même temps. Par conséquent la nature du solvant de dépôt semble dans ce cas déterminante (cristallinité du dépôt, temps de séchage différent). Par ailleurs, les agents de formulation n'ont pas d'effet dans l'ACN alors qu'ils inhibent la disparition de TM dans l'eau, leur solvant normal d'utilisation est l'eau.

b) Sur les photoproduits

Les volumes récupérés après 4 H d'irradiation de la formulation sur verre déposé dans l'ACN et 4H 30 minutes de TM pur sur verre déposé dans l'ACN ont été analysés par HPLC-MS. Le taux de conversion de TM était le même pour les 2 échantillons analysés : 50%. Les chromatogrammes HPLC-MS ont montré la présence des mêmes photoproduits pour TM formulé et pur. Aucune différence n'a été observée même en ce qui concerne les quantités de photoproduits formés. Les photoproduits trouvés sont semblables à ceux qui sont présentés dans le **Tableau 25**. Par conséquent, les agents de formulation contenus dans le produit formulé du TM n'ont pas affecté la formation des photoproduits.

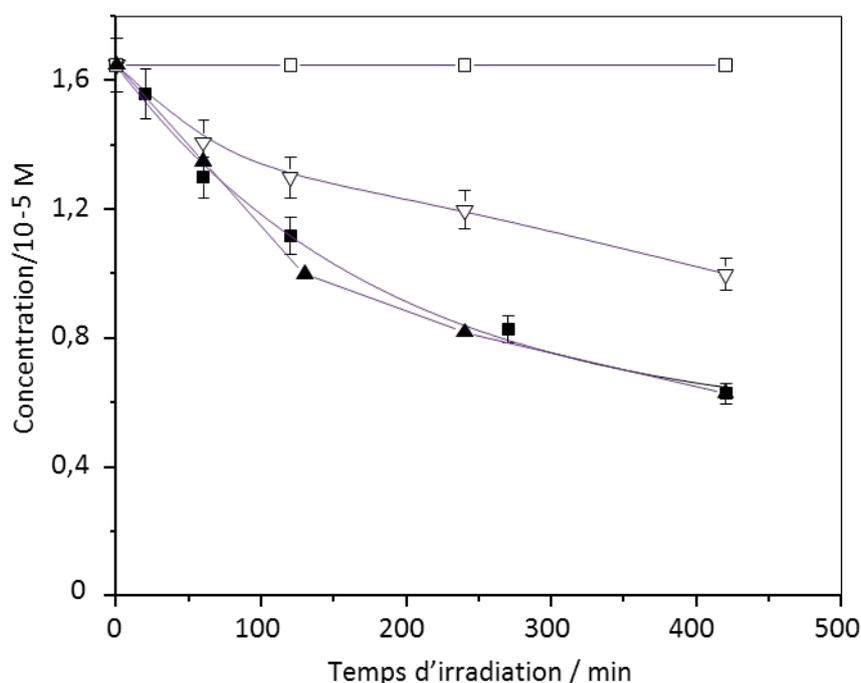


Figure 57 : Cinétiques de photodégradation sur verre à 254 nm de TM $3,3 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, pur dans l'ACN (■), formulé dans l'ACN (▲), pur dans l'eau (▽) et formulé dans l'eau (□)

III.2. Application à la photodégradation sur poivron vert des pesticides pulvérisés au Liban

Des solutions à $2 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ d'acétamipride, de TM, de BIF et d'imidaclopride dans l'ACN ont été déposées sur des morceaux de poivrons verts et irradiés après évaporation totale du solvant au bout d' 1 H.

La **Figure 58** indique que l'imidaclopride était le pesticide dont la phototransformation était la plus rapide sur les poivrons verts (environ 100 % de conversion en 30 minutes). A l'inverse, TM était le plus lent à se photodégrader : 60% en 60 minutes. Les vitesses de phototransformation du BIF et de l'acétamipride ont été intermédiaires entre celles de TM et de l'imidaclopride. Malgré que l'imidaclopride ait été totalement photodégradé au bout de 60 minutes, ses photoproduits eux persistaient encore après ce temps.

Les photoproduits de chaque pesticide ont été identifiés par analyse LC-MS après les temps d'irradiation suivants :

- 30 minutes pour l'acétamipride pour 56% de conversion
- 60 minutes pour BIF pour 56% de conversion
- 10 minutes pour l'imidaclopride pour 80% de conversion

- 60 minutes pour TM pour 40% de conversion

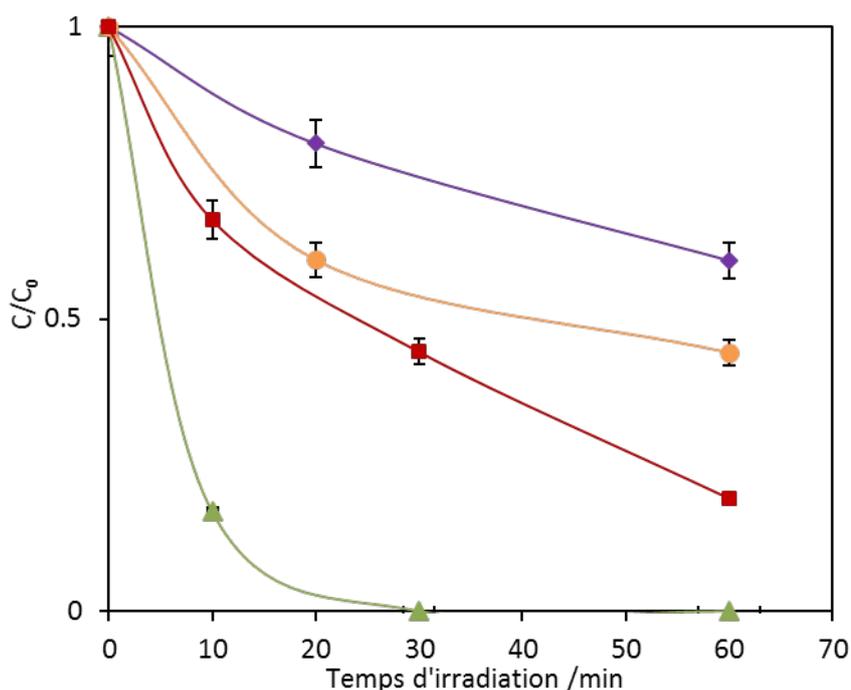
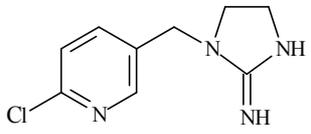
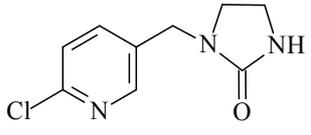
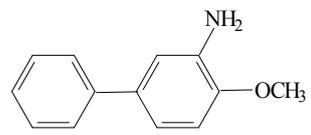
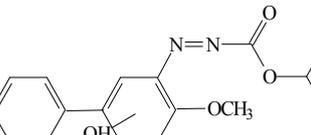
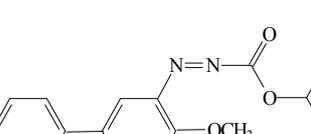
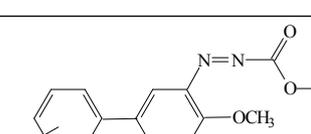
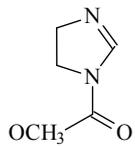
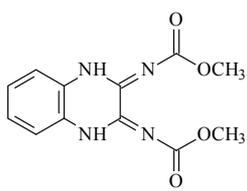
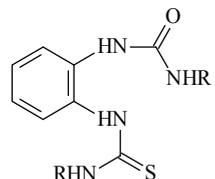
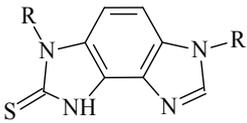
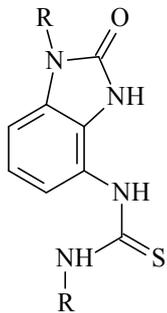
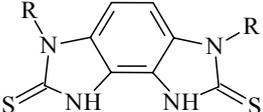
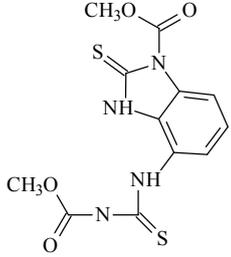


Figure 58 : Cinétiques de phototransformation à 254 nm de TM (◆), de l'imidaclopride (▲), du BIF(●) et de l'acétamipride (■) à 2×10^{-4} mol.L⁻¹ à la surface des poivrons verts.

Les principaux photoproduits sont représentés dans le **Tableau 26**. Seul, le photoproduit $m/z = 211$ a été trouvé par irradiation de l'imidaclopride à la surface des poivrons verts dans le simulateur de lumière solaire, alors qu'à 254 nm, nous avons trouvé à la fois un photoproduit à $m/z = 211$ et à $m/z = 212$. Il est vrai que les taux étaient un peu différents (60% dans le premier cas et 80% dans le second). Les photoproduits de TM sont les mêmes sur plastique et en solution dans le simulateur de lumière solaire et sur poivron vert à 254 nm. En ce qui concerne le BIF, les photoproduits formés sont les mêmes que ceux trouvés après irradiation sur poivrons verts dans le simulateur solaire. Aucun photoproduit de l'acétamipride n'a été identifié. Ils sont peut-être volatils.

Tableau 26: Photoproduits identifiés après irradiation de l'imidaclopride, du BIF et du TM à la surface des poivrons verts à 254 nm

| Pesticide | m/z en ES ⁺ | Temps de rétention HPLC-MS | Formule de l'ion neutre | Structure proposée |
|---------------|------------------------|----------------------------|---------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Imidaclopride | 211,07393 | 1,2 | C ₉ H ₁₂ N ₄ Cl |  |
| | 212,05820 | 3,4 | C ₉ H ₁₀ N ₃ OCl |  |
| BIF | 200.10663 | 4,7 | C ₁₃ H ₁₃ NO |  |
| | 315.13324 | 6,9 | C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₄ |  |
| | 299,13818 | 10,3 | C ₁₇ H ₁₈ N ₂ O ₃ |  |
| | 400,18552 | 12,6 | C ₂₁ H ₂₅ N ₃ O ₅ |  |
| | 400,18552 | 13,2 | C ₂₁ H ₂₅ N ₃ O ₅ |  |
| Pesticide | m/z en ES ⁺ | Temps de rétention HPLC-MS | Formule de l'ion neutre | Structure proposée |

| Pesticide | m/z en ES ⁺ | Temps de rétention HPLC-MS | Formule de l'ion neutre | Structure proposée |
|-----------|------------------------|----------------------------|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| TM | 192,06472 | 0,9 | C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ |  |
| | 277,09247 | 4,4 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₄ |  |
| | 327,07501 | 5,2 | C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₅ S |  |
| | 307,04883 | 6,8 | C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O ₄ S |  |
| | 325,05901 | 7,0 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₅ S |  |
| | 339,02295 | 7,5 | C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O ₄ S ₂ |  |
| | 341,04168 | 8,3 | C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₄ S ₂ |  |

R=COOCH₃

IV. Conclusion.

Dans ce chapitre la photodégradation à 254 nm des 4 pesticides pulvérisés à Menyeh à été étudié en solution, sur solide et à la surface de poivron vert.

Dans l'eau, la photodégradation de TM, de l'imidaclopride et de l'acétamipride était relativement rapide. L'ordre de photoréactivité était le même qu'en lumière solaire simulée pour l'imidaclopride et le TM. D'autre part, l'irradiation à 254 nm permettait de dégrader l'acétamipride qui n'absorbe pas la lumière solaire. Par conséquent, cette méthode d'irradiation peut être utilisée pour le traitement des résidus de ce pesticide dans les fruits et les légumes. Pourtant, les temps d'irradiation n'ont pas été suffisants pour dégrader les photoproduits relatifs à ces pesticides.

Le photoproduit sensibilisateur I issu de TM se formait mieux en solution à 254 nm qu'en lumière solaire simulée. Cela pourrait induire la photosensibilisation de certains pesticides dans le cas des mélanges.

Sur solide, la nature du support a influencé la photodégradation de TM qui a été 6 plus rapide à la surface des poivrons verts et sur verre que sur cire. Ceci montre que les films de cire ne constituent pas toujours un support simulant des cuticules végétales comme c'est déjà démontré dans le chapitre V. Le verre était dans ce cas plus représentatif que la cire. D'un autre côté, la nature des photoproduits de TM n'a pas été influencée par le type de support mais leurs distribution l'était : la formation de I a été favorisée sur verre.

Sur poivrons verts, BIF, TM, l'imidaclopride et l'acétamipride ont été photodégradés et les photoproduits étaient assez semblables à ceux formés en lumière solaire simulée.

Ces expériences préliminaires ont démontré que des temps d'irradiation plus longs sont nécessaires pour pouvoir dégrader en totalité les résidus des pesticides étudiés ainsi que leurs photoproduits à la surface végétale.

Conclusion générale

L'objectif principal de cette étude était de mieux comprendre le comportement photochimique des pesticides pulvérisés dans les serres agricoles à Menyeh-Liban Nord, que ce soit dans les conditions réelles ou au laboratoire sous irradiation simulée.

La première partie de ce travail a été consacrée à l'analyse des échantillons de poivrons verts, concombres, tomates, des films de plastique et de l'air récupérés des serres agricoles à Menyeh. Nous avons pu quantifier et suivre dans les échantillons de concombres et de poivrons verts, extraits par la méthode QUECHERS, les résidus de 4 des pesticides pulvérisés dans ces serres: bifénazate (BIF), acétamipride, imidaclopride et thiophanate méthyl (TM). Parmi ces 4 pesticides, l'acétamipride était le seul qui n'absorbait pas la lumière solaire. Les quantités trouvées diminuaient au cours des 6 jours suivant la pulvérisation, **elles étaient quand même bien supérieures aux MRLs imposées pour chaque pesticide**. Cela indique que la consommation à long terme de ces légumes peut affecter négativement la santé des consommateurs. **Des mesures de contrôle plus strictes sur les pratiques agricoles au Liban sont donc fortement recommandées**. Un produit de photodégradation de BIF qui est le BIF-diazène hydroxylé, avec et deux de TM avec $m/z=192$ et $m/z=341$ ont été identifiés dans les concombres extraits par méthode Quechers.

Dans cette même partie, des résidus des mêmes 4 pesticides ont été identifiés par rinçage des peaux tomates, concombres et poivrons verts. De plus, des photoproduits de TM ($m/z=341$ et $m/z =192$) de BIF (BIF-diazène hydroxylé et le 3-amino- 4 -hydroxybiphényle) et d'imidaclopride (1-[(6-chloropyridine-3-yl) méthyle]imidazolidin-2-imine) ont été trouvés à la surface des tomates et des concombres 1 et 3 jours après la pulvérisation. A la surface des poivrons verts, les mêmes photoproduits de BIF et de TM ont été identifiés sauf le BIF-diazène hydroxylé. Aucun photoproduit de l'imidaclopride n'a été détecté à la surface des poivrons verts. **La présence de photoproduits de BIF, TM et imidaclopride sur les peaux des légumes a démontré la possibilité de photodégradation des pesticides mêmes à l'intérieur d'une serre agricole**. La recherche des photoproduits trouvés a été effectuée sur la base de leurs masses exactes obtenues dans des études préalables. Ainsi, l'analyse MS/MS des extraits des échantillons de légumes sera une poursuite intéressante à cette partie de travail. Cela pour pouvoir identifier de nouveaux photoproduits non rapportés dans la

littérature, qui peuvent se former dans les tomates, les poivrons verts et les concombres après application d'un mélange de pesticides dans une serre agricole.

Bien qu'aucun pesticide ni photoproduit n'a été détecté dans la phase gazeuse de la serre, plusieurs VOCs ont été trouvés après analyse GC-MS, **principalement des terpènes, des alcanes et des aldéhydes**. Le suivi de leurs quantités au cours des 6 jours suivant la pulvérisation a montré de plus grandes quantités le matin que plus tard dans la journée et au moment de la pulvérisation. **Les terpènes, les aldéhydes et les alcanes étaient la réponse des plantes au stress chimique de la pulvérisation et au stress des températures qui ont été plus élevés à 11H le matin qu'à 18 H le soir**. Par ailleurs, l'inhalation de ces VOCs peut avoir des effets négatifs sur la santé de l'agriculteur qui devrait donc prendre **plus de mesures de sécurité**.

Les analyses des propriétés spectrales du film plastique des serres ont montré que c'est un polymère tri-couches (PE/EVA/PE) stabilisé par trois additifs : un anti-oxydant *process* un autre contre l'effet des pesticides et un stabilisant anti-UV. La transmittance du film neuf entre 300-400 nm était de 1% puis **de 25 - 40% après 4 ans d'utilisation**. Cela permettait aux réactions photochimiques d'avoir lieu et confirmait les résultats déjà obtenus. De plus, ceci a indiqué **la perte du stabilisant anti-UV au cours des 4 ans d'utilisation**. Aucune oxydation de ce polymère n'a été observée pendant ces 4 ans. Des études postérieures pourraient se concentrer sur l'analyse du vieillissement du plastique couvrant les serres et l'étude de l'effet de la modification de ces propriétés sur la photodégradation des pesticides au cours de plusieurs années et vice-versa. Enfin, dans cette première partie, on a constitué une idée primaire sur le comportement photochimique des pesticides pulvérisés dans une serre agricole. Des prélèvements saisonniers d'air et de légumes dans les serres agricoles à Menyeh pourront compléter cette étude et contribuer à mieux comprendre l'effet de la lumière solaire dans la dégradation des pesticides dans une serre agricole.

Dans la deuxième et la troisième partie de cette thèse on a détaillé les mécanismes de réactions photochimiques du BIF et du TM dans le laboratoire sous irradiations simulées afin d'identifier d'éventuels photoproduits à la surface et dans les légumes prélevés dans les serres agricoles. **La photodégradation de TM avait un caractère autoaccélééré qui n'a jamais été rapporté**. Une étude détaillée nous a permis de démontrer que cette auto-accélération était due à la formation d'un photoproduit dérivé de la quinoxaline **ayant des propriétés photosensibilisatrices**. Ce résultat nous a semblé assez intéressant puisque le TM est généralement pulvérisé en mélange ce qui peut donc induire la photodégradation d'autres

pesticides. Des expériences menées dans le laboratoire ont indiqué que ce composé est capable de photosensibiliser la photodégradation du BIF. De plus, la formation de ce photoproduit dépendait fortement de la matrice : il se formait sur plastique, à la surface des poivrons verts, dans l'eau et sur verre mais pas sur films de cire. Sa formation semble nécessiter la présence d'eau.

Quant au BIF, sa dégradation à l'obscurité et sous irradiation a été étudiée en solution (dans l'eau et dans l'ACN) ainsi que sur des films de cires et sur poivrons verts pour être au mieux représentatif des conditions naturelles. Le **BIF-diazène** résultant de l'autoxydation de la fonction phényl hydrazine du BIF de la perte, a été le principal produit de dégradation à l'obscurité et sous irradiation dans toutes les matrices. **L'instabilité de BIF à l'obscurité a augmenté avec le pH, le taux d'oxygène et la capacité donneur H du solvant.** La dégradation du BIF (autoxydation + photolyse) sur poivron vert a été beaucoup plus rapide que sur cire à l'obscurité et sous irradiation. Cela pourrait être dû à l'existence d'eau dans les poivrons verts. La nature des produits de dégradation a été dépendante du milieu. Différents photoproduits ont été observés dans l'ACN, l'eau, sur poivron verts et sur cire. **Les expériences les plus intéressantes ont été réalisées sur la peau de poivrons verts. Les photoproduits formés sur ce support ont été trouvés dans l'eau, dans l'acétonitrile et sur la cire.** Il est donc important de mettre en place des supports modèles plus appropriés que la cire de paraffine pour imiter la surface des feuilles et des légumes et leur contenu en eau.

Les résultats obtenus dans ces deux parties ont largement facilité la recherche des photoproduits de BIF et de TM dans les échantillons de légumes analysés dans la première partie. De plus, ils ont bien mis en évidence l'influence de la nature du milieu d'étude sur le comportement photochimique de ces pesticides du point de vue mécanistique et sur la formation des photoproduits.

Dans une dernière partie, les essais préliminaires de traitement de BIF, l'acétamipride, l'imidaclopride et de TM avec une lumière UVC à 254 nm ont abouti à plusieurs conclusions. **Cette irradiation a permis de dégrader l'acétamipride** qui n'absorbe pas la lumière solaire. Par conséquent, cette méthode d'irradiation peut être utilisée pour le traitement des résidus de ce pesticide dans les fruits et les légumes. D'autre part, Ces expériences préliminaires ont démontré **que des temps d'irradiation plus longs que ceux utilisés sont nécessaires pour dégrader en totalité les résidus des pesticides étudiés ainsi que leurs photoproduits à la surface végétale.** Par ailleurs, il sera intéressant de tester l'efficacité d'irradiations plus longs en UVC dans la dégradation des résidus des pesticides à la surface des légumes et des fruits

jusqu'à minéralisation totale. Pourtant, l'exposition des fruits et légumes à de longues périodes d'irradiations ne conduira pas à la perte de certaines valeurs nutritives ?

Références bibliographiques

- (1) Alexandratos, N.; Bruinsma, J. World Agriculture towards 2030/2050. *Land use policy* **2012**.
- (2) Damalas, C. A.; Eleftherohorinos, I. G. Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2011.
- (3) Manuel de Formation Sur Les Pesticides. In « *Health, Safety and Environment: a series of Trade Union Education Manuals for Agricultural Workers* » de ILO/UITA; 2004.
- (4) *Entomopathogenic Nematology*; R. Gaugler, Ed.; CABI publishing: Wallingford UK, 2002.
- (5) Ojeda, C.; Castro, M. J. L.; Ojeda, C.; Fern, A. *Green Materials for Energy, Products and Depollution*; 2013; Vol. 3.
- (6) Fernández-Pérez, M.; Garrido-Herrera, F. J.; González-Pradas, E.; Masuda, M.; Johanningsmeier, J. S.; Formulation, P.; Gouge, T.; Development, F.; Bash, E. Chapter 4 Pesticide Formulation. *PhD Propos.* **2011**, 190 (1–3), 85–108.
- (7) No, A.; Boland, J.; Koomen, I.; van Lidth de Jeude, J.; Oudejans, J. *Les Pesticides: Composition, Utilisation et Risques*; 2004.
- (8) Liu, Y.; Shen, D.; Li, S.; Ni, Z.; Ding, M.; Ye, C.; Tang, F. Residue Levels and Risk Assessment of Pesticides in Nuts of China. *Chemosphere* **2016**.
- (9) Fang, L.; Zhang, S.; Chen, Z.; Du, H.; Zhu, Q.; Dong, Z.; Li, H. Risk Assessment of Pesticide Residues in Dietary Intake of Celery in China. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **2015**.
- (10) Nasreddine, L.; Rehaime, M.; Kassaify, Z.; Rechmany, R.; Jaber, F. Dietary Exposure to Pesticide Residues from Foods of Plant Origin and Drinks in Lebanon. *Environ. Monit. Assess.* **2016**.
- (11) de Gavelle, E.; de Lauzon-Guillain, B.; Charles, M. A.; Chevrier, C.; Hulin, M.; Sirot, V.; Merlo, M.; Nougadère, A. Chronic Dietary Exposure to Pesticide Residues and Associated Risk in the French ELFE Cohort of Pregnant Women. *Environ. Int.* **2016**.
- (12) Valcke, M.; Bourgault, M. H.; Rochette, L.; Normandin, L.; Samuel, O.; Belleville, D.; Blanchet, C.; Phaneuf, D. Human Health Risk Assessment on the Consumption of Fruits and Vegetables Containing Residual Pesticides: A Cancer and Non-Cancer Risk/Benefit Perspective. *Environ. Int.* **2017**, 108 (July), 63–74.
- (13) Van Der Werf, H. M. G. Assessing the Impact of Pesticides on the Environment. *Agric. Ecosyst. Environ.* **1996**.
- (14) Wilson, C.; Tisdell, C. Why Farmers Continue to Use Pesticides despite Environmental, Health and Sustainability Costs. *Ecol. Econ.* **2001**.
- (15) Pimentel, D.; Burgess, M. Environmental and Economic Costs of the Application of Pesticides Primarily in the United States. In *Integrated Pest Management*; 2014.
- (16) Lopes Soares, W.; Firpo de Souza Porto, M. Estimating the Social Cost of Pesticide Use:

- An Assessment from Acute Poisoning in Brazil. *Ecol. Econ.* **2009**.
- (17) Niessen, W. M. A. Group-Specific Fragmentation of Pesticides and Related Compounds in Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2010**.
- (18) Rifai, A. Etude de La Dégradation Par Photolyse Directe de Pesticides - Caractérisation Structurale et Toxicité Potentielle Des Photoproduits, 2013.
- (19) [Http://environnement.doctissimo.fr/Proteger-La-Terre/Pesticides/Qui-Sont-Les-Pesticides-.html](http://environnement.doctissimo.fr/Proteger-La-Terre/Pesticides/Qui-Sont-Les-Pesticides-.html).
- (20) SIAMPIRINGUE, M. Phototransformation de Polluants Organiques à La Surface de Sol : Études Cinétique et Analytique Sur Supports Modèles et Sur Sol Réel. **2011**, 168.
- (21) Picó, Y.; Blasco, C.; Font, G. Environmental and Food Applications of LC-Tandem Mass Spectrometry in Pesticide-Residue Analysis: An Overview. *Mass Spectrometry Reviews*. 2004.
- (22) Prieto Garcia, F.; Cortés Ascencio, S. Y.; Oyarzun, J. C. G.; Hernandez, A. C.; Alavarado, P. V. Pesticides: Classification, Uses and Toxicity. Measures of Exposure and Genotoxic Risks. *J. Res. Environ. Sci. Toxicol.* **2012**, 1 (11), 2315–5698.
- (23) Hvězdová, M.; Kosubová, P.; Košíková, M.; Scherr, K. E.; Šimek, Z.; Brodský, L.; Šudoma, M.; Škulcová, L.; Sáňka, M.; Svobodová, M.; et al. Currently and Recently Used Pesticides in Central European Arable Soils. *Sci. Total Environ.* **2018**, 613–614, 361–370.
- (24) <http://www.statistiques.developpement-durable.gouv.fr/lessentiel/ar/2439/0/quantites-pesticides-vendues-france.html>).
- (25) Inra. Pesticides, Agriculture et Environnement. **2005**, 840.
- (26) <http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP>.
- (27) UNEP, 2016. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants Webpage With Actualized Lists of POPs. Available at [http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/ListingofPOPs/ tabid/2509/Default.aspx](http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/ListingofPOPs/tabid/2509/Default.aspx) United Nations Environmental Program.
- (28) Chambers, J. E.; Greim, H.; Kendall, R. J.; Segner, H.; Sharpe, R. M.; Van Der Kraak, G. Human and Ecological Risk Assessment of a Crop Protection Chemical: A Case Study with the Azole Fungicide Epoxiconazole. *Critical Reviews in Toxicology*. 2014.
- (29) Hayes, T. More Feedback on Whether Atrazine Is a Potent Endocrine Disruptor Chemical. *Environmental Science and Technology*. 2009.
- (30) Hester, S.; Moore, T.; Padgett, W. T.; Murphy, L.; Wood, C. E.; Nesnow, S. The Hepatocarcinogenic Conazoles: Cyproconazole, Epoxiconazole, and Propiconazole Induce a Common Set of Toxicological and Transcriptional Responses. *Toxicol. Sci.* **2012**.
- (31) <https://www.generations-futures.fr/actualites/loi-ville-pesticides-01-2017/>.
- (32) Bashour, I. Pesticides, Fertilizers and Food Safety. *Arab Environ. Futur. Challenges* **2008**, 137–144.
- (33) http://www.codexalimentarius.net/web/index_en.jsp 2004. FAO/WHO. Food Standards – CODEX Alimentarius.

- (34) Osman, K. A.; Al-Humaid, A. I.; Al-Rehiyani, S. M.; Al-Redhaiman, K. N. Estimated Daily Intake of Pesticide Residues Exposure by Vegetables Grown in Greenhouses in Al-Qassim Region, Saudi Arabia. *Food Control* **2011**.
- (35) Dogheim, S. M.; Ashraf, E. M. M.; Alla, S. A. G.; Khorshid, M. A.; Fahmy, S. M. Pesticides and Heavy Metals Levels in Egyptian Leafy Vegetables and Some Aromatic Medicinal Plants. *Food Addit. Contam.* **2004**.
- (36) Mansour, S. A.; Belal, M. H.; Abou-Arab, A. A. K.; Ashour, H. M.; Gad, M. F. Evaluation of Some Pollutant Levels in Conventionally and Organically Farmed Potato Tubers and Their Risks to Human Health. *Food Chem. Toxicol.* **2009**.
- (37) Musaiger, A. O.; Al-Jedah, J. H.; D'souza, R. Occurrence of Contaminants in Foods Commonly Consumed in Bahrain. *Food Control* **2008**.
- (38) Osman, K. A.; Al-Humaid, A. M.; Al-Rehiyani, S. M.; Al-Redhaiman, K. N. Monitoring of Pesticide Residues in Vegetables Marketed in Al-Qassim Region, Saudi Arabia. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2010**.
- (39) Safi, J. M.; Abou-Foul, N. S.; El-Nahhal, Y. Z.; El-Sebae, A. H. Monitoring of Pesticide Residues on Cucumber, Tomatoes and Strawberries in Gaza Governorates, Palestine. *Nahrung - Food* **2002**.
- (40) Caroline, S. D.; Nadine, R. Food Safety Around the World. *Glob. Local* **2005**, No. June, 95.
- (41) Jallow, M. F. A.; Awadh, D. G.; Albaho, M. S.; Devi, V. Y.; Ahmad, N. Monitoring of Pesticide Residues in Commonly Used Fruits and Vegetables in Kuwait. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2017**, 14 (8).
- (42) Jallow, M. F. A.; Awadh, D. G.; Albaho, M. S.; Devi, V. Y.; Thomas, B. M. Pesticide Risk Behaviors and Factors Influencing Pesticide Use among Farmers in Kuwait. *Sci. Total Environ.* **2017**.
- (43) Al Zadjali, S.; Morse, S.; Chenoweth, J.; Deadman, M. Factors Determining Pesticide Use Practices by Farmers in the Sultanate of Oman. *Sci. Total Environ.* **2014**.
- (44) MoE; UNDP; GEF. Lebanon's First Biennial Update Report to the UN Framework Convention on Climate Change. **2015**.
- (45) Lebanon's Second Biennial Update Report to the UNFCCC Ministry of Environment Beirut, Lebanon October 2017. **2017**, No. October.
- (46) Ministry of Agriculture (MoA). Ministry of Agriculture Strategy 2015-2019. **2014**, No. November 2014, 83.
- (47) *Lebanese Government, 1982. Conditions for the Authorization of Pesticides' Importation, Selling, Preparation, and Use in Lebanon.*; Beirut.
- (48) Trabulsi, A. *Pollution Des Aliments et Cultures Traite'es Par Les Pesticides.*; Beirut., 1991.
- (49) Abou Fakhr, I., Abou Jaoudeh, Y., Asta, J., B. *Usage Des Pesticides Au Liban.*; Beirut, 1995.
- (50) Al-Alam, J.; Millet, M.; Chbani, A.; Fajloun, Z. Contribution to the Food Products' Analysis: A Research and Evaluation on the Hemolytic Effect of Some Pesticides Used

- in Lebanon. *J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes* **2015**, 50 (11), 788–796.
- (51) Boxter, Y.; Saliba, R. Determining Residues of Bromopropylate, Coumpaphos and Fluvalinate in Lebanese Honey after 12 Years of Treatment against Varoatoses. In *First Arab apicultural Congress*; Beirut Lebanon, 1996.
- (52) El- Nahhal, Y. Contamination and Safety Status of Plant Food in Arab Countries. , 4: 411-417. *J. Appl. Sci.* **2004**, 4, 411–417.
- (53) Kumar, A.; Tiwari, G. N.; Kumar, S.; Pandey, M. Role of Greenhouse Technology in Agricultural Engineering. *International Journal of agricultural engineering*. 2006, pp 364–372.
- (54) Castilla, N. *Greenhouse Technology and Management*. Cabi.; CABI publishing, 2013.
- (55) Sonneveld, C.; Voogt, W. *Plant Nutrition of Greenhouse Crops*; 2009.
- (56) Nations, O. *RESULTATS GLOBAUX DU MODULE DE BASE DU RECENSEMENT DE L'AGRICULTURE 2010*; 2012.
- (57) Kairouz, A. M.; Atala, I. Y. The Environment in Education: Pesticides in Lebanon. *World J. Environ. Res.* **2015**, 5 (1), 99.
- (58) De, A.; Bose, R.; Kumar, A.; Mozumdar, S. *Targeted Delivery of Pesticides Using Biodegradable Polymeric Nanoparticles*; 2014.
- (59) Fenner, K.; Canonica, S.; Wackett, L. P.; Elsner, M. Evaluating Pesticide Degradation in the Environment: Blind Spots and Emerging Opportunities. *Science*. 2013.
- (60) Yadav, I. C.; Devi, N. L.; Syed, J. H.; Cheng, Z.; Li, J.; Zhang, G.; Jones, K. C. Current Status of Persistent Organic Pesticides Residues in Air, Water, and Soil, and Their Possible Effect on Neighboring Countries: A Comprehensive Review of India. *Sci. Total Environ.* **2015**.
- (61) Ge, J.; Woodward, L. A.; Li, Q. X.; Wang, J. Composition, Distribution and Risk Assessment of Organochlorine Pesticides in Soils from the Midway Atoll, North Pacific Ocean. *Sci. Total Environ.* **2013**.
- (62) Fram, M. S.; Belitz, K. Occurrence and Concentrations of Pharmaceutical Compounds in Groundwater Used for Public Drinking-Water Supply in California. *Sci. Total Environ.* **2011**, 409 (18), 3409–3417.
- (63) Vryzas, Z.; Papadakis, E. N.; Vassiliou, G.; Papadopoulou-Mourkidou, E. Occurrence of Pesticides in Transboundary Aquifers of North-Eastern Greece. *Sci. Total Environ.* **2012**, 441, 41–48.
- (64) Papadopoulou-Mourkidou, E.; Karpouzas, D. .; Patsias, J.; Kotopoulou, A.; Milothridou, A.; Kintzikoglou, K.; Vlachou, P. The Potential of Pesticides to Contaminate the Groundwater Resources of the Axios River Basin. Part II. Monitoring Study in the South Part of the Basin. *Sci. Total Environ.* **2004**, 321 (1–3), 147–164.
- (65) Papadopoulou-Mourkidou, E.; Karpouzas, D. .; Patsias, J.; Kotopoulou, A.; Milothridou, A.; Kintzikoglou, K.; Vlachou, P. The Potential of Pesticides to Contaminate the Groundwater Resources of the Axios River Basin in Macedonia, Northern Greece. Part I. Monitoring Study in the North Part of the Basin. *Sci. Total Environ.* **2004**, 321 (1–3), 127–146.

- (66) Huntscha, S.; Singer, H.; Canonica, S.; Schwarzenbach, R. P.; Fenner, K. Input Dynamics and Fate in Surface Water of the Herbicide Metolachlor and of Its Highly Mobile Transformation Product Metolachlor ESA. *Environ. Sci. Technol.* **2008**.
- (67) Vryzas, Z.; Vassiliou, G.; Alexoudis, C.; Papadopoulou-Mourkidou, E. Spatial and Temporal Distribution of Pesticide Residues in Surface Waters in Northeastern Greece. *Water Res.* **2009**, 43 (1), 1–10.
- (68) Carabias-Martínez, R.; Rodríguez-Gonzalo, E.; Fernández-Laespada, M. E.; Calvo-Seronero, L.; Sánchez-San Román, F. J. Evolution over Time of the Agricultural Pollution of Waters in an Area of Salamanca and Zamora (Spain). *Water Res.* **2003**, 37 (4), 928–938.
- (69) Syed, J. H.; Malik, R. N.; Liu, D.; Xu, Y.; Wang, Y.; Li, J.; Zhang, G.; Jones, K. C. Organochlorine Pesticides in Air and Soil and Estimated Air–soil Exchange in Punjab, Pakistan. *Sci. Total Environ.* **2013**, 444, 491–497.
- (70) Siebers, J.; Gottschild, D.; Nolting, H.-G. Pesticides in Precipitation in Northern Germany. *Chemosphere* **1994**, 28 (8), 1559–1570.
- (71) Kurt-Karakus, P. B.; Teixeira, C.; Small, J.; Muir, D.; Bidleman, T. F. Current-Use Pesticides in Inland Lake Waters, Precipitation, and Air from Ontario, Canada. *Environ. Toxicol. Chem.* **2011**.
- (72) Moses, M.; Johnson, E. S.; Anger, W. K.; Burse, V. W.; Horstman, S. W.; Jackson, R. J.; Lewis, R. G.; Maddy, K. T.; McConnell, R.; Meggs, W. J.; et al. Environmental Equity and Pesticide Exposure. In *Toxicology and Industrial Health*; 1993.
- (73) Briggs, G. G. Predicting the Behaviour of Pesticides in Soils from Their Physical and Chemical Properties. *Philos. Trans. - R. Soc. London, B* **1990**, 329 (1255), 375–382.
- (74) Sauret, N. Etude de La Distribution Des Produits de Protection Des Plantes Entre Les 3 Phases Atmosphériques: Incidences Sur La Contamination Des Écosystèmes., 2002.
- (75) Briand, O.; Bertrand, F.; Seux, R.; Millet, M. Comparison of Different Sampling Techniques for the Evaluation of Pesticide Spray Drift in Apple Orchards. *Sci. Total Environ.* **2002**.
- (76) Pflieger, M. Etude de La Dégradation Photochimique Des Pesticides Adsorbés à La Surface de Particules Atmosphériques. **2009**, 1–261.
- (77) Gil, Y.; Sinfort, C. Emission of Pesticides to the Air during Sprayer Application: A Bibliographic Review. *Atmospheric Environment*. 2005.
- (78) Bedos, C.; Rousseau-Djabri, M. F.; Gabrielle, B.; Flura, D.; Durand, B.; Barriuso, E.; Cellier, P. Measurement of Trifluralin Volatilization in the Field: Relation to Soil Residue and Effect of Soil Incorporation. *Environ. Pollut.* **2006**.
- (79) Bedos, C.; Cellier, P.; Calvet, R.; Barriuso, E.; Gabrielle, B. Mass Transfer of Pesticides into the Atmosphere by Volatilization from Soils and Plants: Overview. *IAgronomie* **2002**.
- (80) Nebila Lichiheb, Carole Bedos, E. P. E. E. B. Synthèse Des Connaissances Sur Le Transfert Des Pesticides Vers l'atmosphère Par Volatilisation Depuis Les Plantes State of Knowledge on the Transfer of Pesticides into the Atmosphere by Volatilization from Plants. **2015**, 1–12.

- (81) Xu, J. C.; Stucki, J. W.; Wu, J.; Kostka, J. E.; Sims, G. K. Fate of Atrazine and Alachlor in Redox-Treated Ferruginous Smectite. *Environ. Toxicol. Chem.* **2001**.
- (82) Calvet, R.; Barriuso, E.; Benoit, P.; Bedos, C.; Charnay, M.; Coquet, Y. *Les Pesticides Dans Le Sol. Conséquences Agronomiques et Environnementales.*, France agr.; Paris, 2005.
- (83) Leach, H.; Wise, J. C.; Isaacs, R. Reduced Ultraviolet Light Transmission Increases Insecticide Longevity in Protected Culture Raspberry Production. *Chemosphere* **2017**, 189, 454–465.
- (84) Katagi, T. Photodegradation of Pesticides on Plant and Soil Surfaces. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* **2004**.
- (85) Carles, L. Devenir de Mélanges de Pesticides : Étude Des Voies de Biodégradation et Développement d ' Une Méthode Préventive de Bioremédiation, 2017.
- (86) Banshtu, T.; Patyal, S. K.; Devi, N. A Comparative Study on the Persistence of Pre-Mix Formulation of Endosulfan and Cypermethrin in Tomato , *Solanum Lycopersicum*. **2015**, 5 (2), 114–128.
- (87) Krogh, K. A.; Halling-Sørensen, B.; Mogensen, B. B.; Vejrup, K. V. Environmental Properties and Effects of Nonionic Surfactant Adjuvants in Pesticides: A Review. *Chemosphere* **2003**.
- (88) Reddy, K. N.; Singh, M. Effect of Acrylic Polymer Adjuvants on Leaching of Bromacil, Diuron, Norflurazon, and Simazine in Soil Columns. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1993**.
- (89) Mantzos, N.; Karakitsou, A.; Hela, D.; Konstantinou, I. Environmental Fate of the Insecticide Cypermethrin Applied as Microgranular and Emulsifiable Concentrate Formulations in Sunflower Cultivated Field Plots. *Sci. Total Environ.* **2016**.
- (90) Cabrera, D.; López-Piñeiro, A.; Albarrán, Á.; Peña, D. Direct and Residual Effects on Diuron Behaviour and Persistence Following Two-Phase Olive Mill Waste Addition to Soil: Field and Laboratory Experiments. *Geoderma* **2010**.
- (91) Mata-Sandoval, J. C.; Karns, J.; Torrents, A. Influence of Rhamnolipids and Triton X-100 on the Biodegradation of Three Pesticides in Aqueous Phase and Soil Slurries. *J. Agric. Food Chem.* **2001**.
- (92) Swarczewicz, M. K.; Gregorczyk, A. The Effects of Pesticide Mixtures on Degradation of Pendimethalin in Soils. *Environ. Monit. Assess.* **2012**.
- (93) Cantliffe, D. J.; Shaw, N.; Jovicich, E.; Rodriguez, J. C.; Secker, I.; Karchi, Z. Passive Ventilated High-Roof Greenhouse Production of Vegetables in a Humid, Mild Winter Climate. In *Acta Horticulturae*; 2001.
- (94) EC (European Commission), . Regulation No. 396/2005 on maximum residue levels of pesticides in products of plant and animal origin. Annex II http://ec.europa.eu/food/plant/protection/pesticides/pesticide_res_annex_ii.xls.
- (95) Zhang, A.; Luo, W.; Sun, J.; Xiao, H.; Liu, W. Distribution and Uptake Pathways of Organochlorine Pesticides in Greenhouse and Conventional Vegetables. *Sci. Total Environ.* **2015**.
- (96) Bojacá, C. R.; Arias, L. A.; Ahumada, D. A.; Casilimas, H. A.; Schrevens, E. Evaluation of

- Pesticide Residues in Open Field and Greenhouse Tomatoes from Colombia. *Food Control* **2013**.
- (97) Wu, C.; Sun, J.; Zhang, A.; Liu, W. Dissipation and Enantioselective Degradation of Plant Growth Retardants Paclobutrazol and Uniconazole in Open Field, Greenhouse, and Laboratory Soils. *Environ. Sci. Technol.* **2013**.
- (98) Allen, G.; Halsall, C. J.; Ukpebor, J.; Paul, N. D.; Ridall, G.; Wargent, J. J. Increased Occurrence of Pesticide Residues on Crops Grown in Protected Environments Compared to Crops Grown in Open Field Conditions. *Chemosphere* **2015**.
- (99) Doan Ngoc, K.; van den Berg, F.; Houbraken, M.; Spanoghe, P. Volatilisation of Pesticides after Application in Vegetable Greenhouses. *Sci. Total Environ.* **2015**.
- (100) Van Den Berg, F.; Kubiak, R.; Benjey, W. G.; Majewski, M. S.; Yates, S. R.; Reeves, G. L.; Smelt, J. H.; Van Der Linden, A. M. A. Emission of Pesticides into the Air. In *Water, Air, and Soil Pollution*; 1999.
- (101) Egea González, F. J.; Martínez Vidal, J. L.; Castro Cano, M. L.; Martínez Galera, M. Levels of Metamidophos in Air and Vegetables after Greenhouse Applications by Gas Chromatography. *J. Chromatogr. A* **1998**.
- (102) Guth, J. A.; Reischmann, F. J.; Allen, R.; Arnold, D.; Hassink, J.; Leake, C. R.; Skidmore, M. W.; Reeves, G. L. Volatilisation of Crop Protection Chemicals from Crop and Soil Surfaces under Controlled Conditions-Prediction of Volatile Losses from Physico-Chemical Properties. *Chemosphere* **2004**.
- (103) Katsoulas, N.; Boulard, T.; Tsiropoulos, N.; Bartzanas, T.; Kittas, C. Experimental and Modelling Analysis of Pesticide Fate from Greenhouses: The Case of Pyrimethanil on a Tomato Crop. *Biosyst. Eng.* **2012**.
- (104) Kagan, J. The Fundamentals. In *Organic photochemistry: principles and applications*.; Harcourt Brace Jovanovich, Ed.; San Diego, 1993; pp 1–25.
- (105) Hodgman, S. S.; Dall, R. G.; Byron, L. J.; Baldwin, K. G. H.; Buckman, S. J.; Truscott, A. G. Metastable Helium: A New Determination of the Longest Atomic Excited-State Lifetime. *Phys. Rev. Lett.* **2009**.
- (106) Newman, S. M.; Lane, I. C.; Orr-Ewing, A. J.; Newnham, D. A.; Ballard, J. Integrated Absorption Intensity and Einstein Coefficients for the O₂a¹Δ_g-X³Σ_g⁻(0,0) Transition: A Comparison of Cavity Ringdown and High Resolution Fourier Transform Spectroscopy with a Long-Path Absorption Cell. *Journal of Chemical Physics*. 1999.
- (107) Evans, R. C. Foundations of Photochemistry: A Background on the Interaction Between Light and Molecules. In *Applied photochemistry*; 2013; Vol. 92, pp 1–88.
- (108) Larson, R. .; Weber, E. . *Reaction Mechanisms in Environmental Organic Chemistry*; CRC Press, B. R., Ed.; 1994.
- (109) Steiner, U. E. Fundamentals Photophysics Photochemistry and Photobiology. In *Photodynamic Therapy*; 2014; pp 25–58.
- (110) Lewis, G. N.; Lipkin, D. Reversible Photochemical Processes in Rigid Media. a Study of the Phosphorescent State. *J. Am. Chem. Soc.* **1941**.
- (111) Lewis, G. N.; Kasha, M. Phosphorescence and the Triplet State. *J. Am. Chem. Soc.* **1944**.

- (112) Hutchison, C. A.; Mangum, B. W. Paramagnetic Resonance Absorption in Naphthalene in Its Phosphorescent State. *J. Chem. Phys.* **1961**.
- (113) Klán, P.; Wirz, J. A Crash Course in Photophysics and a Classification of Primary Photoreactions. In *Photochemistry of Organic Compounds: From Concepts to Practice*; 2009; pp 25–72.
- (114) Albini, A. *Photochemistry: Past, Present and Future*; Springer, 2015.
- (115) Mill, T. Predicting Photoreaction Rates in Surface Waters. *Chemosphere* **1999**, 38 (6), 1379–1390.
- (116) Lin, J.; Emberger, M. Study of the Photodegradation of a Fragrance Ingredient for Aquatic Environmental Fate Assessment. *Chemosphere* **2017**, 173, 485–493.
- (117) Leifer, A. *The Kinetics of Environmental Aquatic Photochemistry: Theory and Practice*; American Chemical Society, Ed.; 1988.
- (118) Fatta-Kassinos, D.; Vasquez, M. I.; Kümmerer, K. Transformation Products of Pharmaceuticals in Surface Waters and Wastewater Formed during Photolysis and Advanced Oxidation Processes - Degradation, Elucidation of Byproducts and Assessment of Their Biological Potency. *Chemosphere*. 2011.
- (119) Burrows, H. D.; Canle L, M.; Santaballa, J. A.; Steenken, S. Reaction Pathways and Mechanisms of Photodegradation of Pesticides. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2002.
- (120) Vebrosky, E. N.; Saranjampour, P.; Crosby, D. G.; Armbrust, K. L. Photodegradation of Dicloran in Freshwater and Seawater. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, 66 (11), 2654–2659.
- (121) Schwarzenbach, R. P.; Gschwend, P. M.; Imboden, D. M. *Environmental Organic Chemistry*; 2003.
- (122) Evans, R. C. Photodegradation of Pesticides and Photocatalysis in the Treatment of Water and Waste. In *Applied photochemistry*; 2013; pp 247–266.
- (123) Hemond, H. F.; Fechner, E. J.; Hemond, H. F.; Fechner, E. J. Surface Waters. In *Chemical Fate and Transport in the Environment*; Academic Press, 2015; pp 75–218.
- (124) Klán, P.; Wirz, J. Chemistry of Excited Molecules. In *Photochemistry of Organic Compounds: From Concepts to Practice*; 2009; pp 227–453.
- (125) Monadjemi, S. Phototransformation de Matières Actives à La Surface Des Végétaux . Mécanismes Des Réactions Directes et To Cite This Version., 2013.
- (126) Ronzani, F. Réactions d'oxydation Photosensibilisée : Espèces Transitoires Réactives et Mécanismes Aux Interfaces, 2013.
- (127) Kagan, J. Photochemistry with Oxygen. In *Academic Press Inc. Organic Photochemistry: Principles and Applications*; 1993; pp 82–98.
- (128) Dell'Arciprete, M. L.; Santos-Juanes, L.; Arques, A.; Vercher, R. F.; Amat, A. M.; Furlong, J. P.; Mártire, D. O.; Gonzalez, M. C. Reactivity of Neonicotinoid Pesticides with Singlet Oxygen. *Catal. Today* **2010**.
- (129) Walia, S.; Dureja, P.; Mukerjee, S. K. New Photodegradation Products of Chlorpyrifos and Their Detection on Glass, Soil, and Leaf Surfaces. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **1988**.

- (130) Boule, P.; Bahnemann, D.; Robertson, P. Aquatic Phototransformation of Organic Contaminants Induced by Coloured Dissolved Natural Organic Matter. In *Environmental Photochemistry: Part II*; Springer: Berlin, 2005; pp 299–323.
- (131) Challis, J. K.; Hanson, M. L.; Friesen, K. J.; Wong, C. S. A Critical Assessment of the Photodegradation of Pharmaceuticals in Aquatic Environments: Defining Our Current Understanding and Identifying Knowledge Gaps. *Environmental Sciences: Processes and Impacts*. 2014.
- (132) Remucal, C. K. The Role of Indirect Photochemical Degradation in the Environmental Fate of Pesticides: A Review. *Environmental Sciences: Processes and Impacts*. 2014.
- (133) Zepp, R. G.; Cline, D. M. Rates of Direct Photolysis in Aquatic Environment. *Environ. Sci. Technol.* **1977**.
- (134) Wenk, J.; von Gunten, U.; Canonica, S. Effect of Dissolved Organic Matter on the Transformation of Contaminants Induced by Excited Triplet States and the Hydroxyl Radical. *Environ. Sci. Technol.* **2011**.
- (135) Wenk, J.; Canonica, S. Phenolic Antioxidants Inhibit the Triplet-Induced Transformation of Anilines and Sulfonamide Antibiotics in Aqueous Solution. *Environ. Sci. Technol.* **2012**.
- (136) Canonica, S.; Laubscher, H. U. Inhibitory Effect of Dissolved Organic Matter on Triplet-Induced Oxidation of Aquatic Contaminants. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2008**.
- (137) Shea, P. J.; Machacek, T. A.; Comfort, S. D. Accelerated Remediation of Pesticide-Contaminated Soil with Zerovalent Iron. *Environ. Pollut.* **2004**.
- (138) Souza, L. P. de; Faroni, L. R. D. A.; Heleno, F. F.; Pinto, F. G.; Queiroz, M. E. L. R. de; Prates, L. H. F. Ozone Treatment for Pesticide Removal from Carrots: Optimization by Response Surface Methodology. *Food Chem.* **2018**.
- (139) Ong, K. C.; Cash, J. N.; Zabik, M. J.; Siddiq, M.; Jones, A. L. Chlorine and Ozone Washes for Pesticide Removal from Apples and Processed Apple Sauce. *Food Chem.* **1996**.
- (140) Balawejder, M.; Antos, P.; Sadlo, S. Potential of Ozone Utilization for Reduction of Pesticide Residue in Food of Plant Origin. A Review. *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.* **2013**.
- (141) Ikehata, K.; El-Din, M. G. Aqueous Pesticide Degradation by Ozonation and Ozone-Based Advanced Oxidation Processes: A Review (Part II). *Ozone: Science and Engineering*. 2005.
- (142) Reddy, P. V. L.; Kim, K. H. A Review of Photochemical Approaches for the Treatment of a Wide Range of Pesticides. *Journal of Hazardous Materials*. 2015.
- (143) Thandu, M.; Comuzzi, C.; Goi, D. Phototreatment of Water by Organic Photosensitizers and Comparison with Inorganic Semiconductors. *International Journal of Photoenergy*. 2015.
- (144) Deblonde, T.; Cossu-Leguille, C.; Hartemann, P. Emerging Pollutants in Wastewater: A Review of the Literature. *Int. J. Hyg. Environ. Health* **2011**.
- (145) Tsydenova, O.; Batoev, V.; Batoeva, A. Solar-Enhanced Advanced Oxidation Processes for Water Treatment: Simultaneous Removal of Pathogens and Chemical Pollutants. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2015.

- (146) Oturan, M. A.; Aaron, J.-J. Advanced Oxidation Processes in Water/Wastewater Treatment: Principles and Applications. A Review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **2014**.
- (147) Sleiman, M.; Ferronato, C.; Chovelon, J. M. Photocatalytic Removal of Pesticide Dichlorvos from Indoor Air: A Study of Reaction Parameters, Intermediates and Mineralization. *Environ. Sci. Technol.* **2008**.
- (148) Hirahara, Y.; Ueno, H.; Nakamuro, K. Comparative Photodegradation Study of Fenthion and Disulfoton under Irradiation of Different Light Sources in Liquid- and Solid-Phases. *J. Heal. Sci.* **2001**.
- (149) Sanches, S.; Barreto Crespo, M. T.; Pereira, V. J. Drinking Water Treatment of Priority Pesticides Using Low Pressure UV Photolysis and Advanced Oxidation Processes. *Water Res.* **2010**.
- (150) Sanches, S.; Penetra, A.; Rodrigues, A.; Cardoso, V. V.; Ferreira, E.; Benoliel, M. J.; Barreto Crespo, M. T.; Crespo, J. G.; Pereira, V. J. Removal of Pesticides from Water Combining Low Pressure UV Photolysis with Nanofiltration. *Sep. Purif. Technol.* **2013**.
- (151) Kollmeyer, W.; Flattum, R.; Foster, J.; Powell, J.; Schroeder, M.; Soloway, S. Discovery of the Nitromethylene Heterocycle Insecticides. In *Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor*; Yamamoto, I., Casida, J., Eds.; Springer: Tokyo, 1999; pp 71–89.
- (152) Tomizawa, M.; Casida, J. E. NEONICOTINOID INSECTICIDE TOXICOLOGY: Mechanisms of Selective Action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2005**.
- (153) van der Sluijs, J. P.; Simon-Delso, N.; Goulson, D.; Maxim, L.; Bonmatin, J.-M.; Belzunces, L. P. Neonicotinoids, Bee Disorders and the Sustainability of Pollinator Services. *Curr. Opin. Environ. Sustain.* **2013**, 5 (3–4), 293–305.
- (154) Goulson, D. REVIEW: An Overview of the Environmental Risks Posed by Neonicotinoid Insecticides. *J. Appl. Ecol.* **2013**.
- (155) Site de la commission européenne
https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/approval_active_substances/approval_renewal/neonicotinoids_en.
- (156) CIR EU 673. COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2016/673 of 29 April 2016. *Off. J. Eur. Union* **2016**, 2001 (May), 20–30.
- (157) Van Timmeren, S.; Wise, J. C.; Vandervoort, C.; Isaacs, R. Comparison of Foliar and Soil Formulations of Neonicotinoid Insecticides for Control of Potato Leafhopper, *Empoasca fabae* (Homoptera: Cicadellidae), in Wine Grapes. *Pest Manag. Sci.* **2011**.
- (158) Pesticides properties Database PPDB
<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/11.htm>.
- (159) Fossen, M. Environmental Fate of Imidacloprid. *Regulation* **2006**.
- (160) Zaror, C. A.; Segura, C.; Mansilla, H.; Mondaca, M. A.; González, P. Detoxification of Waste Water Contaminated with Imidacloprid Using Homogeneous and Heterogeneous Photo-Fenton Processes. *Water Pract. Technol.* **2009**.
- (161) Chopade, H.; Eigenberg, D.; Solon, E.; Strzemienski, P.; Hostetler, J.; McNamara, T. Skin Distribution of Imidacloprid by Microautoradiography after Topical

- Administration to Beagle Dogs. *Vet. Ther.* **2010**.
- (162) Rouchaud, J.; Gustin, F.; Wauters, A. Imidacloprid Insecticide Soil Metabolism in Sugar Beet Field Crops. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1996**.
- (163) Sarkar, M. A.; Roy, S.; Kole, R. K.; Chowdhury, A. Persistence and Metabolism of Imidacloprid in Different Soils of West Bengal. *Pest Manag. Sci.* **2001**.
- (164) Liu, W.; Zheng, W.; Ma, Y.; Liu, K. Sorption and Degradation of Imidacloprid in Soil and Water. *J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes* **2006**.
- (165) Schippers, N.; Schwack, W. Phototransformation of Imidacloprid on Isolated Tomato Fruit Cuticles and on Tomato Fruits. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* **2010**.
- (166) Ding, T.; Jacobs, D.; Lavine, B. K. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Identification of Imidacloprid Photolysis Products. *Microchem. J.* **2011**.
- (167) Robin, S. U. R.; Stork, A. Uptake, Translocation and Metabolism of Imidacloprid in Plants. In *Bulletin of Insectology*; 2003.
- (168) Mahapatra, B.; Adak, T.; Patil, N. K. B.; Pandi, G. G. P.; Gowda, G. B.; Yadav, M. K.; Mohapatra, S. D.; Rath, P. C.; Munda, S.; Jena, M. Effect of Abiotic Factors on Degradation of Imidacloprid. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2017**, 99 (4), 475–480.
- (169) Moza, P. N.; Hustert, K.; Feicht, E.; Kettrup, A. Photolysis of Imidacloprid in Aqueous Solution. *Chemosphere* **1998**.
- (170) Schippers, N.; Schwack, W. Photochemistry of Imidacloprid in Model Systems. *J. Agric. Food Chem.* **2008**.
- (171) Thuyet, D. Q.; Watanabe, H.; Yamazaki, K.; Takagi, K. Photodegradation of Imidacloprid and Fipronil in Rice-Paddy Water. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2011**.
- (172) Morton, V.; Staub, T. A Short History of Fungicides. *APSnet Featur. Artic.* **2008**.
- (173) Hashimoto, Y.; Makita, T.; Ohnuma, N.; Noguchi, T. Acute Toxicity on Dimethyl 4,4'-o-Phenylene Bis(3-Thioallophanate), Thiophanate-Methyl Fungicide. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1972**.
- (174) Makita, T.; Hashimoto, Y.; Noguchi, T. Mutagenic, Cytogenetic and Teratogenic Studies on Thiophanate-Methyl. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1973**.
- (175) Cardone, A. Testicular Toxicity of Methyl Thiophanate in the Italian Wall Lizard (*Podarcis Sicula*): Morphological and Molecular Evaluation. *Ecotoxicology* **2012**, 21 (2), 512–523.
- (176) Dreassi, E.; Zanfini, A.; Zizzari, A. T.; La Rosa, C.; Botta, M.; Corbini, G. Lc/Esi/Ms/Ms Determination of Postharvest Fungicide Residues in Citrus Juices. *LWT - Food Sci. Technol.* **2010**.
- (177) Economou, A.; Botitsi, H.; Antoniou, S.; Tsipi, D. Determination of Multi-Class Pesticides in Wines by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2009**.
- (178) Fernández-Alba, A. R.; Tejedor, A.; Agüera, A.; Contreras, M.; Garrido, J. Determination of Imidacloprid and Benzimidazole Residues in Fruits and Vegetables by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry after Ethyl Acetate Multiresidue Extraction. *J. AOAC Int.* **2000**.

- (179) Chen, H.; Zhang, W.; Yang, Z.; Tang, M.; Zhang, J.; Zhu, H.; Lu, P.; Hu, D.; Zhang, K. Determination of Thiophanate-Methyl and Carbendazim in Rapeseed by Solid-Phase Extraction and Ultra-High Performance Chromatography with Photodiode Array Detection. *Instrum. Sci. Technol.* **2015**.
- (180) Sannino, A. Investigation into Contamination of Processed Fruit Products by Carbendazim, Methyl Thiophanate and Thiabendazole. *Food Chem.* **1995**.
- (181) Pesticides properties Database PPDB
<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/640.htm>.
- (182) Watkins, D. A. M. Photolysis of Methyl Benzimidazol-2-Ylcarbamate. *Chemosphere* **1974**, 3 (5), 239–240.
- (183) Chayata, H.; Lassalle, Y.; Nicol, É.; Manolikakes, S.; Souissi, Y.; Bourcier, S.; Gosmini, C.; Bouchonnet, S. Characterization of the Ultraviolet-Visible Photoproducts of Thiophanate-Methyl Using High Performance Liquid Chromatography Coupled with High Resolution Tandem Mass Spectrometry-Detection in Grapes and Tomatoes. *J. Chromatogr. A* **2016**.
- (184) Buchenauer, H.; Edgington, L. V; Grossmann, F.; Germany, W. Photochemical Transformation of Thiophanate-Methyl and Thiophanate to Alkyl Benzimidazol-2-Yl Carbarnates. **1973**, 343–348.
- (185) United States Environmental Protection Agency Reregistration eligibility decision on thiophanate-methyl http://www.epa.gov/oppsrrd1/reregistration/REDS/tm_red.pdf.
- (186) Soeda, Y.; Kosaka, S.; Noguchi, T. Identification of Alkyl 2-Benzimidazolecarbamates as a Major Metabolite of Thiophanates Fungicide in/on the Bean Plant. *Agric. Biol. Chem.* **1972**, 36 (5), 817–823.
- (187) Soeda, Y.; Kosaka, S.; Noguchi, T. The Fate of Thiophanate-Methyl Fungicide and Its Metabolites on Plant Leaves and Glass Plates. *Agric. Biol. Chem.* **1972**.
- (188) European Food Safety Authority (EFSA). Peer Review of the Pesticide Risk Assessment of the Active Substance BIF. *EFSA J.* **2017**, 15 (1).
- (189) Pesticides properties Database PPDB
<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/76.htm>.
- (190) Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues. http://www.fao.org/%0Afi%0Aleadmin/templates/agphome/documents/%0APests_Pesticides/JMPR/Evaluation06/Bifenazate06.pdf%0A.
- (191) Satheshkumar, A.; Senthurpandian, V. K.; Shanmugaselvan, V. A. Dissipation Kinetics of Bifenazate in Tea under Tropical Conditions. *Food Chem.* **2014**.
- (192) El-zaher, T. R. A.; Nasr, I. N.; Mahmoud, H. A. Behavior of Some Pesticide Residues in and on Tomato and Kidney Beans Fruits Grown in Open Field. *Am. J. Toxicol. Sci.* **2011**.
- (193) *Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues*; Rome, Italy, 9 – 18 September., 2008.
- (194) Bonnichon, F.; Richard, C. Phototransformation of 3-Hydroxybenzotrile in Water. *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **1998**, 119 (1), 25–32.

- (195) Miller, W. L.; Kester, D. R. Hydrogen Peroxide Measurement in Seawater by (p-Hydroxyphenyl)Acetic Acid Dimerization. *Anal. Chem.* **1988**, 60 (24), 2711–2715.
- (196) Freund, M.; Csikós, R.; Keszthelyi, S.; Mózes, G. *Paraffin Products - Properties, Technologies, Applications*; 1982.
- (197) Szafranek, B. M.; Synak, E. E. Cuticular Waxes from Potato (*Solanum Tuberosum*) Leaves. *Phytochemistry* **2006**.
- (198) Verardo, G.; Pagani, E.; Geatti, P.; Martinuzzi, P. A Thorough Study of the Surface Wax of Apple Fruits. *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**.
- (199) Griffiths, P. R. The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules. *Vib. Spectrosc.* **1992**.
- (200) Gardette, J.-L. Caractérisation Des Polymères Par Spectrométrie Optique. *AM 3* 271–5. *Tech. l'Ingénieur* **1998**.
- (201) PPDB Pesticides properties Database <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/>.
- (202) Anastassiades, M.; Lehotay, S. J.; Štajnbaher, D.; Schenck, F. J. Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *J. AOAC Int.* **2003**.
- (203) Malato, S.; Cáceres, J.; Agüera, A.; Mezcua, M.; Hernando, D.; Vial, J.; Fernández-Alba, A. R. Degradation of Imidacloprid in Water by Photo-Fenton and TiO₂ photocatalysis at a Solar Pilot Plant: A Comparative Study. *Environ. Sci. Technol.* **2001**.
- (204) Vílchez, J. .; Valencia, M. .; Navalón, A.; Molinero-Morales, B.; Capitán-Vallvey, L. . Flow Injection Analysis of the Insecticide Imidacloprid in Water Samples with Photochemically Induced Fluorescence Detection. *Anal. Chim. Acta* **2001**.
- (205) Base de données du site de la commission européenne <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.selection&language=EN>.
- (206) No Title <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/consumer-product-safety/pesticides-pest-management/public/protecting-your-health-environment/pesticides-food/maximum-residue-limits-pesticides.html>.
- (207) Fenoll, J.; Garrido, I.; Hellín, P.; Flores, P.; Navarro, S. Photodegradation of Neonicotinoid Insecticides in Water by Semiconductor Oxides. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**.
- (208) Guohong, X.; Guoguang, L.; Dezhi, S.; Liqing, Z. Kinetics of Acetamiprid Photolysis in Solution. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2009**.
- (209) Guzsv, J.; Csan, J.; Lazi, S. D.; Ga, F. F. Photocatalytic Degradation of the Insecticide Acetamiprid on TiO₂ Catalyst. *J. Brazilian Chem. Soc.* **2009**, 20 (1), 152–159.
- (210) Mitsika, E. E.; Christophoridis, C.; Fytianos, K. Fenton and Fenton-like Oxidation of Pesticide Acetamiprid in Water Samples: Kinetic Study of the Degradation and Optimization Using Response Surface Methodology. *Chemosphere* **2013**.
- (211) Dell’Arciprete, M. L.; Soler, J. M.; Santos-Juanes, L.; Arques, A.; Mártire, D. O.; Furlong, J. P.; Gonzalez, M. C. Reactivity of Neonicotinoid Insecticides with Carbonate Radicals.

Water Res. **2012**.

- (212) Coscollà, C.; Yusà, V. Pesticides and Agricultural Air Quality. In *Comprehensive Analytical Chemistry*; Elsevier, 2016; Vol. 73, pp 423–490.
- (213) Chang, T.-H.; Hsieh, F.-L.; Ko, T.-P.; Teng, K.-H.; Liang, P.-H.; Wang, A. H.-J. Structure of a Heterotetrameric Geranyl Pyrophosphate Synthase from Mint (*Mentha Piperita*) Reveals Intersubunit Regulation. *Plant Cell* **2010**.
- (214) Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach: Third Edition*; 2009.
- (215) Wildt, J.; Kobel, K.; Schuh-Thomas, G.; Heiden, A. C. Emissions of Oxygenated Volatile Organic Compounds from Plants Part II: Emissions of Saturated Aldehydes. *J. Atmos. Chem.* **2003**.
- (216) Takayama, K.; Jansen, R. M. C.; van Henten, E. J.; Verstappen, F. W. A.; Bouwmeester, H. J.; Nishina, H. Emission Index for Evaluation of Volatile Organic Compounds Emitted from Tomato Plants in Greenhouses. *Biosyst. Eng.* **2012**.
- (217) Buttery, R. G.; Ling, L. C.; Kamm, J. A. Volatile Components of Alfalfa Flowers and Pods. *J. Agric. Food Chem.* **1982**.
- (218) Buttery, R. G.; Ling, L. C.; Wellso, S. G. Oat Leaf Volatiles: Possible Insect Attractants. *J. Agric. Food Chem.* **1982**.
- (219) Fernández, V.; Guzmán-Delgado, P.; Graça, J.; Santos, S.; Gil, L. Cuticle Structure in Relation to Chemical Composition: Re-Assessing the Prevailing Model. *Front. Plant Sci.* **2016**.
- (220) Niinemets, Ü.; Kännaste, A.; Copolovici, L. Quantitative Patterns between Plant Volatile Emissions Induced by Biotic Stresses and the Degree of Damage. *Front. Plant Sci.* **2013**.
- (221) Fatouros, N. E.; Lucas-Barbosa, D.; Weldegergis, B. T.; Pashalidou, F. G.; van Loon, J. J. A.; Dicke, M.; Harvey, J. A.; Gols, R.; Huigens, M. E. Plant Volatiles Induced by Herbivore Egg Deposition Affect Insects of Different Trophic Levels. *PLoS One* **2012**.
- (222) Eigenbrode, S. D.; Ding, H.; Shiel, P.; Berger, P. H. Volatiles from Potato Plants Infected with Potato Leafroll Virus Attract and Arrest the Virus Vector, *Myzus Persicae* (Homoptera: Aphididae). *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **2002**.
- (223) Loreto, F.; Barta, C.; Brillì, F.; Nogues, I. On the Induction of Volatile Organic Compound Emissions by Plants as Consequence of Wounding or Fluctuations of Light and Temperature. *Plant, Cell Environ.* **2006**.
- (224) Sun, Z.; Hüve, K.; Vislap, V.; Niinemets, Ü. Elevated [CO₂] Magnifies Isoprene Emissions under Heat and Improves Thermal Resistance in Hybrid Aspen. *J. Exp. Bot.* **2013**.
- (225) Milewski, A. V.; Young, T. P.; Madden, D. Thorns as Induced Defenses: Experimental Evidence. *Oecologia* **1991**.
- (226) Hanley, M. E.; Lamont, B. B.; Fairbanks, M. M.; Rafferty, C. M. Plant Structural Traits and Their Role in Anti-Herbivore Defence. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* **2007**.
- (227) Kessler, A.; Heil, M. The Multiple Faces of Indirect Defences and Their Agents of

- Natural Selection. *Funct. Ecol.* **2011**.
- (228) Holopainen, J. K.; Nerg, A.-M.; Blande, J. D. Multitrophic Signalling in Polluted Atmospheres. In *Biology, Controls and Models of Tree Volatile Organic Compound Emissions*; 2013.
- (229) Bhatnagar, A. Environmental Cardiology: Studying Mechanistic Links between Pollution and Heart Disease. *Circulation Research.* 2006.
- (230) Lopachin, R. M.; Barber, D. S.; Gavin, T. Molecular Mechanisms of the Conjugated α,β -Unsaturated Carbonyl Derivatives: Relevance to Neurotoxicity and Neurodegenerative Diseases. *Toxicological Sciences.* 2008.
- (231) Leikauf, G. D. Hazardous Air Pollutants and Asthma. *Environmental health perspectives.* 2002.
- (232) Abraham, K.; Andres, S.; Palavinskas, R.; Berg, K.; Appel, K. E.; Lampen, A. Toxicology and Risk Assessment of Acrolein in Food. *Molecular Nutrition and Food Research.* 2011.
- (233) Irwin, R. J. ENVIRONMENTAL CONTAMINANTS ENCYCLOPEDIA ALKANES ENTRY. In *Journal of Chemical Information and Modeling*; 1997.
- (234) Cho, K. S.; Lim, Y. R.; Lee, K.; Lee, J.; Lee, J. H.; Lee, I. S. Terpenes from Forests and Human Health. *Toxicological Research.* 2017.
- (235) Paduch, R.; Kandefer-Szerszeń, M.; Trytek, M.; Fiedurek, J. Terpenes: Substances Useful in Human Healthcare. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz).* **2007**, 55 (5), 315–327.
- (236) Audrain, H.; Kenward, C.; Lovell, C. R.; Green, C.; Ormerod, A. D.; Sansom, J.; Chowdhury, M. M. U.; Cooper, S. M.; Johnston, G. A.; Wilkinson, M.; et al. Allergy to Oxidized Limonene and Linalool Is Frequent in the U.K. *Br. J. Dermatol.* **2014**.
- (237) Espi, E. PLastic Films for Agricultural Applications. *J. Plast. Film Sheeting* **2006**.
- (238) Hamid, S. . Greenhouse Film Stabilization. In *Handbook of polymer degradation.*; CRC Press, 2000.
- (239) Gardette, J.; Baba, M.; Mailhot, B.; Morlat-thérias, S. Photodégradation Des Matériaux Polymères. **2008**, No. May 2014.
- (240) Gardette, M.; Perthue, A.; Gardette, J. L.; Janecska, T.; Földes, E.; Pukánszky, B.; Therias, S. Photo- and Thermal-Oxidation of Polyethylene: Comparison of Mechanisms and Influence of Unsaturation Content. *Polym. Degrad. Stab.* **2013**.
- (241) Giacomelli, G. A.; Roberts, W. J. Greenhouse Covering Systems. *Njaes* **1992**.
- (242) No Title <https://www.bache-plastique-protection.com/film-couverture-de-serre/5-film-couverture-de-serre-4m50.html>.
- (243) Schirra, M.; D'Aquino, S.; Cabras, P.; Angioni, A. Control of Postharvest Diseases of Fruit by Heat and Fungicides: Efficacy, Residue Levels, and Residue Persistence. a Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2011.

Annexe

Formation et réactivité du photoproduit I de TM

I. Formation de I

La formation du photoproduit I de TM a été affectée par le type de support. Les analyses HPLC-DAD ont montré sa formation sur poivrons verts, sur verre, dans l'ACN et dans l'eau après irradiation avec une lumière simulée. Pourtant, I ne se formait pas sur les films de cire.

II. Essais de photosensibilisation par la quinoxaline

Pour savoir si la quinoxaline est capable de sensibiliser la photodégradation des pesticides pulvérisés en mélange avec le TM à Menyeh, des mélanges acétamipride + quinoxaline et BIF + quinoxaline ont été irradiés chacun avec une lumière polychromatique 300-450 nm. Les résultats ont été les suivants :

1- Mélange acétamipride (10^{-4} mol.L⁻¹) et quinoxaline (5.10^{-5} mol.L⁻¹) dans l'eau

Aucune accélération n'a été observée par rapport à la vitesse de photodégradation de l'acétamipride seul dans les mêmes conditions.

2- Mélange BIF (10^{-4} mol.L⁻¹) et quinoxaline (5.10^{-5} mol.L⁻¹) dans 70% eau et 30% ACN

L'irradiation 10 minutes avec une lumière 300-450 nm a entraîné 80% de conversion de BIF contre 5% de conversion pour le BIF seul dans les mêmes conditions de solvant, de concentrations et d'irradiation. Par conséquent, la présence de la quinoxaline a nettement accélérée la photodégradation de BIF. La même expérience a été alors effectuée avec une solution de TM préirradiée.

III. Photosensibilisation de BIF par le photoproduit I

Afin de tester l'effet de sensibilisation de I sur le BIF, un mélange contenant une solution de TM préirradiée (10^{-4} mol.L⁻¹) et de BIF (10^{-4} mol.L⁻¹) dans 13% ACN et 87% eau a été irradié entre 300 et 450 nm. Le TM préirradié avait été converti à 30% et la solution contenait I.

Dans ce mélange, BIF a été photodégradé à 50% en 10 minutes contre 5% quand il a été irradié seul dans les mêmes conditions. On peut donc conclure que TM irradié permet une Photo dégradation rapide de BIF. Cette réaction pourrait avoir lieu à la surface des légumes et des fruits en milieu naturel.